



## Forschungsbericht

Nr. 153

### Chlamydien-Infektionen bei Milchvieh: Untersuchung zur Verbreitung in Betrieben Nordrhein-Westfalens

Verfasser:

Dr. agr. Ute Müller

Dipl.-Ing. agr. Kirsten Kemmerling

Prof. Dr. Dr. Helga Sauerwein

**Institut für Tierwissenschaften  
Abteilung Physiologie & Hygiene**

**Herausgeber:** Lehr- und Forschungsschwerpunkt „Umweltverträgliche und Standortgerechte Landwirtschaft“, Landwirtschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Meckenheimer Allee 172, 53115 Bonn  
Tel.: 0228 – 73 2285; Fax.: 0228 – 73 1776  
www.usl.uni-bonn.de

Forschungsvorhaben im Auftrag des Ministeriums für Umwelt und Naturschutz, Landwirtschaft und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen  
Bonn, August 2008

ISSN 1610-2460

**Projektleitung:** Prof. Dr. Dr. Helga Sauerwein

**Projektbearbeiter:** Dr. agr. Ute Müller  
Dipl.-Ing. Agr. Kirsten Kemmerling

Institut für Tierwissenschaften  
Abteilung Physiologie und Hygiene  
Katzenburgweg 7-9  
53115 Bonn

**Zitiervorschlag:**

KEMMERLING, K.; MÜLLER, U. UND H. SAUERWEIN (2008): Chlamydien-Infektionen bei Milchvieh: Untersuchung zur Verbreitung in Betrieben Nordrhein-Westfalens. Landwirtschaftliche Fakultät der Universität Bonn, Schriftenreihe des Lehr- und Forschungsschwerpunktes USL, Nr. 153, 61 Seiten.

## Inhaltsverzeichnis

	Seite
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	III
<b>1 Einleitung</b>	1
1.1 Lebenszyklus, Taxonomie, Infektionen und Infektionswege von Chlamydien	1
1.2 Chlamydiose beim Rind	2
1.2.1 Atemwegserkrankungen	3
1.2.2 Genitalinfektionen	4
1.2.3 Mastitis	5
1.3 Nachweisverfahren	6
1.4 Bekannte Häufigkeiten von Chlamydieninfektionen beim Rind	7
1.5 Übertragungswege für Chlamydieninfektionen	9
1.6 Problemstellung in Nordrhein-Westfalen (NRW)	11
1.7 Zielsetzungen des Projektes – einschließlich Umstrukturierungen	11
<b>2 Material und Methoden</b>	13
2.1 Auswahl der Milchviehbetriebe	13
2.2 Betriebsbesuche und Probennahme	15
2.3 PCR-Methoden	17
2.4 Erfassung der Milchleistungsprüfungsdaten	17
2.5 Erfassung der betrieblichen Gegebenheiten und verschiedener Gesundheitsdaten	18
2.6 Auswertung	20
<b>3 Ergebnisse und Diskussion</b>	22
3.1 Stufe I – <i>Chlamydophila</i> -Prävalenz und weitere Gesundheitsdaten	22
3.1.1 Ermittlung der <i>Chlamydophila</i> -Prävalenz in NRW	22
3.1.2 Gegenüberstellung der Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung in den Vaginaltupfern und der PCR-Ergebnisse	31
3.1.3 Ergebnisse der nested PCR zur Identifizierung der einzelnen <i>Chlamydophila</i> -Spezies	33
3.2 Stufe II – Ermittlung von Risikofaktoren und Kennziffern sowie Entwicklung einer Checkliste zur Vorhersage einer Chlamydiengefährdung auf Betriebsebene	36
<b>4 Zusammenfassung</b>	46
<b>5 Schlussfolgerung für die Umsetzung der Ergebnisse in die Praxis</b>	48
<b>6 Literaturverzeichnis</b>	49

<b>7</b>	<b>Anhang</b>	54
<b>8</b>	<b>Liste über Vorträge</b>	58
<b>9</b>	<b>Liste über Posterpräsentationen</b>	58
<b>10</b>	<b>Kurzfassung</b>	59

### Abkürzungsverzeichnis

ADR	Arbeitsgemeinschaft Deutscher Rinderzüchter e.V.
BFAV	Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere
BHV	Boviner Herpesvirus
BU	bakteriologischen Untersuchungen
BVDV	Bovines Virusdiarrhoe Virus
C.	<i>Chlamydophila</i>
CI	Konfidenzintervall der Odds Ratio
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay = Enzymgekoppelter Immunadsorptionstest
IBR-BRSV-PI3V	infektiöses bovines Rhinotracheitis -bovines synzytial virus- parainfluenza 3 Virus
ITW	Institut für Tierwissenschaften
KB	Künstliche Besamung
KDO	$\alpha$ Kdo(2→4) $\alpha$ Kdo(2→4) $\alpha$ Kdo (Kdo, 3-deoxy-D)- manno-oct-2-ulopyranosylsäure
LKV	Landeskontrollverband
MLP	Milchleistungsprüfung
MOMP	Major outer membrane protein
omp	Outer membrane protein
PCR	Polymerase Chain Reaktion = Polymerase-Ketten-Reaktion
SD	Standardabweichung
TMR	Totale Mischration

## 1 Einleitung

### 1.1 Lebenszyklus, Taxonomie, Infektionen und Infektionswege von Chlamydien

Bakterien der Ordnung Chlamydiales sind Parasiten, die obligat intrazellulär leben (STRAUBE et al. 2005). Sie sind ubiquitär und infizieren sowohl zahlreiche Wirbeltiere, als auch Wirbellose, wobei sie zu einer breit gefächerten Anzahl an Krankheiten führen können (SCHACHTER 1999).

Chlamydien sind unbewegliche gramnegative Bakterien, deren Zellwand im Unterschied zu anderen gramnegativen Bakterien keine Peptidoglykanschicht enthält. Ein charakteristischer Bestandteil der äußeren Membran ist das Lipopolysaccharid mit dem Chlamydien-spezifischen Epitop im KDO-Trisaccharid. Daneben trägt das Major Outer Membrane Protein (MOMP) mit bis zu 60% zur Proteinfraction der Membran bei. Chlamydien weisen einen komplexen Reproduktionszyklus mit zwei Formen auf: extrazelluläre und infektiöse Elementarkörperchen sowie intrazelluläre und nicht infektiöse Retikularkörperchen. Chlamydien können kein ATP synthetisieren und sind daher auf die intrazelluläre Vermehrung in Wirtszellen und deren ATP-Synthese angewiesen. Mit der obligat intrazellulären Lebensweise entgehen die Chlamydien bestimmten Mechanismen der wirtseigenen spezifischen und unspezifischen Abwehr. Chlamydien können zudem die Proliferation ihrer Wirtszellen modulieren und sie haben Pathomechanismen entwickelt, die ihnen ein lang andauerndes Überleben in der Wirtszelle sichern, indem sie den Zelltod der Wirtszelle verzögern bzw. verhindern (zusammengefasst nach ROBERT KOCH INSTITUT 2001).

Die Familie der *Chlamydiaceae* teilt sich in zwei Genera auf: *Chlamydia* und *Chlamydophila* (EVERETT et al. 1999). Während *Chlamydia*-Spezies scheinbar nur Säugetiere infizieren wie Mensch, Nager und Schweine, ist die Wirtsspezifität der *Chlamydophila*-Spezies weniger strikt, d.h. es gehören auch Vögel, Reptilien und Amphibien zu den Wirten (CORSARO & GREUB 2006). Sowohl *Chlamydia* als auch *Chlamydophila*-Spezies bilden bedeutende humanpathogene Erreger; so bildet z.B. *Chlamydia trachomatis* die Ursache von Urogenitalinfektionen sowie der Trachoma-Erblindung in Entwicklungsländern (SENN et al. 2005). Zum Genus *Chlamydophila* gehört unter anderem *Chlamydophila pneumoniae*, die zu Erkrankungen des Atmungstrakts führen kann (SACHSE et al. 2002). Die anderen Spezies, wie z.B. *Chlamydophila abortus* und *Chlamydophila pecorum* sind vor allem veterinärmedizinisch bedeutsame Erreger (CORSARO & GREUB 2006).

Bei Chlamydien sind verschiedene Übertragungswege (fäkal-orale Übertragung, genitale Übertragung, aerogener Weg, laktogener Weg und konjunktivaler Weg) und Vektoren (Schafe, Vögel) bekannt (SACHSE et al. 2004) (siehe Kapitel 1.5).

## 1.2 Chlamydiose beim Rind

Chlamydien wurden zunächst mit Krankheiten der Rinder in Verbindung gebracht. An den Chlamydiosen des Rindes sind hauptsächlich drei Arten beteiligt: *Chlamydophila abortus*, *Chlamydophila psittaci* und *Chlamydophila pecorum* (u.a. EVERETT 2000, DEGRAVES et al. 2004). Sie werden unter anderem mit Infektionen des Respirations- und Urogenitaltrakts, mit Keratokonjunktividen, Enteritiden, Arthritiden, Mastitiden und Enzephalomyelitiden in Zusammenhang gebracht. Bei einer Vielzahl von Erkrankungsgeschehen wie z.B. Aborten, chronischen Endometritiden, erhöhten peripartalen Kälberverlusten und Pneumonien sind Chlamydien häufig als einzige Erreger isoliert worden, dabei sind die konkrete Bedeutung der einzelnen Chlamydienspezies und die Genese der genannten Erkrankungen zum größten Teil noch nicht geklärt.

Die Chlamydiose des Rindes ist nach derzeitigem Kenntnisstand als infektiöse Faktorenkrankheit anzusehen, die sich v.a. in großen Milchkuhbeständen mit ganzjähriger Stallhaltung als Infertilitätssyndrom manifestieren kann. Eine ätiologische Mitbeteiligung an Augenentzündungen konnte in neueren Untersuchungen bestätigt werden (CORSARO & VENDITTI 2004).

Die Bedeutung von Chlamydienerkrankungen des Rindes hat in den letzten Jahren zugenommen. Die Gründe dafür sind, dass zum einen Chlamydien in Rinderbeständen im Zusammenhang mit den verschiedensten Erkrankungskomplexen, v.a. mit reduzierter Fruchtbarkeitsleistung, nachgewiesen wurden. Zum anderen ist das zoonotische Potential boviner Chlamydien noch nicht ausreichend geklärt.

Das Krankheitsbild mit Chlamydien als Auslösern beim Rind wurde bereits 1940 in den USA beschrieben (HOLLBERG 2002). Einige Studien weltweit dokumentierten das Vorkommen von Chlamydien bei zahlreichen Erkrankungen. So sind zahlreiche Fälle von Aborten bei Rindern und Schafen aus Deutschland (DEGRAVES et al. 2004), Indien (NANDA et al. 1992), Japan (NABEYA et al. 1991), Italien (CAVIRANI et al. 2001), Taiwan (WANG et al. 2001) und Großbritannien (GRIFFITHS et al. 1995) bekannt.

Infektionen mit *Chlamydophila* spp. beim Rind müssen nicht mit apparenten Krankheiten auftreten, oft sind es subtile Krankheitssignale. Trotzdem ist nach KALTENBOECK et al. (2005) der Gesundheitsstaus einer Milchviehherde schwerwiegender betroffen als einzelne klinische Krankheitsbilder erkennen lassen. Auch JEE et al. (2004) beschreiben die Infektion mit Chlamydien beim Milchvieh als eine Krankheit, die beim Einzeltier schwierig zu erkennen ist, aber den Gesundheits- und Fruchtbarkeitsstatus der gesamten Herde beeinflusst.

Die Tatsache, dass die bei der Milchkuh vorkommenden Chlamydienspezies weder wirtsspezifisch noch organspezifisch sind (EVERETT 2000, DEGRAVES et al. 2004), erschwert sowohl die Interpretation der Befunde für Milchkühe als auch die epidemiologische Einschätzung. Untersuchungen zum potentiell zoonotischen Charakter von Chlamydiosen beim Rind sind teilweise alt und/oder basieren auf rein serologischen Daten (SACHSE et al. 2004).

### 1.2.1 Atemwegserkrankungen

Respiratorische Erkrankungen spielen in der Kälberaufzucht eine erhebliche Rolle. Bereits seit den 1960er Jahren waren Atemwegserkrankungen beim Kalb in Folge von Chlamydieninfektionen bekannt, wurden aber kaum untersucht. Die Symptomatik umfasst Nasenausfluß, Fieber, Husten, Dispnoe und Depression (STORZ & KALTENBOECK 1993). Die Angaben zur Beteiligung von Chlamydien basierten aber überwiegend auf serologischen Untersuchungen und sind daher wenig aussagefähig um die Pathogenese einer Chlamydieninfektion der Lunge zu klären. Bislang wurde aber davon ausgegangen, dass Chlamydien höchstens milde Erkrankungen auslösen, die aber ggf. bakterielle Sekundärinfektionen nach sich ziehen können (JÄGER 2006). Zur Klärung der Bedeutung von Chlamydieninfektionen beim Kalb wurde kürzlich eine Studie mit klinisch unauffälligen Kälbern im Alter von 2 bis 7 Monaten durchgeführt, die auf Chlamydien getestet wurden und deren Lungenfunktion zudem regelmässig überprüft wurde. Bei rund der Hälfte der untersuchten Tiere wurden Chlamydien in Form von *Chlamydophila pecorum* und *Chlamydophila psittaci* im respiratorischen System über PCR nachweisen. Die positiv getesteten Kälber wiesen eine erhöhte Rektaltemperatur und Atemfrequenz auf; zudem waren die Strömungswiderstände in den peripheren und zentralen Atemwegen erhöht (JÄGER et al. 2005). Bei 7 von 13 PCR positiven Kälbern war auch die Serologie positiv. Klinisch manifeste, respiratorische Symptome konnten hingegen bei keinem Tier festgestellt werden. Aus diesen Ergebnissen schlossen die Autoren, dass eine klinisch inapparente Besiedlung des respiratorischen Systems mit Chlamydien sowohl zu chronisch-obstruktiven Veränderungen in den Atemwegen führen kann, als auch ohne Beeinflussung der Lungenfunktion bleiben kann.

TWOMEY et al. (2006) vermuteten in ihren Felduntersuchungen, dass die Kälber durch die Muttertiere infiziert werden, wodurch eine Übertragung durch zugekaufte Tiere oder durch Schafe und Wildtiere weniger wahrscheinlich ist. Aufgrund der Beobachtung, dass bei Kälbern in der ersten Lebenswoche keine Chlamydien nachgewiesen werden konnten, obwohl deren Mütter positive Chlamydiennachweise (PCR) in der Milch hatten, erachten hingegen

JEE et al. (2004) die Umwelt der Tiere als Infektionsquelle. Hierbei scheint dem Tier-Tier-Kontakt mit dem Zukauf fremder Tiere besonders bedeutsam zu sein.

### 1.2.2 Genitalinfektionen

Chlamydiosen beim Rind sind primär wegen negativer Auswirkungen auf das Fruchtbarkeitsgeschehen in das Interesse der Praxis und der Forschung gerückt. Unter Feldbedingungen ist die Bedeutung von Chlamydien bei Fruchtbarkeitsstörungen nicht geklärt, weil Chlamydieninfektionen selten als Einzel- sondern meist als Mischinfektionen vorkommen. Deutsche Arbeiten (STING et al. 2000 und 2003, WEHREND et al. 2005) deuten auf einen Zusammenhang zwischen positiver Serologie und eingeschränkter Reproduktionsleistung. Bei experimentellen Infektionen mit Chlamydien wurde dieser Zusammenhang im Wesentlichen auch bestätigt: DEGRAVES et al. (2004) infizierten Färsen, die aufgrund ihrer Serologie offenbar bereits eine natürliche Infektion mit *C. abortus* durchlaufen hatten. Die Tiere wurden synchronisiert, besamt und zwei Wochen danach wurden 0,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  oder  $10^8$  KbE *C. abortus* intrauterin appliziert. Bei der nach sechs Wochen erfolgten Trächtigkeitsuntersuchung war in der Gruppe mit  $10^8$  KbE *C. abortus* kein Tier tragend, in der nicht infizierten Gruppe waren hingegen alle Tiere gravid. Als Indikator für die Immunantwort auf die Infektion wurde der anti-*C. abortus* IgM-Titer im Serum ermittelt. Die Autoren konnten nachweisen, dass bei einem höheren IgM-Titer die Wahrscheinlichkeit für eine Trächtigkeit höher war. Da die Intensität der Immunantwort von verschiedenen herdenspezifischen Risikofaktoren beeinflusst werden kann, schlussfolgern sie, dass eine Stärkung des Immunsystems auf verschiedenen Ebenen (u.a. im Bereich Fütterung, Stress, Krankheitsgeschehen etc.) die Folgen einer Chlamydieninfektion reduzieren kann.

Nach PAPP et al. (1994) und TAENKUM et al. (2007) können Bullen *Chlamydomphila abortus* mit dem Samen ausscheiden. So haben Zuchtbullen, die *Chlamydomphila abortus* mit dem Samen ausscheiden, eine mindere Fruchtbarkeit, da die Chlamydien im Uterus zu einer Metritis führen können. Bereits 1968 wiesen STORZ et al. Chlamydien in Bullensamen nach, wo die Bullen an Epididymitis und Vesiculitis erkrankt waren. TEANKUM et al. (2007) wiesen ebenfalls Chlamydien in Samen von Bullen, Schafböcken und Damwild nach. EVERETT et al. (1999) führen *C. abortus* als Hauptspezies für Infektionen des Genitaltraktes an.

Abort bei Milchkühen kommt seltener vor als bei Schafen und Ziegen, trotzdem gibt es Milchvieherden, in denen es nach LIVINGSTONE & LONGBOTTOM (2006) zu Abortraten von bis zu 20% kommt. *C. abortus* ist der Hauptgrund für den infektiösen Abort bei Schafen und Ziegen (CHANTON-GREUTMANN et al. 2002).

### 1.2.3 Mastitis

Nach KALTENBOECK et al. (1997) und WEHNERT et al. (1980) können Chlamydien auch mit Mastitiden in Verbindung gebracht werden. Zwar konnten experimentell mit *C. abortus* bei Schaf, Ziege und Rind Mastitiden ausgelöst werden (PAPADOPOULOS & LEONTIDES 1972, KOUL et al. 1988, RØNSHOLD & BASSE 1981), in der Praxis ist aber offenbar nicht von reinen Chlamydienmastitiden auszugehen. *C. abortus* wurde vereinzelt bei natürlich entstandenen Mastitiden beim Rind nachgewiesen (WEHNERT et al. 1980, KALTENBOECK et al. 1992 und 1997), aber systematische Untersuchungen zur Bedeutung von Chlamydieninfektionen als Kofaktoren einer Mastitis gibt es nicht. *C. abortus* wird auch in der Milch eutergesunder Kühe gefunden (JEE et al. 2004).

Neuere Studien zeigen jedoch, dass Kühe mit positivem *Chlamydomphila* spp.-Nachweis (PCR) höhere Milchzellzahlen aufweisen (BIESENKAMP-UHE et al. 2007). Der Chlamydien-Nachweis erfolgte hier in Augen- und in Vaginalsekret. Wurden die Tiere nach ihren Chlamydien-Titern eingeteilt, waren die höheren Zellzahlen bei den Tieren mit niedrigen Titern zu finden. Letztgenannter Befund veranlasste die Autoren die Effekte einer *Chlamydomphila*-spezifischen Immunstimulation zu testen: sie impften die Hälfte alle Kühe im Abstand von 35 Tagen gegen *Chlamydomphila* (Impfstoff: Bayer AG, Leverkusen, Germany), die übrigen Tiere wurden mit Placebo analog behandelt. Bei den geimpften Kühen wurde im Vergleich zu den Placebokühen ein signifikant abfallender Zellgehalt in der Milch festgestellt; Die Impfung hatte zudem eine gesteigerte Ausscheidung von *Chlamydomphila* in der Milch zur Folge, es kam jedoch nicht zu einem gänzlichen Sistieren der Ausscheidung (BIESENKAMP-UHE et al. 2007). Dass die Impfung auch in Zusammenhang mit den o.g. *Chlamydomphila*-assoziierten Fertilitätsstörungen möglicherweise vorteilhaft sind, deutet sich zwar an (DEGRAVES et al. 2002), ist aber noch offen.

### 1.3 Nachweisverfahren

Chlamydien können mikrobiologisch über die Anzucht und Kultur nachgewiesen werden, zudem kann der Antigenkontakt eines Tieres durch serologische Verfahren, die Chlamydien-spezifische Antikörper nachweisen, belegt werden. Als dritte Möglichkeit, die heute dominiert, ist der Nucleinsäuren-basierte Nachweis über PCR-Verfahren zu nennen (zusammengefasst nach ROBERT KOCH INSTITUT 2001):

Der **direkte kulturelle Nachweis** gilt als Goldstandard zur Diagnostik von Chlamydien, weil hier lebende Organismen erfasst werden. Die Kultur ist jedoch schwierig, sie kann nicht im Rahmen der mikrobiologischen Routineuntersuchungen von z.B. Milchproben durchgeführt werden. Aufgrund des Zoonosepotentials bleibt die Kultur auch nur wenigen Speziallaboren vorbehalten, beispielsweise ist die Vermehrung von *Chlamydomphila psittaci* wegen des Risikos schwerer Laborinfektionen nur in Labors der Sicherheitsstufe III zugelassen. Als Nachteil ist auch die nur geringe Sensitivität der Kulturverfahren anzusprechen.

Chlamydien können **indirekt über den Nachweis von spezifischen, gegen Chlamydien gerichteten Antikörpern** nachgewiesen werden. Mit solchen serologischen Tests werden nur gattungsspezifische Antikörper nachgewiesen. Reinfektionen sind ggf. an einem IgG und IgA-Anstieg erkennbar. Aufgrund neuerer Entwicklungen in diesem Bereich (z.B. haben HOELZLE und Mitautoren (2004) die Möglichkeit geschaffen, sowohl Antikörper gegen *Chlamydomphila abortus* als auch Antikörper gegen *Chlamydomphila pecorum* mit Hilfe von spezifischen Membranproteinen zu unterscheiden) wäre in Zukunft eine spezies-spezifische serologische Diagnostik möglich. Dennoch bleibt festzuhalten, dass serologische Untersuchungen nicht den aktuellen Infektionsstatus wieder spiegeln. Dies führt dazu, dass Chlamydieninfektionen bei Milchvieh nicht ausreichend erkannt werden und somit die Prävalenz falsch eingeschätzt wird (KALTENBOECK et al. 2005).

Der **direkte Nachweis des Antigens** (Immunfluoreszenz, ELISA) wird wegen der geringen Sensitivität und Spezifität vom Robert Koch Institut nicht empfohlen. Methodische Vergleiche haben auch bislang bestätigt, dass Antigennachweise über ELISA bei Proben vom Rind oftmals falsch positiv sind (PETER et al. 1987).

Der **direkte Nachweis erregerspezifischer DNA-Sequenzen** mittels PCR (Polymerasekettenreaktion) kann dagegen speziesspezifisch und potenziell hoch sensitiv durchgeführt werden. Entsprechende PCR-Verfahren sind publiziert (u.a. KALTENBOECK et al. 1992) und lassen auch eine Differenzierung der einzelnen Subspezies zu (u.a. KALTENBOECK et al. 1992, DEGRAVES et al. 2003 a). Bei positiven Befunden können aber keine Aussagen über die Lebensfähigkeit und Infektionstüchtigkeit der Erreger gemacht werden, nachdem die Erreger auch nicht kontinuierlich ausgeschieden werden, ist (wie beim Kulturverfahren) ggf. wiederholt zu beproben. Die publizierten PCR-Verfahren nutzen definierte

Zielbereiche des Chlamyophila-Genoms: die ribosomale RNA-Gen-Region oder die des omp1 Gens, wobei letztere Sequenz etwas weniger sensitiver arbeiten soll (DEGRAVES et al. 2003b). Mit Anwendung der real-time PCR-Technologie kann der Nachweis nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ erfolgen. Eine Spezifizierung der einzelnen Chlamyophila-Arten ist mit einer sogenannten nested PCR möglich: hier wird zunächst eine Spezies-übergreifende Chlamyophila-spezifische Sequenz des omp1 Gens amplifiziert, aus der dann in einer zweiten PCR-Runde mit spezies-spezifischen Primern die jeweils typischen Sequenzen amplifiziert werden können (SACHSE & HOTZEL 2003). Inzwischen ist auch schon ein Microarray-Verfahren (SACHSE et al. 2005) etabliert, das den direkten, speziesspezifischen Nachweis erlaubt und seit einigen Monaten kommerziell erhältlich ist.

Als **Probenmaterial** können sowohl Tupferproben aus Nase, Augen, Rektum, Cervix, oder Vagina genommen werden. Ebenso kann der Erreger aus Milch, Kot, Plazenta oder Organen nachgewiesen werden. Nach HOTZEL et al. (1996) sind Tupferproben am Besten geeignet, weil die Aufbereitung einfacher und schneller ist, da sie nicht über ein Kitsystem erfolgen muss. Dabei stellten JEE et al. (2004) die höchste Sensitivität bei Vaginaltupfern im Vergleich zu Rektal- und Augentupfern fest. Auch SCHACHTER (1999) hatte die höchste Sensitivität bei Vaginaltupfern (92-93 %).

#### 1.4 Bekannte Häufigkeiten von Chlamydieninfektionen beim Rind

Chlamydien gehören zu den am weitesten verbreiteten und erfolgreichsten Infektionserregern unter den Bakterien (ANDERSEN 2004). In den folgenden internationalen Untersuchungen an Milchkühen wurde eine hohe Prävalenz von Chlamydieninfektionen oder von Antikörpern gegen Chlamydien bei Kühen mit Abort ermittelt:

CAVIRANI et al. (2001) untersuchten 671 Milchkühe in Norditalien, die alle zwischen Januar 1998 und 2000 einen Abort hatten. Von diesen Kühen wurde innerhalb der ersten Woche nach der Kalbung eine Serumprobe gezogen, die auf Chlamydien-Antikörper untersucht wurden. Dabei wurde eine 45 %ige Seroprävalenz von *Chlamydomphila psittaci* festgestellt. Als Kontrolle dienten Seren von 600 Milchkühen, die keinen Abort hatten, aus dem gleichen Zeitraum und demselben Gebiet. Diese wiesen eine Seroprävalenz 24 % auf.

WANG et al. (2001) untersuchten in Thailand Serumproben von 63 Milchkühen mit Abort und 31 von gesunden Kühen. Bei 71 % der Kühe mit Abort war der serologische Antikörpernachweis gegen *C. abortus* positiv, bei den Kontrollkühen waren es 51 %. Der

PCR-Nachweis aus Vaginaltupfern war hingegen bei 35 % der Abortkühe und bei 45 % der Kontrollkühe positiv.

JEE et al. (2004) untersuchten 40 Holstein Kühe und 41 Holstein Kälber einer Herde in Alabama, USA über 40 Wochen lang ab der ersten Woche postpartum bis zur zwölften Woche postpartum jeweils einmal wöchentlich. Von den Kühen wurden Vaginaltupfer, Blut- und Milchproben entnommen, von den Kälbern Nasen-, Rektal-, Vaginaltupfer und Blutproben. Eine Prävalenz von 61 % bei den Kälbern und 20 % bei den Kühen wurde mittels real-time-PCR festgestellt. Dabei galt ein Tier als positiv, sobald eine der untersuchten Proben in der real-time-PCR positiv reagierte. Sowohl bei den Kälbern als auch bei den Kühen konnten *Chlamydophila abortus* und *Chlamydophila pecorum* als Spezies festgestellt werden, wobei die Prävalenz von *Chlamydophila pecorum* bei Kälbern fünfmal höher lag, als *Chlamydophila abortus*. Bei den Kühen hingegen herrschte *Chlamydophila abortus* vor, welche als einzige Spezies in Milchproben nachgewiesen wurde.

Aus dem deutschen Bundesgebiet sind folgende Untersuchungen über die Verbreitung und die Häufigkeit von Chlamydien/-infektionen bekannt:

STING (1997) entnahm insgesamt 617 Genitaltupfer von Kühen aus 123 Betrieben mit Fruchtbarkeitsstörungen im nördlichen Baden-Württemberg. In 33 % der Genitaltupfer (= 206 Kühe in 87 Betrieben) war das *Chlamydophila psittaci*-Antigen mittels ELISA nachweisbar. Des Weiteren konnte bei 300 Kühen (40 %) in 81 Betrieben (91 %) mittels eines selbsthergestellten ELISA-Testsystems Antikörper gegen Chlamydien ermittelt werden.

Im Rahmen der Studie von ABD EL-RAHIM (2002) wurden 240 Tiere aus insgesamt 20 Zuchtbetrieben in Norddeutschland untersucht. Bei 47 Tieren in 18 der 20 Betriebe konnten Antikörper gegen Chlamydien nachgewiesen werden.

WEHREND und Mitautoren haben von 2000 bis 2002 445 Milchkühe mit Fruchtbarkeitsstörungen in 34 Betrieben in Hessen untersucht (WEHREND et al. 2005). Unter anderem konnten sie mittels ELISA bei 185 Kühen (41,5 % der untersuchten Kühe) Chlamydienantikörper nachweisen und bei 208 Kühen (46,5 %) Chlamydienantigene (mittels Capture-ELISA) im Vaginalsekret.

Die genannten Untersuchungen aus verschiedenen Regionen in Deutschland haben gemein, dass zum einen ELISA-Testsysteme angewendet wurden und zum anderen eine Vorauswahl der zu untersuchenden Betriebe bzw. Kühe nach entsprechenden Vorberichten erfolgt ist.

In Nordrhein-Westfalen wurden im Rahmen eines Monitorings die Verbreitung und die klinische Bedeutung von pneumophilen bakteriellen Infektionserregern bei jungen, unbehandelten Kälbern flächendeckend im Land NRW untersucht (HOLLBERG et al. 2005, HEIMBERG et al. 2006):

Dabei wurden bei 975 Kälbern im Alter von bis zu 8 Wochen, die aus 97 Betrieben stammten, Nasen- und Augentupfer entnommen, die mittels real-time-PCR zur Chlamydienquantifizierung genutzt wurden. Zusätzlich erfolgte vor der Beprobung eine klinische Untersuchung, bei der die Körpertemperatur rektal gemessen und auch die Atmung, sowie das Nasensekret beurteilt wurde. Des Weiteren wurden die Kälber auf *Mannheimia haemolytica* und *Pasteurella multocida* untersucht. Bei 127 Kälbern konnten anhand des Nasentupfers und bei 103 Kälbern anhand des Augentupfers Chlamydien nachgewiesen werden. Das entspricht 13 % der untersuchten Kälber bei den Nasentupfern und 10,6 % bei den Augentupfern. Die Prävalenz bezogen auf die Betriebe liegt jedoch bei 60,8 %. Daraufhin sprechen die Autoren bei Chlamydien von ubiquitär vorkommenden Keimen. Außerdem stellten sie trotz der hohen Zahl von Erregernachweisen (503 Kälber gesamt mit positiven Erregernachweisen) fest, dass nur bei 172 Kälbern klinische Symptome auftraten. So hatten nur 68 Kälber erhöhte Körpertemperatur (über 39,4°C). Bakterielle Mischinfektionen traten selten auf, wobei der gleichzeitige Nachweis von *P. multocida* und Chlamydien am häufigsten gelang (3,8 %). (HOLLBERG et al. 2005, HEIMBERG et al. 2006)

Auch VOGEL und Mitautoren (2006) wiesen direkt die *Chlamydophila*-Erreger mittels Polymerase-Kettenreaktion nach. Ihr Ziel war es unter anderem, die Ergebnisse in den verschiedenen Körperflüssigkeiten (Augensekret, Nasensekret, Vaginalsekret und Milch) zu vergleichen. Sie kamen nach der Untersuchung von 45 Milchkühen aus 14 Betrieben in NRW zu dem Ergebnis, dass mittels des Augentupfers 11 % der Kühe einen positiven Befund aufwiesen, mittels des Nasentupfer 13 %, mittels des Vaginaltupfers 18 % und in der Milch 12 % der Kühe. Auch aus dieser Studie kann aufgrund der im Vordergrund stehenden Fragestellung und der damit verbundenen Vorauswahl der Betriebe keine Aussage über die Verbreitung von *Chlamydophila*-Erregern in einer bestimmten Region getroffen werden.

## 1.5 Übertragungswege für Chlamydieninfektionen

WITTENBRINK et al. (1993) konnten durch Erregeranzüchtung aus 190 Rinderkotproben bei 22,1 % der Tiere inapparente Darminfektionen nachweisen. Diese Tiere stellen eine ständige Infektionsquelle dar, da sie über Monate bis Jahre Chlamydien mit dem Kot ausscheiden. Die fäkal-orale Übertragung wird deshalb als ein wesentlicher Infektionsweg von Chlamydien angesehen (GERBERMANN 1991; WITTENBRINK et al. 1988). Nach WITTENBRINK und Mitautoren (1988) stellt des Weiteren der Deckakt bzw. der Akt der Besamung einen Übertragungsweg dar. JEE und Mitautoren (2004) stellen fest, dass die Größe der Herde und

der Kontakt von Tier zu Tier ebenfalls Einfluss auf die Transmissionsfrequenz haben kann. So ist nach ihrer Ansicht die Übertragungsrate höher in großen Herden sowie bei Gruppenhaltung mit mehreren Tieren. Da Chlamydien im Hoden sowie in der Präputialschleimhaut von Bullen vorkommen und der Erreger aus Sperma von Besamungsbullen isoliert werden konnte, erscheint eine venerische Übertragung nicht ausgeschlossen (PEREZ-MARTINEZ & STORZ 1985).

Grundsätzlich ist beim Rind die orale, aerogene, genitale, laktogene und konjunktivale Übertragung von Chlamydien beschrieben (HORSCH 1980). HORSCH (1980) führt für große Rinderbestände folgende Bedingungen auf, die eine Ausbreitung begünstigen:

- Haltungshygienische Faktoren: Mängel im Stallklima, Staubansammlungen, günstige Bedingungen für Aerosolbildung, überbelegte Buchten, An- und Austrocknungsmöglichkeiten für Kot- und Urinreste sowie Ansammlung von Exkrementen
- Technologische Bedingungen: Zuführen großer Tierzahlen aus vielen verschiedenen Beständen zur Reproduktion, das Nichtvorhandensein von Möglichkeiten zur Separierung erkrankter oder abwehrgeschädigter Tiere, unzureichende Maßnahmen in der Serviceperiode, Verletzung des Rein-Raus-Prinzips, reduziertes Tier-Freßplatz-Verhältnis, anbindelose Haltung in Großbuchten und keine Unterteilungsmöglichkeiten in geschlossenen Tiergruppen
- Mangelernährungszustände, hohe Leistungsanforderungen und immunsuppressive Einflüsse

Das unterstreicht die Schlussfolgerung von WEHREND et al. (2005), wonach Chlamydieninfektionen als multifaktorielles Krankheitsgeschehen zu sehen sind. Sie gehen davon aus, dass es bei der Behandlung von Chlamydieninfektionen wichtiger ist, die Risikofaktoren mittels entsprechender Managementmaßnahmen zu minimieren, als die Tiere antibiotisch zu behandeln und/oder zu impfen (WEHREND et al. 2005)

## 1.6 Problemstellung in Nordrhein-Westfalen (NRW)

Im Bereich der Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen wird seit Mitte der 90-er Jahre in einer zunehmenden Zahl von Milchviehbetrieben ein Krankheitsbild beobachtet, das vorher in dieser ausgeprägten Form nicht bekannt war. Im Vordergrund stehen grippeartige Symptome, gehäufte Totgeburten oder die Geburt lebensschwacher Kälber sowie puerperale Störungen. Die Fruchtbarkeitsleistung im Betrieb geht mehr und mehr zurück und kann existenzbedrohende Ausmaße annehmen (HOLLBERG 2002). Gleichzeitig existieren in betroffenen Beständen nicht erklärbare Probleme mit der Milchzellzahl und Leistungsdepressionen. Als in Zusammenhang mit diesem Krankheitsgeschehen stehende Erreger konnten schließlich Chlamydien identifiziert werden.

Die in Kapitel 1.4 aufgeführten Daten zum Vorkommen der Keime in Rinderbeständen deuten auf eine erhöhte Prävalenz hin – aufgrund der Symptomatik besonders in Problembetrieben. Zur genaueren Einschätzung der Erregerhäufigkeit waren daher epidemiologische Studien in Problembeständen in NRW erforderlich.

## 1.7 Zielsetzungen des Projektes – einschließlich Umstrukturierungen

Das Forschungsprojekt trägt zur Aufklärung der Verbreitung von Chlamydien-assoziierten Erkrankungen bei Milchvieh bei. Die Unzulänglichkeit bisheriger, konventioneller Nachweismethoden der Chlamydienerreger lässt vermuten, dass ältere Angaben über ihre Auftretenshäufigkeit nicht der tatsächlichen Häufigkeit entsprechen. Im Vergleich zu den bisher angewandten kulturellen oder serologischen Nachweismethoden sind die Sensitivität und die Spezifität des direkten Erregernachweises mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) höher anzusetzen.

Im Rahmen des Forschungsprojektes wurden folgende Ziele verfolgt:

- Stufe I: Ermittlung der *Chlamydophila*-Prävalenz in Milchviehbetrieben für NRW
- Stufe II: Entwicklung einer Checkliste zur systematischen Erfassung der betriebsindividuellen Faktoren und Kennziffern, welches eine Vorhersage, ein Screening im Bezug auf die Gefährdung durch *Chlamydophila spp.* ermöglicht

Die Ermittlung der *Chlamydophila*-Prävalenz in NRW (Stufe I) erfolgte auf der Basis einer repräsentativen Stichprobe von 100 Milchviehbetrieben aus der Gesamtheit aller Milchviehbetriebe in NRW (Stand 2005 von der Arbeitsgemeinschaft Deutscher Rinderzüchter e.V. (ADR): 6.557 Milchviehbetriebe).

Auf der Basis dieser Ergebnisse der Stufe I erfolgte im Anschluss an die Beprobung der Tiere und der PCR-Analyse die Zusammenstellung und Verrechnung der betriebsindividuellen Faktoren, Kennziffern etc. (Stufe II). Das endgültige Ziel der Stufe II war eine Checkliste mit verschiedenen Risikofaktoren, welche mit relativ geringem Aufwand (zeitlich und finanziell) in einem Betrieb, dessen Chlamydienstatus nicht bekannt ist, erhoben und zur Einstufung im Hinblick auf die Chlamydiengefährdung führen kann. Nach Auswertung der betriebsindividuellen Angaben wäre dann zum einen die Vorhersage der Gefährdung oder Nicht-Gefährdung durch Chlamydien möglich. Zum anderen sind damit die wichtigsten Risikofaktoren für die Chlamydieninfektion innerhalb eines Betriebes und zwischen Betrieben bekannt und können in die Betriebsberatung/-betreuung mit aufgenommen werden.

In der letzten Projektphase lag der Schwerpunkt auf den Daten, welche eine Beschreibung/Erfassung der gesundheitlichen Situation in den Betrieben ermöglichen. Zunächst war angedacht, von den 100 beprobten Milchviehbetrieben nur 15 Betriebe intensiver in Zusammenarbeit mit dem betreuenden Hoftierärzten zu analysieren (einschließlich erneuter Probenentnahme an 10 Kühen zur Erfassung des aktuellen Chlamydienstatus). Im Laufe der detaillierten Planung dieser Vorgehensweise und insbesondere den ersten Analysen wurde deutlich, dass Aufwand und Nutzen aber in keinem vertretbaren Verhältnis standen.

Dieses wird an folgendem Beispiel deutlich: um die eutergesundheitliche Situation in einem Betrieb zu erfassen, wurden folgende Parameter in enger Zusammenarbeit im einem Hoftierarzt von einigen Betrieben erhoben: Mastitisbehandlungen pro Kuh und Jahr, Anteil mastitisbehandelter Tiere pro Jahr, Anteil bakteriologischer Untersuchungen (BU) bei Behandlung sowie die jeweiligen Ergebnisse der BU. Pro Betrieb bedeutete allein die Datenaufnahme ein Aufwand von ca. 20 Stunden zuzüglich der erneuten Probenentnahme und der Probenanalyse. Während der gleichzeitig laufenden Auswertung der betrieblichen Daten von Stufe I, d.h. von insgesamt 100 Betrieben mit dem jeweiligen Chlamydienstatus wurde deutlich, dass eine Verfeinerung dieses Datensatzes von größerem Nutzen für die Ermittlung einer Checkliste zur betriebsindividuellen Vorhersage des Chlamydienstatus ist.

Das abgeschlossene Forschungsprojekt trägt - durch entsprechende Veröffentlichungen - bei:

- zur Aufklärung der Verbreitung von Chlamydien-assoziierten Erkrankungen bei Milchvieh in NRW,
- zum Wissen um die betriebsindividuellen Risikofaktoren und Kennziffern sowie
- zur Minimierung der Übertragung von *Chlamydophila spp.* innerhalb von und zwischen Milchviehbetrieben.

## **2 Material und Methode**

### **2.1 Auswahl der Milchviehbetriebe**

Zu Projektbeginn waren in NRW im Rahmen der Milchleistungsprüfung 315.855 Milchkühe in 6.557 Betrieben registriert (Stand: 2005). Wenn 100 Milchviehbetriebe zufällig und ohne Vorselektion ausgewählt werden, stellen sie eine repräsentative Stichprobe aus insgesamt 6.557 Betrieben dar.

Die Auswahl der Betriebe erfolgte in enger Zusammenarbeit mit den Beratern der Milchvieh-Arbeitskreise der Landwirtschaftskammer NRW, dem Landeskontrollverband NRW e.V. und dem Tiergesundheitsdienst der Landwirtschaftskammer NRW.

Folgende Bedingungen lagen bei der Auswahl der 100 Betriebe vor:

- Die Betriebe nehmen an der (freiwilligen) Milchleistungsprüfung (MLP) teil, um die monatlichen Einzeltier- und Herdendaten mit einbeziehen zu können.
- Die Verteilung der auszuwählenden Betriebe orientiert sich an der Verteilung der Kühe in den 32 Landkreisen entsprechend der Datenbank des Landeskontrollverbandes NRW e.V. (siehe Tabelle 1).
- Innerhalb eines Landkreises muss die Wahl der Betriebe zufällig erfolgen (unabhängig von Betriebsgröße, Krankheitserscheinungen, Bekanntheitsgrad etc.)

Die Auswahl der Betriebe konnte im Oktober 2005 abgeschlossen werden.

**Tab. 1: Verteilung der MLP-Kühe in den 32 NRW-Landkreisen und entsprechende Anzahl zu beprobender Betriebe**

Landkreis	Anzahl MLP-Betriebe	MLP - Kühe	Anteil Kühe je Landkreis (%)	Anzahl zu beprobender MLP-Betriebe
Aachen	163	10.276	3,25	3
Borken	701	31.635	10,02	10
Coesfeld	225	9.807	3,10	3
Düren	121	5.479	1,73	2
Ennepe-Ruhr	66	3.344	1,06	1
Euskirchen	226	10.117	3,20	3
Gütersloh	291	13.135	4,16	4
Heinsberg	213	11.324	3,59	4
Herford-Bielefeld	52	2.337	0,74	1
Hochsauerland	304	14.941	4,73	5
Höxter	165	6.621	2,10	2
Kleve	577	39.172	12,40	12
Lippe	100	4.673	1,48	1
Märkischer Kreis	145	8.536	2,70	3
Mettman	60	2.713	0,86	1
Minden-Lübbecke	222	9.306	2,95	3
Münster	41	1.784	0,56	1
Neuss	85	3.424	1,08	1
Oberberg	265	15.348	4,86	5
Olpe	76	3.548	1,12	1
Paderborn	241	8.615	2,73	3
Recklinghausen	104	6.624	2,10	2
Rhein-Berg	119	6.458	2,04	2
Rhein-Erft	16	714	0,23	0
Rhein-Sieg	194	10.243	3,24	3
Ruhr-Lippe	119	4.071	1,29	1
Siegen-Wittgenstein	90	2.972	0,94	1
Soest	228	8.104	2,57	3
Steinfurt	385	15.013	4,75	5
Viersen	231	13.242	4,19	4
Warendorf	347	11.946	3,78	4
Wesel	385	20.333	6,44	6
<b>Summe</b>	<b>6.557 Betriebe</b>	<b>315.855 Kühe</b>	<b>100 %</b>	<b>100 Betriebe</b>

Die Herden der 100 zufällig ausgewählten Betriebe umfassten durchschnittlich 84 Kühe ( $\pm 39$  Kühe) mit einer durchschnittlichen 365-Tage-Leistung von 8.882 kg Milch ( $\pm 825$ ) mit 4,24 % Fett ( $\pm 0,23$ ) und 3,33 % Eiweiß ( $\pm 0,12$ ). Das arithmetische Mittel der logarithmierten Zellzahl liegt bei 5,35 log Zellzahl/mL Milch  $\pm 0,13$  log Zellzahl/mL Milch (entspricht einem

geometrischen Mittel von 224 Tausend Zellen/mL Milch). Die durchschnittliche Laktationsanzahl pro Betrieb liegt bei  $2,6 \pm 0,51$  pro Kuh. Folgende Fruchtbarkeitskennzahlen hatten die Betriebe im Durchschnitt:

**Tab. 2: Mittlere Fruchtbarkeitskennzahlen ( $\pm$  SD) in den beprobten Betrieben**

Besamungsindex:	$1,9 \pm 0,28$
Rastzeit (Tage):	$95 \pm 12$
Güstzeit (Tage):	$130 \pm 18$
Remontierungsrate (%):	$27,7 \pm 5,4$

Von den 100 Betrieben wurden 17 Betriebe ökologisch bewirtschaftet. In 13 Betriebe wurden bereits in den vergangenen Jahren Impfungen (Impfstoff Firma Pfizer, Karlsruhe) gegen Chlamydien durchgeführt.

## 2.2 Betriebsbesuche und Probennahme

Die 100 ausgewählten Betriebe wurden in der Zeit von Oktober 2005 bis März 2007 aufgesucht. Der ursprüngliche Zeitplan entsprechend dem Forschungsantrag (Beendigung der Probenentnahme Mitte 2006) konnte aus folgenden Gründen nicht eingehalten werden: durchschnittlich konnten pro Woche nur 4 Betriebe zur Probenziehung und Datenaufnahme besucht werden. Dieser geringe Durchschnitt ergab sich im Laufe der Probennahme:

- aufgrund der Notwendigkeit der unmittelbaren Aufbereitung der Proben im eigenen Labor (PCR-Analyse) sowie in dem Labor des Tiergesundheitsdienstes (bakteriologische Untersuchung),
- aufgrund der terminlichen Möglichkeiten der Betriebsleiter in Verbindung mit den jeweiligen Entfernungen und
- wegen der Sperrmaßnahmen im Zusammenhang mit der Blauzungenkrankheit (BTD).

Während eines jeden Betriebsbesuchs wurden pro Betrieb 10 % der Herde beprobt, aber mindestens 10 Kühe. Die zu beprobenden Kühe sollten in der Früh-laktation sein, da während der Wochen und Monate nach der Kalbung die Wahrscheinlichkeit für Erkrankungen höher ist (GOFF & HORST 1997). Die ausgewählten Tiere wurden durchschnittlich am 72. Laktationstag beprobt ( $\pm$  55 Tage).

Entgegen der angedachten Vorgehensweise im Antrag des Forschungsvorhabens von 2005 wurde letztendlich als Probenart der Vaginaltupfer (und nicht Milchproben) festgelegt (siehe

Zwischenbericht von 2006). Vaginalsekret-Tupferproben weisen Vorteile gegenüber Milchproben auf: Zum einen muss die Probenentnahme nicht während der Melkzeiten des Betriebes erfolgen, zum anderen ist die Wahrscheinlichkeit höher, im Vaginalsekret Chlamydien zu finden (HOTZEL et al. 1996, VOGEL et al. 2006). Zusätzlich ist die Probenaufbereitung des Vaginalsekrets günstiger und schneller als die der Milchproben. Aus diesem Grund wurde aus dem Projekttitle der Teil „... über den direkten Nachweis des Erregers in Milch“ gestrichen.

Von jedem ausgewählten Tier wurden Vaginaltupfer genommen, dabei wurden zur Beprobung der Kühe Tupfer, die in ein Probenröhrchen integriert sind (Salivette, der Firma Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland verwendet. Pro Kuh wurde ein Tupfer zur Chlamydienidentifizierung verwendet. Dieser wurde mit einer Arterienklemme nach Kocher (gerade, 14cm, Heiland, Wien, Österreich) aus dem Probenröhrchen genommen und in die Vagina eingeführt, um den Abstrich zu gewinnen. Dabei wurden die Schamlippen mit der einen Hand gespreizt und der Tupfer mit der anderen Hand eingeführt. Zusätzlich wurde der Schwanz der Kuh von einer weiteren Person außen festgehalten. Die beprobten Tiere waren im Fressgitter arretiert. Für jede Tupferprobenentnahme wurde eine frisch desinfizierte Arterienklemme verwendet.

Die für den direkten Nachweis der Erreger-DNA nötigen Techniken waren am Institut für Tierwissenschaften (ITW), Universität Bonn, Abteilung Physiologie und Hygiene bereits etabliert, mit Hilfe der Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere (BFAV), Standort Jena, Dr. Sachse, wurden die für den Nachweis von Chlamydia nötigen spezifischen Arbeitsweisen der Probenaufbereitung und des Nachweises eingeführt und stehen nun auch im Sinne des Wissenstransfers dem Tiergesundheitsdienst der Landwirtschaftskammer NRW in der Kooperation zur Verfügung.

Nachweis und Quantifizierung der Chlamydien insgesamt erfolgen mittels der real-time PCR. Die Identifizierung der jeweiligen Spezies erfolgt mit Hilfe einer nested PCR und wurde im Rahmen einer Diplomarbeit durchgeführt. Dieses an der BFAV entwickelte Verfahren wurde ebenfalls im ITW Spezies-spezifisch etabliert. Somit werden alle positiven Proben identifiziert.

Die bakteriologische Analyse eines zweiten Vaginaltupfers von insgesamt 544 Kühen (51 % der beprobten Kühe) aus 51 Betrieben erfolgte im Labor des Tiergesundheitsdienst der Landwirtschaftskammer NRW entsprechend dem Runderlass des Ministeriums für Umwelt, Raumordnung und Landwirtschaft v. 19.11.1999 - I B 3 - 01.43 - SMBl. NRW. 2125.

Des Weiteren wurden während des Betriebsbesuches ein Fragebogen ausgefüllt, welcher Daten des jeweiligen Betriebes und der beprobten Kühe enthielt. Mit Hilfe des Fragebogens konnten unter anderem die Haltungsbedingungen, Fütterungsbedingungen, Zukäufe etc. festgehalten werden (siehe Kapitel 2.5). Die Auswertung dieser Erhebungen erfolgte in der Stufe II des Projektes.

### 2.3 PCR-Methoden

Alle Proben wurden zunächst mittels real-time PCR genus-spezifisch (äußere Primer) auf *Chlamydophila* spp. getestet. Im Falle positiver Nachweise dient das erhaltene PCR-Produkt als Matrix für die zweite Runde, die Spezies-spezifische PCR (innere Primer). Das Verfahren ist bei KALTENBOECK et al. (1997) beschrieben. Um die Amplifikate aus den Spezies-spezifischen PCRs sichtbar zu machen, wurden diese zusammen mit einem DNA-Größenmarker in einem Agarosegel elektrophoretisch getrennt, mit Ethidiumbromid gefärbt und mittels des „Vista FlourImager SI“ ausgewertet.

### 2.4 Erfassung der Milchleistungsprüfungsdaten

Mit Zustimmung der Betriebsleiter wurden während der Betriebsbesuche folgende Daten und Ergebnisse der Milchleistungsprüfung (MLP) erfasst:

- **Betriebsdaten** entsprechend dem jeweils letzten MLP-Jahresbericht:
  - Kuhzahl
  - Milchleistungskennziffern: durchschnittliche 305-Tage-Leistung, Fett- und Eiweiß-Gehalt, durchschnittliche Zellzahl, durchschnittliche Anzahl der Laktationen
  - Fruchtbarkeitskennziffern: Remontierungsrate, Besamungsindex, Rastzeit, Gützeit
- Daten der beprobten **Einzeltiere** entsprechend dem letzten MLP-Jahresbericht bzw. der letzten 12 MLP-Monatsberichten
  - Laktationsnummer, Laktationstag
  - Milchleistung: durchschnittliche 305-Tage Leistung, Fett, Eiweiß, Zellzahl
  - Letzte Kalbung: Datum (Ist- und Soll-Datum), Geburtsverlauf, Geburtshilfe, , Nachbehandlung, Anzahl Belegungen für letzte Kalbung, Anteil

Kälbersterblichkeit (zwischen 27. Trächtigswoche und 7 Tage p.p.), Aborte (nach positiver Trächtigsuntersuchung bis 27. Trächtigswoche)

## 2.5 Erfassung der betrieblichen Gegebenheiten und verschiedener Gesundheitsdaten

Mit einer Frage- und Beobachtungsliste wurden verschiedene Gegebenheiten innerhalb der Milchviehbetriebe erfasst – im Bezug auf:

- Haltung
- Besamung
- Kalbung
- Reinigung und Sauberkeit – im Stall und am Tier
- Impfungen
- Sonstiges

Die Liste setzte sich zusammen aus Fragen an den Betriebsleiter (z.B. Häufigkeit der Reinigung, Zukauf von Tieren, Kälbersterblichkeit) und aus Beobachtungsdaten (z.B. Sauberkeit der Tiere, Sauberkeit der Boxen, Aussehen der Gelenke), welche von der Mitarbeiterin im Forschungsprojekts, Frau Kemmerling, selbstständig aufgenommen wurden, wobei sie den jeweiligen Betriebsleiter über den Inhalt der Beobachtungsdaten informierte.

Die Fragen und Beobachtungsdaten beziehen sich – neben einigen beschreibenden Daten – im Wesentlichen auf mögliche Übertragungswege sowie Risikofaktoren für Chlamydien-Infektionen (siehe Kapitel 1.5) sowie die jeweiligen erforderlichen Begleitinformationen. Sie sind so ausgewählt, dass sie ohne technische Hilfsmittel und damit von Personen ohne Expertenwissen erfasst werden können. Dennoch ist in dem Zusammenhang die hohe Qualität und Gleichmäßigkeit der Daten hervorzuheben aufgrund der Vorkenntnisse der Mitarbeiterin.

Die Antworten der Fragen wurden codiert pro Betrieb erfasst. Neben reinen Ja-Nein-Antworten (z.B. auf die Frage nach der Anwendung von künstlicher Besamung oder von Impfungen gegen Chlamydien) wurde bei Häufigkeitsangaben (z.B. auf die Frage nach Aborten oder nach zu frühen Kalbungen) ein Häufigkeitsschema von 1 bis 4 vorgegeben (1 = < 2 % der Tiere, 2 = 2-10 % der Tiere, 3 = > 10 % der Tiere, 4 = keine Angabe). Bei Beobachtungsdaten (z.B. Sauberkeit der Kühe oder Aussehen der Gelenke) stand ein Werteschema von 1 bis 6 entsprechend dem deutschen Schulnoten-System für die Bewertung der Herde als Gesamteindruck zur Verfügung. Die Antworten auf die übrigen Fragen wurden entsprechend der Möglichkeiten codiert: Art der Boxen, Häufigkeit der Futtertischreinigung etc.

Bei den folgenden Fragen wurden die Antworten in mehr als eine Antwortvariable eingeteilt:

Ort der Abkalbung: 1. Abkalbebox – keine Abkalbebox

2. Einzel-Abkalbebox – Gruppen-Abkalbebox – keine Abkalbebox

3. Einzel-Abkalbung – Gruppen-Abkalbung (in Bucht oder in der Herde)

Zukauf: 1. Ja (einschließlich Deckbulle) – Nein

2. Ja – Nein – nur Deckbulle

Neben der Auswertung der Daten zur Beschreibung der betrieblichen Gegebenheiten lag ein weiterer Schwerpunkt während der Stufe II auf der Auswertung von zur Verfügung stehenden Gesundheitsdaten. Wie bei vielen Infektionskrankheiten stellt die gesundheitliche Situation einer Herde einen entscheidenden Faktor für die Infektion dar. Da das Ziel von Stufe II eine Checkliste war, welche mit geringem Aufwand zu bearbeiten sein sollte, wurden kurzfristig zu erhebende Parameter gesucht zur Beschreibung der Fruchtbarkeit, der Eutergesundheit, der Stoffwechselsituation sowie der Fundamentstabilität.

Nach ersten Gesprächen mit betreuenden Hoftierärzten wurden Kennziffern zur Beschreibung des Stoffwechsels ausgeschlossen, da das Erkennen und die Diagnose von Stoffwechselstörungen am deutlichsten von dem Know-How des Betriebsleiters abhängt und somit keine Vergleichbarkeit besteht.

Als wichtigste Kennziffern zur Beschreibung der Eutergesundheit lag durch die Milchleistungsprüfung der Zellgehalt sowohl auf Betriebsebene als auch auf Einzeltierebene vor. Diese Daten sollten mit Erkrankungs- und Behandlungsdaten aus der Datenbank des Tierarztes erweitert werden. Wie bereits in Kapitel 1.7 beschrieben, wurde dieses nach der Auswertung weniger Betriebe bzw. der jeweiligen Daten abgebrochen, da diese Datensätze aufgrund des hohen zeitlichen Aufwandes für die Erhebung für die endgültige Checkliste nicht geeignet waren.

Zur Beschreibung des Fundaments wurden die folgenden Beobachtungsdaten, welche in den 100 Betrieben während des Betriebsbesuches erhoben worden waren, mit in die statistische Analyse zur Erarbeitung der Checkliste aufgenommen (siehe Tabelle 16 im Anhang):

- Aussehen der Gelenke: Werteschema 1-6 (entsprechend des deutschen Schulnotensystems); 1 = flaches Gelenk, nicht gefüllt, keine fehlenden Haare oder Abschürfungen; 6 = offene Wunden an Gelenken, beulenartige Schwellungen bzw. Entzündungen
- Aussehen der Klauen: Werteschema 1-6 (entsprechend des deutschen Schulnotensystems); 1 = gepflegte Klauen, hohe Trachten, keine Zwischenklauen oder Mortelaro; 6 = Klauen zu lang, ungepflegt, starke Erkrankungen

- Aussehen des Fundaments: Werteschema 1-6 (entsprechend des deutschen Schulnotensystems); 1 = keine Lahmheiten, Bewegungsablauf bzw. „Lokomotion“ insgesamt gut; 6 = schlechter Bewegungsablauf, kaum Vorwärtkommen, keine „richtige“ Haltung

Zur Beschreibung der Fruchtbarkeitssituation standen sowohl die MLP-Daten (der jeweils letzte Jahresbericht sowie die letzten 12 MLP-Monatsberichte) als auch die Angaben der Betriebsleiter zur Verfügung (siehe Tabelle 16 im Anhang). Diese Angaben bezogen sich ebenfalls auf den Zeitraum der letzten Laktation oder der vergangenen 12 Monate.

Der vollständige Datenbogen, d.h. die Fragen mit den jeweiligen Antwortkategorien, ist im Anhang in den Tabelle 16 zu finden.

## 2.6 Auswertung

Die Auswertung der PCR-Analyse-Daten, der MLP-Daten sowie der betrieblichen Gegebenheiten erfolgte mit Hilfe der Programme Microsoft Office Excel 2003 und SPSS 15.0.

Die Überprüfung der relevanten Variablen (MLP-Daten, Beobachtungsdaten und Antworten) im Verhältnis zu den Analyseergebnissen der Einzeltiere (*Chlamydophila* spp. positiv oder negativ) und zur Einstufung der Betriebe in „*Chlamydophila* spp. positiv“ (bei mind. einer Kuh mit *Chlamydophila* spp. positivem Testergebnis) und „*Chlamydophila* spp. negativ“ (bei keiner Kuh mit *Chlamydophila* spp. positivem Testergebnis) erfolgte mit Hilfe des  $\chi^2$  Tests nach Pearson bzw. des Student-Fischer t-Tests bei metrischen Variablen. Als nichtparametrische Analyseverfahren kamen der Mann-Whitney-Test und der Kruskal-Wallis-Test zum Einsatz. Zur Analyse des Zusammenhanges zwischen Variablen wurden Korrelationskoeffizienten nach Pearson sowie Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman (bei ordinalskalierten Variablen) ermittelt.

Das Signifikanz-Niveau lag bei  $p \leq 0,05$ . Bei Mehrfachvergleichen wurde für das Signifikanz-Niveau die Alpha-Korrektur nach Bonferroni angewendet ( $p = 0,05$ : Anzahl der Vergleichsgruppen).

Zur Ermittlung der Checkliste mit den relevanten Risikofaktoren für einen Milchviehbetrieb zur Vorhersage der Gefährdung für eine *Chlamydophila*-Infektion wurde wie folgt bei den betrieblichen Daten vorgegangen:

1. Aufnahme der Variablen in die folgende multivariate Analyse sofern bei univariater Analyse (s.o.)  $p \leq 0,05$ .
2. Ermittlung der Korrelationskoeffizienten zwischen „ähnlichen“ Variablen, welche signifikant je nach Einstufung der Betriebe verschieden waren (z.B. Rast- und Gützeit). Bei einem Korrelationskoeffizienten von  $r \geq 0,8$  wurde die Variablen bei den folgenden Auswertungsschritten alternativ verwandt und nicht gleichzeitig.
3. Berechnung mehrerer logistische Regressions-Modelle mit verschiedenen Kombinationen der ausgewählten Variablen sowie eine anschließende Diskriminanzanalyse zur Ermittlung der Variablen-Kombination mit den besten Klassifizierungsergebnissen bzw. Vorhersagewahrscheinlichkeiten. Die endgültige Liste mit der optimalen Variablen-Kombination ermöglicht zukünftig die Abschätzung der Wahrscheinlichkeit für eine Chlamydieninfektion bei „unbekannten“ Milchviehbetrieben (d.h. ohne bisherige Untersuchung des Chlamydienstatus).

### 3 Ergebnisse und Diskussion

#### 3.1 Stufe I – *Chlamydomphila*-Prävalenz und weitere Gesundheitsdaten

##### 3.1.1 Ermittlung der *Chlamydomphila*-Prävalenz in NRW

###### Betriebsebene

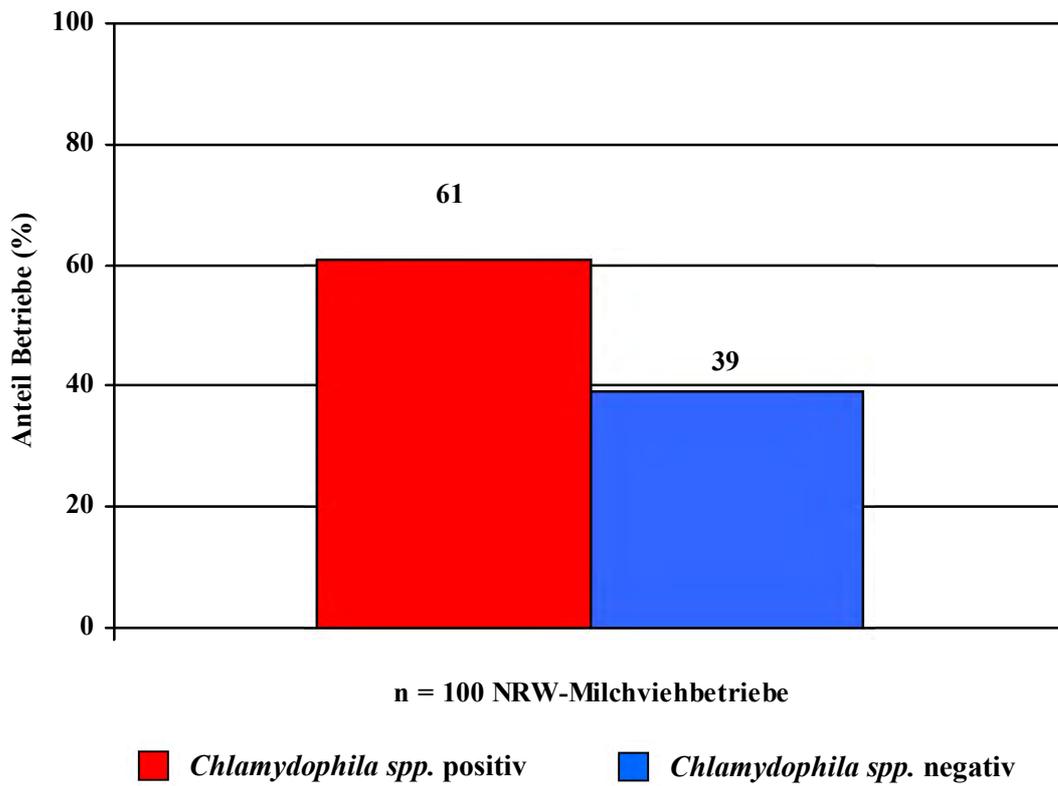
In den 32 Landkreisen des Landes NRW (entsprechend der Datenbank des Landeskontrollverbandes NRW e.V.) wurden letztendlich von 100 zufällig ausgewählten, milchviehhaltenden, der Milchleistungsprüfung angeschlossenen Betrieben insgesamt 1074 Kühe beprobt – mindestens 10 Kühe pro Betrieb.

Um die Prävalenz des *Chlamydomphila*-Nachweises auf Landesebene zu ermitteln, wurde ein Betrieb als positiv eingestuft, sobald mindestens eine Kuh positiv getestet wurde. Diese Annahme ist mit dem zyklischen Ablauf der Chlamydieninfektionen mit mehrphasiger Bakteriämie und der intermediären Ausscheidung begründet.

Unter dieser Voraussetzung ist derzeit davon auszugehen, dass in den Milchviehbetrieben in Nordrhein-Westfalen eine *Chlamydomphila*-Prävalenz von 61% vorliegt. Dieses Prävalenzergebnis für NRW wird in der Abbildung 1 veranschaulicht.

Die Anzahl der *Chlamydomphila spp.* positiv getesteten Kühe von den 61 Betrieben war wie folgt:

- in 17 Betrieben eine der beprobten Kühe,
- in 23 Betrieben zwei der beprobten Kühe,
- in 9 Betrieben drei der beprobten Kühe,
- in 7 Betrieben vier der beprobten Kühe und
- in 5 Betrieben fünf bis acht der beprobten Kühe.



**Abb. 1:** *Chlamydomytila* spp.–Prävalenz in NRW

Die Verteilung der *Chlamydomytila*-positiv eingestuften Betriebe auf die 32 NRW-Landkreise ist der Tabelle 3 auf der folgenden Seite zu entnehmen.

Tab. 3: Anzahl der *Chlamydomytila* spp.-positiv und negativ eingestufte Betriebe in NRW

Landkreis	Anzahl beprobter MLP-Betriebe	Anzahl <i>Chlamydomytila</i> spp.-positiv eingestufte Betriebe
Aachen	3	2
Borken	10	6
Coesfeld	3	3
Düren	2	1
Ennepe-Ruhr	1	0
Euskirchen	3	0
Gütersloh	4	3
Heinsberg	4	3
Herford-Bielefeld	1	1
Hochsauerland	5	2
Höxter	2	1
Kleve	12	7
Lippe	1	1
Märkischer Kreis	3	2
Mettman	1	1
Minden-Lübbecke	3	0
Münster	1	1
Neuss	1	0
Oberbergischer Kreis	5	4
Olpe	1	0
Paderborn	3	3
Recklinghausen	2	2
Rheinisch-Berg. Kreis	2	1
Rhein-Erft	0	0
Rhein-Sieg	3	1
Ruhr-Lippe	1	1
Siegen-Wittgenstein	1	1
Soest	3	2
Steinfurt	5	4
Viersen	4	2
Warendorf	4	2
Wesel	6	4
<b>Summe</b>	<b>100 Betriebe</b>	<b>61 Betriebe</b>

Die Milchleistungs- und Fruchtbarkeitskennziffern der positiv und negativ eingestuften Betriebe sind der folgenden Tabelle 4 zu entnehmen.

**Tab. 4: Milchleistungs- und Fruchtbarkeitskennziffern der *Chlamydomphila spp.* positiv und negativ eingestuften Betriebe in NRW**

	<b>Positiv eingestufte Betriebe</b> Mittelwert $\pm$ SD <sup>2</sup> n = 61	<b>Negativ eingestufte Betriebe</b> Mittelwert $\pm$ SD <sup>2</sup> n = 39	<b>P-Wert<sup>1</sup></b> n.s. = nicht signifikant.
<b>Anzahl Tiere/Herde</b>	87 $\pm$ 43	79 $\pm$ 33	n.s.
<b>durchschnittliche Milchleistung/Jahr (kg)</b>	8.681 $\pm$ 793	9.197 $\pm$ 786	0,002
<b>Fett (%)</b>	4,24 $\pm$ 0,23	4,24 $\pm$ 0,09	n.s.
<b>Eiweiß (%)</b>	3,33 $\pm$ 0,14	3,34 $\pm$ 0,09	n.s.
<b>Log Zellzahl</b>	5,32 $\pm$ 0,13	5,38 $\pm$ 0,17	n.s.
<b>Anzahl Laktationen/Betrieb</b>	2,4 $\pm$ 0,46	2,9 $\pm$ 0,49	<0,001
<b>Remontierungsrate (%)</b>	28,7 $\pm$ 4,9	26,1 $\pm$ 5,7	n.s.
<b>Besamungsindex</b>	1,9 $\pm$ 0,27	2,0 $\pm$ 0,30	n.s.
<b>Rastzeit</b>	91 $\pm$ 12	100 $\pm$ 11	<0,001
<b>Güstzeit</b>	126 $\pm$ 17	136 $\pm$ 17	0,006

<sup>1</sup>Signifikanzniveau ( $P < 0.05$ ) des t-Tests

<sup>2</sup>SD = Standardabweichung

Der logarithmierte Zellzahl-Mittelwert (= geometrischer Mittelwert) der positiv eingestuften Betriebe entspricht 209 Tsd. Zellen/mL Milch und 240 Tsd. Zellen/mL bei den negativ eingestuften Betrieben. Der Unterschied im Zellgehalt der beiden Betriebsgruppen ist nicht signifikant. Das kann dahingegen interpretiert werden, dass auf Betriebsebene Chlamydiose bedingte Eutergesundheitsstörungen nicht im Vordergrund stehen. Der numerisch geringere Zellzahl-Wert in den positiv eingestuften Betrieben bestätigt sich auch im Vergleich der Einzeltiere mit positivem bzw. negativem Chlamydiebefund (siehe Tabelle 7). Auf der Einzeltierebene wird das Signifikanzniveau erreicht.

Bei den folgenden Produktionskennziffern sind auf Betriebsebene Unterschiede statistisch abzusichern:

- Die durchschnittlich ca. 500 kg geringere Milchleistung pro Kuh und Jahr in den positiv eingestuften Betrieben sind auf die Beeinflussung des Gesundheits- und Fruchtbarkeitsstatus der gesamten Herde durch Infektionen mit *Chlamydomphila spp.* zurückzuführen (JEE et al. 2004).

- Daraus resultiert ebenfalls die um 0,5 signifikant geringere Anzahl Laktationen pro Betrieb.
- Die um durchschnittlich 10 Tage signifikant geringere Rastzeit sowie Gützeit in den positiv eingestuften Betrieben widerspricht zunächst der Aussage, dass sich Chlamydiosen primär negativ auf das Fruchtbarkeitsgeschehen bzw. die Reproduktionsleistung auswirken (DEGRAVES et al. 2004, STING et al. 2000 und 2003, WEHREND et al. 2005). Ein frühzeitigerer Beginn der Wiederbelegung nach der Kalbung kann aber auch als Reaktion der Betriebsleiter auf die Verschlechterung der Fruchtbarkeit mehrerer Tiere – in Form von Fruchtbarkeitserkrankungen – zurückzuführen sein.

Die folgende Tabelle 5 stellt die Häufigkeiten in den jeweils positiv und negativ eingestuften Betrieben für die Fruchtbarkeitsmerkmale „Kälbersterblichkeit“, „Abort“ und „Kalbezeitpunkt“ dar. Diese Parameter zeigen einen deutlichen Zusammenhang zwischen der Gefährdung durch Chlamydieninfektionen und dem Auftreten von Fruchtbarkeitsproblemen.

**Tab. 5: Beziehung zwischen Fruchtbarkeitsparametern und dem Vorkommen von *Chlamydomphila spp.* in den positiv eingestuften Betrieben im Vergleich zu den negativ eingestuften Betrieben in NRW**

	Häufigkeit (%) in positiv eingestuften Betrieben (n = 61)	Häufigkeit (%) in negativ eingestuften Betrieben (n = 39)	P-Wert <sup>1</sup>
<b>Kälbersterblichkeit<sup>2</sup></b>			< 0.001
< 2% der Kühe	14,8	71,8	
2%-10%	50,1	25,6	
> 10%	34,4	2,6	
<b>Abort<sup>3</sup></b>			< 0.001
< 2% der Kühe	9,8	71,8	
2%-10%	34,4	12,8	
> 10%	27,9	2,6	
keine Information	27,9	12,8	
<b>Kalbung vor 270. Trächtigkeitstag</b>			< 0.001
< 2% der Kühe	11,5	66,7	
2%-10%	26,2	20,5	
> 10%	41,0	2,6	
keine Information	21,3	10,3	

<sup>1</sup> Signifikanzniveau ( $P < 0.05$ ) des  $\chi^2$  Tests nach Pearson

<sup>2</sup> in der Zeit von der 27. Trächtigkeitswoche bis zum 7. Tag p.p.

<sup>3</sup> bis 27. Trächtigkeitswoche bei positiver Trächtigkeitsuntersuchung

Die Häufigkeitsangaben bestätigten die Aussagen von den bereits oben genannten Autoren, dass der Nachweis von Chlamydienregern zur Klärung von infektiösen Fortpflanzungsstörungen beiträgt. Bezüglich der Häufigkeit von Aborten aufgrund von Chlamydieninfektionen verdeutlichen CAVIRANI et al. (2001) und WANG et al. (2001) mit ihren Untersuchungsergebnissen, dass ein signifikanter Zusammenhang zwischen Chlamydien-Infektionen und Fruchtbarkeitsstörungen besteht. CAVIRANI et al. (2001) ermittelten bei Milchkühen mit Aborten eine 45 %-ige Seroprävalenz für *Chlamydophila psittaci* im Vergleich zu 24 %-iger Seroprävalenz in der Kontrollgruppe.

Parameter zur Beschreibung der Fundamentgesundheit – als weitere gesundheitlicher Komplex – sind mit ihren jeweiligen Häufigkeiten in den positiv und negativ eingestuften Betrieben in der folgenden Tabelle aufgeführt.

**Tab. 6: Beziehung zwischen Parametern zur Beschreibung der Fundamentgesundheit und dem Vorkommen von *Chlamydophila spp.* in den positiv eingestuften Betrieben im Vergleich zu den negativ eingestuften Betrieben in NRW**

	Häufigkeit (%) in positiv eingestuften Betrieben (n = 61)	Häufigkeit (%) in negativ eingestuften Betrieben (n = 39)	P-Wert <sup>1</sup>
<b>Fundament<sup>2</sup></b>			0,001
sehr gut	0	2,6	
gut	9,8	33,3	
befriedigend	39,3	51,3	
ausreichend	42,6	10,3	
mangelhaft	8,2	2,6	
ungenügend	0	0	
<b>Klauen<sup>2</sup></b>			0,003
sehr gut	0	5,1	
gut	16,4	46,2	
befriedigend	41,0	30,8	
ausreichend	39,3	15,4	
mangelhaft	3,3	2,6	
ungenügend	0	0	
<b>Gelenke<sup>2</sup></b>			0,001
sehr gut	0	2,6	
gut	11,5	35,9	
befriedigend	34,4	46,2	
ausreichend	44,3	12,8	
mangelhaft	9,8	2,6	
ungenügend	0	0	

<sup>1</sup> Signifikanzniveau ( $P < 0.05$ ) des  $\chi^2$  Tests nach Pearson

<sup>2</sup> Klassifizierung entspricht dem deutschen Schulnotensystem

Auch wenn diese Daten nur auf Beobachtungen basieren und die jeweiligen Noten die Herde insgesamt beschreiben, ist dennoch der Unterschied zwischen den beiden Betriebsgruppen deutlich: vom Fundament her machten die Betriebe mit *Chlamydomphila spp.* positiven Kühen einen signifikant schlechteren Eindruck als die anderen Betriebe. Dieser Unterschied kann damit erklärt werden, dass Chlamydomphila-Erreger unter anderem auch mit Arthritiden in Zusammenhang gebracht werden (siehe Kapitel 1.2).

### Einzeltierebene

Aus der folgenden Abbildung 2 wird ersichtlich, dass von den 1074 beprobten Tieren bei 145 Kühen ein *Chlamydomphila*-positives Ergebnis beobachtet wurde. Das bedeutet, dass zu dem Zeitpunkt der Beprobung 13,5% der insgesamt beprobten Kühe positiv auffielen.

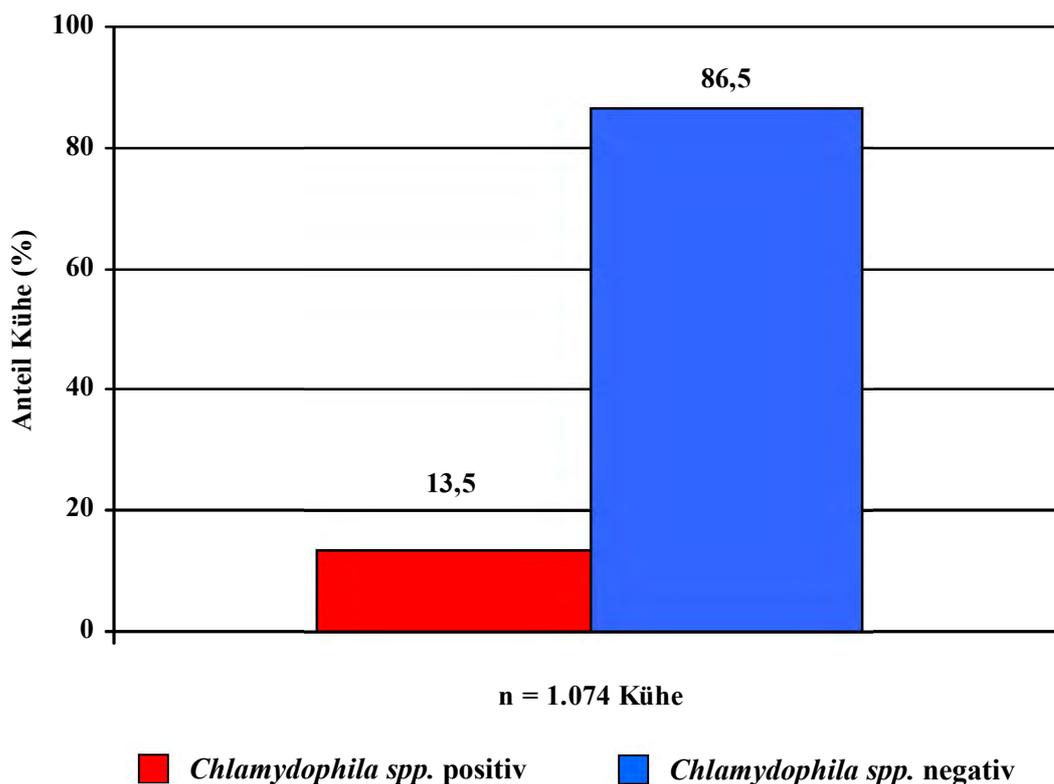


Abb. 2: Anteil Kühe mit positivem und negativem *Chlamydomphila spp.*-Testergebnis

Die Milchleistungskennziffern der positiv und negativ getesteten Milchkühe sind der folgenden Tabelle 7 zu entnehmen.

**Tab. 7: Milchleistungskennziffern der *Chlamydomphila spp.* positiv und negativ getesteten Milchkühe in NRW (n = 1074 getestete Kühe)**

Variable	Positiv getestete Milchkühe Mittelwert $\pm$ SD <sup>2</sup> n = 145	Negativ getestete Milchkühe Mittelwert $\pm$ SD <sup>2</sup> n = 929	P-Wert <sup>1</sup> n.s. = nicht signifikant
<b>305-Tage-Milchleistung (kg)</b>	8.665 $\pm$ 1.358	8.884 $\pm$ 1.415	n.s.
<b>Fett (%)</b>	4,24 $\pm$ 0,39	4,23 $\pm$ 0,42	n.s.
<b>Eiweiß (%)</b>	3,30 $\pm$ 0,22	3,33 $\pm$ 0,22	n.s.
<b>Log Zellzahl</b>	5,09 $\pm$ 0,38	5,16 $\pm$ 0,36	0,034
<b>Anzahl Laktationen/Kuh</b>	2,5 $\pm$ 1,6	2,6 $\pm$ 1,5	n.s.

<sup>1</sup>Signifikanzniveau ( $P < 0.05$ ) des t-Tests

<sup>2</sup>SD = Standardabweichung

Der logarithmierte Zellzahl-Mittelwert (= geometrischer Mittelwert) der positiv getesteten Milchkühe entspricht 123 Tsd. Zellen/mL Milch und 145 Tsd. Zellen/mL bei den negativ getesteten Milchkühe. Der Unterschied im Zellgehalt der beiden Tiergruppen ist signifikant.

Unterscheidet man innerhalb der Gruppe der negativ getesteten Kühe, ob der jeweilige Betrieb positiv oder negativ eingestuft wurde, unterscheiden sich die Zellgehalte ebenfalls signifikant. In der Gruppe der negativ getesteten Kühe innerhalb eines positiv eingestuften Betriebes lag ein mittlerer Zellgehalt von 135 Tsd. Zellen/mL Milch (geometrisches Mittel) vor, bei den negativ getesteten Kühen innerhalb eines negativ eingestuften Betriebes von 158 Tsd. Zellen/mL Milch.

Dieses Ergebnis bestätigt nicht die Untersuchungen von BIESENKAMP-UHE et al. (2007). Im Rahmen ihrer Untersuchung wiesen Kühe mit positivem *Chlamydomphila spp.*-Nachweis (PCR) höhere Milchzellzahlen auf (siehe Kapitel 1.2.3).

Die eigenen Ergebnisse, d.h. bei *Chlamydomphila spp.* positiv getesteten Kühe signifikant geringerer Zellgehalt als bei negativ getesteten Kühen, können in zweierlei Hinsicht interpretiert werden: in der Literatur sind immer wieder Angaben zu finden, dass ein geringerer Zellgehalt einen Risikofaktor für klinische Mastitiden darstellt, wobei die Zellzahlgrenzwerte je nach Untersuchung voneinander abweichen können (MYLLS & RAUTALA 1995, SURIYASATHAPORN et al. 2000). Des weiteren ist denkbar, dass in den positiv eingestuften Betrieben, in denen nachgewiesenermaßen ein oder mehrere

*Chlamydophila*-infizierte Tiere standen, bereits verschiedene Erkrankungskomplexe aufgetreten waren, welche mit Chlamydien in Zusammenhang gebracht werden (siehe Kapitel 1.2) und dadurch eine intensiveres Behandlungsmanagement angewendet wurde.

In der folgenden Tabelle werden Parameter aufgeführt, welche die Fruchtbarkeit der Einzeltiere beschreiben. Sie gibt die Häufigkeiten für die optimale Ausprägung des jeweiligen Parameters an. Nur bei der Anzahl der Besamungen wird die Verteilung mit Median und Maximum beschrieben. Die negativ getesteten Kühe werden in zwei Gruppen unterteilt – in Abhängigkeit des Betriebsstatus.

**Tab. 8: Fruchtbarkeitsparameter p.p. der *Chlamydophila spp.* positiv und negativ getesteten Milchkühe in NRW – in Abhängigkeit von der Einstufung des Betriebes (n = 1074 getestete Kühe)**

	Häufigkeit (%) bei positiv getesteten Milchkühen n = 145	Häufigkeit (%) bei negativ getesteten Milchkühen von pos. eingestuftem Betrieben n = 511	Häufigkeit (%) bei negativ getesteten Milchkühen von neg. eingestuftem Betrieben n = 418	<b>P-Wert<sup>1</sup></b> n.s. = nicht signifikant
<b>Letztes Kalb lebend geboren</b>	82,1 % <sup>a</sup>	94,4 % <sup>b</sup>	96,7 % <sup>b</sup>	<0,001
<b>Kalbezeitpunkt termingerecht</b>	91,0 % <sup>a</sup>	96,5 % <sup>b</sup>	99,8 % <sup>c</sup>	<0,001
<b>Geburtsverlauf normal ohne personelle oder technische Unterstützung</b>	26,2 % <sup>a</sup>	34,4 % <sup>a</sup>	32,1 % <sup>a</sup>	n.s.
<b>Normaler Abgang der Nachgeburt</b>	62,1 % <sup>a</sup>	67,4 % <sup>a</sup>	89,0 % <sup>b</sup>	<0,001
<b>Keine Behandlung nach der Geburt</b>	53,1 % <sup>a</sup>	58,5 % <sup>a</sup>	75,7 % <sup>b</sup>	<0,001
<b>Keine Aborte während letzter Laktation</b>	79,3 % <sup>a</sup>	83,3 % <sup>a</sup>	98,8 % <sup>b</sup>	<0,001
<b>Anzahl Besamungen für letzte Trächtigkeit (Median und Maximum)</b>	3,0 <sup>a</sup> (max. 7)	2,0 <sup>b</sup> (max. 10)	2,0 <sup>b</sup> (max. 8)	0,002

<sup>1</sup>Signifikanzniveau ( $P < 0.05$ ) des Kruskal-Wallis-Test

<sup>abc</sup>Werte mit ungleichen Hochbuchstaben in einer Zeile sind signifikant von einander verschieden.

Wie bereits auf Betriebsebene können mit diesen Zahlen die Aussagen von den in Kapitel 1.2.2 genannten Autoren bestätigt werden: Kühe mit positivem *Chlamydophila spp.*-Nachweis weisen vermehrt Fruchtbarkeitsprobleme auf.

Die signifikant besseren Werte zwischen bei den negativ getesteten Kühen in den negativ eingestuften Betrieben (im Vergleich zu den negativ getesteten Kühen in den positiv eingestuften Betrieben) bei den Parametern „Kalbezeitpunkt“, „Abgang der Nachgeburt“, „Behandlung nach der Geburt“ sowie „Aborte während letzter Laktation“ lassen folgende Schlüsse zu: Angesichts der intermittierenden Ausscheidung von *Chlamydophila spp.* können die negativ getesteten Einzeltiere auch als falsch negativ bewertet worden sein. Die Wahrscheinlichkeit hierfür ist in den positiv eingestuften Betrieben aus naheliegenden Gründen deutlich höher. Damit wären die schlechteren Fruchtbarkeitskennzahlen dieser Tiere auf eine (latente) Infektion zurückzuführen.

Für die Unterschiede, die zwischen allen positiv getesteten Einzeltiere und den negativ getesteten Tieren aus positiv eingestuften Betrieben aufgetreten sind („letztes Kalb lebend geboren“, „Kalbezeitpunkt“ und „Anzahl Besamungen“), sind neben der oben genannten möglichen Fehleinstufung der Einzeltiere zudem auch die – wegen der häufiger auftretenden Fruchtbarkeitsprobleme in den positiv klassifizierten Betrieben – erhöhte Sensibilität der Betriebsleiter (ggf. auch der Hoftierärzte) zur Begründung anzuführen.

Abschließend ist zu den Prävalenzen und den jeweiligen Gesundheitsdaten zu sagen, dass aus der Literatur keine vergleichbaren epidemiologischen Untersuchungen bekannt sind, welche sowohl gezielt auf die Verbreitung in einer Region ausgerichtet sind als auch mit molekularbiologischen Methoden den Erreger direkt nachweisen. Daher ist eine direkte Gegenüberstellung der Prävalenzen mit anderen Ergebnissen nicht möglich – nur bei Einzelergebnissen. Aber bei einem Vergleich der in Kapitel 1.4 aufgeführten Ergebnisse aus der Literatur ist festzuhalten, dass die eigenen ermittelten Prävalenzen (13,5 % der untersuchten Kühe, 61 % der untersuchten Betriebe) nicht ungewöhnlich sind.

### **3.1.2 Gegenüberstellung der Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung in den Vaginaltupfern und der PCR-Ergebnisse**

Zusätzlich zu den epidemiologischen Daten sind von 544 Vaginaltupfern, d.h. von 544 Kühen aus 51 Betrieben, die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung durch das Labor des Tiergesundheitsdienstes der Landwirtschaftskammer NRW bekannt. Von den 544 Kühen waren

durch die real-time PCR 54 Kühe *Chlamydomphila*-positiv getestet worden, 490 Kühe waren *Chlamydomphila*-negativ.

Die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung der Vaginaltupfer sowie die Anteile bei den *Chlamydomphila*-positiv und -negativ getesteten Kühen sind der folgenden Tabelle zu entnehmen. In der Tabelle 9 sind alle Bakterienarten aufgeführt, die in mehr als 10 % der Tupferproben nachgewiesen werden konnten.

**Tab. 9: Verteilung der in den Vaginaltupfern nachgewiesenen Keime auf die *Chlamydomphila*-positiv und -negativ getesteten Kühen**

Keimart	Anteil bei <i>Chlamydomphila</i> -positiv getesteten Kühen (n = 54)	Anteil bei <i>Chlamydomphila</i> -negativ getesteten Kühen (n = 490)
$\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken	100 %	99,0 %
Staphylokokken	24,1 %	26,5 %
Hämolyisierende Staphylokokken	22,2 % <sup>a</sup>	0,8% <sup>b</sup>
aerobe Bazillen	53,7 %	59,2 %
<i>E. coli</i>	51,9 %	79,4 %
Andere coliforme Keime	14,8 %	15,7 %
Proteus spp.	14,8 %	10,6 %
Acinetobacter spp.	9,3 %	10,4 %

<sup>ab</sup> Werte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben signifikant von einander verschieden, Signifikanzniveau ( $P < 0.05$ ) des  $\chi^2$  Tests nach Pearson

Des Weiteren wurden vereinzelt hämolysierende *E. coli*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Corynebacterium spp.*,  $\gamma$ -häm. Streptokokken, Schimmelpilze, Hefen, *Pseudomonas spp.* und *Achromobacter spp.* nachgewiesen.

Bei der Betrachtung von Tabelle 8 fällt auf, dass sich die Anteile der *Chlamydomphila*-positiv und -negativ getesteten Kühe bei den hämolysierenden Staphylokokken- Infektionen voneinander unterscheiden. Diese Unterschiede sind bei beiden Keimarten höchst signifikant (mit  $p \leq 0,001$ ) mit dem Chi-Quadrat-Test absicherbar. Derzeitig ist keine Studie (beim Rind, anderen Tierarten oder dem Menschen) bekannt, die diesen Zusammenhang (bei *Chlamydomphila*-positiv getesteten Individuen größere Häufigkeit von hämolysierenden Staphylokokken) belegen können.

Bei Kälbern wurde eine erhöhte Inzidenz einer anderen, ebenfalls hämolysierenden Bakterienart (*Mannheimia haemolytica*) in *Chlamydophila*-positiven Tieren beobachtet: HOLLBERG und Mitautoren (2005) wiesen im Rahmen ihrer Studie an 975 Kälbern neben Chlamydien auch die Erreger *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica* und Mycoplasmen in Nasen- und Augentupfern nach. Sie stellten fest, dass *Mannheimia haemolytica* bei Kälbern mit klinischen Atemwegserkrankungen signifikant häufiger nachgewiesen wurden als bei der Gesamtheit der Kälber, hingegen Chlamydieninfektionen bei den klinisch erkrankten Kälbern signifikant seltener festzustellen waren. Auch sie beschreiben nur die Zusammenhänge zwischen der Erregern ohne weitere Erklärungen.

### **3.1.3 Ergebnisse der nested PCR zur Identifizierung der einzelnen *Chlamydophila* Spezies**

Aus den insgesamt 145 positiv getesteten Proben stand von 137 Proben noch ausreichend Material für eine zweite PCR-Analyse (nested PCR) zur Identifizierung der beteiligten *Chlamydophila*-Spezies zur Verfügung. Hiervon waren in 45 Proben keine eindeutigen Banden erkennbar und damit auch keine Spezieszuordnung möglich. In den verbleibenden 95 Proben wurden 34 als *Chlamydophila abortus*, 53 als *Chlamydophila psittaci* und 8 als *Chlamydophila pecorum* identifiziert. Die folgende Tabelle zeigt die Anzahl der positiven Kühe je Landkreis und die Verteilung der Spezies in den untersuchten Landkreisen.

Bei acht Proben stand zu wenig Probenmaterial zur Verfügung, um eine nested PCR durchführen zu können.

Die folgende Tabelle zeigt die Anzahl der positiven Kühe je Landkreis und die Verteilung der Spezies in den untersuchten Landkreisen.

Tab. 10: Verteilung der 145 positiv getesteten Proben auf die einzelnen Spezies

Landkreis	Positiv getesteten Kühe Gesamt	<i>Chlamydophila abortus</i>	<i>Chlamydophila psittaci</i>	<i>Chlamydophila pecorum</i>	nicht spezifisch	zu wenig Probenmaterial
Aachen	5	3	2			
Borken	12		6		6	
Coesfeld	4		3		1	
Düren	2		2			
Ennepe-Ruhr	2		2			
Euskirchen	0					
Gütersloh	10	5	2		3	
Heinsberg	11			1	8	2
Herford-Bielefeld	3				3	
Hochsauerlandkreis	3	1		2		
Höxter	2		2			
Kleve	14	3	1	1	7	2
Lippe	2		2			
Märkischer Kreis	2			1	1	
Mettmann	1				1	
Minden-Lübbecke	0					
Münster	1			1		
Neuss	0					
Oberberg	11		6		5	
Olpe	0					
Paderborn	12	9	3			
Recklinghausen	6		6			
Rheinisch-Bergischer Kreis	5		3			2
Rhein-Sieg-Kreis	2		1		1	
Ruhr-Lippe	1				1	
Siegen-Wittgenstein	3		3			
Soest	5		5			
Steinfurt	8	2	1		3	2
Viersen	4		2		2	
Warendorf	6	6				
Wesel	8	5	1	2		
<b>Summe</b>	<b>145</b>	<b>34</b>	<b>53</b>	<b>8</b>	<b>42</b>	<b>8</b>

Wie erwähnt und wie aus Tabelle 10 ersichtlich, waren die *Chlamydophila* positiv getesteten Kühe zu annähernd gleichen Teilen mit *Chlamydophila abortus* und *Chlamydophila psittaci*

infiziert, wohingegen *Chlamydophila pecorum* eine eher untergeordnete Rolle spielte. Das Vorliegen von Mischinfektionen mit mehreren Chlamydophila-Spezies gleichzeitig kann in den Proben mit eindeutigem Spezifizierungsergebnis ausgeschlossen werden. Ob hingegen in den 43 nicht spezifizierbaren Proben derartige Mischinfektionen vorgelegen haben, muss offen bleiben. Die beobachtete Verteilung der Erreger steht etwas in Gegensatz zu den Ergebnissen von PETIT et al. (2008): sie fanden bei 88% ihrer *Chlamydophila* spp. positiv getesteten Proben aus einer österreichischen Rinderpopulation die Spezies *Chlamydophila pecorum* und bei 12% *Chlamydophila abortus*. Insgesamt untersuchten sie 291 Zervixtupferproben, wovon jedoch nur 25 positiv auf *Chlamydophila* spp. getestet wurden.

Auf den ersten Blick lassen sich bei der Tabelle 10 keine regionalen Cluster mit einer Häufung von mit bestimmten Spezies infizierten Tieren erkennen. Daraus kann geschlossen werden, dass die Verbreitung der Chlamydien in NRW nicht in erster Linie auf mögliche Vektoren wie Schafe und Vögel – ein möglicher Übertragungsweg nach SACHSE et al. (2004) – zurückzuführen ist. Das bestätigt den Schwerpunkt der Stufe II des Projektes, die Risikofaktoren in erster Linie nicht außerhalb sondern innerhalb eines Betriebes zu suchen und zu analysieren.

### 3.2 Stufe II – Ermittlung von Risikofaktoren und Indikatoren sowie Entwicklung einer Checkliste zur Vorhersage einer Chlamydiengefährdung auf Betriebsebene

Die folgenden zwei Tabellen zeigen verschiedene durch den Fragebogen abgefragte sowie beobachtete Kennziffern, welche einen signifikanten Unterschied zwischen den als positiv oder negativ eingestuften Betrieben aufwiesen. Diese Variablen wurden in Anlehnung an die Angaben von HORSCH (1980, siehe Kapitel 1.5) aufgenommen.

Die Variablen in Tabelle 11 beschreiben Risikofaktoren für den Eintrag von infiziertem Material (u. U. nicht nur mit *Chlamydomphila spp.*) bzw. für die Infektion von Einzeltieren mit kontaminierten Tieren, Sekreten u.ä..

**Tab. 11: Beziehung zwischen möglichen Risikofaktoren der Infektion mit *Chlamydomphila spp.* und dem Vorkommen von *Chlamydomphila spp.* in den positiv eingestuften Betrieben im Vergleich zu den negativ eingestuften Betrieben in NRW**

	Häufigkeit (%) in positiv eingestuften Betrieben (n = 61)	Häufigkeit (%) in negativ eingestuften Betrieben (n = 39)	P-Wert <sup>1</sup>
<b>Zukauf von Milchvieh 1</b>			< 0.001
Ja (einschließl. Deckbulle)	72,1	30,8	
Nein	27,9	69,2	
<b>Zukauf von Milchvieh 2</b>			< 0.001
Ja	37,7	20,5	
Nein	27,9	69,2	
nur Deckbulle	34,4	10,3	
<b>Art des Besamung</b>			0,008
Künstliche Besamung (KB)	54,1	82,1	
Deckbulle	24,6	12,8	
beides (KB & Deckbulle)	21,3	5,1	
<b>Ort der Abkalbung 1</b>			0.001
Abkalbebox	75,4	100,0	
Keine Abkalbebox	24,6	0	
<b>Ort der Abkalbung 2</b>			< 0.001
Einzelabkalbung	11,5	66,7	
Gruppenabkalbung (Gruppenbucht oder in der Herde)	88,5	33,3	
<b>Ort der Abkalbung 3</b>			< 0.001
Ja – Einzelbox	11,5	66,7	
Ja – Gruppenbucht	63,9	33,3	
keine Abkalbebox	24,6	0	

<sup>1</sup>Signifikanzniveau ( $P < 0.05$ ) des  $\chi^2$  Tests nach Pearson

Zusammenfassend zu Tabelle 11 ist zu sagen, dass positiv eingestufte Betriebe signifikant:

- häufiger Tiere zukaufen,
- seltener ausschließlich künstliche Besamung (KB) durchführen, häufiger Deckbullen einsetzen,
- seltener Abkalbeboxen anbieten und
- bei Abkalbeboxen seltener Einzelboxen haben.

Bezüglich der künstlichen Besamung hatte die Entscheidung für die durchführende Person (ob Besamungstechniker oder Eigenstandsbesamer) keinen Einfluss auf die Gefährdung für eine Chlamydieninfektion.

Tabelle 12 enthält Kennziffern, welche die Sauberkeit in den Betrieben (haltungshygienische Aspekte) und der Tiere selbst beschreiben.

Tabelle 12 macht deutlich, dass negativ eingestufte Betriebe signifikant häufiger sauberere Boxen, Spalten und Tiere aufweisen. Betrachtet man die Haltungstechnik, fällt auf, dass in den negativ eingestuften Betrieben mit einer Boxensauberkeit von gut bis sehr gut häufiger Tiefboxen vorhanden sind (bei 64% der Betriebe) als bei den positiv eingestuften Betrieben mit Boxensauberkeit von gut bis sehr gut (nur bei 50% der Betriebe). Die Betriebe mit der höheren Sauberkeit der Boxen setzten auch häufiger Sägemehl oder ein Gemisch aus Sägemehl und Stroh ein (bei den negativ eingestuften Betrieben 55% der Betriebe mit einer Boxensauberkeit von gut bis sehr gut, bei den entsprechenden positiv eingestuften Betrieben nur 25%).

Korrelationsberechnungen ergaben, dass die vier in Tabelle 12 aufgeführten Sauberkeitskennziffern sich erwartungsgemäß gegenseitig bedingen: zwischen der Boxensauberkeit und der Sauberkeitseinstufung der Kuh bzw. der Sauberkeit des Vaginalbereichs lässt sich ein signifikanter Korrelationskoeffizient (nach Spearman) von  $r = 0,69$  ( $p < 0,001$ ) bzw.  $r = 0,65$  ( $p < 0,001$ ) ermitteln. Die Spaltensauberkeit korreliert mit der Boxensauberkeit mit  $r = 0,53$  ( $p < 0,001$ ). D.h. das Reinigungsmanagement der Spalten und Boxen (eine Kombination aus Haltungstechnik und Reinigungsintensität) beeinflussen wesentlich die Sauberkeit der Kuh und diese wiederum die Infektionsgefahr.

**Tab. 12: Beziehung zwischen Sauberkeitskennziffern und dem Vorkommen von *Chlamydomphila spp.* in den positiv eingestuften Betrieben im Vergleich zu den negativ eingestuften Betrieben in NRW**

	Häufigkeit (%) in positiv eingestuften Betrieben (n = 61)	Häufigkeit (%) in negativ eingestuften Betrieben (n = 39)	P-Wert <sup>1</sup>
<b>Boxensauberkeit<sup>2</sup></b>			< 0.001
sehr gut	0	5,1	
gut	19,7	51,3	
befriedigend	39,3	41,0	
ausreichend	36,1	0	
mangelhaft	4,9	2,6	
ungenügend	0	0	
<b>Spaltensauberkeit<sup>2</sup></b>			< 0.001
sehr gut	1,6	7,7	
gut	39,3	48,7	
befriedigend	23,0	41,0	
ausreichend	32,8	0	
mangelhaft	3,3	2,6	
ungenügend	0	0	
<b>Sauberkeit der Kuh<sup>2</sup></b>			< 0.001
sehr gut	0	2,6	
gut	18,0	35,9	
befriedigend	36,1	56,4	
ausreichend	37,7	2,6	
mangelhaft	6,6	2,6	
ungenügend	1,6	0	
<b>Sauberkeit Vaginalbereich<sup>2</sup></b>			< 0.001
sehr gut	0	2,6	
gut	19,7	41,0	
befriedigend	34,4	51,3	
ausreichend	34,4	5,1	
mangelhaft	11,5	0	
ungenügend	0	0	

<sup>1</sup> Signifikanzniveau ( $P < 0.05$ ) des  $\chi^2$  Tests nach Pearson

<sup>2</sup> Klassifizierung entspricht dem deutschen Schulnotensystem

Die folgenden zwei Tabellen führen weitere betriebliche Techniken, Gegebenheiten und Faktoren auf, die im Rahmen der Betriebsbesuche erhoben worden sind, die aber keine signifikanten Unterschiede zwischen den positiv und den negativ eingestuften Betrieben aufweisen. Sie dienen der Beschreibung der untersuchten Betriebe.

**Tab. 13: Häufigkeiten weiterer betrieblicher Techniken, Gegebenheiten und Faktoren in den positiv eingestuften Betrieben im Vergleich zu den negativ eingestuften Betrieben in NRW**

	Häufigkeit (%) in positiv eingestuften Betrieben (n = 61)	Häufigkeit (%) in negativ eingestuften Betrieben (n = 39)
<b>Art der Fütterungstechnik</b>		
Totale Mischration (TMR)	42,6	35,9
TMR und Kraftfutter über Transponder	31,1	56,4
Vorlage von Einzelkomponenten (einschließlich Kraftfutter)	14,8	2,6
Vorlage von Einzelkomponenten und Kraftfutter über Transponder	6,6	5,1
Vorratsfütterung	4,9	0
<b>Säuberung des Futtertisches</b>		
täglich	68,9	71,8
alle 2 Tage	19,7	20,5
bei Bedarf/unregelmäßig	11,5	7,7
<b>Weidegang</b>		
Ja	68,9	84,6
Nein	31,1	15,4
<b>Bürste vorhanden</b>		
Ja	41,0	74,4
Nein	59,0	25,6
<b>Art des Stalls</b>		
Anbindestall	0	2,6
Tiefstreu	4,9	2,6
Boxenlaufstall mit offenen Seiten	39,3	42,1
Boxenlaufstall ohne Fensterscheiben	23,0	28,9
Geschlossener Boxenlaufstall	9,8	2,6
Boxenlaufstall mit Spaceboard	8,2	5,3
Freßliegeboxenlaufstall	3,3	0
Kombination	11,5	15,8
<b>Art der Tränke</b>		
Kipptränke	39,3	48,7
Balltränke	29,5	20,5
Wannentränke	23,0	23,1
Selbsttränke	8,2	7,7
<b>Säuberung der Tränken</b>		
täglich	4,9	7,7
2 mal pro Woche	19,7	23,1
1 mal pro Woche	13,1	10,3
bei Bedarf/unregelmäßig	62,3	59,0
<b>Kraftfutter über Transponder</b>		
Ja	75,4	64,1
Nein	24,6	35,9
<b>Kraftfutter im Melkstand</b>		
Ja	20,0	30,8
Nein	80,0	69,2
<b>Zwischendesinfektion der Melkzeuge im Melkstand</b>		
Ja	4,9	5,1
Nein	95,1	94,9
<b>Biobetrieb</b>		
Ja	19,7	10,3
Nein	80,3	89,7

Die Häufigkeit des Einsatzes von Bürsten war bei den negativ eingestuften Betrieben zwar signifikant höher, jedoch lieferte dieses Kriterium im Rahmen der weiterführenden Analysen keine weitere Verbesserung der Aussagen.

Die folgende Tabelle 14 beschreibt den den Betriebsleitern bekannten Status in Bezug auf Chlamydien, Boviner Virusdiarrhoe (BVD) Virus sowie Bovines Herpesvirus 1 (BHV1) zum Zeitpunkt des jeweiligen Betriebsbesuches.

**Tab. 14: Häufigkeiten des Chlamydien-, BVD Virus- sowie BHV 1-Status in den positiv eingestuften Betrieben im Vergleich zu den negativ eingestuften Betrieben in NRW**

	Häufigkeit (%) in positiv eingestuften Betrieben (n = 61)	Häufigkeit (%) in negativ eingestuften Betrieben (n = 39)
<b>Behandlung gegen Chlamydien in der Vergangenheit</b>		
Ja	11,5	7,7
Nein	88,5	92,3
<b>Impfung gegen Chlamydien in der Vergangenheit</b>		
Ja	13,1	10,3
Nein	86,9	89,7
<b>BVD positiv</b>		
Ja	8,2	5,1
Nein	91,8	94,9
<b>BVD Impfung</b>		
Ja	26,2	38,5
Nein	73,8	61,5
<b>BHV 1 positiv</b>		
Ja	1,6	2,6
Nein	98,4	97,4

Die diesbezüglichen Daten standen in keinem erkennbaren Zusammenhang mit dem aktuellen Chlamydiestatus.

Ziel der letzten Projektphase war die Erstellung einer Checkliste, mit deren Hilfe zum einen der Chlamydienstatus von Betrieben abgeschätzt werden kann, welche bisher keine spezifischen Untersuchungen durchgeführt haben. Und zum anderen – damit einhergehend – die Benennung der betriebsindividuellen Risikofaktoren und Kennziffern, welche zur

Übertragung von *Chlamydophila spp.* innerhalb von und zwischen Milchviehbetrieben beitragen können.

Entsprechend der in Kapitel 2.6 beschriebenen, statistischen Vorgehensweise fand eine Verwendung der folgenden Parameter bzw. Parametergruppen, welche einen signifikanten Einfluss auf die Einstufung der Betriebe hatten und einen entsprechend geringen Korrelationskoeffizienten untereinander aufwiesen, zur weiteren Analyse statt:

- Milchleistung (siehe Tabelle 4)
- Anzahl der Laktationen (siehe Tabelle 4)
- Rastzeit (siehe Tabelle 4)
- Kälbersterblichkeit (siehe Tabelle 5)
- Abort (siehe Tabelle 5)
- Kalbezeitpunkt (siehe Tabelle 5)
- Aussehen des Fundaments, der Klauen oder der Gelenke (siehe Tabelle 6)
- Zukauf (siehe Tabelle 11)
- Art der Besamung (siehe Tabelle 11)
- Ort der Abkalbung (siehe Tabelle 11)
- Boxensauberkeit oder Spaltensauberkeit (siehe Tabelle 12)
- Sauberkeit der Kuh oder des Vaginalbereichs (siehe Tabelle 12)

Bei der Aufzählung fällt auf, dass die gelisteten Parameter nicht nur im Zusammenhang mit einer Chlamydieninfektion stehen können, sondern auch mit anderen Infektionskrankheiten, die zu Fruchtbarkeitsstörungen führen.

Die oben genannten Variablen wurden in mehreren Modellen mittels logistischer Regression miteinander kombiniert. Als Auswahlkriterien dienten zum einen die letztendliche Vorhersagewahrscheinlichkeit der Klassifizierung, zum anderen die Ergebnisse der jeweiligen *Wald*-Statistik.

Die folgenden drei Variablen beeinflussen die Vorhersage zur Einstufung eines „unbekannten“ Milchviehbetriebes am stärksten:

<b>Kälbersterblichkeit</b>	1 = < 2%
	2 = > 2%-10%
	3 = > 10%
<b>Ort der Abkalbung</b>	1 = Einzel-Abkalbebox
	2 = Gruppen-Abkalbebox
	3 = keine Abkalbebox
<b>Art der Besamung</b>	1 = KB
	2 = KB und Deckbulle
	3 = nur Deckbulle

Anschließend wurde mit den drei Variablen eine Diskriminanzanalyse durchgeführt und der sich daraus ergebende Wert pro Betrieb mit der Verteilung der Diskriminanzfunktionswerte verglichen. Somit konnte jeder Betrieb mit einsprechenden Vorhersagewahrscheinlichkeiten in „Chlamydien positiv“ oder „Chlamydien negativ“ eingestuft werden.

Mit Hilfe der drei genannten Kriterien wurden von den 61 positiven Betrieben 53 (= 86 %) „richtig positiv“ eingestuft und von den 39 negativen Betrieben 33 (= 85 %) „richtig negativ“. Diese Vorhersagewahrscheinlichkeiten sind für die Einstufung bzgl. des Chlamydienstatus unbekannter Betriebe mit Hilfe der drei Kriterien im Durchschnitt anzunehmen.

Die folgende Tabelle 15 zeigt die jeweiligen Einstufungsmöglichkeiten bzw. –kombinationen der drei Variablen und ihre jeweilige Vorhersagewahrscheinlichkeit je nach Ausprägung der drei Kriterien.

Aus dieser Parameterkombination, welche den größten Zusammenhang zu dem jeweiligen Chlamydienstatus der Betriebe darstellte, ist zu schließen, dass:

- die Kälbersterblichkeit eine wesentliche Kennziffer für den Verdacht auf eine Chlamydieninfektion ist,
- durch Einzel-Abkalbeboxen eine Übertragung zwischen den Kühen während der Kalbung verhindert werden kann und
- wenn Deckbullen im Einsatz sind, diese zuvor auf ihren Chlamydienstatus untersucht werden sollten.

**Tab. 15: Einstufung eines „unbekannten“ Betriebes in jeweiligen Chlamydienstatus entsprechend der Merkmalsausprägung**

Betriebsvariante	Kälbersterblichkeit <sup>1</sup>	Ort der Abkalbung <sup>2</sup>	Art der Besamung <sup>3</sup>	Vorhergesagte Chlamydienstatus-Einstufung aufgrund Variablenausprägung <sup>4</sup>	Vorhersagewahrscheinlichkeit für Einstufung in Abhängigkeit von Variablenausprägung
1	1	1	1	0	95 %
2	1	1	2	0	92 %
3	1	1	3	0	85 %
4	1	2	1	0	77 %
5	1	2	2	0	63 %
6	1	2	3	1	52 %
7	1	3	1	1	66 %
8	1	3	2	1	79 %
9	1	3	3	1	88 %
10	2	1	1	0	78 %
11	2	1	2	0	65 %
12	2	1	3	1	51 %
13	2	2	1	1	65 %
14	2	2	2	1	78 %
15	2	2	3	1	87 %
16	2	3	1	1	92 %
17	2	3	2	1	96 %
18	2	3	3	1	98 %
19	3	1	1	1	64 %
20	3	1	2	1	77 %
21	3	1	3	1	86 %
22	3	2	1	1	92 %
23	3	2	2	1	95 %
24	3	2	3	1	98 %
25	3	3	1	1	99 %
26	3	3	2	1	99 %
27	3	3	3	1	100 %

<sup>1</sup>1 = < 2%; 2 = > 2%-10%; 3 = > 10%, Zeit von der 27. Trächtigkeitswoche bis zum 7. Tag p.p.

<sup>2</sup>1 = Einzel-Abkalbebox; 2 = Gruppen-Abkalbebox; 3 = keine Abkalbebox

<sup>3</sup>1 = KB; 2 = KB und Deckbulle; 3 = nur Deckbulle

<sup>4</sup>Klassifizierung: 1 = Chlamydien positiv; 0 = Chlamydien negativ

Die Ergänzung der drei Variablen mit den folgenden Parametern ergaben in verschiedenen Kombinationen eine Erhöhung der Vorhersagewahrscheinlichkeit um 1 bis 2 %. Die Erhöhung war aber je nach Kombination unterschiedlich, so dass keine eindeutigen Schlüsse gezogen werden konnten, welche der Variablen hauptsächlich bzw. mit welcher Rangierung zu einer genaueren Vorhersage der Chlamydien-Einstufung beitragen. Aufgrund dessen sollten die folgenden Parameter nicht in die Einstufungscheckliste mit aufgenommen, aber an die Liste mit angehängt werden, um neben den Einstufungskriterien gleichzeitig weitere wichtige Risikofaktoren und Kennziffern zur Klassifizierung und je nach Parameter auch zur Minimierung der Übertragung von *Chlamydia spp.* innerhalb von und zwischen Milchviehbetrieben kenntlich zu machen:

1. Rastzeit (siehe Tabelle 4)
2. Kalbezeitpunkt (siehe Tabelle 5)
3. Aussehen des Fundaments, der Klauen oder der Gelenke (siehe Tabelle 6)
4. Zukauf (siehe Tabelle 11)
5. Boxensauberkeit oder Spaltensauberkeit (siehe Tabelle 12)
6. Sauberkeit der Kuh oder des Vaginalbereichs (siehe Tabelle 12)

Die entsprechenden Schlussfolgerungen zu den Parametern sind:

- Wenn der Grund für kürzere Rastzeiten Fruchtbarkeitsprobleme während der vergangenen Laktation sind, dann Einzeltiere oder Herde auf Chlamydienerreger (und ggf. andere Erreger) untersuchen lassen.
- Wenn häufig Kalbungen vor dem errechneten Termin zu verzeichnen sind und/oder vermehrt – trotz anderweitiger Behandlung – Beeinträchtigungen des Fundaments, der Klauen oder der Gelenke auftreten, dann Einzeltiere oder Herde auf Chlamydienerreger untersuchen lassen.
- Wenn Tiere (einschließlich Deckbullen) zugekauft werden, diese auf Chlamydienerreger untersuchen lassen.
- Wenn Verdacht auf Chlamydieninfektion in der Herde bereits besteht, unter anderem Maßnahmen zur optimalen Sauberkeit am und um das Tier einleiten.

In Ergänzung zu den Schlussfolgerungen ist an dieser Stelle darauf hinzuweisen, dass es – nach Aussage von WEHREND et al. (2005) – bei Verdacht auf Chlamydieninfektionen wichtiger ist, die Risikofaktoren mittels entsprechender Managementmaßnahmen zu minimieren, als die Tiere antibiotisch zu behandeln und/oder zu impfen.

Ziele der Liste und ihrer Schlussfolgerungen sind, landwirtschaftliche Berater und Tierärzte auf die bestehende Wahrscheinlichkeit einer Chlamydieninfektion bei Milchvieh in NRW aufmerksam zu machen und des Weiteren zu empfehlen, bei Fruchtbarkeitsproblemen

*Chlamydophila spp.* als Ursache in Betracht zu ziehen und die vorgeschlagenen Risikofaktoren zu prüfen und gegebenenfalls abzustellen. Damit trägt das abgeschlossene Forschungsprojekt – durch die entsprechende Verbreitung dieser Listen bei Beratern und Tierärzten – zur Aufklärung von Chlamydieninfektion bei Milchvieh in NRW bei.

## 4 Zusammenfassung

Chlamydieninfektionen werden für eine Reihe von Fruchtbarkeitsstörungen und Atemwegserkrankungen beim Rind in Verbindung gebracht. Die entsprechende Literatur basiert in erster Linie auf serologischen Untersuchungen und weniger auf dem molekularbiologischen Direktnachweis der Erreger. Des Weiteren sind keine systematischen epidemiologischen Studien zu finden. Demnach war das Ziel der Projektstufe I die Ermittlung der Erregerprävalenz in Milchviehbetrieben in NRW. Dafür wurden von den ca. 6.500 Milchviehbetrieben in NRW 100 Betriebe zufällig ausgewählt, wobei bei der Auswahl die Verteilung der Betriebe auf die Landkreise und die Anzahl Kühe pro Landkreis berücksichtigt wurden. Pro Betrieb wurden 10% der Herde (aber mindestens 10 Kühe) beprobt. Von den ausgewählten Kühen in der Früh-laktation wurden zwei Vaginaltupfer entnommen und diese zum einen bakteriologisch und zum anderen mit PCR-Nachweisverfahren untersucht. Die Proben wurden zunächst mittels real-time PCR genus-spezifisch (äußere Primer) auf *Chlamydophila* spp. getestet. Im Falle positiver Nachweise dient das erhaltene PCR-Produkt als Matrix für die zweite Runde, die Spezies-spezifische PCR. Um die Prävalenz des Chlamydophila-Nachweises auf Landesebene zu ermitteln, wurde ein Betrieb als positiv eingestuft, sobald mindestens eine Kuh positiv getestet wurde. Diese Annahme ist durch die diskontinuierliche Ausscheidung von Chlamydien begründet.

In den 32 Landkreisen des Landes wurden letztendlich von 100 milchviehhaltenden Betrieben insgesamt 1074 Kühe beprobt. Von den 1074 Tieren zeigte sich bei 145 Kühen (13,5 %) ein *Chlamydophila*-positives Ergebnis. Die Prävalenz auf Betriebsebene lag bei 61 %, d.h. in 61 % der Milchviehbetriebe in NRW war mindestens eine Kuh *Chlamydophila* positiv.

Von den 145 Kühen waren 34 mit *Chlamydophila abortus* und 52 mit *Chlamydophila psittaci* infiziert. *Chlamydophila pecorum* konnte nur bei 8 Kühen nachgewiesen werden und spielte daher eher eine untergeordnete Rolle. Die übrigen Proben konnten nicht spezifiziert werden. Die bakteriologische Untersuchung der Vaginalsekrete von 544 Kühen ergab, dass bei den *Chlamydophila* positiv getesteten Kühen der Anteil mit hämolysierenden Staphylokokken-Infektionen signifikant höher war.

Auf der Basis der Ergebnisse aus Stufe I erfolgte im Anschluss an die Beprobung der Tiere und der PCR-Analyse die Zusammenstellung und Verrechnung der erhobenen, betriebsindividuellen Faktoren, Kennziffern etc. (Stufe II). Das endgültige Ziel der Stufe II war eine Checkliste mit verschiedenen Risikofaktoren, welche mit relativ geringem Aufwand (zeitlich und finanziell) in einem Betrieb, dessen Chlamydienstatus nicht bekannt ist, erhoben und zur Abschätzung der Wahrscheinlichkeit für eine Chlamydieninfektion führen kann.

Dieses Ziel wurde über eine schrittweise statistische Analyse der während der Besuche erhobenen Betriebsdaten erreicht. Die Betriebsdaten setzten sich zusammen aus MLP-Daten

der Einzeltiere und der Herde, aus den Daten zu den betrieblichen Gegebenheiten sowie verschiedene Gesundheitsdaten. Die erhobenen Daten dienten zum einen der Beschreibung der „Chlamydien positiv“ und „Chlamydien negativ“ eingestufteten Betrieben. Zum anderen deckten sie die Bedingungen ab, die eine Chlamydienausbreitung begünstigen, d.h. sie beschreiben die Übertragungswege von Chlamydien (u.a. fäkal-oral, genital).

Im Rahmen der Datenauswertung wurde zunächst jede einzelne Variable auf ihren Einfluss auf den Chlamydienstatus getestet. Die Parameter mit signifikantem Einfluss wurden in die vorläufige Liste mit aufgenommen, wobei ähnliche Variablen (mittels Korrelationsanalyse) ausgeschlossen wurden. Bei der Aufzählung fiel auf, dass die gelisteten Parameter nicht nur im Zusammenhang mit einer Chlamydieninfektion stehen können, sondern auch mit anderen Infektionskrankheiten, welche schwerpunktmäßig zu Fruchtbarkeitsstörungen führen.

Im Folgenden fand die aufwendige Berechnung mehrerer logistischer Regressions-Modelle mit verschiedenen Kombinationen der ausgewählten Variablen statt sowie eine anschließende Diskriminanzanalyse zur Ermittlung der Variablen-Kombination mit den besten Klassifizierungsergebnissen bzw. Vorhersagewahrscheinlichkeiten.

Die letztendliche Checkliste als Ergebnis der statistischen Datenanalyse besteht aus den folgenden drei Parametern: Kälbersterblichkeit, Ort der Abkalbung und Art der Besamung. Sie beeinflussen die Vorhersage zur Einstufung eines „unbekannten“ Milchviehbetriebes (d.h. ohne bisherige Untersuchung des Chlamydienstatus) in „Chlamydien positiv“ oder „Chlamydien negativ“ am stärksten. Mit Hilfe der drei genannten Kriterien konnten von den 61 positiv eingestufteten Betrieben 53 (= 86 %) vorhergesagt werden und von den 39 negativ eingestufteten Betrieben 33 (= 85 %).

Die Parameter Rastzeit, Kalbezeitpunkt, Aussehen des Fundaments, der Klauen oder der Gelenke, Zukauf (einschließlich Deckbulle), Boxensauberkeit oder Spaltensauberkeit sowie Sauberkeit der Kuh oder des Vaginalbereichs dienen nicht der Einstufungsvorhersage. Es ist aber ratsam, sie mit aufzunehmen, um neben den Einstufungskriterien gleichzeitig weitere wichtige Risikofaktoren und Kennziffern zur Klassifizierung und je nach Parameter auch zur Minimierung der Übertragung von *Chlamydochlorella* spp. innerhalb von und zwischen Milchviehbetrieben kenntlich zu machen.

Entsprechend der betriebsindividuellen Angaben ist damit zum einen die Vorhersage der Gefährdung oder Nicht-Gefährdung durch Chlamydien möglich (mit ihrer jeweiligen Wahrscheinlichkeit). Zum anderen werden die wichtigsten Risikofaktoren für die Chlamydieninfektion für einen Milchviehbetrieb abgefragt. Die Schlussfolgerungen aus den jeweiligen Angaben können in die Betriebsberatung/-betreuung mit aufgenommen werden. Das abgeschlossene Forschungsprojekt trägt – durch die entsprechende Verbreitung der Prävalenzen (Stufe I) sowie der Listen bei Beratern und Tierärzten (Stufe II) – zur Aufklärung von Chlamydieninfektion bei Milchvieh in NRW bei.

## 5 Schlussfolgerung für die Umsetzung der Ergebnisse in die Praxis

Die im Rahmen dieses Projektes ermittelte *Chlamydophila*-Prävalenz für Milchviehbetriebe in NRW von 61 % bestätigt den Verdacht der betreuenden Tierärzte, dass Chlamydieninfektionen bei vielen Erkrankungen eine Rolle spielen. Da eine routinemäßige *Chlamydophila*-Analyse nicht durchgeführt wird (in erster Linie aus finanziellen Gründen), ist es für die Tierärzte, aber auch für die Betriebsleiter hilfreich, den Verdacht auf eine Chlamydieninfektionen nicht nur aufgrund von Krankheitssymptomen, sondern auch mit Hilfe weiterer Betriebsdaten (z.B. betriebliche Risikofaktoren, welche Chlamydieninfektionen von Tier zu Tier ermöglichen) zu erhärten oder gegebenenfalls zu verringern. Die Schlussfolgerungen, die zu jedem einzelnen Parameter der Liste(n) für die landwirtschaftlichen Berater und Tierärzte gezogen werden sollten, sind:

- Die **Kälbersterblichkeit** ist eine wesentliche Kennziffer für den Verdacht auf eine Chlamydieninfektion.
- Durch **Einzel-Abkalbeboxen** kann eine Übertragung zwischen den Kühen während der Kalbung verhindert werden.
- Wenn **Deckbullen** im Einsatz sind, sollten diese zuvor auf ihren Chlamydienstatus untersucht werden sollten.
- Wenn der Grund für kürzere **Rastzeiten** Fruchtbarkeitsprobleme während der vergangenen Laktation sind, dann Einzeltiere oder Herde auf Chlamydienerreger (und ggf. andere Erreger) untersuchen lassen.
- Wenn häufig **Kalbungen** vor dem errechneten Termin zu verzeichnen sind und/oder vermehrt – trotz anderweitiger Behandlung – Beeinträchtigungen des Fundaments, der Klauen oder der Gelenke auftreten, dann Einzeltiere oder Herde auf Chlamydienerreger untersuchen lassen.
- Wenn Tiere (zusätzlich zu Deckbullen) **zugekauft** werden, diese auf Chlamydienerreger untersuchen lassen.
- Wenn Verdacht auf Chlamydieninfektion in der Herde bereits besteht, unter anderem Maßnahmen zur optimalen **Sauberkeit** am und um das Tier einleiten.

Mit diesem Forschungsprojekt wird zum einen auf die bestehende Wahrscheinlichkeit einer Chlamydieninfektion bei Milchvieh in NRW aufmerksam gemacht und somit empfohlen, bei Fruchtbarkeitsproblemen *Chlamydophila spp.* als Ursache in Betracht zu ziehen und die vorgeschlagenen Risikofaktoren zu prüfen und gegebenenfalls abzustellen.

## 6 Literaturverzeichnis

- ABD EL-RAHIM IHA (2002):  
Serumuntersuchungen zur Ermittlung der Verbreitung von Chlamydien-Infektionen beim Rind in Nordostdeutschland.  
Der Praktische Tierarzt 83 (3), 268-273
- ANDERSEN AA (2004):  
Chlamydia. Pathogenesis of bacterial infections in animals.  
Third Edition Blackwell Publishing Oxford
- BIESENKAMP-UHE C, Li YH, HEHNEN HR, SACHSE K and KALTENBOECK B (2007):  
Therapeutic Chlamydia abortus and C-pecorum vaccination transiently reduces bovine mastitis associated with Chlamydia infection.  
Infection and Immunity 75, 870-877
- CAVIRANI S, CABASSI CS, DONOFRIO G, DE IACO B, TADDEI S & FLAMMINI CF (2001):  
Association between Chlamydia psittaci seropositivity and abortion in Italian dairy cows. Preventive Veterinary Medicine 50 (1-2): 145-151
- CHANTON-GREUTMANN H, THOMA R, CORBOZ L, BOREL N & POSPISCHIL N (2002):  
Abortion in small ruminants in Switzerland: Investigations during two lambing seasons with special regard to Chlamydiae.  
Schweizer Archiv für Tierheilkunde 144 (9): 483-492
- CORSARO D & GREUB G (2006):  
Pathogenic potential of novel Chlamydiae and diagnostic approaches to infections due to these obligate intracellular bacteria.  
Clinical Microbiology Reviews 19, 283-97
- CORSARO D & VENDITTI D (2004):  
Emerging chlamydial infections.  
Critical Reviews in microbiology 30 (2): 75-106
- DEGRAVES FJ, STEMKE-HALE K, HUANG J, JOHNSTON SA, SYKES KF, SCHLAPP T, HEHNEN HR & KALTENBOECK B (2002):  
Vaccine identified by in vivo genomic screening enhances fertility in cattle during environmental challenge with Chlamydia, p. 265-268. In J. Schachter (ed), Chlamydial Infections. Proceedings of the 10th International Symposium on Human Chlamydial Infection.  
International Chlamydia Symposium, San Francisco, Calif.
- DEGRAVES FJ, GAO D, HEHNEN HR, SCHLAPP T & KALTENBOECK B (2003a):  
Quantitative detection of Chlamydia psittaci and C. pecorum by high-sensitivity real-time PCR reveals high prevalence of vaginal infection in cattle.  
Journal of Clinical Microbiology 41 (4): 1726-1769
- DEGRAVES FJ, GAO D & KALTENBOECK B (2003b):  
High-sensitivity quantitative PCR platform.  
Biotechniques 34 (1):106-10, 112-5
- DEGRAVES FJ, KIM T, JEE J, SCHLAPP T, HEHNEN HR & KALTENBOECK B (2004):  
Reinfection with Chlamydia abortus by uterine and indirect cohort routes reduces fertility in cattle preexposed to Chlamydia.  
Infection and Immunity 72(5): 2538-2545

- EVERETT KDE, HORNUNG LJ & ANDERSEN AA (1999):  
Rapid detection of the *Chlamydiaceae* and other families in the order *Chlamydiales*: three PCR tests.  
*Journal of Clinical Microbiology* 37, 575-580
- EVERETT K (2000):  
Chlamydia and Chlamydiales: more than meets the eye.  
*Veterinary Microbiology* 31, 75 (2), 109-126
- GERBERMANN H (1991):  
Chlamydial infection in cattle with special reference to fertility  
*Wiener Tierärztliche Monatsschrift* 78 (1), 13-19
- GOFF JP & HORST RL (1997):  
Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders.  
*Journal of Dairy Science* 80, 1260-8
- GRIFFITHS PC, PLATER JM, MARTIN TC, HUGHES SL, HUGHES KJ, HEWINSON RG & DAWSON M (1995):  
Epizootic bovine abortion in a dairy herd: characterization of a *Chlamydophila psittaci* isolate and antibody response.  
*British Veterinary Journal* 151, 683-693
- HEIMBERG P, HOLLBERG W, APEL J, DAMS W, SACHSE K & WINKELMANN J (2006):  
Infektionserreger bei Kälbern in NRW Untersuchung zu Vorkommen und Bedeutung.  
6. Berlin-Brandenburgischer Rindertag der Klinik für Kleintiere und des Bundesinstitutes für Risikobewertung (BfR), 05-07 Oktober 2006, Berlin
- HOELZLE LE, HOELZLE K & WITTENBRINK MM (2004):  
Recombinant major outer membrane proteins (MOMP) of *Chlamydophila abortus*, *Chlamydophila pecorum* and *Chlamydia suis* as antigens to distinguish chlamydial species-specific antibodies in animal sera.  
*Veterinary Microbiology* 103, 85-90
- HOLLBERG W (2002):  
Chlamydia, ein „neuer“ Erreger in unseren Milchviehherden.  
*Fleckviehwelt* 94: 15-17, [http://www.fleckvieh.de/FVWelt/FVW\\_94/grub-15-17.pdf](http://www.fleckvieh.de/FVWelt/FVW_94/grub-15-17.pdf)
- HOLLBERG W, APEL J, ADAMS W, HEIMBERG P, SACHSE K, HOTZEL H & WINKELMANN J (2005):  
Prävalenz häufiger Erreger von Atemwegserkrankungen von 0-8 Wochen alter Kälber in NRW.  
Chlamydieninfektion der Nutztier- Diagnostik, Pathogenese und zoonotische Aspekte  
3. Arbeitstagung des nationalen veterinärmedizinischen Referenzlabors für Psittakose, 13 & 14 Oktober 2005, Jena
- HORSCH F (1980):  
Epizootiologie, Pathogenese und Infektabwehr bei den Chlamydieninfektionen der Wiederkäuer.  
*Wissenschaftliche Zeitschrift der Humboldt-Universität zu Berlin. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Reihe* 29, 5-9
- HOTZEL H, SACHSE K & PFÜTZNER H (1996):  
Rapid detection of *Mycoplasma bovis* in milk samples and nasal swabs using the PCR.  
*Journal of Applied Bacteriology* 80, 505-510
- JÄGER J, BACHMANN R, MELZER F, SCHUBERT E, SACHSE K & REINHOLD P (2005):  
Konsequenzen einer klinisch inapparenten Chlamydien-Infektion auf die Lungenfunktion von Schweinen und Kälbern.  
Chlamydieninfektion der Nutztier- Diagnostik, Pathogenese und zoonotische Aspekte, 3. Arbeitstagung des nationalen veterinärmedizinischen Referenzlabors für Psittakose, 13.-14. Oktober 2005, Jena

JÄGER J (2006):

Bewertung von Chlamydien-assoziierten Veränderungen der Lungenfunktion bei Kalb und Schwein mittels Impuls-Oszilloresistometrie und der Software FAMOS.  
Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin

JEE JB, DEGRAVES FJ, KIM TY & KALTENBOECK B (2004):

High prevalence of natural *Chlamydia* species infections in calves.  
*Journal of Clinical Microbiology* 42, 5664-5672

KALTENBOECK B, KOUSOULAS KG & STORZ J K (1992):

Two-step polymerase chain reactions and restriction endonuclease analyses detect and differentiate *ompA* DNA of *Chlamydia* spp. *Journal of Clinical Microbiology* 30, 1098-104.

KALTENBOECK B, SCHMEER N & SCHNEIDER R (1997):

Evidence of numerous *omp1* alleles of porcine *Chlamydia trachomatis* and novel chlamydial species obtained by PCR.  
*Journal of Clinical Microbiology* 35, 1835-1841

KALTENBOECK B, HEHNEN HR & VAGLENOV A (2005):

Bovine *Chlamydia* spp. infection: do we underestimate the impact on fertility?  
*Veterinary Research Communications* 29, Suppl 1, 1-15

KOUL S, GUOTA PP & DHINGA PN (1988):

Experimental chlamydial mastitis in goats.  
*Australian Veterinary Journal* 65, 399-400

LIVINGSTONE M & LONGBOTTOM D (2006):

What is the prevalence and economic impact of chlamydial infections in cattle? The need to validate and harmonise existing methods of detection.  
*The Veterinary Journal* 172, 3-5

MYLLS V, & RAUTALA H (1995):

Characterization of Clinical Mastitis in Primiparous Heifers  
*Journal of Dairy Science* 78, 538-545

NABEYA M, KANEKO K, OGINO H, NAKABAYASHI D, WATANABE T, MURAYAMA J, HAYASHI K, FUKUSHI H, YAMAGUCHI T, HIRAI K, INABA J & MATUMATO M (1991):

Abortion in Japanese cows caused by *Chlamydia psittaci*.  
*Veterinary microbiology* 29, 261-265

NANDA NK, RAO AT, NAYAK BC, RAO AG & MISHRA PR (1992):

Dignosis of bovine chlamydial abortion in cattle.  
*Indian Veterinary Journal* 69, 483-486

PAPADOPOULOS O & LEONTIDIS S(1972):

Mastitis produced experimentally in sheep with an ovine abortion *Chlamydia*.  
*Zentralblatt Veterinärmedizin B* 19, 655-65

PAPP JR, SHEWEN PE & GARTLEY CJ (1994):

Abortion and subsequent excretion of chlamydiae from the reproductive tract of sheep during estrus.  
*Infection and Immunity*, 62 (9), 3786-3792

PETER O, DUPUIS G, PEACOCK MG & BURGDORFER W (1987):

Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and complement fixation and immunofloreszens antibody-tests for detection *Coxiella burnetii* antibody.  
*Journal of Clinical Microbiology* 25, 1063-1067

PEREZ-MARTINEZ JA & STROZ J (1985) :  
Chlamydial infections in cattle-part 2.  
Modern Veterinary Practice 66, 603-608

PETIT T, SPERGSER J, AURICH J & ROSENGARTEN R (2008):  
Prevalence of Chlamydiae and Mollicutes on the genital mucosa and serological findings in dairy cattle  
Veterinary Microbiology 127, 325-333

ROBERT KOCH INSTITUT (2001):  
Erkrankungen durch *Chlamydia psittaci* und *Chlamydia pneumoniae*.  
Ratgeber Infektionskrankheiten, 23. Folge, Epidemiologisches Bulletin 14, 95-97

RONSHOLT L & BASSE A (1981):  
Bovine Mastitis Induced by a Common Intestinal Chlamydia-Psittaci Strain - a Pathogenetic and Serological Investigation.  
Acta Veterinaria Scandinavica 22, 9-22

SACHSE K, GROSSMANN E, BERNDT A, SCHÜTT C, HENNING K, THEEGARTEN D, ANHENN O, REINHOLD P (2002):  
Respiratory chlamydial infections based on experimental aerosol challenge of pigs with *Chlamydia suis*.  
Complement Immune Microbiology Infection Diseases. 27, 7-23

SACHSE K & HOTZEL H (2003):  
Detection and differentiation of Chlamydiae by nested PCR.  
Methods in Molecular Biology 216, 123-36

SACHSE K, MELZER F, SCHUBERT E & REINHOLD P (2004):  
Chlamydiosen beim Rind.  
Grosstierpraxis 5,14-18

SACHSE K, HOTZEL H, SLICKERS P, ELLINGER T & EHRICHT R (2005):  
DNA microarray-based detection and identification of *Chlamydia* and *Chlamydophila* spp.  
Molecular and Cellular Probes 19, 41-50

SCHACHTER J (1999):  
Which test is best for Chlamydia?  
Current Opinion in Infection Diseases. 12, 41-50

SENN L, HAMMERSCHLAG MR & GREUB G (2005):  
Therapeutic approaches to Chlamydia infections.  
Expert Opinion on Pharmacotherapy 6, 2281-2290.

STING R (1997):  
Chlamydia-psittaci-Infektionen bei Kühen und weiblichen Schafen im nördlichen Baden  
Württemberg.  
Tierärztliche Umschau 52, 332-339

STING R, SIMMERT J, MANDL J, SEEMANN G, BAY F, MULLER KF, SCHMITT K & MENTRUP T (2000):  
Studies of *Coxiella burnetii* infections and infections with bacteria of the genus *Chlamydia* in dairy cattle.  
Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 113, 423-430

STING R, KOPP J, MANDL J, SEEH C & SEEMANN G (2003):  
Comparative serological studies in dairy herds of chlamydia and *Coxiella burnetii* infections using CFT and ELISA.  
Tierärztliche Umschau 58, 518

- STORZ J, CARROLL EJ, BALL L, & FAULKNER LC (1968):  
Isolation of a psittacosis agent (Chlamydia) from semen and epididymis of bulls with seminal vesiculitis syndrome.  
American Journal of Veterinary Research 29, 549-555
- STORZ J & KALTENBOECK B (1993):  
Disease diversity of chlamydial infections.  
Rickettsial and Chlamydial diseases of domestic animals.  
Pergamon Press, Oxford, United Kingdom, 363-392
- STRAUBE E, RÖDEL J & SALUZ H-P (2005):  
Pathogenetische Mechanismen bei der Infektion mit Chlamydien.  
Chlamydieninfektion der Nutztiere- Diagnostik, Pathogenese und zoonotische Aspekte  
3. Arbeitstagung des nationalen veterinärmedizinischen Referenzlabors für Psittakose,  
13-14. Oktober 2005, Jena
- SURIYASATHAPORN W, SCHUKKEN YH, NIELEN M & BRAND A (2000):  
Low Somatic Cell Count: a Risk Factor for Subsequent Clinical Mastitis in a Dairy Herd  
Journal of Dairy Science 83, 1248-1255
- TAENKUM K, POSPISCHIL A, JANETT F, BÜRGI E, BRUGNERA E, HOELZLE LE, HOELZLE K,  
WEILENMANN R, ZIMMERMANN DR, GERBER A, POLKINGHORNE A & BOREL N (2007):  
Prevalence in semen and genital tracts of bulls, rams and bucks.  
Theriogenology 67, 303-310
- TWOMEY DF, GRIFFITHS PC, HORIGAN MW, HIGNETT BC & MARTIN TP (2006):  
An investigation into the role of *Chlamydophila spp.* in bovine upper respiratory tract disease.  
The Veterinary Journal 171, 574-576
- VOGEL M, JAEGER F; WINKELMANN J & SACHSE K (2006):  
Chlamydien in Rinderbeständen – Ergebnisse eines Monitorings  
6. Berlin-Brandenburgischer Rindertag der Klinik für Kleintiere und des Bundesinstitutes für Risikobewertung  
(BfR), 05-07 Oktober 2006, Berlin
- WANG FI, SHIEH H & LIAO YK (2001):  
Prevalence of chlamydophila abortus infection in domesticated ruminants in Taiwan.  
Journal of Veterinary Medical Science 63, 1215-1220
- WEHNERT C, WEHR G, TEICHMANN G, MECKLINGER S & ZIMMERHACKEL W (1980):  
Investigations on the contribution of chlamydiae to a mastitis episode.  
Wissenschaftliche Zeitschrift der Humboldt-Universität Berlin Math.-Nath.  
Science Report 29, 71-73.
- WEHREND A, FAILING K, HAUSER B, JAGER C & BOSTEDT H (2005):  
Production, reproductive, and metabolic factors associated with chlamydial seropositivity and reproductive tract  
antigens in dairy herds with fertility disorders.  
Theriogenology 63, 923-930
- WIITENBRINK M. M., HORCHLER H. & W. BISPING (1988):  
Untersuchungen zum Vorkommen von Chlamydia psittaci im Genitaltrakt und Kot von weiblichen  
Schlachtrindern.  
Journal of Veterinary Medical Science 35, 237-246
- WITTENBRINK MM, BISPING W, MROZEK M & HORCHLER H (1993):  
Die intestinale Chlamydia psittaci-Infektion des Rindes: Häufigkeit sowie technische Aspekte des kulturellen  
Erregernachweises.  
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 100, 195-198

## 7 Anhang

Tab. 16: Datenbogen zur Erfassung der Parameter im Rahmen des Betriebsbesuches

Variable	Wert, Kategorie, Antwortschema
<b>MLP-Daten (LKV-Jahresbericht pro Betrieb und Einzeltier)</b>	
Kuhzahl	Anzahl
Milchleistung	Menge in kg/Jahr
Fett	Prozent
Eiweiß	Prozent
Somatische Zellzahl	Tausend/kg Milch
Anzahl Laktationen	durchschnittliche Anzahl der Herde oder des Einzeltieres
Remontierung	Anteil ersetzter Tiere/Jahr
Besamungsindex	Durchschnittliche Besamungen/Kuh/Jahr
Rastzeit	durchschnittliche Anzahl der Tage bis zur ersten Belegung pro Betrieb
Güstzeit	Durchschnittliche Anzahl der Tage bis zur ersten Trächtigkeit pro Betrieb
<b>Haltung, Fütterung, Umwelt</b>	
Alter des Stalls	1 = < jünger 5 Jahre 2 = 5-10 Jahre 3 = >10-15 Jahre 4 = >15-20 Jahre 5 = >20 Jahre
Art des Stall	Beschreibung, keine Codierung
Stallbodenbelag, Art des Belags	1 = Flächenspalten 2 = Einzelspalten 3 = planbefestigt
Schieber vorhanden	· Ja · Nein
Spalten aufgeraut	· Ja · Nein
Überbelegung des Stalls	1 = nein (Liegebox-Fressplatzverhältnis 1:1) 2 = -5% 3 = >5-10% 4 = >10-20% 5 => 20%
Bürste	· Ja · Nein
Art der Fütterung	Beschreibung, keine Codierung
Weide	· Ja · Nein
Kraftfutter über Transponder	· Ja · Nein
Kraftfuttermenge im Melkstand	· Ja · Nein
Art der Tränke	Beschreibung, keine Codierung
<b>Besamung</b>	
Art der Besamung	· Künstliche Besamung · Deckbulle · Beides (Künstliche Besamung und Deckbulle)
Besamer	· Eigenstandsbesamer · Besamungstechniker · Deckbulle

Variable	Wert, Kategorie, Antwortschema
<b>Kalbung</b>	
Kälbersterblichkeit (in der Zeit von der 27. Trächtigungs- woche bis zum 7. Tag p.p.)	1 = < 2% der Kühe 2 = > 2%-10% 3 = > 10% 4 = keine Angaben
Abort (bis 27. Trächtigungswoche bei positiver Trächtigungsuntersuchung)	1 = < 2% der Kühe 2 = > 2%-10% 3 = > 10% 4 = keine Angaben
Kalbung vor 270. Trächtigkeitstag	1 = < 2% der Kühe 2 = > 2%-10% 3 = > 10% 4 = keine Angaben
Ort der Abkalbung 1	· Abkalbebox · Keine Abkalbebox
Ort der Abkalbung 2	· Einzelabkalbung · Gruppenabkalbung
Ort der Abkalbung 3	· Abkalbebox: Einzelbox · Abkalbebox: Gruppenbucht · keine Abkalbebox
<b>Beobachtungen am Tier</b>	
Sauberkeit der Kuh	1 = sehr gut 2 = gut 3 = befriedigend 4 = ausreichend 5 = mangelhaft 6 = ungenügend
Sauberkeit Vaginalbereich	1 = sehr gut 2 = gut 3 = befriedigend 4 = ausreichend 5 = mangelhaft 6 = ungenügend
Aussehen der Gelenke (vor allem Forderfußwurzelgelenk, Sprunggelenk)	1 = sehr gut: flaches Gelenk, keine fehlenden Haare oder Abschürfungen 2 = gut 3 = befriedigend 4 = ausreichend 5 = mangelhaft 6 = ungenügend: offene Wunden an Gelenken, beulenartige Schwellungen bzw. Entzündungen
Aussehen der Klauen	1 = sehr gut: gepflegte Klauen, hohe Trachten, keine Zwischenklauen oder Mortelaro 2 = gut 3 = befriedigend 4 = ausreichend 5 = mangelhaft 6 = ungenügend: Klauen zu lang, ungepflegt, starke Erkrankungen
Aussehen des Fundaments	1 = sehr gut: keine Lahmheiten, Bewegungsablauf bzw. „Lokomotion“ insgesamt gut 2 = gut 3 = befriedigend 4 = ausreichend 5 = mangelhaft 6 = ungenügend: schlechter Bewegungsablauf, kaum Vorwärtskommen

Variable	Wert, Kategorie, Antwortschema
Fell	1 = sehr gut: sehr sauber, nicht staubig, keine Verkrustungen durch Schmutz 2 = gut 3 = befriedigend 4 = ausreichend 5 = mangelhaft 6 = ungenügend: sehr verschmutzt, Dreckverkrustungen, durch Kot o. ä.
Hörner	· Ja · Nein · ent- und behornete Tiere in der Herde
Verhalten	1 = sehr gut: sehr ruhige Herde, keine Unruhe durch fremde Personen, Kühe lassen sich z.B. ohne Probleme anfassen 2 = gut 3 = befriedigend 4 = ausreichend 5 = mangelhaft 6 = ungenügend: hektische, unruhige Tiere, sehr nervös, lassen sich nicht berühren, ständige hohe Bewegungsrate in der Herde
<b>Hygiene im Stall</b>	
Boxensauberkeit	1 = sehr gut 2 = gut 3 = befriedigend 4 = ausreichend 5 = mangelhaft 6 = ungenügend
Spaltensauberkeit	1 = sehr gut 2 = gut 3 = befriedigend 4 = ausreichend 5 = mangelhaft 6 = ungenügend
Art der Box	Beschreibung, keine Codierung
Art der Einstreu	Beschreibung, keine Codierung
Säuberung des Futtertischs	· täglich · alle 2 Tage · bei Bedarf/unregelmäßig
Säuberung der Tränken	· täglich · 2 mal pro Woche · 1 mal pro Woche · bei Bedarf/unregelmäßig
Zwischendesinfektion Melkstand	· Ja · Nein
Zwischendesinfektion Melkstand	Art des Mittels
<b>Bekannter Erreger-Status</b>	
Impfung gegen Chlamydien	· Ja · Nein
Behandlung Chlamydien	· Ja · Nein
BVD	· positiv · negativ
BHV1	· positiv · negativ
BVD Impfung	· Ja · Nein

Variable	Wert, Kategorie, Antwortschema
<b>Sonstiges</b>	
Biobetrieb	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Ja</li> <li>· Nein</li> </ul>
Zukauf 1	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Ja (einschließlich Deckbulle)</li> <li>· Nein</li> </ul>
Zukauf 2	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Ja</li> <li>· Nein</li> <li>· nur Zukauf von Deckbulle</li> </ul>

## 8 Liste über Vorträge

Kemmerling K, Mueller U, Mielenz M, Sachse K, Winkelmann J, Jaeger F & Sauerwein H (2007):

An epidemiological study of the prevalence of *Chlamydophila* spp. in randomly selected dairy farms in the western part of Germany.

Proceedings of the 13<sup>th</sup> International Conference of Production Diseases in Farm Animals (ICPD), 27.07.-04.08.2007, Leipzig, Germany

Kemmerling K, Müller U, Mielenz M, & Sauerwein H (2008):

Chlamydieninfektion bei Milchkühen in NRW - Prävalenz und Risikofaktoren.

4. Arbeitstagung des Nationalen Referenzlabors für Psittakose: Infektionen durch intrazelluläre Erreger - Diagnostik, Epidemiologie und Pathogenese der Chlamydien- und Coxielleninfektionen, 25.-26.9.2008, Jena, Deutschland

## 9 Liste über Posterpräsentation

Kemmerling K, Mueller U, Mielenz M, Sachse K, Winkelmann J, Jaeger F & Sauerwein H (2007):

Prevalence of *Chlamydophila* spp. in randomly selected dairy farms in the western part of Germany.

Journal of Animal Science 85, Suppl. 1/ Journal of Dairy Science 90, Suppl. 1/Poultry Science 86, Suppl. 1: 467

## 10 Kurzfassung

Chlamydieninfektionen werden für eine Reihe von Fruchtbarkeitsstörungen und Atemwegserkrankungen beim Rind in Verbindung gebracht. Die entsprechende Literatur basiert in erster Linie auf serologischen Untersuchungen und weniger auf dem molekularbiologischen Direktnachweis der Erreger. Des Weiteren sind keine systematischen epidemiologische Studien zu finden. Demnach war das Ziel der Projektstufe I die Ermittlung der Erregerprävalenz in Milchviehbetrieben in NRW. Dafür wurden von den ca. 6.500 Milchviehbetrieben in NRW 100 Betriebe zufällig ausgewählt, wobei bei der Auswahl die Verteilung der Betriebe auf die Landkreise und die Anzahl Kühe pro Landkreis berücksichtigt wurden. Pro Betrieb wurden 10% der Herde (aber mindestens 10 Kühe) beprobt. Von den ausgewählten Kühen in der Früh-laktation wurden zwei Vaginaltupfer entnommen und diese zum einen bakteriologisch und zum anderen mit PCR-Nachweisverfahren untersucht. Die Proben wurden zunächst mittels real-time PCR genus-spezifisch (äußere Primer) auf *Chlamydophila* spp. getestet. Im Falle positiver Nachweise dient das erhaltene PCR-Produkt als Matrix für die zweite Runde, die Spezies-spezifische PCR. Um die Prävalenz des Chlamydophila-Nachweises auf Landesebene zu ermitteln, wurde ein Betrieb als positiv eingestuft, sobald mindestens eine Kuh positiv getestet wurde. Diese Annahme ist durch die diskontinuierliche Ausscheidung von Chlamydien begründet.

In den 32 Landkreisen des Landes wurden letztendlich von 100 milchviehhaltenden Betrieben insgesamt 1074 Kühe beprobt. Von den 1074 Tieren zeigte sich bei 145 Kühen (13,5 %) ein *Chlamydophila*-positives Ergebnis. Die Prävalenz auf Betriebsebene lag bei 61 %, d.h. in 61 % der Milchviehbetriebe in NRW war mindestens eine Kuh *Chlamydophila* positiv.

Von den 145 Kühen waren 34 mit *Chlamydophila abortus* und 52 mit *Chlamydophila psittaci* infiziert. *Chlamydophila pecorum* konnte nur bei 8 Kühen nachgewiesen werden und spielte daher eher eine untergeordnete Rolle. Die übrigen Proben konnten nicht spezifiziert werden. Die bakteriologische Untersuchung der Vaginalsekrete von 544 Kühen ergab, dass bei den *Chlamydophila* positiv getesteten Kühen der Anteil mit hämolysierenden Staphylokokken-Infektionen signifikant höher war.

Auf der Basis der Ergebnisse aus Stufe I erfolgte im Anschluss an die Beprobung der Tiere und der PCR-Analyse die Zusammenstellung und Verrechnung der erhobenen, betriebsindividuellen Faktoren, Kennziffern etc. (Stufe II). Das endgültige Ziel der Stufe II war eine Checkliste mit verschiedenen Risikofaktoren, welche mit relativ geringem Aufwand (zeitlich und finanziell) in einem Betrieb, dessen Chlamydienstatus nicht bekannt ist, erhoben und zur Einstufung im Hinblick auf die Chlamydiengefährdung führen kann. Dieses Ziel wurde über eine schrittweise statistische Analyse der während der Besuche erhobenen Betriebsdaten erreicht. Die Betriebsdaten setzten sich zusammen aus MLP-Daten der

Einzeltiere und der Herde, aus den Daten zu den betrieblichen Gegebenheiten sowie verschiedene Gesundheitsdaten. Die erhobenen Daten dienten zum einen der Beschreibung der „Chlamydien positiv“ und „Chlamydien negativ“ eingestuftem Betrieben. Zum anderen deckten sie die Bedingungen ab, die eine Chlamydienausbreitung begünstigen, d.h. sie beschreiben die Übertragungswege von Chlamydien (u.a. fäkal-oral, genital).

Im Rahmen der Datenauswertung wurde zunächst jede einzelne Variable auf ihren Einfluss auf den Chlamydienstatus getestet. Die Parameter mit signifikantem Einfluss wurden in die vorläufige Liste mit aufgenommen, wobei ähnliche Variablen (mittels Korrelationsanalyse) ausgeschlossen wurden. Bei der Aufzählung fiel auf, dass die gelisteten Parameter nicht nur im Zusammenhang mit einer Chlamydieninfektion stehen können, sondern auch mit anderen Infektionskrankheiten, welche schwerpunktmäßig zu Fruchtbarkeitsstörungen führen.

Im Folgenden fand die aufwendige Berechnung mehrerer logistischer Regressions-Modelle mit verschiedenen Kombinationen der ausgewählten Variablen statt sowie eine anschließende Diskriminanzanalyse zur Ermittlung der Variablen-Kombination mit den besten Klassifizierungsergebnissen bzw. Vorhersagewahrscheinlichkeiten.

Die letztendliche Checkliste als Ergebnis der statistischen Datenanalyse besteht aus den folgenden drei Parametern: Kälbersterblichkeit, Ort der Abkalbung und Art der Besamung. Sie beeinflussen die Vorhersage zur Einstufung eines „unbekannten“ Milchviehbetriebes (d.h. ohne bisherige Untersuchung des Chlamydienstatus) in „Chlamydien positiv“ oder „Chlamydien negativ“ am stärksten. Mit Hilfe der drei genannten Kriterien konnten von den 61 positiv eingestuften Betrieben 53 (= 86 %) vorhergesagt werden und von den 39 negativ eingestuften Betrieben 33 (= 85 %).

Die Parameter Rastzeit, Kalbezeitpunkt, Aussehen des Fundaments, der Klauen oder der Gelenke, Zukauf (einschließlich Deckbulle), Boxensauberkeit oder Spaltensauberkeit sowie Sauberkeit der Kuh oder des Vaginalbereichs dienen nicht der Einstufungsvorhersage. Es ist aber ratsam, sie mit aufzunehmen, um neben den Einstufungskriterien gleichzeitig weitere wichtige Risikofaktoren und Kennziffern zur Klassifizierung und je nach Parameter auch zur Minimierung der Übertragung von *Chlamydothila spp.* innerhalb von und zwischen Milchviehbetrieben kenntlich zu machen.

Entsprechend der betriebsindividuellen Angaben ist damit zum einen die Vorhersage der Gefährdung oder Nicht-Gefährdung durch Chlamydien möglich (mit ihrer jeweiligen Wahrscheinlichkeit). Zum anderen werden die wichtigsten Risikofaktoren für die Chlamydieninfektion für einen Milchviehbetrieb abgefragt. Die Schlussfolgerungen aus den jeweiligen Angaben können in die Betriebsberatung/-betreuung mit aufgenommen werden. Das abgeschlossene Forschungsprojekt trägt – durch die entsprechende Verbreitung der Prävalenzen (Stufe I) sowie der Listen bei Beratern und Tierärzten (Stufe II) – zur Aufklärung von Chlamydieninfektion bei Milchvieh in NRW bei.

