

# Tierärztliche Umschau 1/87

Zeitschrift für alle Gebiete der Veterinärmedizin

42. Jahrgang / 1. Januar 1987

<b>Mahnel, Grunert, Sinell, Geissler, Habermehl, Strauch, Hagenlocher, Rupprecht, Wohn, Bögel:</b> Zum 65. Geburtstag von Prof. Dr. Dr. h. c. mult. A. Mayr	3
<b>Mahnel und Munz:</b> Zur derzeitigen epizootologischen Lage bei den Tierpocken / Current epidemiology of animal poxvirus infection	5
<b>Büttner, Strube, Wolf und Hoerstke:</b> Parapoxvirus als Induktor unspezifischer Abwehrmechanismen / Parapoxvirus as an inducer of non-specific defence mechanisms	14
<b>Eichhorn und Chen Huan-Chun:</b> Serologische Untersuchungen über die Verbreitung von Rotaviren beim Pferd / A serological survey of the prevalence of rotavirus antibodies in horses	22
<b>Thein, Ludwig und Meyer:</b> Beitrag zur molekularen Epizootologie equiner Herpesviren / The molecular epizootology of equine herpesviruses	23
<b>Meyer und Hübner:</b> Aktuelles zur bovinen Herpesvirus 1 (BHV1) bedingten Enzephalitis beim Kalb / BHV1 encephalitis in calves	27
<b>Wizigmann:</b> Erfahrungen beim Nachweis von BHV1 (IBR/IPV-Virus)-Antikörpern in Bestandsmilch / Experiences with the demonstration of BHV1 antibodies in herd milk samples by ELISA	34
<b>Wittmann et al.:</b> Untersuchungen zur Vereinheitlichung des Neutralisationstests zur Diagnose der Aujeszky'schen Krankheit / Experiments on the harmonization of the neutralisation test for Aujeszky's disease	41
<b>Kleinschmidt, Koepfel, Lindecke und Buschmann:</b> Gewinnung monoklonaler Antikörper gegen Differenzierungsantigene von Schweineleukozyten / Production of monoclonal antibodies against differentiation antigens of swine leucocytes	50
<b>Baljer, Eichhorn, Göbel, Wolf und Bachmann:</b> Vorkommen und Verbreitung wichtiger Durchfallerreger bei neugeborenen Kälbern in Süddeutschland im Zeitraum 1984 bis 1986 / The incidence and spread of important diarrhoeal pathogens among newborn calves in South Germany in the period 1984 - 1986	56
<b>Gedek:</b> Bacillus-cereus-Mastitiden beim Rind als Folge einer Arzneimittelkontamination 2. Epidemiologische Beobachtungen / Bacillus cereus mastitis in dairy cattle due to contamination of intramammary preparations. 2. Epidemiological observations	65
<b>Bauer, Gareis, Detzler, Gedek, Heinritzi und Kabilka:</b> Zur Entgiftung von Mykotoxinen in Futtermitteln / Detoxification of mycotoxins in feedstuffs	70
<b>Gareis, Reubel, Kröning und Porzig:</b> Ein Fall von infektiösem Welpensterben bei Afghanen in Verbindung mit der Verfütterung von Ochratoxin A-haltigem Milchpulver / A case of fading puppy syndrome associated with Ochratoxin A	77
Zum Artikel von P. Steinhagen: »Zur Problematik der Equinen Herpesvirus 1 (EHV)1-Infektion und ihrer Bekämpfung mit Hilfe von Impfstoffen«	80
Notizen	81
Hochschulschriften / Aus den Bundesforschungsanstalten / Tagungsberichte	84
Termine	86
Mitteilungen	88
VDTT	88
Industrie und Wirtschaft	89

Die Artikel dieses Heftes sind Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. mult. A. Mayr zum 65. Geburtstag gewidmet.

Erscheinungsweise: monatlich am 1.

Verlag und Anzeigenverwaltung: Terra-Verlag Heizmann, Neuhauser Straße 21,

Postfach 12 22, D-7750 Konstanz, Telefon (075 31) 5 40 31, Telex 7 33 271

Herausgeber: Eberhard Heizmann

Redaktion: Prof. Dr. O. C. Straub, Im Schönblick 71, 7400 Tübingen,

Telefon (070 71) 6 36 35 · 60 33 51 · 60 32 30

Verantwortlich für den Anzeigenteil: Claudia Reimann

Gesamtherstellung: Jacob Druck GmbH, Byk-Gulden-Straße 12, 7750 Konstanz

Preis des Einzelheftes DM 11,- einschl. DM -72 MwSt., Jahresabonnement Inland DM 132,- einschl. Vertriebsgebühr und DM 8,63 MwSt., Ausland DM 149,- einschl. Porto. Abbestellungen sind nur zum Ende eines Jahres möglich. Sie müssen 4 Monate vorher beim Verlag eingegangen sein.

Zur Zeit ist die Anzeigenpreisliste Nr. 24 vom 1. 1. 1987 gültig.

Autoren bitten wir, unser Merkblatt über Hinweise für redaktionelle Arbeiten zu beachten, das beim Verlag angefordert werden kann.

ISSN 0049-3864 © Terra-Verlag 1987

Sehr geehrte Leser!

Als ich nach mehrjähriger Tätigkeit in Kalifornien und Australien in die Bundesrepublik zurückkehrte, fuhr ich auch nach Tübingen, um einen meiner früheren Chefs zu besuchen, der an der verhältnismäßig neuen Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere ein sogenanntes Sabbatical-Jahr antrat. Dabei stellte ich mich natürlich auch dem damaligen Regierungsdirektor Dr. Mayr vor, der zu dieser Zeit die Geschicke der Anstalt leitete. Er fragte mich nach meiner bisherigen Tätigkeit und meinte dann ganz einfach: »Wollen's nicht bei uns anfangen?«

Auch die Professoren Wagener und Rosenberger in Hannover hatten mir Arbeitsplätze angeboten, jedoch im x-ten Assistentenglied. Welche Entscheidung ich getroffen habe, ist Ihnen bekannt. Es war wahrscheinlich das »Ohne-wenn-und-aber«, das mich beeindruckte. Es freut mich deshalb besonders, daß ich mich mit einem »Geburtsheft« den auf den ersten Seiten dieses Heftes geäußerten Glückwünschen anschließen kann.

Ich hoffe, daß Ihnen, sehr geehrte Leser, mit den vielen Artikeln der Januar-Ausgabe, mit denen wir das neue Jahr einleiten, auch recht viel Interessantes vermittelt wird.

Mit den besten Grüßen

Ihr

*Otto Christoph Straub*

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin<sup>1)</sup> (Vorstand: Prof. Dr. Dr. h. c. mult. A. Mayr) und dem Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie<sup>2)</sup> (Vorstand: Prof. Dr. R. Gothe) der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

## Vorkommen und Verbreitung wichtiger Durchfallerreger bei neugeborenen Kälbern in Süddeutschland im Zeitraum 1984 bis 1986

von G. Baljer<sup>1</sup>, W. Eichhorn<sup>1)</sup>, E. Göbel<sup>2)</sup>, M. Wolf<sup>1)</sup> und P. A. Bachmann<sup>†1)</sup>

(6 Tabellen, 22 Literaturangaben)

Kurztitel: Neonatale Kälberdiarrhoe, Erregernachweis  
Stichworte: Kälberdiarrhoe – Rotaviren – Coronaviren – Kryptosporidien – ETEC – Süddeutschland

### Zusammenfassung

In einem Zeitraum von 2 1/2 Jahren wurden 1021 Kotproben, die von durchfallkranken Kälbern aus Süddeutschland stammten, auf das Vorkommen von Rota- und Coronaviren, Kryptosporidien und enterotoxischen E.-coli-Keimen untersucht. Der Erregernachweis erfolgte mit dem ELISA (Rotavirus, E. coli K99), der Hämagglutination bzw. dem Hämagglutinationshemmungstest (Coronavirus) und der mikroskopischen Kontrolle gefärbter Ausstriche (Kryptosporidien).

Rotaviren konnten in 22%, Coronaviren in 11% und E.-coli-K99-Keime in 12% der Durchfallproben nachgewiesen werden. 14% der Kotproben hatten einen niedrigen und 3% einen hohen Gehalt an Kryptosporidien. Von 1984 bis 1986 war bei allen Erregern ein leicht ansteigender Trend festzustellen.

In 36% der Kotproben ließ sich nur 1 Erreger nachweisen, 14% der Proben enthielten 2 und weniger als 1% 3 Erreger. Jahreszeitliche Unterschiede im Vorkommen einzelner Erreger wurden nicht gefunden. Der Zeitpunkt der Probenentnahme hatte nur einen Einfluß auf den Coronavirusnachweis. Bei Kälbern, die jünger als 5 Tage waren, konnten Rota- und Coronaviren und bei älteren Kälbern (6–14 Tage) Kryptosporidien und E. coli K99<sup>+</sup> häufiger nachgewiesen werden.

### Abstract

The incidence and spread of important diarrhoeal pathogens among newborn calves in South Germany in the period 1984–1986.

Over a period of two 1/2 years 1021 faeces samples taken from calves suffering from diarrhoea in South Germany were examined for the prevalence of rota and corona viruses, cryptosporidia and enterotoxic E. coli bacteria. The presence of the pathogens was confirmed by the ELISA (rotavirus, E. coli K99), the haemagglutination or haemagglutination-inhibition test (coronavirus) and by microscopic examination of stained smears.

Rotaviruses were detected in 22% of the faeces samples, corona viruses in 11% and E. coli K99-bacteria in 12%. 14% of the faeces samples had a low number of cryptosporidia, while 3% showed a high number. From 1984–1986 a slight increase was observed for all the pathogens.

In 36% of the faeces samples only one pathogen was found, whereas 14% of the samples contained two and less than 1% contained 3 pathogens. Seasonal variations in the prevalence of the individual pathogens were not found. The time of sampling had an influence only on the detection of the corona virus. In calves less than 5 days old rota- and coronaviruses were detected more often, while cryptosporidia and E. coli K99 were more frequent in calves of 6–14 days.

### Einleitung

Die neonatalen Durchfallerkrankungen der Kälbern stehen seit Jahren im Mittelpunkt des wissenschaftlichen Interesses. In vielen Untersuchungen wurde nachgewiesen, daß weltweit vor allem Rota- und Coronaviren, enterotoxische E. coli-Keime (ETEC) und Kryptosporidien die wichtigsten infektiösen Ursachen sind (Bachmann, 1979; Tzipori, 1981 u. 1984; Angus, 1983; Baljer u. Bachmann, 1980; McNulty u. Logan, 1983; Acres et al., 1975 u. 1977; Moon et al., 1976; Marsolais et al., 1979; Boch et al., 1982; Myers et al., 1984; Reynolds et al., 1986; Snodgrass et al., 1986). Dabei können beim Zustandekommen der Durchfallerkrankung diese Erreger auch zusammen wirken (Tzipori, 1984; Hess et al., 1984; Reynolds et al., 1986). Das Vorkommen obiger enteropathogener Erreger bei Durchfallkälbern wurde für den süddeutschen Raum bereits früher bestätigt (Baljer u. Bachmann, 1980; Boch et al., 1982). Diese Untersuchungen, sowie vergleichbare Untersuchungen aus anderen Regionen, beschränkten sich aber auf Untersuchungsmaterial aus einem relativ begrenzten Zeitraum bzw. nur auf den Nachweis von einem oder zwei Erreger.

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals über einen längeren Zeitraum (2 1/2 Jahre) die Verbreitung von Rota- und Coronaviren, Kryptosporidien und enterotoxischen E.-coli-Keimen untersucht. Da in vielen Problembeständen Süddeutschlands in den letzten Jahren, neben der E.-coli-Schluckvakzine (Baljer, 1977), vermehrt auch Muttertier-vakzinen gegen Rota- und Coronaviren sowie E.-coli-K99-Keime eingesetzt wurden (Bachmann et al., 1985; Eichhorn et al., 1982), bot sich auch die Möglichkeit eventuelle Auswirkungen der Immunisierung auf das Erregerspektrum zu studieren. Darüber hinaus wurden Einflüsse wie Jahreszeit, Alter der Kälber und Zeitpunkt der Probenentnahme auf das Vorkommen bzw. die Nachweishäufigkeit einzelner Erreger untersucht.

### Material und Methoden

#### Untersuchungsmaterial

Insgesamt wurden 1021 Kotproben, die von durchfallkranken Kälbern aus dem Raum Süddeutschland stammten, untersucht. Die eingesandten Proben wurden keiner besonderen Auswahl unterzogen, sondern waren Teil des täglich, in der hiesigen Routinediagnostik anfallenden Untersuchungsmaterials. Der Untersuchungszeitraum erstreckte sich auf die Jahre 1984, 1985 und auf das erste Halbjahr 1986.

#### Anzüchtung

Die Kotproben wurden zur Untersuchung auf hämolysinbildende E.-coli-Keime auf Blut- (10% Schafblut-) und Gassner-Agar mittels Dreiösenausstrich angezüchtet und 18–24 Stunden bei 37°C bebrütet.

#### K99-Nachweis im Mikro-ELISA

Zur Beschichtung der Platten diente ein K99-Antikörper vom Kaninchen. Die beschichteten und mit Folien ver-

geschlossenen Platten wurden bis zur Verwendung bei 4°C bis 8°C gelagert. Die Kotproben wurden vor der Austestung in NaCl-Phosphatpuffer mit 0,5% Tween aufgeschwemmt (im Verhältnis 1:5), mit Ultraschall homogenisiert und anschließend zur Abtrennung grober Bestandteile, zentrifugiert (30 min / 2000 g). Die Beschickung der Platten erfolgte mit unterschiedlichen Verdünnungen des Fäzesüberstandes. Für den Test fand ein monoklonales K99-Antikörper-Peroxidase-Konjugat<sup>1)</sup> Verwendung. Das Substrat bestand aus 0,5 g o-Phenyl-diamin plus 4,67 g Zitronensäure plus 9,15 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pro l Aqua dest. Unmittelbar vor Gebrauch wurde 0,005% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zugegeben. Die Ablesung erfolgte nach einer Reaktionszeit von 10 min mit einem Photometer (Flow) bei 450 nm. Als positiv wurden Proben bewertet, bei denen der Extinktionswert das dreifache einer entsprechenden Negativprobe betrug.

#### *Rotavirusnachweis im Mikro-ELISA*

Die Kotproben wurden, in Anlehnung an die von Bachmann (1979) beschriebene Methode, mit der doppelten Antikörper-Sandwichtechnik auf das Vorkommen von Rotavirusantigen untersucht. Die Platten wurden mit Anti-Rotavirus-Globulin vom Kaninchen beschichtet, mit Folien verschlossen und bei 4°C gelagert. Die Beschichtung der Platten erfolgte mit aufbereiteten Fäzesproben (vgl. K99-ELISA)

<sup>1)</sup> Aszitesflüssigkeit eines K99 Hybridomas, die uns freundlicherweise von Dr. Gordowsky, Fa. Genetics, Minnetonka, Minn., USA, zur Verfügung gestellt wurde.

in den Verdünnungen 1:2, 1:4, 1:8 und 1:16 und mit Meerrettichperoxidase-markiertem Rotavirusantikörperkonjugat. Nach Zugabe des Substrates (vgl. K99-ELISA) wurde nach einer Reaktionszeit von 30 min bei Raumtemperatur mit einem Photometer (Flow) bei 450 nm abgelesen. Als positiv galten Proben, deren Extinktionswerte über 0,150 lagen.

#### *Coronavirusnachweis im Hämagglutinationstest*

Die Hämagglutination wurde mit dem Überstand einer Fäzesaufschwemmung in NaCl-Phosphatpuffer (1:5), mit 1% fetalem Kälberserum und einer 0,5%igen Rattenerythrosuspension durchgeführt. Nach Zugabe der Erythrozyten wurden die Platten geschüttelt und 3 Stunden bei Raumtemperatur belassen. Proben mit einem Hämagglutinationstiter über 1:400 wurden zur Spezifizierung einer Hämagglutinationshemmungsreaktion mit spezifischen Coronavirus-Immunsereen unterzogen.

#### *Nachweis von sporulierten Oozysten und Sporozysten der Kryptosporidien*

Der Kot wurde möglichst dünn auf Objektträgern ausgestrichen und luftgetrocknet. Im Anschluß an die Fixierung mit Methanol (5 min) erfolgte die Färbung mit einer kombinierten May-Grünwald-Giemsa-Färbung in der Färbeküvette nach folgender Methode: 5 min färben mit May-Grünwald (50% Stammlösung plus 50% Aqua dest.) – kurz abtropfen lassen und sofort 30 min mit Giemsa-Lösung (4% Giemsa-Stammlösung plus 96% Aqua dest.) nachfärben – kurz abtropfen lassen und sofort für ca. 3 sek in 0,5%ige Essigsäure

**Tabelle 1: Überblick über das Vorkommen und die Verbreitung wichtiger, enteropathogener Erreger bei durchfallkranken Kälbern in Süddeutschland**

Untersuchungszeitraum	n	Anteil der positiven Kotproben							
		Rotaviren	Coronaviren	Kryptosporidien			Escherichia coli		
				gesamt	+ - ++	+++ - ++++	gesamt	K99 <sup>+</sup>	häm <sup>+</sup>
1984	476	15%	7%	18%	15%	3%	93%	12%	6%
1985	401	27%	14%	17%	14%	3%	94%	11%	2%
1986 (6 Monate)	144	33%	14%	18%	13%	5%	95%	14%	3%
1984 - 1986	1 021	22%	11%	17%	14%	3%	94%	12%	4%

(in Aqua dest.) verbringen – lufttrocknen lassen. Die Auswertung erfolgte durch Mikroskopieren mit einem 40er Objektiv. Die Kryptosporidien stellen sich als 5 µm große, runde, ungefärbte, wie ausgestanzt aussehende Löcher im Ausstrich dar. Das Zytoplasma ist hellblau gefärbt und schollig. Im Zytoplasma liegen rot bis violett gefärbte, an einer Stelle konzentrierte etwa 1 µm große Granula.

### Ergebnisse

Von Januar 1984 bis Juli 1986 wurden insgesamt 1021 Kotproben durchfallkranker Kälber systematisch auf Rotaviren, Coronaviren, Kryptosporidien und enterotoxische E. coli K99-Keime untersucht. Einen Überblick über die Verbreitung der einzelnen Erreger insgesamt und aufgeschlüsselt nach den verschiedenen Jahren gibt Tabelle 1. Im Untersuchungszeitraum 1984 bis 1986 wurden in den Kotproben am häufigsten Rotaviren nachgewiesen. Der Anteil der rotaviruspositiven Kotproben betrug insgesamt 22%. Die Nachweisrate bei den anderen Erregern lag etwas niedriger. Coronaviren ließen sich in 11% und Kryptosporidien in 17% der Proben nachweisen. Bei den Kryptosporidien wurde je nach Erregergehalt zwischen + - ++ und +++ - ++++ unterschieden. Der Hauptanteil (14%) entfiel dabei auf den schwach positiven Gehalt. Nur 3% der Kotproben wiesen einen starken Kryptosporidienbefall (+++ - ++++) auf.

Wie aus der Tabelle 1 weiter ersichtlich wird, ließen sich in fast allen Kotproben (94%) Escherichia-coli-Keime nachweisen. Aber nur in 12% der Proben konnte K99-Antigen festgestellt werden. 4% der isolierten E.-coli-Keime zeigten eine Hämolysebildung.

Beim Vergleich der einzelnen Jahre fällt bei allen Erregern ein ansteigender Trend auf. Dieser Anstieg ist bei den Rotaviren (1984: 15% und 1986: 33%) und bei den Kotproben mit stark positivem Kryptosporidienbefall (1984: 3% und 1986: 5%) besonders ausgeprägt.

Durchfallerkrankungen treten bei neugeborenen Kälbern das ganze Jahr über auf. Es war deshalb interessant, nachzu-

prüfen, ob einzelne Erreger in einer bestimmten Jahreszeit besonders häufig vorkommen. Wie die Ergebnisse in Tabelle 2 zeigen, sind die Unterschiede zwischen den einzelnen Jahreszeiten nur unwesentlich, so daß man nicht von einer jahreszeitlichen Dominanz eines Erregers sprechen kann. Die Durchfallerkrankungen der Kälber konzentrierten sich auf die ersten beiden Lebenswochen, wobei der Krankheitsbeginn durchaus variieren kann. Wir haben die eingesandten Kotproben auch nach Gruppen aufgeschlüsselt, bei denen der Durchfall a) in den ersten 5 Lebenstagen, b) zwischen dem 6. und 10. Lebenstag und c) nach dem 11. Lebenstag auftrat. Bei dieser Auswertung konnte nur ein Teil der Proben berücksichtigt werden, da sich anhand des Vorberichtes nicht immer ein Bezug zum Erkrankungsbeginn herstellen ließ. Den in Tabelle 3 zusammengefaßten Ergebnissen kann man entnehmen, daß Unterschiede bezüglich des zeitlichen Auftretens einzelner Erreger bestehen. Im Falle der Rota- und Coronaviren nahm die Nachweishäufigkeit mit zunehmendem Alter der Kälber ab, im Falle der Kryptosporidien und enterotoxischen E.-coli-Keime dagegen zu.

Ein wichtiger Punkt für die Aussagekraft einer diagnostischen Untersuchung ist die Frage nach dem Einfluß des

**Tabelle 3**

Vorkommen wichtiger enteropathogener Erreger bei durchfallkranken Kälbern in Abhängigkeit zum Alter

Alter der Kälber bei Beginn der Erkrankung	n	Anteil positiver Proben			
		Rotaviren	Coronaviren	Kryptosporidien	E.coli K99 <sup>+</sup>
1-5 Tage	261	36%	14%	15%	12%
6-10 Tage	218	33%	9%	26%	13%
> 11 Tage	81	26%	11%	20%	20%

**Tabelle 4**

Vorkommen wichtiger enteropathogener Erreger bei durchfallkranken Kälbern in Abhängigkeit zum Entnahmetag

Entnahme (Tage nach Beginn der Erkrankung)	n	Anteil positiver Proben			
		Rotaviren	Coronaviren	Kryptosporidien	E.coli K99 <sup>+</sup>
0-1	101	37%	14%	31%	15%
2-3	122	34%	21%	18%	9%
4-5	44	23%	11%	25%	16%
> 6	37	35%	5%	22%	16%

**Tabelle 2**

Vorkommen wichtiger enteropathogener Erreger in Kotproben durchfallkranker Kälber in Abhängigkeit zur Jahreszeit

Untersuchungszeitraum (1984-1986)	n	Anteil positiver Kotproben			
		Rotaviren	Coronaviren	Kryptosporidien	E.coli K99 <sup>+</sup>
Frühjahr	288	20%	13%	20%	7%
Sommer	146	18%	11%	17%	19%
Herbst	199	24%	10%	24%	14%
Winter	388	25%	9%	12%	11%

Zeitpunktes der Probenentnahme auf die Nachweishäufigkeit. Um diese Frage abzuklären, wurden die Ergebnisse auch nach dem Entnahmetag in Kotproben die a) 1 bis 2 Tage, b) 3 bis 4 Tage und c) über 5 Tage nach Beginn des Durchfalls entnommen wurden aufgeschlüsselt (Tab. 4.) Die Nachweisrate war bei fast allen Erregern im Wesentlichen unabhängig davon, ob die Probe kurz nach Beginn des Durchfalls oder später, im Verlauf der Durchfallerkrankung, entnommen wurde. Eine Ausnahme bildeten die Coronaviren, bei denen die Nachweisrate in den spät entnommenen Proben wesentlich niedriger lag.

Wie bereits eingangs erwähnt, kommen bei den neonatalen Durchfallerkrankungen auch Mischinfektionen vor. In unserem Untersuchungsmaterial ließen sich in 14% der Kotproben 2 und in weniger als 1% (n = 10) der Proben 3 oder 4 Erreger nachweisen. 49% der Kotproben blieben negativ und 36% der positiven Proben enthielten nur einen Erreger (vgl. Tab. 5). Einen Überblick über die Erregerkombination in den mehrfach positiven Kotproben gibt Tabelle 6. Am häufigsten sind Rotaviren in mehrfach positiven Kotproben zu finden und zwar unabhängig von der Erregerkombination.

Tabelle 5

Überblick über das Vorkommen negativer, einfach und mehrfach positiver Fäzesproben bei durchfallkranken Kälbern

Zahl der untersuchten Proben	Anteil der negativen Proben	Anteil der positiven Proben		
		mit 1 Erreger	mit 2 Erregern	mit 3 Erregern
1021	49%	36%	14%	< 1% (n = 10)

Wie Tabelle 6 aber zeigt, kann man grundsätzlich davon ausgehen, daß jeder der hier untersuchten enteropathogenen Erreger allein oder mit einem anderen Erreger in einer Durchfallprobe vorkommen kann.

#### Besprechung der Ergebnisse

In Süddeutschland ließen sich in den Kotproben durchfallkranker Kälber Rota- und Coronaviren, Kryptosporidien und enterotoxische E.-coli-K99-Keime nachweisen. Die Bedeutung dieser Infektionserreger am Durchfallgeschehen wurde dadurch unterstrichen, daß praktisch jede zweite Durchfallprobe einen oder mehrere dieser Erreger enthielt. In vergleichbaren neueren Untersuchungen in England wurden sogar in 72% (Snodgrass et al., 1986) bzw. 69%

Tabelle 6

Überblick über mögliche Erregerkombinationen bei mehrfach positiven Fäzesproben von durchfallkranken Kälbern

Erstbefund	Nachweishäufigkeit anderer Erreger			
	Rotaviren	Coronaviren	Kryptosporidien	E.coli K99+
Rotaviren (n = 228)		18%	21%	14%
Coronaviren (n = 179)	40%		17%	12%
Kryptosporidien (n = 179)	30%	10%		10%
E.coli K99+ (n = 122)	27%	11%	14%	

(Reynolds et al., 1986) der Kotproben enteropathogene Erreger gefunden. Der etwas höhere Prozentsatz kam wahrscheinlich dadurch zustande, daß in diesen Untersuchungen noch andere Erreger (z. B. Salmonella spp., BVD-Virus) miteinbezogen wurden.

Der Anteil der Mischinfektionen lag bei den vergleichbaren Untersuchungen etwa in der gleichen Größenordnung. In Süddeutschland waren es 15%, in England 15,3% bis 20% der Proben. Bei den Mischinfektionen dominierten die Doppelinfektionen. Dreifachinfektionen hatten in Süddeutschland im Durchschnitt einen Anteil von weniger als 1%, in England zwischen 0,3% und 3%.

Am weitesten verbreitet waren Rotaviren. Bereits 1979 und 1980 wurden in Süddeutschland aus 40% der Kotproben durchfallkranker Kälber Rotaviren isoliert (Baljer u. Bachmann, 1980). Dieser Prozentsatz fiel zwar 1984 vorübergehend auf 15% ab, stieg aber wieder im Jahre 1985 auf 27% und 1986 auf 33% an. Auch in anderen Regionen dominierten die Rotavirusisolate. Der Prozentsatz rotaviruspositiver Proben lag z. B. in England bei 42% bis 50%, in Kanada bei 27% (Acres et al., 1975 u. 1977; Marsolais et al., 1979) und in den USA bei über 50% (Moon et al., 1976; Myers et al., 1984).

Die Verbreitung der Coronaviren, mit einem Anteil von ca. 11% an den Gesamtisolaten, war bisher in allen Ländern relativ einheitlich. Ebenso wiesen die von uns gefundenen Nachweisraten bei Kryptosporidien kaum Unterschiede zu vergleichbaren Untersuchungen auf. Relativ stark variierten dagegen die Nachweisraten für enterotoxische E.-coli-Keime. Die Prozentsätze lagen zwischen 3% bis 7,5% in England, 12% in den eigenen Untersuchungen und in den USA, 14% bis 27% in Kanada und 63% in Holland (Guinee u. Jansen, 1979). Da sich die Nachweismethoden nicht wesentlich unterschieden, muß man davon ausgehen, daß bei diesem Erreger die größten regionalen und zeitlichen Unterschiede vorkommen.

Alle vergleichbaren Untersuchungen waren zeitlich relativ begrenzt. Das vorliegende Untersuchungsmaterial gab ein Bild über die epidemiologische Entwicklung bei Rota- und Coronaviren, Kryptosporidien und enterotoxischen E.-coli-Keime über einen Zeitraum von 2 1/2 Jahren. In diesem Zeitabschnitt wurde bei allen Erregern ein leicht ansteigender Trend beobachtet, der aber, da alle Erreger betroffen waren, letztlich nicht zu einer Spektrumsveränderung führte. Der Anstieg überraschte, denn in den letzten 2 Jahren wurden in Süddeutschland vermehrt Muttertierimpfungen gegen Rota- und Coronaviren, sowie E.-coli-K99-Keime eingesetzt. Da die Vorberichte zu den eingesandten Kotproben keine Hinweise auf eine vorausgegangene Muttertierimpfung im Bestand enthielten, kann man annehmen, daß die Kotproben von durchfallkranken Kälbern von nicht vakzinieren Kühen stammten. Dies wird auch durch die Erfahrungen aus Feldversuchen bestätigt, denn beim Vorliegen entsprechender Infektionserreger können mit dem Einsatz einer Muttervakzine im letzten Trächtigkeitstrimester die neonatalen Durchfallerkrankungen der Kälber erfolgreich bekämpft werden (Eichhorn et al., 1982; Bachmann et al., 1984 u. 1985). Aufgrund der hier gezeigten epidemiologischen Situation ist es durchaus sinnvoll, die bekannten Muttertierimpfungen in den Problembeständen Süddeutschlands weiter einzusetzen.

Für die Behandlung bzw. Prophylaxe der Kryptosporidieninfektionen gab es in der Praxis noch keine spezifischen Bekämpfungsmaßnahmen. Die Verdoppelung des Anteils stark positiver Kotproben in den letzten 2 1/2 Jahren auf ca. 5% macht deutlich, wie wichtig die Entwicklung wirksamer, spezifischer Bekämpfungsmaßnahmen auch gegen die Kryptosporidiose der Kälber ist. Experimentelle Therapieversuche mit Lasalocid® sind jetzt erfolgversprechend verlaufen und lassen auf ein wirksames und unschädliches

Präparat für die breite Anwendung in der Praxis hoffen (Göbel, 1986).

Trotz der relativ hohen Nachweisraten für die hier untersuchten Erreger darf man aber nicht übersehen, daß immer noch die Hälfte der untersuchten Durchfallproben »negativ« blieben. Dies könnte 2 Gründe haben, nämlich einmal, daß andere Durchfallursachen in Betracht kamen und zum anderen, daß das eingesandte Untersuchungsmaterial nicht optimal war. Sehr häufig wurde in diesem Zusammenhang diskutiert, daß der Entnahmezeitpunkt einen Einfluß auf die »Trefferquote« nimmt. Diese Annahme konnte in unseren Untersuchungen nur für den Coronavirusnachweis bestätigt werden, denn bei Durchfallproben, die erst 4 Tage nach Beginn der Erkrankung entnommen wurden, war deren Nachweisrate deutlich erniedrigt. Für Rotaviren, Kryptosporidien und enterotoxische E.-coli-Keime konnte dies nicht bestätigt werden. Bei der bakteriologischen Anzucht von Kotproben, die mehrere Tage nach Beginn der Erkrankung entnommen wurden, fiel auf, daß regelmäßig neben den E.-coli-Keimen Proteus-Bakterien als Begleitflora wuchsen. Dies wirkte sich auf den K99-Nachweis nicht nachteilig aus, da der ELISA ohne vorherige Anzucht der Kotproben durchgeführt wurde. Als Nachteil erwies sich das Proteus-Wachstum nur in bezug auf den Einsatz stallspezifischer E.-coli-Vakzinen, für deren Herstellung die Isolierung des enterotoxischen E.-coli-Keimes in Reinkultur Voraussetzung ist.

Die neonatalen Durchfallerkrankungen belasten die Kälberaufzucht in den ersten 14 Lebenstagen. Trotz der begrenzten kritischen Lebensphase ließen sich durchaus zeitliche Unterschiede im Auftreten der Durchfälle feststellen. Die meisten Durchfälle beginnen vor allem in den ersten 3 Lebenstagen oder zwischen dem 6. und 8. Lebenstag. Wir fanden auch zeitliche Unterschiede beim Nachweis einzelner Erreger. Coronaviren konnten deutlich häufiger bei Kälbern im Alter von 1 bis 5 Tagen, dagegen Kryptosporidien sowie E.-coli-K99-Keime häufiger bei älteren Kälbern nachgewiesen werden. Bis auf die E.-coli-K99-Keime entspricht dieser Befund den bekannten Ergebnissen (Boch, 1982; Tzipori, 1984; Reynolds, et al., 1986; Snodgrass, 1986). Warum das E.-coli-Ergebnis eine Ausnahme macht, ist schwer zu erklären und bedarf weiterer Untersuchungen.

Jahreszeitliche Häufungen wurden bei den einzelnen Erregern nicht festgestellt. Man kann davon ausgehen, daß die neonatalen Kälberdurchfälle in jeder Jahreszeit dasselbe Erregerspektrum aufweisen, d.h. die Bekämpfungsstrategie bleibt gleich, unabhängig davon, ob die Durchfallerkrankungen im Sommer oder Winter auftreten.

#### Schrifttum

1. Acres, S. D., C. J. Laing, J. R. Saunders and O. M. Radostits (1975): Acute undifferentiated neonatal diarrhea in beef calves. I. Occurrence and distribution of infectious agents. *Canad. J. comp. Med.* 39, 116–132.
2. Acres, S. D., J. R. Saunders and O. M. Radostits (1977): Acute undifferentiated neonatal diarrhea of beef calves: The prevalence of enterotoxigenic E. coli, reo-like (rota) virus and other enteropathogens in cow-calf herds. *Can. Vet. J.* 18, 113–121.
3. Angus, W. (1983): Cryptosporidiosis in man, domestic animals and birds: a review. *J. Roy. Soc. Med.* 76, 62–70.
4. Bachmann, P. A. (1979): Rotavirusnachweis in Faezes: Erfahrungen mit dem enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Zbl. Vet. Med. B.* 26, 835–842.
5. Bachmann, P. A. G. Baljer, X. Gmelch, W. Eichhorn, P. Plank and A. Mayr (1984): Vaccination of cows with K99 and rotavirus antigen: Potency of K99 antigen combined with different adjuvants in stimulating milk antibody secretion. *Zbl. Vet. Med. B* 31, 660–668.
6. Bachmann, P. A. W. Eichhorn, G. Baljer, H. Woernle, J. Wieda, P. Plank, W. Becker und A. Mayr (1985): Muttertierimpfung gegen Diarrhoe bei Kälbern. Ergebnisse eines Feldversuches. *Tierärztl. Umsch.* 40, 8–14.

7. Baljer, G. (1977): Erfahrungen mit der oralen Schutzimpfung von Kälbern gegen *Escherichia coli*. *Tierärztl. Umsch.* 10, 527–532.
8. Baljer, G. und P. A. Bachmann (1980): Nachweis enteropathogener *Escherichia coli*-Stämme und Rotaviren in Kotproben von Kälbern mit Diarrhoe. *Zbl. Vet. Med. B* 27, 606–615.
9. Boch, J., E. Göbel, J. Heine, U. Brändler und L. Schloemer (1982): Kryptosporidien-Infektion bei Haustieren. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 95, 361–368.
10. Eichhorn, W., P. A. Bachmann, G. Baljer, P. Plank und P. Schneider (1982): Vakzinierung hochträchtiger Rinder mit einem kombinierten Rotavirus/*E. coli* K99-Impfstoff zur Prophylaxe von Durchfallerkrankungen bei neugeborenen Kälbern. *Tierärztl. Umsch.* 37, 599–604.
11. Göbel, E. (1986): Possibilities of therapy of cryptosporidiosis in calves in problematic farms. *Zbl. Bakt. Hyg. A*, im Druck.
12. Guinee, P. A. M. and W. H. Jansen (1979): Detection of enterotoxigenicity and attachment factors in *Escherichia coli* strains of human, porcine and bovine origin, a comparative study. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A* 243, 245–257.
13. Hess, R. G., P. A. Bachmann, G. Baljer, A. Mayr, A. Pospischil and G. Schmid (1984): Synergism in experimental mixed infections of newborn colostrum-deprived calves with bovine rotavirus and enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC). *Zbl. Vet. Med. B* 31, 585–596.
14. Marsolais, G., R. Assaf, C. Montpetit and P. Marvis (1979): Diagnosis of viral agents associated with neonatal calf diarrhea. *Canad. J. comp. Med.* 42, 168–174.
15. Moon, H. W., S. C. Whipp and S. M. Skartvedt (1976): Etiologic diagnosis of diarrheal diseases of calves: Frequency and methods for detecting enterotoxin and K99 antigen production by *Escherichia coli*. *Am. J. Vet. Res.* 37, 1025–1029.
16. Myers, L. L., B. D. Firehammer, Maryon M. Border and D. S. Shoop (1984): Prevalence of enteric pathogens in the feces of healthy beef calves. *Am. J. Vet. Res.* 45, 1544–1552.
17. McNulty, M. S. and E. F. Logan (1983): Longitudinal survey of rotavirus infection in calves. *Vet. Rec.* 113, 333–336.
18. Reynolds, D. J., J. H. Morgan, N. Chanter, P. W. Jones, J. C. Bridger, T. G. Debney and K. J. Bunch (1986): Microbiology of calf diarrhea in southern Britain. *Vet. Rec.* 119, 34–38.
19. Sherwood, D., D. R. Snodgrass and G. H. K. Lawson (1983): Prevalence of enterotoxigenic *Escherichia coli* in calves in Scotland and northern England. *Vet. Rec.* 113, 208–212.
20. Snodgrass, D. R., H. R. Terzolo, D. Sherwood, J. Campbell, J. D. Menzies and B. A. Synge (1986): Aetiology of diarrhea in young calves. *Vet. Rec.* 119, 31–39.
21. Tzipori, S. (1981): The aetiology and diagnosis of calf diarrhea. *Vet. Rec.* 108, 510–514.
22. Tzipori, S. (1984): Cryptosporidiosis in animals and humans. *Microbiol. Rev.* 47, 84–96.

Anschrift der Verfasser: Veterinärstraße 13, D-8000 München 22.