

# **Onderzoek naar mogelijke oorzaken van de gezondheidsproblemen bij het rundvee op bedrijf Roozegaarde**

Bevindingen tijdens de observatie van 20 runderen en resultaten van virologisch, bacteriologisch, parasitologisch, immunologisch en pathologisch onderzoek op materiaal verkregen bij slacht, secties en observatie

Annemarie Bouma  
Gerwin Meijer  
Norbert Stockhofe-Zurwieden  
Gerard Wellenberg

Datum: 7-3-01  
ID-Lelystad rapport  
Project nr.: 351.47348.01



# Inhoudsopgave

Samenvatting	5
1 Inleiding	7
2 Werkwijze	8
2.1 Selectie van dieren	9
2.2 Slacht	11
2.3 Secties 15-8-00	12
2.4 Observatie	13
2.5 Laboratoriumonderzoek	15
3 Resultaten	18
3.1 Secties 15-8-00	18
3.2 Onderzoeken	21
4 Discussie	39
5 Conclusies	40



# Samenvatting

## Inleiding

Op bedrijf Roozegaarde in Zelhem (UBN 272711) waren problemen met de gezondheid van het rundvee. De problemen bestonden bij de koeien uit versneld vermageren, lagere melkproductie dan verwacht, een algeheel verlies van conditie van de dieren, het optreden van infecties met symptomen van zeer diverse aard en sterfte. Bij het jongvee was sprake van slap- of doodgeboren kalveren. Het bedrijf is geruimd op 15-8-00. Na de ruiming is een aantal onderzoeken uitgevoerd om de mogelijke oorzaak van de problemen te achterhalen of uit te sluiten.

## Methode

Er is een aantal onderzoeken uitgevoerd:

- Secties (macroscopisch en microscopisch) op 15 dieren op de dag van ruiming
- Laboratoriumtests op slachthuismateriaal en sectiemateriaal
- Observatie van 20 dieren bij ID-Lelystad gedurende negen weken in combinatie met een aantal laboratorium tests
- Laboratoriumtests op monsters van dieren van het bedrijf, uitgevoerd in het kader van virologisch, parasitologisch, bacteriologisch, pathologisch en immunologisch onderzoek.

## Resultaten en discussie

Veel dieren waren bij ruiming in slechte conditie en ernstig kreupel. De dieren die voor observatie bij ID-Lelystad werden opgesteld zijn in de observatieperiode in conditie vooruit gegaan. Er was géén sprake van irreversibel conditieverlies. De dieren zijn bekapt en behandeld tegen klauwaandoeningen, waardoor de kreupelheid verdween of sterk afnam.

Er zijn geen aanwijzingen gevonden voor een virologische, bacteriologische of parasitologische infectie die de gezondheidsproblemen bij de koppel zou kunnen verklaren. De bij het pathologisch onderzoek gevonden afwijkingen zijn qua aard en frequentie niet uitzonderlijk voor dieren van die leeftijd. Bij sommige dieren zijn wel afwijkingen gevonden, maar deze zijn niet consistent bij de koppel aangetroffen en kunnen daarmee de problemen niet verklaren.

Aangezien gegevens over de gezondheidstoestand bij het rundvee vóór de aanvang van de problemen ontbreken en de problemen al geruime tijd op het bedrijf aanwezig waren voordat met dit onderzoek werd begonnen, is het moeilijk een causaal verband te vinden tussen de problemen op het bedrijf en eventuele onderzoeksbevindingen.

## Conclusies

Er is geen eenduidige oorzaak van de gezondheidsproblemen bij het rundvee op bedrijf Roozegaarde gevonden. Bij individuele dieren zijn soms wel afwijkingen gevonden, maar deze kwamen of niet op grote schaal voor of waren niet van dien aard dat ze afweken van wat vaker bij dieren van die leeftijd wordt gevonden. Gezien de diversiteit van de bevindingen is één onderliggende infectieuze oorzaak voor de problemen niet waarschijnlijk. Op basis van klinisch, pathologisch en hematologisch onderzoek zijn geen aanwijzingen verkregen die wijzen op één specifieke andere ziekteoorzaak. Onderzoek naar een aantal voedingsparameters zal nog worden uitgevoerd. Het onderzoek heeft niet geleid tot nieuwe hypothesen ten aanzien van een mogelijke oorzaak van de problemen.

Om in de toekomst tot een snellere en meer gerichte aanpak van dergelijke problemen te kunnen komen is het nodig dat meer informatie beschikbaar komt met welke frequentie bepaalde gezondheidsproblemen bij landbouwhuisdieren in Nederland vóórkomen. Het is tevens wenselijk dat, bij mogelijke vergelijkbare problemen in de toekomst, de bevindingen vanaf het moment van het ontstaan van problemen goed worden gedocumenteerd.



# 1 Inleiding

Vanaf begin 1999 zijn in de melkveehouderij bedrijven in beeld gekomen waar koeien, kort na het begin van de lactatieperiode, versneld vermagerden en minder melk produceerden dan verwacht. Dit beeld ging gepaard met een algeheel, irreversibel verlies van conditie van de dieren en het optreden van infecties met symptomen van diverse aard. De problematiek werd samengevat onder de naam 'slijters' of 'slijtende koeien'. Tot op heden is er geen eenduidige oorzaak voor de genoemde problematiek vastgesteld (Meijer et al., 2000). Er was ook geen verband aangetoond tussen de slijterproblematiek en de verplichte IBR vaccinatie uitgevoerd in 1998 (Bartels et al., 2000a en 2000b; Brusckhe et al., 2000).

## Historie bedrijf Roozegaarde

Op bedrijf Roozegaarde waren gezondheidsproblemen bij het rundvee. Bij een bezoek in mei 2000 door G. Meijer en J. Bongers (ID-Lelystad), en K. Verhoeff en M. Holzhauser (Gezondheidsdienst voor Dieren) is gesproken over de problemen. De problemen zouden zijn begonnen in 1997. De problematiek kwam bij vrijwel alle leeftijdscategorieën voor. Naast problemen met 'slijtende dieren' na afkalven, met veel secundaire problemen (o.a. klauwen) was er ook veel groeivertraging bij het jongvee, en waren er dood- of slaggeboren kalveren, die veelal binnen enkele dagen stierven.

De veehouder kwam in problemen doordat hij vanaf november 1999 geen dierlijke producten meer mocht leveren. De motivatie voor de bedrijfsvoering was verdwenen en de verzorging van de dieren was op een lager peil gekomen. Ook de diergeneeskundige handelingen werden tot een minimum beperkt vanwege het gebrek aan inkomsten. Desondanks werden koeien nog gemolken. Er werd geen krachtvoer bijgevoerd en volgens de eigenaar werd alleen een mindere kwaliteit ruwvoer van het jaar daarvoor gegeven. Hij beweerde dat sommige dieren nog 40 kilo melk per dag gaven. Hij gaf geen krachtvoer, omdat hij de melk toch niet kon afzetten en geen geld meer wilde investeren. Als reden voor het doorgaan met melken gaf de veehouder aan dat als hij zijn koeien zou droogzetten, een groot aantal binnen enkele weken zou doodgaan (mond. med. G. Meijer, 2000).

Een tweede bezoek vond plaats begin augustus 2000 toen bekend was dat het bedrijf zou worden geruimd. Dit bezoek vond plaats in het kader van de selectie van dieren voor de verschillende onderzoeken. Ook toen waren de dieren in slechte conditie en veel waren ernstig kreupel.

## Doelstelling

Onderzoek naar mogelijke oorzaken van het ontstaan van de gezondheidsproblemen bij het rundvee op bedrijf Roozegaarde of het uitsluiten van een aantal mogelijke oorzaken.

## 2 Werkwijze

Er is een aantal typen onderzoeken uitgevoerd:

- Sectie op de dag van ruiming op 15 dieren
- Laboratoriumonderzoek op slachthuismateriaal en sectiemateriaal
- Observatie en laboratoriumonderzoek van 20 dieren bij ID-Lelystad gedurende ongeveer negen weken.

Voor dit project zijn dieren geselecteerd voor sectie, slacht (destructie) en observatie bij ID-Lelystad. Allereerst wordt de selectie beschreven en vervolgens de aanpak tijdens de slacht uitgevoerd op 15-8-00 (dag van ruiming). Daarna worden de diverse onderzoeken secties beschreven: de observatie en de verschillende laboratoriumonderzoeken die zijn uitgevoerd.



## 2.1 Selectie van dieren

Een aantal dieren werd geselecteerd voor sectie op dag van ruiming en een aantal dieren is geselecteerd voor observatie en nader onderzoek bij ID-Lelystad.

Op 10-8-00 is door een dierversorger en dierenarts van ID-Lelystad, in overleg met de veehouder, de selectie gemaakt. De veehouder heeft de dieren dus mede geselecteerd en heeft aangewezen welke dieren volgens hem het slijterbeeld vertoonden. De selectie werd gedaan op basis van

- 1) het klinisch beeld en de geschiedenis van het dier;
- 2) de leeftijd van het dier;
- 3) melkgevend of droogstaand.

Er werden zowel dieren geselecteerd voor sectie (15 stuks, Tabel 1) als voor de observatie bij ID-Lelystad (20 stuks, Tabel 2). Er werd een aantal dieren uitgezocht die in slechte conditie waren (slijters: *s*) en een aantal dieren die op het oog niet ernstig waren vermagerd (niet-slijter: *ns*). Er werden zowel koeien als kalveren geselecteerd (Tabel 1 en 2). De koeien waren op dat moment droogstaand of melkgevend. Uit deze beide categorieën is een aantal dieren gekozen. De dieren voor sectie werden gemerkt met een blauwe stift, de dieren voor observatie met een groene merkstift. De dieren met de meest ernstige verschijnselen (vermagering) werden voor sectie uitgekozen, een aantal andere typische slijters, die een iets minder ernstig beeld vertoonden, zijn geselecteerd voor de observatie. De overige dieren zijn op het slachthuis gedood en ter destructie aangeboden (zie Bijlage 1).

Op het slachthuis is ook een aantal dieren geselecteerd voor het verzamelen van een aantal organen. Dit is gebeurd op basis van het klinisch beeld in overleg met de practicus van de veehouder die op dat moment op het slachthuis aanwezig was.

Tabel 1. Geselecteerde dieren voor sectie

Instituut <sup>1</sup>	I&R nr. <sup>2</sup>	Type <sup>3</sup>	Slijter/ niet-slijter <sup>4</sup>	m/v <sup>5</sup>
FD Utrecht	9335	jongvee	s	m
	0029	jongvee	s	m
	4249	jongvee	ns	v
	5353	droog	s	
	5341	melk	ns	
GD Deventer	9822	melk	s	
	0015	jongvee	ns	m
GD Boxtel	9819	droog	s	
	4252	jongvee	s	v
	5287	droog	ns	
ID-Lelystad	8926	melk	s	
	5337	melk	s	
	8804	melk	s	
	9860	droog	s	
	5358	melk	ns	

1) Plaats waar sectie op 15-8-00 is uitgevoerd

2) Identificatie & Registratie nummer (4 cijfers van het unieke levensnummer)

3) jongvee (<1 jaar); droog=droogstaande koe, melk=melkgevend dier

4) s= slijter, ns=geen slijter

5) m=stierkalf, v=vaarskalf

Tabel 2. Geselecteerde dieren voor observatie

Type	I&R nr.	
	Slijter	Niet-slijter
Melkgevend	5375	9804
	5356	9839
	9823	
	8462	
Droogstaand	2480	
	9808	8039
	5352	9809
	8051	
	9826	
Jongvee	9858	
	4260 (v)	4266 (v)
	4264 (v)	4265 (v)
	4236 (v)	
	0018 (m)	

m = stierkalf, v = vaarskalf

## 2.2 Slacht

Op 15-8-00 is het bedrijf geruimd. Vijftien dieren zijn voor sectie weggegaan, 20 dieren voor de observatie en 147 dieren zijn geslacht in Tolbert, Groningen. De dieren werden in willekeurige volgorde geslacht.

Op het slachthuis zijn monsters genomen voor verder onderzoek.

- Serum bloed (30 ml) van 147 dieren
- Organen van 20 runderen: lever, milt, nier, mesenteriale lymfeknopen (Inn. mes.) en de achteronderpoten (metatarsus) (Tabel 3).
- Heparinebloed (20 ml) van 50 dieren (elke 1e, 2e en 3e van een reeks van 10 dieren) (Tabel 19).

Van de heparinebloedjes zijn op 16-8-00 de leukocyten (witte bloedcellen (WBC)) geïsoleerd bij ID-Lelystad (zie voor werkwijze Brusckke et al., 2000). De opslag van de monsters bij ID-Lelystad was als volgt. De sera zijn opgeslagen bij -20°C; de WBCs bij -70°C; stukjes van alle zachte weefsels organen in opslagbuisjes van 4 ml bij -70°C; de rest van de organen (incl. de metatarsus) is opgeslagen bij -20°C.

Tabel 3: Identificatienummers van dieren geslacht in Tolbert, waarvan orgaanmateriaal is verzameld

Nr. <sup>1</sup>	Nr.	Nr.	Nr.
4238	9850	9815	5387
4234	2472	9911	5362
0027	9905	9852	2157
4277	9814	9807	9818
9941	9868	8818	5311

1) I&R nummer

## 2.3 Secties 15-8-00

Op ID-Lelystad kon op 15-8-00 sectie worden gedaan op vijf dieren. In overleg met het Ministerie van LNV is besloten op meer locaties dan alleen ID-Lelystad secties te laten uitvoeren om zo de capaciteit te verhogen en ook andere deskundigen dan alleen van ID-Lelystad bij het onderzoek te betrekken.

Op de dag van ruiming zijn de 15, voor sectie geselecteerde dieren naar ID-Lelystad vervoerd. Het aantal van 15 is gekozen op basis van de capaciteit bij de verschillende sectiezalens. Vijf secties zijn op ID-Lelystad uitgevoerd, vijf dieren zijn vervoerd naar de Faculteit Diergeneeskunde (FD) in Utrecht voor sectie, twee zijn vervoerd naar de Gezondheidsdienst voor Dieren (GD) in Deventer en drie zijn overgebracht naar de GD in Boxtel voor sectie (zie Tabel 1).

Bij FD, GD en ID-Lelystad heeft eigen protocollen voor het verrichten van secties. Bij sectie zijn de organen macroscopisch beoordeeld. Bij afwijkingen van organen is pathologisch-histologisch onderzoek verricht. Orgaan materiaal is verzameld voor virologisch en bacteriologisch onderzoek. De verzamelde organen en ander materiaal zijn: lever; hart; long; nier; faeces; darm; ileum; milt; tonsil; lymfeklieren (mesent); hersenen; ruggenmerg; macroscopisch afwijkende organen; vetweefsel; speekselklier; pensinhoud; bot/klauw.

Het materiaal is opgeslagen bij 4°C tot vervoer naar ID-Lelystad. Na aankomst bij ID-Lelystad is het materiaal verder verwerkt en opgeslagen. Van alle zachte organen en weefsels is op 16-8-00 en 17-8-00 een stukje opgeslagen in een 4 ml opslagbuisjes bij -70°C. De sera zijn afgedraaid en opgeslagen bij -20°C; De WBCs zijn geïsoleerd en opgeslagen bij -70°C. De rest van de organen is opgeslagen bij -20°C.

## 2.4 Observatie

### 2.4.1 Aanpak observatie

Doel van de observatie was te bepalen of de dieren irreversibele gezondheidsproblemen en conditieverlies hadden, en om een aantal onderzoeken gedurende langere tijd te kunnen uitvoeren. Aangezien op ID-Lelystad geen mogelijkheid bestaat koeien te melken, zijn de melkgevende runderen op verzoek van ID-Lelystad, voorafgaand aan het transport naar ID-Lelystad, door de veehouder droog gezet.

De 20 dieren werden twee aan twee opgesteld, waarbij telkens twee gelijke types bij elkaar op stal kwamen: slijters, niet-slijters, jongvee. In Tabel 4 staat het opstalschema. De koeien zijn beperkt gevoerd met grasbok (16 mm), 10 kg/dier/dag.

Tabel 4: Opstalschema en identificatie dieren

Stal nr. <sup>1</sup>	Oor nr. <sup>2</sup>	ID nr. <sup>3</sup>	Type <sup>4</sup>	S/NS <sup>5</sup>
8	4266	4396	jong	ns
	4265	4397	jong	ns
10	8039	4398	droog	ns
	9809	4399	droog	ns
11	9804	4400	melk	ns
	9839	4401	melk	ns
13	8051	4402	droog	s
	9808	4403	droog	s
15	8462	4404	melk	s
	5352	4405	droog	s
17	5375	4406	melk	s
	9826	4407	droog	s
19	9823	4408	melk	s
	2480	4409	melk	s
24	18	4410	jong	s
	4236	4411	jong	s
26	4260	4412	jong	s
	4264	4413	jong	s
37	9858	4414	droog	s
	5356	4415	melk	s

1) Vleugel (gebouw): 43-10, ID-Lelystad, Edelhertweg 15, Lelystad

2) I&R nummer (4 cijfers uit unieke levensnummer)

3) ID-Lelystad gebruikt eigen oornummers;

4) jong = jongvee, droog = koeien die droog stonden tijdens de selectie, melk = koeien die melkgevend waren tijdens de selectie (bij aanvang van observatie droog gezet)

5) s/ns: s = slijter, ns = geen typische slijter

Bij aankomst werden de dieren klinisch geïnspecteerd. Een klinische score werd bijgehouden en genoteerd volgens een codering gebruikt bij dierproeven bij ID-Lelystad. Een conditiescore is gedaan op 15-8-00, en daarna nog op 13-9, 29-9 en 17-10. Deze is gedaan volgens de 'Handleiding conditiescore Melkvee; Praktijkonderzoek Rundvee (PR); ISSN 1386-8470; 1e druk 1998.

Voor zover nodig zijn de dieren bekapt en behandeld tegen klauwproblemen binnen twee weken na aanvang van de observatie.

Er zijn gedurende de observatieperiode regelmatig bloedmonsters (serum en heparinebloed) genomen voor virologisch onderzoek. Er is eenmaal heparinebloed afgenomen ten behoeve van immunologisch onderzoek. Bij aanvang is van elk dier een mestmonster genomen voor parasitologisch onderzoek.

#### **2.4.2 Immunistimulatie en -suppressie**

Een van de hypothesen van het optreden van de slijterproblematiek was dat er sprake zou kunnen zijn van een virale infectie. Een van die mogelijke virussen zou een circo-virus kunnen zijn. Bij runderen is over een dergelijk virus nog weinig bekend. Bij circovirus infecties bij varkens geldt de hypothese dat een hogere virustiter wordt gevonden na immuun-stimulatie (Gordon Allan, Oxford, oral presentation 2000). Van bepaalde virus infecties is bekend dat na immuunsuppressie latent geïnfekteerde dieren virus kunnen uitscheiden, zoals bijvoorbeeld BHV1.

Daarom is besloten om aan het einde van de observatieperiode een aantal dieren immunologisch te stimuleren en bij een aantal dieren immuunsuppressie te induceren. De idee erachter was dat misschien aanwezige circovirussen die niet aangetoond konden worden in de dieren onder 'normale' omstandigheden, wel aangetoond konden worden na behandeling. Hiermee zou een beter beeld kunnen worden gekregen van mogelijke oorzaken van de slijterproblematiek.

Een aantal dieren is ingespoten met Bayovac vivum (BHV1 vaccin) met Freund's compleet adjuvans of met Freund's incompleet adjuvans. Deze adjuvantia worden toegevoegd om het immuunsysteem extra te prikkelen (immunistimulatie). Een aantal dieren is gedurende 5 achtereenvolgende dagen ingespoten met corticosteroïden, een algemeen gebruikte methode voor het induceren van immuunsuppressie.

Van alle behandelde dieren zijn tot 10 dagen na behandeling neusswabs genomen om eventuele uitscheiding van virussen te kunnen bepalen. Tevens zijn bloedmonsters genomen volgens het protocol van de observatie. De monsters zijn opgeslagen bij -70°C. Bloedmonsters (WBC fractie) zijn getest op de aanwezigheid van circovirus (zie 2.5.1). De overige monsters zijn opgeslagen. Deze kunnen verder worden geanalyseerd als nieuwe ontwikkelingen op het gebied van diagnostiek beschikbaar zijn.

## 2.5 Laboratoriumonderzoek

Met het materiaal dat is verzameld bij de slacht, de secties en tijdens de observatie is een aantal laboratoriumtests uitgevoerd. Er is serologisch, virologisch, immunologisch, parasitologisch en bacteriologisch onderzoek gedaan. Tevens is pathologisch-anatomisch onderzoek gedaan.

### 2.5.1 Virologie

Er zijn allerlei virale infecties die kunnen leiden tot een verminderde weerstand van de dieren. In de literatuur wordt melding gemaakt van mogelijke immuunsuppressie ten gevolge van infecties met onder andere Bovine herpesvirus type 1 (BHV1), Bovine virus diarrree virus (BVDV), Bovine leukose virus (BLV) en Bovine immunodeficiency virus (BIV) (Zie rapport Brusckhe et al., 2000).

De sera zijn onderzocht op antilichamen tegen de volgende virussen: BHV1, BVDV, BLV, BIV, bovine respiratory syncytial virus (BRSV), en bovine herpesvirus type 4 (BHV4). Serologisch onderzoek op adeno-virus, BCK en PI3 werd niet relevant geacht. Er is geen enkele indicatie dat een infectie met een van deze virussen aanleiding is tot de problematiek. BCK geeft een typisch klinisch beeld en daarvan is geen sprake geweest.

De antistoffen tegen BHV1, BVDV, BLV, en BRSV zijn bepaald in een ELISA. Voor BHV1 is gebruik gemaakt van de gB en gE ELISA. Met de gB ELISA worden zowel antilichamen tegen het vaccin als tegen wildtype virus aangetoond (Kramps et al., 1994). Met de gE ELISA worden alleen antilichamen ten gevolge van een wildtype infectie aangetoond (Wellenberg et al., 1998). Antistoffen tegen BIV zijn bij het Veterinary Laboratory Agencies (VLA) (Weybridge, UK) in een ELISA onderzocht. De gebruikte test voor BVDV is beschreven door Kramps et al. (1999) en voor BHV4 door Wellenberg et al. (1999).

Witte bloedcellen (WBCs) werden geïsoleerd uit heparinebloedmonsters. De WBCs zijn als volgt uit het bloed geïsoleerd. De erythrocyten in het bloed worden gelyseerd, door het mengen van 1 deel bloed met 2 delen NH<sub>4</sub>Cl. Vervolgens wordt het mengsel gecentrifugeerd. De witte bloedcellen die neergeslagen zijn, worden opgenomen in een klein volume medium en ingevroren bij -70°C. De ingevroren monsters, worden ontdooid en op cellen aangekweekt om eventueel aanwezig virus te detecteren (zie Brusckhe et al., 2000 voor een uitgebreidere beschrijving van de methode).

Er is BVDV isolatie gedaan op materiaal afkomstig van dieren zonder antistoffen tegen BVDV waarvan heparinebloed was verzameld. Het heeft geen zin virus isolatie te doen op serologisch positieve dieren, omdat na het op komen van een antilichaam respons het virus in het algemeen niet meer (aantoonbaar) aanwezig is. Omdat op het moment van bloedafname de serologisch status niet bekend was kon pas achteraf worden bepaald van welke dieren nog geschikt materiaal aanwezig was, te weten WBC verzameld op 15 en 16 augustus 2000 en WBC van dieren uit de observatie die aan het eind van de observatieperiode geen BVDV-antilichamen hadden. BVDV isolatie uitgevoerd volgens de STERlab geaccrediteerde BVDV isolatie procedure (zie Brusckhe et al., 2000 voor een uitgebreidere beschrijving van de methode).

Er is tevens orgaanmateriaal en WBC van dieren onderzocht op de aanwezigheid van circovirus. Een PCR (polymerase chain reaction) is uitgevoerd op sectiemateriaal verzameld op 15-8-00 en van sectiemateriaal en WBCs van dieren uit de observatie. Het orgaanmateriaal hiervoor is verzameld op 15 en 16-8-01 en aan het eind van de observatieperiode. Organen zijn per dier gepoold en deze pool is gebruikt voor de PCR.

De PCR is geschikt voor het aantonen van DNA van porcine circovirus (PCV). Op basis van literatuur wordt verondersteld dat er een zekere mate van overeenkomst is tussen porcine circovirussen en mogelijke bovine circovirussen. De test is uitgevoerd met behulp van de specifieke PCV PCR met de bijbehorende PCV primers (zie methode Wellenberg et al., 2000). Op basis van de beschikbare literatuur is gekozen voor deze PCV primers, omdat de sequentie van het 'bovine' circo virus voor meer dan 95% overeenkomt met de sequentie van PCV type 2 (PCV2). De test is niet gevalideerd voor eventuele bovine circovirus en karakteristieken als sensitiviteit en specificiteit zijn niet bekend. Specifieke gevalideerde tests voor mogelijke bovine circovirussen zijn er niet. Dit betekent dat de testuitslag met terughoudendheid moet worden geïnterpreteerd.

### 2.5.2 Bacteriologie

Op organen die afwijkingen vertoonden is bacteriologisch onderzoek gedaan. Er is BO gedaan op de lever van dieren die op 15-8-00 ter sectie waren aangeboden aan ID-Lelystad. Faeces monsters van de vijf bij ID-Lelystad ter sectie aangeboden dieren (15-8-00) en van 20 dieren uit de observatie zijn onderzocht op *Salmonella*, *M. paratuberculosis* en *E. coli*. Op organen die afwijkingen vertoonden is bacteriologisch onderzoek (BO) gedaan.

### 2.5.3 Parasitologie

Er is parasitologisch onderzoek verricht op mestmonsters van de 20 dieren uit de observatie. Hierbij wordt het aantal parasieteneieren per gram faeces bepaald (epg). Van dieren met een epg > 25 is een faeces kweek ingezet om de typen wormen te kunnen bepalen.

Er is tevens leverbot onderzoek gedaan.

### 2.5.4 Immunologie

Bij een aantal dieren aangeboden op het slachthuis, bij de 5 dieren aangeboden ter sectie bij de GD en ID-Lelystad en bij dieren uit de observatie is een hematologisch onderzoek uitgevoerd. Een differentiatie van de WBCs is uitgevoerd. Dit is gedaan om afwijkingen gerelateerd aan infecties of aan het immuunapparaat vast te kunnen stellen. Er is gekeken naar aantallen neutrofiële, basofiele, en eosinofiele granulocyten en monocyten.

Van de perifere bloed lymfocyten (PBLs) in de dierproef is een lymfocyten proliferatie test (LPT) uitgevoerd. Een LPT kan een indruk geven van de vitaliteit van de lymfocyten en daarmee dus een indicatie zijn voor het functioneren van het immuunapparaat. Aanwijzingen voor immuunsuppressie kunnen onder meer worden afgeleid uit *in vitro* metingen van de capaciteit van PBLs om in reactie op een aangeboden stimulus te gaan delen. Deze *in vitro* test wordt een LPT genoemd. Een algemene indruk van deze capaciteit kan worden gekregen door het *in vitro* aanbieden van een specifieke stimulus, bijv. ConcanavalinA (ConA). Dit mitogeen zet bij een gezond dier met een goed functionerend immuunapparaat de lymfocyten aan tot deling. Bij immuunsuppressie is het vermogen van lymfocyten om te delen verminderd. De mate van celdeling is te meten en is een indicatie voor de vitaliteit van de PBLs (zie ook Brusckke et al., 2000).

In de huidige proef is een LPT uitgevoerd met PBLs van de 20 opgestalde dieren. Hoewel de 'gezonde' dieren als controle werden beschouwd moet worden opgemerkt dat alle dieren van hetzelfde bedrijf afkomstig zijn en dus geen echte controle kunnen zijn. Andere dieren waren echter niet beschikbaar. De test is eenmaal uitgevoerd met bloed afgenomen op 20-8-00.

De PBLs zijn geïsoleerd uit heparinebloed door centrifuge over een Ficoll gradiënt. De cellen zijn na wassen in een weefselkweek medium opgenomen. Als mitogenen zijn gebruikt Concanavaline A (ConA) en phytohaemagglutinine (PHA). De *in vitro* proliferatie wordt gemeten aan de hand van de inbouw van radioactiviteit (<sup>3</sup>H Thymidine) in het DNA van delende cellen. De resultaten worden weergegeven als het gemiddelde van een triplo van een proliferatietest uitgedrukt in delta counts per minute: het aantal counts per minute in de met mitogenen gerestimuleerde cellen minus het aantal counts per minute in de cellen zonder mitogeen (zie voor een uitgebreide beschrijving Brusckke et al., 2000).

### 2.5.5 Pathologie

Na afloop van de observatie is bij alle 20 dieren sectie verricht. Op 23, 24 en 25 oktober 2000 zijn de dieren levend aangevoerd en in de sectiezaal geëuthanaseerd door toediening van het euthanasiemiddel T61 gevolgd door verbloeden na dissectie van de halsslagader. Er is een pathologisch-anatomisch onderzoek uitgevoerd en het volgende orgaanmateriaal is voor virologisch en eventueel bacteriologisch of histologisch onderzoek verzameld (Tabel 5). Opgeslagen, ingevroren materiaal blijft tot maximaal een jaar na sectiedatum bewaard.



Van de vijf dieren van de sectie op ID-Lelystad op 15-8-00 en van 17 dieren van de observatie groep is het hersenmateriaal immunohistologisch onderzocht op BSE (Bovine spongieuze encephalopathie). Hoewel Roozegaarde melding maakte van nerveuze verschijnselen bij zijn dieren (expliciet werden hierbij de kalveren genoemd), wezen de klachten niet op een BSE ziektebeeld bij de koppel. De symptomen in combinatie met de leeftijdsgroep wezen niet in de richting van een mogelijke besmetting met BSE. Bovendien zijn de problemen bij bedrijf Roozegaarde een koppelprobleem en tot nu toe zijn alle gevallen van BSE in Nederland beperkt gebleven tot één dier per bedrijf. Daarom is bij het opstellen van het protocol voor het verzamelen van materiaal bij de ruiming en voor de observatie geen rekening gehouden met het uitvoeren van BSE onderzoek. Bij de sectie van de vijf dieren op ID-Lelystad op 15-8-00 is materiaal onderzocht op de aanwezigheid van BSE. Van 17 dieren van de observatie was geschikt materiaal beschikbaar. Dit materiaal is eveneens getest voor BSE.

Tabel 5: Verzamelde en opgeslagen materiaal van sectie van dieren uit de observatie ten behoeve van eventueel vervolgonderzoek

orgaan	in formaline gefixeerd	ingevroren bij $-70^{\circ}\text{C}^2$	virologisch onderzoek	toxicologisch onderzoek <sup>4</sup>
tonsil	x		x	
In. retrofaryngealis	x	x	x	
In. tracheobronchialis	x	x	x	
In. mesenterialis		x	x	
milt	x	x	x	
long	x	x	x	
lever	x			x
nier	x		x	x
darm (ileum)	x	x	x	
schildklier	x			
bijnier	x			
hersenen <sup>1</sup>	x		x	
verlengde merg			x	

1) van de hersenen zijn stukjes grote hersenen, hersenstam en kleine hersenen verzameld

2) monsters van veranderde weefsels zoals spieren of uier zijn eveneens verzameld

3) materiaal is bestemd voor eventueel onderzoek aan cryostaat coupes

4) materiaal is opgeslagen voor eventueel toxicologisch onderzoek

### **3 Resultaten**

De resultaten zijn als volgt weergegeven. Allereerst de resultaten van de secties en vervolgens van de laboratoriumtests die zijn uitgevoerd met materiaal verkregen tijdens de secties, de slacht en gedurende de observatieperiode.

#### **3.1 Secties 15-8-00**

Elke patholoog heeft volgens eigen protocollen de sectie verricht. In Tabel 6 staan de belangrijkste bevindingen van de drie externe pathologen. De resultaten van de secties uitgevoerd door ID-Lelystad staan in Tabel 7.

Bij ID-Lelystad zijn de karkassen van de koeien afgevoerd als speciaal risico materiaal (SRM). Bij de GD Boxtel zijn de karkassen afgevoerd volgens wettelijk voorschrift: de kop en ruggengraat als SRM, het overige materiaal naar de destructie. Bij de GD Deventer zijn de hele karkassen afgevoerd als SRM. Bij de FD Utrecht zijn de hele karkassen afgevoerd als SRM.

Tabel 6: Belangrijkste bevindingen van secties 15-8-00 uitgevoerd door FD en GD

Plaats	I&R nr	type	Bevindingen
FD Utrecht	5353	s	geen duidelijke morfologische verschijnselen veel eosinofiele granulocyten (eo's) mager
	5341	ns	geen duidelijke morfologische verschijnselen matige voedingstoestand
	9335	s	geen morfologische veranderingen zeer matige voedingstoestand
	4249	ns	eosinofiele enteritis, coccidiën, oesophagostomum granulomen redelijke voedingstoestand in darm multipele wormknobbeltjes enkele granulomateuze ontstekingshaarden met centraal necrose darm zeer celrijk veel eo's, enkele coccidiën stadia
	0029	s	geen morfologische veranderingen mager
GD Boxtel	9819	s	conditie matig, normale darmflora, verschijnselen van vlok atrofie geen Salmonella aangetoond geringe ontstekingshaarden in nieren geen afwijkingen gewrichten; Klauwen: RV binnen losse zool, buitenklauw diepe zoolzweer; LV scheuren in hoorn; RA scheur in hoorn; LA buiten diepe chronische zoolzweer lokaal ontstekingsinfiltraat op tonsil, oppervlakkige ontsteking in toppen van aantal vlokken van darm
	4252	s	conditie goed; dunne inhoud in dikke darm, verschijnselen van vlok atrofie; Lnn. mes. verspreide kalkafzetting geringe ontstekingshaarden in nieren geringe extra-modulaire haemopoiese milt; lokaal ontstekingsinfiltraat met verkalkingen op slijmvlies tonsil; lokaal geringe granulomateuze ontsteking met meerkernige ontstekingscellen
	5287	ns	zeer goede voedingstoestand in darm oppervlakkig verhoogde bloedrijkdom; verschijnselen van vlokatrofie Inn. mes.: veldjes met macrophagen; geringe ontstekingshaarden nier tonsil: geringe oppervlakkige ontsteking; milt: rond enkele follikels eosinofiele en neutrofiële granulocyten RV en LV scheuren in hoorn; chronische ontsteking gewricht LV knie
GD Deventer	9822	s	In submucosa dunne darm diffuse influx eosinofiele granulocyten Lever: aanzet tot leververvetting dunne darm bevat wat bloed; geen Salmonella aangetoond restant klauwbevangenheid
	0015	ns	geen bijzonderheden aangetoond

Tabel 7: Bevindingen van secties uitgevoerd op ID-Lelystad

Dier nr <sup>1</sup>	Onderzoek	Bevindingen <sup>2</sup>
8926 (s)	Macroscopie	Mager kadaver. Geringe lokale chronische pleuritis. Exsudatieve dermatitis balgebied van beide achterklauwen. Vergrote Inn. popliteus en iliaca.
	Microscopie	PrPsc immunohistochemisch onderzoek op BSE: negatief
	Uitslag	Exsudatieve dermatitis balgebied achterklauwen. Chronische niet-specifieke reactieve hyperplasie Inn. retropharyngealis, iliaca en popliteus.
5337 (s)	Macroscopie	Mager kadaver. Organen: gezwollen lever met lokaal vervetting; gezwollen milt; gering gezwollen bleke nieren. Linker achterpoot ter hoogte van de hak een ulcus in de huid van enkele cm in diameter. Zoolzweer in linker achterklauw. Rechter achterklauw: exsudatieve dermatitis balgebied. Sterk vergrote Inn. popliteus en Inn. iliaca. Beiderzijds in broekspieren en bekken musculatuur focaal oedeem en bleekheid/ bont aspect spierweefsel.
	Microscopie	PrPsc immunohistochemisch onderzoek op BSE: negatief
	Uitslag	Exsudatieve dermatitis balgebied rechter achterklauw. Zoolzweer in de linker achterklauw. Chronische niet-specifieke reactieve hyperplasie Inn. retropharyngealis, iliaca en popliteus. Huidulcus linker achterpoot ter hoogte van de hak. Hyperplastische splenitis. Focale degeneratie/ necrose broekspieren en bekkenmusculatuur
8804 (s)	Macroscopie	Cachectisch kadaver. Lokaal chronische peritonitis. Subcutaan abces op de rug. Diverse ulcera aan de huid van de achterpoten. Locale ontsteking/ abcedering in broekspieren en bekkenmusculatuur. Exsudatieve dermatitis balgebied van beide achterklauwen. Gezwollen Inn. popliteus en Inn iliaca.
	Microscopie	PrPsc immunohistochemisch onderzoek op BSE: negatief
	Uitslag	Cachectisch kadaver. Exsudatieve dermatitis balgebied achterklauwen. Chronische niet-specifieke reactieve hyperplasie Inn. retropharyngealis, iliaca en popliteus. Subcutaan abces op de rug. Diverse huidulcera aan de achterpoten. Focale degeneratie/ ontsteking en necrose in broekspieren en bekkenmusculatuur.
5358 (ns)	Macroscopie	Matige voedingstoestand. Lokaal bont aspect in broekspieren van beide achterpoten. Exsudatieve dermatitis balgebied van beide achterklauwen. Vergrote Inn. popliteus en Inn iliaca.
	Microscopie	PrPsc immunohistochemisch onderzoek op BSE: negatief
	Uitslag	Exsudatieve dermatitis balgebied achterklauwen. Chronische niet-specifieke reactieve hyperplasie Inn. retropharyngealis, iliaca en popliteus. Focale degeneratie spiervezels van de broekspieren.
9860 (s)	Macroscopie	Goede voedingstoestand. Purulente mastitis. Gering gezwollen milt. Linker voorpoot acquisiete bursa ter hoogte van de kogel. Rechter voorpoot uitgebreide subcutane fibrose ter hoogte van de kogel. Afgekapseld proces in broekspieren rechter achterpoot met fibrine en fibrosering. Lokaal bont aspect in broekspieren linkerachterpoot. Tussenklauw ontsteking van beide achterklauwen. Vergrote Inn. popliteus.
	Microscopie	PrPsc immunohistochemisch onderzoek op BSE: negatief
	Uitslag	Purulente mastitis. Acquisiete bursa linker voorpoot. Subcutane fibrose t.h.v de kogel rechter voorpoot. Focaal proces in broekspieren rechter achterpoot met fibrine en fibrosering. Focale degeneratie van spiervezels in broekspieren linkerachterpoot. Tussenklauw ontsteking van beide achterklauwen. Chronische niet-specifieke reactieve hyperplasie Inn. iliaca en popliteus.

1) dier nr = I&R nummer (slijter s/ niet slijter ns)

2) PRPsc = prion protein scrapie type (afwijkend PRP: bewijzend voor de aanwezigheid van BSE)

## 3.2 Onderzoeken

### 3.2.1 Klinisch onderzoek observatie

Bij veel dieren werden bij de selectie en bij de aanvang van de observatie ernstige kreupelheden geconstateerd. De dieren waren in elk geval sinds november 1999 (negen maanden voor ruiming) niet meer bekapt. De meeste kreupelheden werden veroorzaakt door zoolzweren en Mortellaro (een gemakkelijk en goed behandelbare aandoening) (Tabel 8). Na het opstallen zijn dieren waarvan het stalpersoneel dat nodig achtte bekapt en behandeld tegen Mortellaro. De meeste kreupelheden verdwenen met de behandeling; bij enkele dieren waren de laesies zo ernstig dat geen definitief herstel optrad.

Veel dieren waren in slechte conditie. Bijna alle slijtende dieren zijn in conditie vooruit gegaan (Tabel 9). Dier 4406 bleef mager, maar er zijn aan dit dier verder geen bijzonderheden geconstateerd. De dieren aten goed en waren levendig. Af en toe zijn wat afwijkingen geconstateerd (Tabel 10), maar er was geen sprake van ernstige ziekten of van een eenduidig klinisch beeld.

Tabel 8: Bevindingen aan klauwen bij aanvang van de observatie (alleen vermelding van bevindingen bij die dieren waarbij ook klauwproblemen zijn geconstateerd)

ID nr	Type <sup>1</sup>	Datum (2000)	Resultaat <sup>2</sup>
4400	ns	5-9	Witte lijn ontsteking LV; vergroeiing klauw RV Mortellaro LA, RA
4401	s	5-9	Zoolzweer LV, LA; witte lijn ontsteking RV Mortellaro LA, RA
4402	s	28-8	Zoolzweer LA; witte lijn ontsteking RV Mortellaro
4403	s	28-8	Zoolzweer RA Mortellaro
4404	s	12-9	Zoolzweer RV, RA; witte lijn ontsteking Mortellaro
4405	s	12-9	Vergroeiing klauw LV, RV; witte lijn ontsteking RA Mortellaro
4406	s	27-8	Zoolzweer; dikke hak LA, RA Mortellaro
4407	s	27-8	Zoolzweer RA; vergroeiing klauw RV Mortellaro
4408	s	31-8	Mortellaro
4409	s	31-8	zoolzweer RV; witte lijn ontsteking LV, LA Mortellaro LV, RA dikke hak LA
4414	s	26-8	zoolzweer LV, LA Mortellaro
4415	s	26-8	zoolzweer LA, RV; dikke hak LA, RA Mortellaro

1) s = slijter; ns = geen slijter

2) RV = poot rechtsvoor; LV = links voor; RA = rechts achter; LA = links achter

Tabel 9: Conditie score volwassen dieren<sup>1</sup>: verloop van 15-8-00 tot 17-10-00

ID nr	Datum				Type
	15-8	13-9	29-9	17-10	
4398	3	4	4	4	ns
4399	3	4	4	4	ns
4400	2.5	4	4	4	ns
4401	3	4.5	4	4	ns
4402	1	3.5	3.5	3.5	s
4403	1	3	3	3	s
4404	1	2	2	2	s
4405	1	2	2	2	s
4406	1	1	1	1	s
4407	1	2.5	3	3	s
4408	17	2	2	2	s
4409	1	2	2	2	s
4414	2	3	3	3	s
4415	1	2	2	2	s

1 Een koe met score 1 is te mager; een koe met score 2 op bijvoorbeeld 30 dagen lactatie heeft een vrij ernstige negatieve energiebalans; een goede score voor producerende melkkoeien is 2.5-3; score 4 wordt gevonden bij een koe met een ruime vorm van vervetting en score 5 is voor koeien met een ernstige vervetting; bij scores 4 en 5 kunnen problemen optreden met geboorte en stofwisseling na afkalven.

Tabel 10: Samenvatting van de stalrapporten: gedurende de hele observatieperiode zijn eventuele afwijkingen genoteerd. In deze tabel staan alleen deze afwijkingen vermeld. Als er geen afwijking staat is deze ook niet waargenomen.

ID nr	Type	Resultaat
4396	ns	In de eerste week na opstallen is genoteerd dat het dier mager was. Vanaf 22-8-00 zijn geen bijzonderheden meer gezien.
4397	ns	In de eerste week na opstallen is genoteerd dat het dier mager was. Op 17-8 was er diarree. Vanaf 22-8 zijn geen bijzonderheden meer gezien.
4398	ns	Vanaf 23-8 tot 31-8 had het dier verminderde eetlust. Vanaf 1-9 zijn geen bijzonderheden meer gezien.
4399	ns	Op 25-8 had het dier verminderde eetlust. Verder zijn geen bijzonderheden gezien.
4400	ns	Bekapt. Er zijn geen bijzonderheden gezien.
4401	ns	Bekapt. Er zijn geen bijzonderheden gezien.

ID nr	Type	Resultaat
4402:	s	Bekapt. Vanaf 23-8 tot 31-8 had het dier verminderde eetlust. Vanaf 1-9 zijn geen bijzonderheden meer gezien.
4403	s	Bekapt. Gedurende de hele observatieperiode was het dier kreupel RA. Op 24, 25 en 30-8 had het dier verminderde eetlust. 31-8 had het dier verminderde eetlust. Verder zijn geen bijzonderheden geconstateerd.
4404	s	Bekapt. Het dier was mager bij opzet en kreupel de eerste 4 weken. Bovendien was er neusuitvloeiing en had het dier een abces. Vanaf 12-9 zijn geen bijzonderheden meer gezien.
4405	s	Bekapt. Het dier was mager bij opzet en kreupel de eerste 4 weken. Bovendien was er neusuitvloeiing en een open wond (waarschijnlijk een doorligplek op de huid). Gedurende de eerste 2 dagen. Het dier is vrijwel de gehele stalperiode RA kreupel geweest.
4406	s	Bekapt. Het dier was kreupel RA de eerste 2 weken. Op 14, 15 en 16 september werd genoteerd dat het dier mager was. Verder zijn geen bijzonderheden gezien.
4407	s	Bekapt. Gedurende de eerste 10 dagen kreupel RA. Magere toestand gedurende 5 weken. Een abces gezien RA vanaf 29-9 tot 4-10.
4408	s	Bekapt. Het dier was kreupel RA een dag (18-8). Op 19, 20 en 21 september werd genoteerd dat het dier mager was. Verder zijn geen bijzonderheden gezien.
4409	s	Bekapt. Het dier was kreupel LA en RA de eerste 2 weken en nog op 12 en 13-9. Op 14, 15 en 16 september werd genoteerd dat het dier mager was. Verder zijn geen bijzonderheden geconstateerd.
4410	s	Het dier heeft op 2 dagen gehoest (14 en 22 september). Verder zijn geen bijzonderheden gezien.
4411	s	De eerste 10 dagen was het dier mager. Verder zijn geen bijzonderheden geconstateerd.
4412	s	Bij aankomst had het dier diarree, was erg mager en had een groeiachterstand. Tot 2 weken na aankomst is deze bevinding genoteerd. Daarna bleef het dier mager, had af en toe minder eetlust en heeft gehoest vanaf eind september. Verder zijn geen bijzonderheden gezien.
4413	s	Bij aankomst was het dier mager en had een groeiachterstand. Tevens werd neusuitvloeiing opgemerkt tot 2 weken na opzet. Het dier bleef mager, had af en toe minder eetlust en heeft gehoest vanaf 24-8. Verder zijn geen bijzonderheden gezien.
4414	s	Bekapt. Er zijn geen bijzonderheden gezien.
4415	s	Bekapt. Twee dagen na aankomst was het dier kreupel LV. Na 25-8 zijn geen bijzonderheden meer gezien.

Zie voor afkortingen Tabel 8

### 3.2.2 Virologisch onderzoek

Serologisch onderzoek van 178 serummonsters op de aanwezigheid van antilichamen tegen BRSV, BVDV, BHV1, BLV, BIV en BHV4 laat het volgende beeld zien (Tabel 11):

- BVDV: Er waren 154 sera positief op BVDV antilichamen.
- BHV1: Er werden bij 124 van de onderzochte monsters gB antilichamen tegen BHV1 aangetoond.
- BRSV: In totaal waren 126 van de dieren positief, 11 reageerden aspecifiek en 41 dieren waren negatief in de BRSV ELISA.
- BLV: Er zijn geen antilichamen aangetoond tegen BLV.
- BIV: Er zijn geen antilichamen aangetoond gericht tegen BIV.
- BHV4: er waren 104 monsters positief.

De serologische bevindingen bij BVDV, BHV1 en BHV4 wijken niet af van wat er wordt aangetroffen bij melkveebedrijven in Nederland.

Er is BVDV isolatie gedaan op WBC materiaal afkomstig van dieren zonder antistoffen tegen BVDV waarvan tevens heparinebloed was afgenomen. De uitslag was in alle gevallen negatief (Tabel 12). Er is geen BVDV aangetoond.

Een PCV2 PCR is gedaan op sectiemateriaal verzameld op 15-8-00 (Tabel 13) en op WBCs en orgaanmateriaal van dieren uit de observatie verzameld aan het eind van de immuunsuppressie-proef (Tabel 14). Alle monsters waren negatief in de PCV2 PCR.



Tabel 11: Serologie uitslagen bij onderzoek naar de aanwezigheid van een aantal virussen

	I&R nr	ID nr	Test						
			gB BHV1	gE BHV1	BHV4	BVDV	BIV	BLV	BRSV
Sectie	9335		+	-	+	-	-	-	+
	29		+	-	+	+	-	-	+
	4249		+	-	+	+	-	aspec	-
	5353		+	+	+	-	-	-	-
	5341		+	-	+	+	-	-	+
	9822		+	-	+	+	-	-	+
	15		-	-	-	-	-	-	+
	9819		-	-	+	+	-	-	+
	4252		+	-	-	+	-	-	+
	5287		+	+	+	+	-	-	-
	8926		+	-	+	+	-	-	+
	5337		+	-	+	+	-	-	+
	8804		+	-	+	+	-	-	+
	9860		+	-	+	+	-	-	+
	5358		+	-	+	+	-	-	+
Stal	4266	4396	-	-	+	+	-	-	+
	4265	4397	-	-	-	+	-	-	+
	8039	4398	+	+	-	-	-	-	+
	9809	4399	+	-	+	+	-	-	+
	9804	4400	+	-	+	+	-	-	+
	9839	4401	+	-	+	+	-	-	+
	8051	4402	+	+	+	+	-	-	+
	9808	4403	+	-	+	-	-	-	+
	8462	4404	+	+	+	+	-	-	+
	5352	4405	+	-	+	+	-	-	-
	5375	4406	+	-	+	+	-	-	-
	9826	4407	+	-	+	+	-	-	+
	9823	4408	+	-	+	+	-	-	+
	2480	4409	+	-	+	+	-	-	+
	18	4410	-	-	+	-	-	-	-
	4236	4411	-	-	+	+	-	-	+
	4260	4412	-	-	-	+	-	-	-
	4264	4413	-	-	+	-	-	-	+
	9858	4414	+	-	+	+	-	-	-
	5356	4415	+	-	+	-	-	-	+
		Sticker							
Slacht	4238	1	-	-	+	+	-	-	+
	4233	2	-	-	-	+	-	-	+
	4254	3	-	-	-	+	-	-	+
	4237	4	-	-	+	+	-	-	+

I&R nr	ID nr	Test							BRSV
		gB BHV1	gE BHV1	BHV4	BVDV	BIV	BLV		
4258	5	-	-	+	+	-	-	aspec	
4240	6	-	-	+	+	-	-	+	
4234	7	-	-	+	+	-	-	+	
4262	8	-	-	+	+	-	-	+	
0014	9	+	-	+	-	-	-	+	
4272	10	-	-	+	-	-	-	-	
0032	11	-	-	-	-	-	-	-	
4274	12	-	-	+	-	-	-	-	
4256	13	-	-	-	+	-	-	aspec	
4270	14	-	-	+	+	-	-	-	
0025	15	+	-	+	-	-	-	-	
0016	16	+	-	+	-	-	-	+	
0027	17	-	-	-	-	-	-	aspec	
4277	18	+	-	-	-	-	-	+	
0022	19	-	-	-	+	-	-	+	
9945	20	+	-	-	+	-	-	-	
9949	21	-	-	-	+	-	-	+	
9937	22	-	-	-	+	-	-	+	
9940	23	-	-	-	+	-	-	-	
4250	24	-	-	+	+	-	-	+	
9948	25	-	-	-	+	-	-	+	
9944	26	-	-	+	+	-	-	-	
4231	27	-	-	+	+	-	-	-	
4255	28	-	-	+	+	-	-	-	
4251	29	-	-	-	+	-	-	+	
9942	30	-	-	-	+	-	-	+	
4298	31	-	-	+	+	-	-	+	
4232	32	-	-	-	+	-	-	+	
9947	33	-	-	-	+	-	-	+	
9933	34	-	-	-	+	-	-	-	
9919	35	+	-	-	+	-	-	+	
9946	36	-	-	-	+	-	-	+	
9934	37	-	-	-	+	-	-	-	
9929	38	-	-	-	+	-	-	-	
9932	39	-	-	-	+	-	-	-	
9941	40	-	-	-	+	-	-	-	
5311	41	+	+	-	+	-	-	+	
9864	42	+	-	-	+	-	-	+	
9914	43	+	-	-	+	-	-	+	
2471	44	+	-	-	+	-	-	+	
9850	45	+	-	+	+	-	-	+	
9935	46	-	-	-	+	-	-	+	
5316	47	+	+	-	+	-	-	+	
2472	48	+	-	-	+	-	-	+	

I&R nr	ID nr	Test						
		gB BHV1	gE BHV1	BHV4	BVDV	BIV	BLV	BRSV
9921	49	+	-	-	+	-	-	+
9916	50	+	-	+	+	-	-	+
9931	51	-	-	-	+	-	-	+
9905	52	+	-	-	+	-	-	+
9923	53	+	-	-	+	-	-	+
9924	54	+	-	-	+	-	-	+
9928	55	-	-	-	+	-	-	+
9939	56	-	-	-	+	-	-	+
9926	57	-	-	-	+	-	-	-
9938	58	-	-	dub	+	-	-	+
9908	59	+	-	-	+	-	-	-
9927	60	-	-	-	+	-	-	+
9921	61	+	-	-	+	-	-	+
9925	62	-	-	-	+	-	-	+
9814	63	+	-	+	+	-	-	+
9802	64	+	-	+	+	-	-	+
8414	65	+	+	+	+	-	-	+
9868	66	+	-	+	+	-	-	-
9906	67	+	-	-	+	-	-	+
9796	68	+	-	+	-	-	-	+
8818	69	+	-	-	+	-	-	+
9870	70	+	-	-	+	-	-	+
9837	71	+	-	+	+	-	-	+
5332	72	+	+	-	+	-	-	+
9859	73	+	-	+	+	-	-	+
9815	74	+	-	+	+	-	-	+
9915	75	+	-	+	+	-	-	-
5324	76	+	-	+	+	-	-	+
9911	77	+	-	-	+	-	-	-
5380	78	+	-	+	-	-	-	+
8936	79	+	-	+	+	-	-	+
8821	80	+	-	-	+	-	-	+
9902	81	+	-	+	+	-	-	+
9861	82	+	-	+	+	-	-	+
9901	83	+	-	-	+	-	-	+
9852	84	+	-	-	+	-	-	-
5330	85	+	+	+	+	-	-	+
5328	86	+	+	+	-	-	-	+
5371	87	+	-	-	+	-	-	+
9807	88	+	-	+	+	-	-	+
9918	89	+	-	-	+	-	-	+
9920	90	+	-	-	+	-	-	+
9903	91	+	-	-	+	-	-	+
2157	92	+	+	-	+	-	-	+

I&R nr	ID nr	Test						
		gB BHV1	gE BHV1	BHV4	BVDV	BIV	BLV	BRSV
5381	93	+	-	+	-	-	-	+
9818	94	+	-	+	+	-	-	+
5369	95	+	-	+	-	-	-	+
9841	96	+	-	+	+	-	-	+
5305	97	+	+	+	+	-	-	+
5340	98	+	-	+	-	-	-	+
9824	99	+	-	-	+	-	-	+
5387	100	+	-	+	+	-	-	+
5362	101	+	+	+	+	-	-	-
9810	102	+	-	+	+	-	-	+
5365	103	+	-	+	+	-	-	+
5322	104	+	+	+	+	-	-	+
9869	105	+	-	-	+	-	-	+
8921	106	+	-	+	+	-	-	+
9853	107	+	-	-	+	-	-	+
5361	108	+	-	+	+	-	-	+
5342	109	+	-	+	+	-	-	+
9867	110	+	-	-	+	-	-	+
9863	111	+	-	+	+	-	-	+
9959	112	-	-	-	+	-	-	+
9956	113	-	-	+	+	-	-	+
9958	114	-	-	+	+	-	-	+
9957	115	-	-	+	+	-	-	+
9960	116	-	-	-	+	-	-	-
5372	117	+	-	+	-	-	-	+
0580	118	+	+	+	-	-	-	+
9854	119	+	-	-	+	-	-	+
8040	120	+	-	+	+	-	-	-
9913	121	+	-	-	+	-	-	-
9811	122	+	-	-	+	-	-	+
9834	123	+	-	-	+	-	-	+
9800	124	+	-	-	+	-	-	+
9832	125	+	-	+	+	-	-	-
5388	126	+	-	-	+	-	-	+
9813	127	+	-	+	+	-	-	+
9799	128	+	-	+	+	-	-	+
5351	129	+	-	+	+	-	-	+
9831	130	+	-	+	+	-	-	+
9797	131	+	-	+	+	-	-	+
6866	132	+	+	+	+	-	-	+
9862	133	+	-	-	+	-	-	-
9798	134	+	-	+	+	-	-	+
9855	135	+	-	-	+	-	-	+
5374	136	+	-	-	+	-	-	-

I&R nr	ID nr	Test						
		gB BHV1	gE BHV1	BHV4	BVDV	BIV	BLV	BRSV
9849	137	+	-	+	+	-	-	+
5319	138	+	+	+	+	-	-	-
9821	139	+	-	+	+	-	-	+
5384	140	+	-	+	+	-	-	+
9825	141	+	-	+	+	-	-	+
8441	142	+	+	+	+	-	-	+
9904	143	+	-	+	+	-	-	+
5345	144	+	-	+	+	-	-	+
8813	145	+	-	+	+	-	-	+
9836	146	+	-	+	+	-	-	+
5336	147	+	+	-	+	-	-	+

+ = positief, - = negatief, aspec = specifieke reactie (niet te beoordelen)

Tabel 12: Resultaten van de BVDV isolatie

Herkomst	Dier nr	Resultaat <sup>1</sup>
Observatie	4415	-
	4398	-
	4403	-
	4410	-
	4413	-
GD Deventer	7298	-
FD Utrecht	9335	-
	5353	-
Slacht	0016	-
	0027	-
	4277	-
	9796	-
	5380	-
	5340	-
	5328	-

1) - = negatief testresultaat

Tabel 13: Resultaat van de PCV2 PCR op sectiemateriaal

Herkomst monster	Monster id nr.	Test resultaat <sup>1</sup>
Slacht	17 - 0027	-
	18 - 4277	-
	40 - 9941	-
	41 - 5311	-
	45 - 9850	-
	63 - 9814	-
	69 - 8818	-
	74 - 9815	-
	88 - 9807	-
	101 - 5362	d / -
Sectie	9335	-
	0029	-
	4249	-
	5341	-
	5353	d / -
	4429	-
	3947	-
	3975	-
	4066	d / -
Observatie	4396	-
	4397	-
	4398	-
	4399	-
	4400	-
	4401	-
	4402	-
	4403	-
	4404	-
	4405	-
	4406	-
	4407	-
	4408	-
	4409	-
	4410	d / -
4411	d / -	
4412	-	
4413	-	
4414	-	
4415	d / -	

1) - = negatief; d/- = eerste test uitslag dubieus, herhaalde test uitslag negatief

Tabel 14: Resultaat van de PCV2 PCR op WBCs van dieren aan het eind van de observatie

Dier nr	Resultaat	Dier nr	Resultaat
4396	-	4406	-
4397	-	4407	-
4398	-	4408	-
4399	-	4409	-
4400	-	4410	-
4401	-	4411	-
4402	-	4412	-
4403	-	4413	-
4404	-	4414	-
4405	-	4415	-

### 2.3 Bacteriologisch onderzoek

Er is bacteriologisch onderzoek gedaan op de levers van de vijf dieren van de sectie uitgevoerd op 15-8-00 op ID-Lelystad. Bij twee van de vijf dieren werden *E.coli* bacteriën aangetoond. Vervolgens is een bloedkweek ingezet van de vijf geseceerde koeien. Deze waren negatief voor *E. coli*. De positieve kweek uit de lever kan een gevolg zijn van contaminatie, maar ook tengevolge van transport stress. Er kan in dat geval een translocatie van bacteriën optreden. Bovendien is de bevinding maar bij een enkel dier gedaan. De aanwezigheid van *E.coli* wordt daarom niet in verband gebracht met de mogelijke slijterproblemen.

ParaTBC: Er zijn faeces monsters van vijf koeien onderzocht uit de sectie van ID-Lelystad. Deze monsters waren alle vijf zwaar verontreinigd, veelal met schimmel en konden niet beoordeeld worden. Daarna zijn er monsters van 20 koeien uit de observatie ingezet voor kweek. Tot nu toe zijn alle monsters negatief, maar de kweek moet nog twee maanden staan voordat de uitslag definitief is.

De faeces monsters van dieren uit de sectie en observatie van ID-Lelystad waren negatief voor *Salmonella*, en positief voor *E. coli*

### 3.2.4 Parasitologisch onderzoek

In Tabel 15 staan de resultaten van het parasitologisch mest onderzoek van de dieren uit de observatie. Bij géén van de dieren uit de observatie is leverbot aangetoond.

Tabel 15: Parasitologisch onderzoek (eieren per gram mest (epg))

Datum	Dier nr	Type	epg
15-8-00	8926	s	25
	5337	s	< 25
	8804	s	< 25
	9860	s	< 25
	5358	ns	< 25
18-8-00	4396	ns	25
	4397	ns	< 25
	4398	ns	< 25
	4399	ns	< 25
	4400	s	< 25
	4401	s	< 25
	4402	s	< 25
	4403	s	< 25
	4404	s	< 25
	4405	s	25
	4406	s	< 25
	4407	s	< 25
	4408	s	25
	4409	s	< 25
	4410	s	< 25
4411	s	150	
4412	s	25	
4413	s	< 25	
4414	ns	50	
4415	ns	< 25	

De aantallen eieren gevonden in de mestmonsters werden niet afwijkend beschouwd. Waarden >25 zijn hoger dan gewoonlijk wordt aangetroffen bij volwassen rundvee, maar het wordt onwaarschijnlijk verondersteld dat de aantallen oorzaak zouden zijn van de slijterproblematiek (mond. med. F. Borgsteede).

De faecesmonsters met epg waarden >25 zijn op kweek gezet. Er werd een mengsel van wormen aangetroffen. Bij beide koe dieren werden larven van de bloedzuigende lebmaagworm *Haemonchus* gevonden. Deze parasiet (althans *H. contortus*) komt normaal gesproken voor bij schapen en wordt daar als een van de meest pathogene wormsoorten beschouwd. De *Haemonchus* die nu bij de dieren van Roozegaarde is gevonden is waarschijnlijk een andere soort, namelijk *H. placei*. Deze soort wordt zelden gevonden. Volgens Dr. Borgsteede, parasitoloog, is de bevinding weliswaar opmerkelijk, maar hij ziet hierin geen oorzaak van slijterproblematiek bij het bedrijf. Het betrof slechts 2 dieren, de aantallen larven waren laag en bovendien is *Haemonchus* een worm die veel eieren produceert. Dit laatste betekent dat het aantal volwassen parasieten in de koe laag kan zijn.



### 3.2.5 Immunologisch onderzoek

Bij de volwassen dieren was geen significant verschil tussen de 'gezonde' en slijterdieren in proliferatie op de mitogenen (Mann Whitney U test, eenzijdig getoetst: conA  $p = 0.27$ ; PHA  $p = 0.47$ ). Bij beide typen dieren was er een reactie (deling) van de lymfocyten op de mitogenen stimulatie met ConA of PHA te zien, hetgeen een aanwijzing is voor een niet-afwijkend immuunapparaat. Een andere maat voor de vitaliteit van het immuunapparaat is de stimulatie index (SI): de waarde gemeten na conA of PHA stimulatie gedeeld door de waarde gemeten bij de medium controle. Bij 'gezonde' dieren is deze  $> 2$ . Bij geen van de dieren was de stimulatie-index lager dan 2 (Tabel 16).

Een vergelijking tussen alleen de jonge dieren is wel mogelijk, maar een statistische toetsing kan vanwege het geringe aantal dieren niet worden gedaan. Verschillen tussen 'gezond' en 'slijter' jongvee lijken er echter niet te zijn.

Eén dier (4406) had een lagere delta waarde dan de andere dieren en valt buiten het 95% betrouwbaarheidsinterval van het gemiddelde. Er is echter wel degelijk celdeling opgetreden en de betekenis van deze wat lagere waarde is niet duidelijk.

Er moet echter worden gewezen op de vergelijking 'gezond' versus 'slijter'. Idealiter zou bij elke slijter een geschikte controle moeten staan. Dit was echter niet mogelijk, aangezien alle dieren van hetzelfde bedrijf kwamen en er slechts beperkte ruimte en middelen waren. Vooral nog lijken de lymfocyten vitaal te zijn.

Tabel 16: Resultaten van de LPT

Dier nr.	Type	medium	conA			PHA		
		gemiddeld	gemiddeld	delta	SI <sup>1</sup>	gemiddeld	delta	SI
4396	ns	1978	55031	53053	28	27163	25185	14
4397	ns	1360	39540	38180	29	39042	37682	29
4398	ns	2123	51660	49537	24	70425	68302	33
4399	ns	530	44054	43525	83	21339	20810	40
4400	ns	1513	35339	33826	23	55207	53694	36
4401	ns	393	32364	31971	82	29140	28747	74
4402	s	154	25593	25439	166	22539	22386	147
4403	s	945	38707	37762	41	55955	55010	59
4404	s	1139	50316	49177	44	66986	65847	59
4405	s	2205	61725	59520	28	84446	82240	38
4406	s	98	16942	16844	172	15251	15153	155
4407	s	856	46532	45677	54	54998	54142	64
4408	s	522	25898	25376	50	23279	22757	45
4409	s	1575	49911	48336	32	55477	53902	35
4410	s	1041	26528	25488	25	12631	11591	12
4411	s	686	35141	34455	51	18399	17712	27
4412	s	1355	40250	38895	30	23656	22301	17
4413	s	1389	40861	39472	29	21193	19803	15
4414	s	877	18937	18060	22	25972	25095	30
4415	s	1659	32327	30668	19	37385	35726	23

1) SI = stimulatie index: de waarde gemeten na conA of PHA stimulatie gedeeld door de waarde gemeten bij de medium controle

### 3.2.6 Secties dieren van de observatie

De sectiebevindingen van dieren uit de observatie zijn samengevat in Tabel 17. De bevindingen van de individuele runderen zijn weergegeven in Tabel 18.

In de lever van dieren 4408, 4399 en de long van dier 4403 is *Fusobacterium necrophorum* aangetroffen. Uit de long van dier 4413 zijn *Pasteurella* spp. geïsoleerd.

Het immunohistologisch onderzoek van hersenen van 17 runderen op BSE was negatief.

Samenvattend:

Vijftien van twintig onderzochte runderen toonden mild tot matige pathologisch anatomische veranderingen. Echter gaat het hierbij niet om een consistent veranderingspatroon, maar om verschillende veranderingen, zoals oude focale pneumonieën, ontstekingen van buik- en/of borstvlies of leverontstekingen. Dergelijke veranderingen behoren tot frequent voorkomende veranderingen bij runderen. Bij zeven runderen zijn bindweefselrijke reparaties, myofibroses in de spieren van de achterpoten aangetroffen. Deze veranderingen zijn waarschijnlijk het gevolg van lokale traumata. De onderzochte runderen vertoonden geringe, de gebruikelijke mate niet overstijgende pathologische afwijkingen en er zijn geen specifieke, overeenstemmende pathologische bevindingen gevonden.

Tabel 17: Samenvatting van de sectiebevindingen (sectie aan het eind van de observatieperiode)

Systeem	Bevinding
Uitwendig:	De conditie van de dieren wordt o.a. bepaald door de aanwezigheid van vetweefsel rond de nier of in de buikholte. Op basis van deze beoordeling toonden 16 van de 20 dieren een goede conditie en 4 dieren (4404, 4405, 4413 en 4415) een goede tot matige conditie.
Thorax/abdomen:	In twee dieren (4398, 4409) bestond een chronische filamenteuze peritonitis en pleuritis als gevolg van een reticulo-peritonitis traumatica, in een van deze dieren (4398) waren spijkers in de voormaag aanwezig; één dier (4408) had een ca. 4 cm groot abces in het peritoneum tussen lever en nier
Respiratoir	5 dieren (4400, 4403, 4406, 4412, 4413) hadden een milde chronische, oude focale bronchopneumonie in de topkwab
Cardiovasculair	Geen afwijkingen
Lymfatische	Geen afwijkingen
Gastro-intestinaal	Enkele wormhaardjes in de darmwand van één dier (4413)
Lever/pancreas	4 dieren (4404, 4408, 4409, 4415) toonden mogelijk als gevolg van een doorgemaakte parasitaire infectie een fibroblastische peri-hepatitis; in een dier (4399) was een ca. 6 cm groot abces in de lever te vinden;
Urineweg	Geen afwijkingen
Endocrien	Geen afwijkingen
Centraal zenuwstelsel	Geen afwijkingen
Geslachtsapparaat	een dier (4399) toonde multifocale, kleine abcessen in het uierweefsel
Bewegingsapparaat	In 7 runderen waren chronische focale myofibrosen aan de mediale kant van de musculus gluteobiceps, ca. 10 tot 20 cm distaal van de trochanter major aanwezig; deze veranderingen zijn vermoedelijk terug te voeren op lokale traumata; een dier (4405) toonde een ontsteking van de kroonrand en vervorming van de klauwen, een ander dier (4403) had een ontsteking van de tussenklauw

Tabel 18: Individuele sectiebevindingen

ID nr	Sectie datum (okt. 00)	Conditie	Bevindingen <sup>1</sup>
4396	23	goed	geen bevindingen; BSE negatief
4397	23	goed	geen bevindingen; BSE negatief
4398	24	goed	filamenteuze, chronische epicarditis, (+); chron. fibroblastische peritonitis, (+); reticuloperitonitis, traumatica, chron., enkele spijkers in voormaag gevonden; BSE negatief
4399	24	goed	lokaal leverabces (ca. 6cm), chron.; multifocale mastitis met kleine abceshaardjes; BSE negatief
4400	23	goed	fok. chron. bronchopneumonie in topkwab (+); BSE negatief
4401	23	goed (vet)	geen bevindingen; BSE negatief
4402	23	goed (vet)	partiële trombose van de rechte uiervene (artefact?); BSE negatief
4403	23	goed (vet)	foc. chron. bronchopneumonie top- en cardiale kwab (+); BSE negatief
4404	24	matig	foc. fibroblastische perihepatitis; myofibrose in m. gluteobiceps; BSE negatief
4405	24	matig tot goed	myofibrose in m. gluteobiceps li en re.; milde tussenklauwontsteking
4406	23	goed	oude focale dermatitis, herstellend; foc. chron. bronchopneumonie, (+); myofibrose m. gluteobiceps, mediaal, beide kanten; ligplekken tarsus li en re
4407	24	goed	myofibrose m. gluteobiceps re.; BSE negatief
4408	24	goed	peritoneaal abces (4 cm) tussen lever en nier; chron. perihepatitis; myofibrose m. gluteobiceps li.
4409	24	goed	foc. pleurafibrose; chron. perihepatitis, fibroblastische (+) adhesieve peri-abomasitis, ventraal lokaal vergroeid met buikwand; BSE negatief
4410	23	goed	geen bevindingen; BSE negatief
4411	23	goed	geen bevindingen; BSE negatief
4412	23	goed	foc. cat. bronchopneumonie, chron. ; BSE negatief
4413	23	matig tot goed	fok., chron., cat. bronchopneumonie (++) ; enkel wormhaardjes in darmwand; BSE negatief
4414	25	goed	myofibrose m. gluteobiceps, med. beide kanten; BSE negatief
4415	25	matig tot goed	fibroblastische perihepatitis; myofibrose m. gluteobiceps, med. beide kanten; BSE negatief

1) (+) t/m (+++) = graad van verandering, mild, matig, ernstig  
med = mediaal, foc = focaal, li = links, re = rechts, chron = chronisch, m = musculus

### 3.2.7 Hematologisch onderzoek

In Tabel 19 staan de resultaten van het hematologisch onderzoek dat is uitgevoerd in de observatieperiode. In Tabel 20 staan de resultaten van de bloedtests uitgevoerd op bloed verzameld op 15-8-00. Er werd bij hematologisch onderzoek onder andere een leukocyten telling en differentiatie gedaan (totaal 78). Bij twee dieren was er enigszins verlaagd gehalte witte bloedcellen. Bij 22 dieren was sprake van een laag Hb gehalte. Er is echter geen hemorrhagische enteritis of ernstige worminfectie gevonden die dit beeld zou kunnen verklaren. Een aantal dieren heeft een verhoogd percentage eosinofielen. Dit zou kunnen duiden op een parasitaire infectie. Van de dieren van de slacht zijn echter geen mestmonsters beschikbaar.

Tabel 19: Resultaten van het hematologisch onderzoek gedurende de observatie

ID nr.	16-8		11-9		16-10		24-10		24-10	
	WBC (10 <sup>9</sup> /L)	Hb mmL/L	WBC (10 <sup>9</sup> /L)	Hb mmL/L	WBC (10 <sup>9</sup> /L)	Hb mmL/L	WBC (10 <sup>9</sup> /L)	Hb mmL/L	WBC (10 <sup>9</sup> /L)	Hb mmL/L
4396	10.5	7.5	9.5	6.5	9.7	7.4				
4397	6.3	6.9	6.9	6.0	7.9	7.9				
4398	7.6	8.6	7.4	6.4	7.2	77.1	5.6	6.8		
4399	9.3	7.8	8.3	7.6	9.8	8.2	6.1	6.9		
4400	8.1	7.5	7.3	7.2	7.2	7.4				
4401	6.8	8.3	8.1	8.8	6.9	8.3				
4402	6.0	9.1	4.6	8.2	5.4	7.6				
4403	6.2	7.4	7.0	6.6	7.8	6.6				
4404	6.4	7.0	5.7	6.9	5.8	6.7	6.4	7.9		
4405	6.7	7.8	7.0	7.2	6.1	8.0	8.7	6.7		
4406	5.6	6.4	8.8	6.1	7.8	6.1	7.2	6.7		
4407	6.4	7.9	7.0	6.5	7.7	6.4	6.7	7.4		
4408	5.4	8.6	5.0	7.1	6.3	7.2	5.7	7.9		
4409	7.7	8.5	5.9	8.9	4.3	8.2				
4410	6.9	6.8	6.2	7.1	6.2	6.3				
4411	7.7	5.3	8.7	6.7	8.2	6.5				
4412	8.3	7.3	7.3	5.7	8.8	6.7				
4413	6.8	5.4	6.6	5.0	7.8	5.8				
4414	6.8	7.2	5.6	6.2	7.2	7.8	7.6	7.6		
4415	6.8	7.3	7.6	6.6	5.8	6.7	7.8	6.5		

Tabel 20: Bevindingen van het hematologische onderzoek voor differentiatie van het bloedbeeld

Locatie	I&R nr.	WBC (x10 <sup>9</sup> /L)	Hb <sup>1</sup> (g/cm <sup>3</sup> )	Differentiatie (%) <sup>2</sup>					
				lym	seg	bas	eo	stf	mono
Slachthuis	4238	11.3	5.5	62	37		1		
	4233	6.2	7.1	68	20	2	10		
	4254	6.2	6.2	85	15				
	4237	8.4	7.1	63	35	1	1		
	4258	5.3	7.0	72	27				1
	4240	7.0	6.7	34	65		1		
	0016	2.1	7.0	95	5				
	0027	9.0	7.0	44	45		1	5	5
	4277	16.4	7.0	29	67			4	
	0022	7.1	8.0	51	46			3	
	9945	5.5	7.8	39	50	1	4	6	
	4298	4.1	7.9	58	42				
	4232	11.1	7.4	32	62	1	4	1	
	9947	7.0	9.3	59	35	1	4		1
	9933	8.1	8.8	23	62		14		1
	9919	9.0	8.2	21	71		6		2
	9941	10.4	8.3	28	69		2	1	
	5311	10.7	6.6	24	71		3		2
	9864	7.7	7.7	16	83	1			
	9914	14.8	9.2	13	81	1	4		1
	2471	8.8	9.0	23	73	2	1		1
	9850	7.9	8.6	26	65		9		
	2472	4.2	7.1	42	55	2	1		
	9905	4.6	9.0	48	50		2		
	9814	7.9	7.9	27	69	2	1		1
	9868	7.2	7.8	32	65		3		
	9906	5.4	9.3	10	88	1	1		
	9796	11.0	7.5	17	78		5		
	8818	5.1	6.6	56	40		4		
	9870	10.5	8.2	45	55				
	9815	8.7	8.4	46	51		3		
	5324	10.2	8.0	54	42	2	2		
	9911	4.2	6.1	34	63	1	2		
	5380	7.1	7.6	45	53	1	1		
	8936	5.5	8.5	48	49	1	1		1
	9852	7.9	8.2	45	45		10		
	5328	8.4	7.9	47	48		5		
	5371	7.0	8.2	50	48		2		
	9807	8.0	6.4	61	39				
	9918	7.2	7.3	70	27	1	2		
	9920	8.6	8.4	43	54	1	2		
	9818	7.0	6.1	54	45		1		
	9841	6.1	7.6	32	65	1	1		1

Locatie	I&R nr.	WBC (x10 <sup>9</sup> /L)	Hb <sup>1</sup> (g/cm <sup>3</sup> )	Differentiatie (%) <sup>2</sup>					
				lym	seg	bas	eo	stf	mono
	5305	6.0	7.6	52	48				
	5340	9.6	7.8	17	80			2	1
	9824	11.7	8.7	27	71		1		1
	5387	4.2	7.5	46	48	1	4	1	
	5362	12.1	6.4	27	71		1	1	
	8921	6.9	9.4	41	57		2		
	9853	6.0	9.6	49	48	1	2		
	5361	12.5	7.6	31	69				
	5342	10.3	8.6	15	83		1	1	
	9867	5.9	8.8	29	66		5		
	9811	13.5	6.8	23	77				
	9834	8.6	9.0	32	67		1		
	9800	7.6	9.0	20	77		2		1
	9832	9.5	7.9	35	64				1
	5388	7.3	8.3	34	66				
	6866	10.4	7.9	25	73		2		
	9862	11.0	8.2	24	72		2	1	1
	9798	8.1	9.7	36	55		9		
	9855	9.2	9.7	26	67	1	4		2
	5374	3.7	8.2	61	36	1	2		
	8441	5.6	7.5	33	66		1		
	9904	10.3	8.5	52	41		7		
	5345	6.3	8.2	58	30		12		
	8813	7.6	6.8	23	77				
	9836	4.5	7.7	57	34	3	6		
GD	9819	7.0	6.5	25	75				
	5287	8.0	8.3	33	64		3		
	4252	4.5	5.9	74	26				
	9822	6.7	6.2	33	67				
	0015	5.4	7.5		68	26	2	4	
ID	8926	7.2	7.4	55	45				
	5337	8.6	6.6	27	72		1		
	8804	11.1	6.2	31	68	1			
	9860	10.4	7.9	37	62		1		
	5358	7.5	6.7	42	55	2	1		

Normaal  
waarden

4.1-14 7.6-15.5

1) Hb = Hemoglobinegehalte

2) lym = lymfocyten, seg = segmentkernigen, bas = basofielen, eo = eosinofiele granulocyten, staf = staafkernigen, mono = monocyten

## 4 Discussie

Veel dieren waren bij ruiming in slechte conditie en bij een groot aantal werden ernstige kreupelheden geconstateerd. De dieren waren in elk geval vanaf november 1999 niet meer bekapd en/of behandeld tegen kreupelheden. Dit kan één van de oorzaken zijn van de op 15-8-00 geconstateerde kreupelheid. De kreupelheid kan ook ene verklaring zijn voor de gevonden huidlaesies (doorligplekken) en kan ook leiden tot conditieverlies. Een andere oorzaak van de slechte conditie van de melkgevendende dieren kan zijn het beperkte rantsoen (uitsluitend ruwvoer) dat in de maanden voorafgaand aan de ruiming was gevoerd. Onderzoek naar voedingsparameters zou die aanwijzing verder kunnen onderbouwen.

De conditiescores gedurende de observatieperiode geven aan dat vrijwel alle koeien in conditie zijn vooruitgegaan. De conditietoename geeft aan dat er géén sprake was van irreversibel conditieverlies. De manier waarop de conditie is bepaald is zoveel mogelijk geobjectiveerd door de score door één persoon te laten uitvoeren.

Bij de diverse onderzoeken zijn geen consistente bevindingen gedaan die de koppelproblematiek zou kunnen verklaren. Wel zijn bij individuele dieren soms enkele afwijkingen geconstateerd.

Virologisch zijn er geen bevindingen gedaan die de koppelproblemen op het bedrijf kunnen verklaren. Infecties met BIV en BLV zijn niet aangetoond.

Immunologisch en hematologisch onderzoek heeft geen aanwijzingen opgeleverd die wijzen in de richting van een afwijkend immuunapparaat. De vitaliteit van de lymfocyten is niet aangetast en het bloedbeeld was niet zodanig afwijkend dat dit de problemen zou kunnen verklaren.

Er zijn geen bacteriële infecties gevonden die een verklaring kunnen geven voor de gezondheidsproblemen bij de koppel op het bedrijf.

De parasitologische bevindingen zijn veelal in overeenstemming met de verwachting bij een dergelijke leeftijdsgroep. Er zijn geen ernstige worminfecties vastgesteld.

Een deel van de runderen toonden milde tot matige pathologisch-anatomische veranderingen. Er is echter geen sprake van één overeenkomstige verandering, maar om verschillende typen veranderingen. Dergelijke veranderingen komen vaker voor bij runderen van die leeftijd. Pathologisch zijn geen specifieke, eenduidige veranderingen gedaan die de gezondheidsproblemen kunnen verklaren.

Er is geen eenduidige oorzaak gevonden die de problematiek van het bedrijf zou kunnen verklaren. Bij individuele dieren zijn soms wel afwijkingen gevonden, maar deze kwamen of niet op grote schaal voor of waren niet van dien aard dat ze afweken van wat vaker bij dieren van die leeftijd wordt gevonden.

Dit onderzoek is een verkennend onderzoek geweest. Dat betekent dat met het beschikbare materiaal is gezocht naar mogelijke oorzaken en dat wordt begonnen met onderzoek naar de meest waarschijnlijke oorzaken. Vooraf was geen specifieke hypothese ten aanzien van de problematiek. Er was geen nulmeting gedaan (gegevens over de toestand van de dieren vóór de aanvang van de problemen) en er was geen materiaal van dieren beschikbaar van vóór de aanvang van de problemen. Het onderzoek werd uitgevoerd meer dan 2 jaar nadat de problemen op het bedrijf zouden zijn begonnen en de gezondheidstoestand van de dieren op het moment van de melding van de problemen door de veehouder in november 1999 was niet bekend. Dit maakt het moeilijk een causaal verband te vinden tussen mogelijke bevindingen en de vermeende problemen op het bedrijf. Dit onderzoek heeft wél een aantal mogelijke oorzaken uitgesloten. De resultaten uit dit onderzoek hebben niet geleid tot het formuleren van nieuwe hypothesen.

## 5 Conclusies

Er is geen eenduidige oorzaak gevonden voor de problemen met het rundvee op het bedrijf van Roozegaarde. Bij individuele dieren zijn soms wel afwijkingen gevonden, maar dit kan worden verwacht bij het onderzoeken van een grote groep dieren. De verschillende bevindingen zijn van diverse aard en sommige afwijkingen komen slechts bij een enkel dier voor. Deze individuele afwijkingen kunnen daarmee de koppelproblemen niet verklaren. Dit betekent dat er niet één oorzaak voor de gezondheidsproblemen bij de koppel is gevonden.

De resultaten hebben niet geleid tot het formuleren van nieuwe hypothesen. Er zijn op basis van de bevindingen geen concrete aanwijzingen voor verder onderzoek.

Een analyse van voedingsparameters in bloed en weefsels wordt nog uitgevoerd.

De moeilijkheid bij dit type verkennend onderzoek is dat het materiaal afkomstig is van dieren die al langere tijd te kampen hebben met gezondheidsproblemen. Het aantonen van een mogelijk causaal verband tussen bevindingen en de gezondheidsproblemen is daardoor moeilijk.

Om in de toekomst tot een snellere en meer gerichte aanpak van dergelijke problemen te kunnen komen is het nodig dat meer informatie beschikbaar komt met welke frequentie bepaalde gezondheidsproblemen bij landbouwhuisdieren in Nederland vóórkomen. Het is tevens wenselijk dat, bij mogelijke vergelijkbare problemen in de toekomst, de bevindingen vanaf het moment van het ontstaan van problemen goed worden gedocumenteerd.



## Referenties

- Bartels et al., 2000. Het effect van enting met BHV1 marker vaccin op de kengetallen van melkveebedrijven in 1999. ID-Lelystad rapport, juli 2000.
- C. Bruschke et al. 2000. De effecten van vaccinatie met een hoge dosis BHV1 vaccin in hoogdrachtige vaarzen. ID-Lelystad rapport, juni 2000.
- J.A. Kramps et al. 1994. J. Clin. Micr. 32, 2175-2181.
- J.A Kramps et al. 1999. Vet Microbiol 64, 135-44.
- Meijer et al. 2000. Problematiek van slijtende koeien: inventarisatie van kennis en hiaten. ID-Lelystad rapport 002059, oktober 2000.
- G.J. Wellenberg et al. 1998. J. Clin. Micr. 36, 409-413.
- G.J. Wellenberg et al. 1999. Clin. Diagn Lab. Immunol. 6, 447-451.

## BIJLAGE 1

### Diernummers van dieren aangeboden ter destructie

oor nummer <sup>1</sup>	sticker nummer <sup>1</sup>	oor nummer	sticker nummer	oor nummer	sticker nummer
4238	1	9931	51	5362	101
4233	2	9905	52	9810	102
4254	3	9923	53	5365	103
4237	4	9924	54	5322	104
4258	5	9928	55	9869	105
4240	6	9939	56	8921	106
4234	7	9926	57	9853	107
4262	8	9938	58	5361	108
0014	9	9908	59	5342	109
4272	10	9927	60	9867	110
0032	11	9921	61	9863	111
4274	12	9925	62	9959	112
4256	13	9814	63	9956	113
4270	14	9802	64	9958	114
0025	15	8414	65	9957	115
0016	16	9868	66	9960	116
0027	17	9906	67	5372	117
4277	18	9796	68	0580	118
0022	19	8818	69	9854	119
9945	20	9870	70	8040	120
9949	21	9837	71	9913	121
9937	22	5332	72	9811	122
9940	23	9859	73	9834	123
4250	24	9815	74	9800	124
9948	25	9915	75	9832	125
9944	26	5324	76	5388	126
4231	27	9911	77	9813	127
4255	28	5380	78	9799	128
4251	29	8936	79	5351	129
9942	30	8821	80	9831	130
4298	31	9902	81	9797	131
4232	32	9861	82	6866	132
9947	33	9901	83	9862	133
9933	34	9852	84	9798	134
9919	35	5330	85	9855	135
9946	36	5328	86	5374	136
9934	37	5371	87	9849	137
9929	38	9807	88	5319	138
9932	39	9918	89	9821	139
9941	40	9920	90	5384	140
5311	41	9903	91	9825	141
9864	42	2157	92	8441	142
9914	43	5381	93	9904	143
2471	44	9818	94	5345	144
9850	45	5369	95	8813	145
9935	46	9841	96	9836	146
5316	47	5305	97	5336	147
2472	48	5340	98		
9921	49	9824	99		
9916	50	5387	100		

1) Oornummer: nummer op oorflap; sticker nummer is volgnummer op materiaal afgenomen tijdens slacht (op buisjes etc.)