

Aus dem Fachgebiet Tierernährung und Tiergesundheit  
des Fachbereiches Ökologische Agrarwissenschaften  
der Universität Kassel

Immunologisches Reaktionsvermögen als Indikator für Belastungen bei der  
Milchkuh

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Agrarwissenschaften (Dr. agr.)

eingereicht im  
Fachbereich Ökologische Agrarwissenschaften  
der Universität Kassel

vorgelegt von  
Tierärztin Claudia Träbing  
aus Witzenhausen

Witzenhausen 2006

- |               |                          |
|---------------|--------------------------|
| 1. Gutachter: | Prof. Dr. Albert Sundrum |
| 2. Gutachter  | Prof. Dr. Manfred Füll   |

Tag der Disputation 29.August 2006

**Für meine Eltern und in Gedenken an meinen Großvater Martin**

# Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung .....	6
2. Literaturübersicht.....	7
2.1 Immunsystem und Immunkompetenzprofil.....	7
2.2 Methoden zur Erfassung des Gesundheitsstatus.....	9
2.2.1 Milchleistung und Milchinhaltsstoffe.....	9
2.2.2 Bakterizidie des Vollblutes.....	11
2.2.3 Phagozytoseaktivität.....	12
2.2.4 Lymphozytenproliferation.....	13
2.2.5 Spezifische Antikörperproduktion .....	14
2.2.6 Hämatologie.....	14
2.2.7 Klinisch-chemische Blutparameter.....	15
2.3 Wirkungsweise der Modulation des Immunsystems.....	20
2.4 Einflussgrößen auf das Abwehrvermögen.....	22
2.4.1 Fütterung/Energieversorgung.....	22
2.4.2 Laktationsstadium.....	25
2.4.3 Erkrankungen.....	26
2.5 Zusammenhänge zwischen Milchleistung, Stoffwechsel und Abwehrvermögen.....	28
3. Versuchstiere, Material und Methoden.....	32
3.1 Versuchsbetrieb und Versuchstiere.....	32
3.2 Versuchsanordnung.....	34
3.3 Laboranalytische Bestimmungen.....	37
3.3.1 Hämatologie.....	37
3.3.1.1 Gesamtleukozyten -bzw. -erythrozytenzahl.....	37
3.3.1.2 Differentialblutbild.....	37
3.3.1.3 Hämatokritwert.....	37
3.3.2 Immunkompetenzprofil.....	37
3.3.2.1 Vollblutbakterizidie.....	37
3.3.2.2 Zellisolierung.....	38
3.3.2.3 Phagozytoseaktivität.....	39
3.3.2.4 Lymphozytenproliferationstest.....	40
3.3.3 Klinisch-chemische Blutuntersuchung.....	40
3.3.4 Methode der Tollwutantikörperbestimmung.....	41
3.4 Materialien.....	42
3.5 Biostatistische Auswertung.....	42
4. Ergebnisse .....	43
4.1 Produktionsleistungen.....	43
4.2 Parameter der Tiergesundheit.....	45
4.2.1 Einzeltierübersicht der immunologischen Parameter .....	45
4.2.2 Beziehungen zwischen dem Laktationszeitpunkt, der Milchmengenleistung und den Parametern der Tiergesundheit der klinisch gesunden Kühe am Untersuchungstag 0 ...	51
4.2.2.1 Stoffwechselfparameter.....	51
4.2.2.2 Hämatologische Parameter.....	56
4.2.2.3 Immunparameter.....	58
4.2.3 Parameter der Tiergesundheit der klinisch gesunden Kühen nach Stimulierung mit einem Paramunitätsinducer .....	62
4.2.3.1 Stoffwechselfparameter.....	62
4.2.3.2 Hämatologische Parameter.....	62
4.2.3.3 Immunparameter.....	62

4.2.4 Beziehung zwischen Parametern der Tiergesundheit und einer akuten Erkrankung zu Beginn der Laktation am Untersuchungstag 0.....	66
4.2.4.1 Stoffwechselfparameter.....	66
4.2.4.2 Hämatologische Parameter .....	67
4.2.4.3 Immunparameter.....	68
4.2.5 Parameter der Tiergesundheit der klinisch erkrankten Kühe nach Stimulierung mit einem Paramunitätsinducer.....	70
4.2.5.1 Stoffwechselfparameter.....	70
4.2.5.2 Hämatologische Parameter.....	70
4.2.5.3 Immunparameter.....	71
5. Diskussion .....	74
5.1 Einzeltierübersicht der immunologischen Parameter.....	74
5.2 Beziehungen zwischen dem Laktationszeitpunkt, der Milchleistung und den ausgewählten Parametern der Tiergesundheit.....	75
5.2.1 Stoffwechselfparameter.....	75
5.2.2 Hämatologische Parameter.....	80
5.2.3 Immunparameter.....	81
5.2.4 Immunologisches Reaktionsvermögen nach Stimulierung.....	84
5.3 Beziehungen zwischen einer akuten Erkrankung und den Parametern der Tiergesundheit....	86
5.3.1 Stoffwechselfparameter.....	86
5.3.2 Hämatologische Parameter.....	87
5.3.3 Immunparameter.....	88
5.3.4 Immunologisches Reaktionsvermögen nach Stimulierung.....	88
5.4 Abgleich der Arbeitshypothesen mit den erzielten Ergebnissen.....	89
5.5 Schlussfolgerungen.....	90
6. Zusammenfassung.....	91
7. Summary .....	94
8. Literaturverzeichnis.....	96
9. Anhang .....	107

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 3.1:	Zusammensetzung der TMR und die berechnete Menge an Frischmasse bzw. Trockenmasse für den Erhaltungsbedarf einer Milchkuh mit 650 kg Lebendgewicht und einem Leistungsbedarf für 35,0 l und 25,0 l Milch bei 4,0 % Fett und 3,4 % Eiweiß zu Beginn des Versuchszeitraumes.....	33
Tabelle 3.2:	Analyse der Rationen für den Erhaltungsbedarf einer Milchkuh mit 650 kg Lebendgewicht und einem Leistungsbedarf für 35,0 l und 25,0 l Milch bei 4,0 % Fett und 3,4 % Eiweiß zu Beginn des Versuchszeitraumes.....	33
Tabelle 3.1:	Darstellung der klinisch-chemischen Parameter, deren Bestimmungsmethoden und dafür verwandte Geräte sowie Referenzbereiche der Parameter (Medizinische Tierklinik Leipzig).....	41
Tabelle 4.1:	Mittlere Produktionsleistungen in den Gruppen der klinisch gesunden Kühe M (mittleres Leistungsniveau) und H (hohes Leistungsniveau) und der Gruppe der klinisch erkrankten Kühe (K).....	43
Tabelle 4.2:	Milchmengenleistung und Milchinhaltsstoffe der drei Gruppen zu Laktationsanfang (LA, 10-21 Tage p.p.) und Laktationsmitte (LM, ca. 100 Tage p.p.).....	44
Tabelle 4.3:	Mittlere Konzentration der Stoffwechselfparameter $\beta$ -Hydroxybuttersäure (BHB), Freien Fettsäuren (FFS) und Bilirubin der Gruppen M und H am Untersuchungstag 0 zu Beginn und in der Mitte der Laktation.....	53
Tabelle 4.4:	Mittlere Konzentration verschiedener Stoffwechselfparameter der Gruppen M und H am Untersuchungstag 0 zu Beginn und in der Mitte der Laktation.....	55
Tabelle 4.5:	Mittlere hämatologische Kenngrößen in den Gruppen M und H zu Beginn und in der Mitte der Laktation am Untersuchungstag 0.....	57
Tabelle 4.6:	Mittlere Abtötungsrate pro Zeiteinheit in den Gruppen M und H zu Beginn und in der Mitte der Laktation am Untersuchungstag 0.....	59
Tabelle 4.7:	Mittlere Werte der Lymphozytenproliferation durch die Mitogene ConA, PHA und PWM in den Gruppen M und H zu Beginn und in der Mitte der Laktation am Untersuchungstag 0.....	60
Tabelle 4.8:	Korrelationen der Immunparameter zu der Milchleistung aller in den Versuch einbezogenen Kühe (n = 88).....	61
Tabelle 4.9:	Mittlere Phagozytoseaktivität (in %) vor und nach der Challenge bei den Milchkühen in den Leistungsgruppen M und H am Anfang und in der Mitte der Laktation.....	63
Tabelle 4.10:	Mittlere Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut bei den Kühen in den Gruppen M und H vor und nach der Challenge am Anfang und in der Mitte der Laktation.....	64
Tabelle 4.11:	Mittlere Lymphozytenproliferation bei den Kühen in den Gruppen M und H mit den Mitogenen ConA, PHA und PWM vor und nach der Challenge am Anfang und in der Mitte der Laktation.....	65
Tabelle 4.12:	Mittlere Konzentrationen verschiedener Stoffwechselfparameter im Vergleich der Gruppen M, H und K am Untersuchungstag 0.....	66
Tabelle 4.13:	Ergebnisse ausgewählter hämatologischer Parameter am Untersuchungstag 0 im Vergleich der Gruppen M, H und K.....	67
Tabelle 4.14:	Mittlere Phagozytoseaktivität am Untersuchungstag 0 im Vergleich der Gruppen M, H und K.....	68
Tabelle 4.15:	Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut am Untersuchungstag 0 im Vergleich der Gruppen M, H und K.....	68
Tabelle 4.16:	Proliferationsindex der Lymphozytenproliferation mit dem Mitogenen ConA und PWM am Untersuchungstag 0 im Vergleich der Gruppen M, H und K.....	69
Tabelle 4.17:	Mittlere initiale Antikörperbildung 14 Tage nach Applikation des Tollwutimpfstoffes im Vergleich der Gruppen M, H und K.....	70
Tabelle 4.18:	Mittlere Phagozytoseaktivität vor und nach der Challenge im Vergleich der Gruppen M, H und K.....	71
Tabelle 4.19:	Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut vor und nach der Challenge im Vergleich der Gruppen M, H und K.....	72
Tabelle 4.20:	Mittlere Lymphozytenproliferation mit den Mitogenen ConA, PHA und PWM vor und nach der Challenge im Vergleich der Gruppen M, H und K.....	73

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 3.1:	Darstellung der Versuchsanordnung in Form einer Zeitachse.....	35
Abbildung 3.2:	Darstellung der Gruppeneinteilung für die Auswertung.....	36
Abbildung 4.1:	Darstellung der Abtötungsrate der Vollblutbakterizidie (in %) aller in den Versuch einbezogenen Kühe in Abhängigkeit von der Inkubationszeit (n = 88).....	46
Abbildung 4.2:	Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut aller in den Versuch einbezogenen Kühe zu den sechs einzelnen Untersuchungstagen (n = 88).....	47
Abbildung 4.3:	Phagozytoseaktivität aller in den Versuch einbezogenen Kühe zu den sechs einzelnen Untersuchungstagen (n = 88).....	48
Abbildung 4.4:	Indexwerte der Lymphozytenproliferation nach der Stimulierung mit dem Mitogen ConA aller in den Versuch einbezogenen Kühe zu den sechs einzelnen Untersuchungstagen (n = 88).....	49
Abbildung 4.5:	Indexwerte der Lymphozytenproliferation nach der Stimulierung mit dem Mitogen PHA aller in den Versuch einbezogenen Kühe zu den sechs einzelnen Untersuchungstagen (n = 88).....	49
Abbildung 4.6:	Indexwerte der Lymphozytenproliferation nach der Stimulierung mit dem Mitogen PWM aller in den Versuch einbezogenen Kühe zu den sechs einzelnen Untersuchungstagen (n = 88).....	49
Abbildung 4.7:	Mittlerer Antikörpertiter (IU/ml) nach Tollwutimpfung aller in den Versuch einbezogenen Kühe in Abhängigkeit vom Tag der Probennahme (n = 88).....	51
Abbildung 4.8:	Mittlere Konzentration der $\beta$ -Hydroxybuttersäure (BHB) in mmol/l in den Gruppen M und H in Abhängigkeit vom Laktationszeitpunkt am Untersuchungstag 0 (je Gruppe n = 34).....	52
Abbildung 4.9:	Mittlere Konzentration der Freien Fettsäuren (FFS) in $\mu$ mol/l der Gruppen M und H in Abhängigkeit vom Laktationszeitpunkt am Untersuchungstag 0 (je Gruppe n = 34).....	52
Abbildung 4.10:	Mittlere Phagozytoseaktivität in % der Gruppen M und H in Abhängigkeit vom Laktationszeitpunkt am Untersuchungstag 0 (je Gruppe n = 34).....	58
Abbildung 4.11:	Mittlerer Antikörpertiter (IU/ml) nach Tollwutimpfung der Gruppen M und H in Abhängigkeit vom Tag der Probennahme (je Gruppe n = 34).....	60
Abbildung 4.12:	Proliferationsindex der Lymphozytenproliferation mit dem Mitogen PHA am Untersuchungstag 0 im Vergleich der Gruppen M, H und K (Gruppe M und H: n = 34; Gruppe K: n = 20).....	69

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AEEC	Attaching und Effacing E.coli
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
BHB	$\beta$ -Hydroxybuttersäure
bzw	beziehungsweise
ca.	circa
Ca	Kalzium
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
ConA	Concanavalin A
Fa	Firma
FAVN	fluorescent antibody virus neutralisation test
FCME	nach Fett und Eiweiß korrigierte Milchleistung
FFS	Freie Fettsäuren
FM	Frischmasse
$\gamma$ -GT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GLDH	Glutamat-Dehydrogenase
Gruppe H	Gruppe mit hohem Leistungsniveau
Gruppe M	Gruppe mit mittlerem Leistungsniveau
HBSS	Hanks balanced salt solution (gepufferte Salzlösung)
HEPES	Hydroxyethylpiperazinylethansulfonsäure
KbE	Koloniebildende Einheiten
kg	Kilogramm
LA	Laktationsanfang
LM	Laktationsmitte
MJ	Megajoule
MNC	mononukleäre Zellen
MTT	Dimethylthiazoldiphenyltetrazoliumbromid
n	Anzahl
NaCl	Natriumchlorid
NEL	Nettoenergie-Laktation
nm	Nanometer
OD	Optische Dichte
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
Pan	anorganisch Phosphat
PBS	Phosphat buffered saline (Phosphat-gepufferte NaCl-Lösung)
PHA	Phytohämagglutinin
PI	Proliferationsindex
PMN	Neutrophile Polymorphkernige Granulozyten
PWM	Pokeweed Mitogen
r	Korrelationskoeffizient
RFFIT	apid fluorescent focus inhibition test
RPMI	Roswell Park Memorial Institute medium
S	Serum
TM	Trockenmasse
TMR	Totale Mischration
UDP	unabbaubares Rohprotein

## 1. Einleitung

Hohe Leistungen in Verbindung mit suboptimalen Umweltbedingungen stellen hohe Belastungen für die heutigen Hochleistungskühe dar und können mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko einhergehen (GRÖHN et al., 1994; URIBE et al., 1995, PRYCE et al., 1998). Von verschiedenen Autoren wird die Vermutung geäußert, dass dem erhöhten Erkrankungsrisiko häufig eine Verminderung der immunologischen Abwehr zu Grunde liegt (FÜRLI, 2002; GOFF, 2006; HOLTENIUS et al., 2004).

Nach GOFF und HORST (1997) treten die häufigsten Erkrankungen der Milchkühe wie Milchfieber, Ketose, Mastitis, Nachgeburtsverhaltung und Labmagenverlagerung besonders in den ersten 2 Wochen nach der Kalbung auf. Die Problematik der Gesundheits- und Fruchtbarkeitsstörungen bei hohen Milchleistungen resultiert vor allem aus den Schwierigkeiten einer adäquaten Energiebereitstellung in den ersten Laktationswochen (KOLB und ELZE, 1995; BREVES und RODEHUTSCORD, 1999). Mit einsetzender Milchleistung haben die Tiere einen hohen Energiebedarf, den sie zu diesem Zeitpunkt nicht allein durch die Futteraufnahme decken können. Während die Tiere in der Regel fünf bis sechs Wochen nach der Geburt die höchste Milchleistung erbringen, steigt die Futteraufnahme erst ab der 10. Woche *post partum* auf das maximale Niveau. Als Folge der Diskrepanz entsteht zu Beginn der Laktation eine negative Energiebilanz (FLACHOWSKY et al., 2002), die besonders für die Hochleistungskühe eine hohe metabolische Belastung darstellen kann. Hinsichtlich der Diagnostik ist problematisch, dass die Erkrankungen infolge von Stoffwechsellibbalenzen zu Beginn oft einen subklinischen Verlauf nehmen, so dass sie nur schwer vom Landwirt zu erkennen sind. Die Beurteilung von metabolischen Belastungszuständen mittels verschiedener Stoffwechsellparameter ist ferner dadurch erschwert, dass es den Stoffwechsellparametern in der Regel an diagnostischer Trennschärfe fehlt (SUNDRUM, 1997).

In der vorliegenden Studie wurde untersucht, inwieweit immunologische Parameter sowie die Reaktionsfähigkeit des Immunsystems auf eine Challenge Belastungszustände in Abhängigkeit vom Laktationsstadium, einer hohen Milchleistung und einer klinischen Erkrankung in der Frühaktation abbilden können.

## 2. Literaturübersicht

### 2.1 Immunsystem und Immunkompetenzprofil

Das **Immunsystem** stellt eine funktionelle Komponente in einem Netzwerk interagierender, komplexer physiologischer Mechanismen dar, eng verbunden mit dem Hormon-, Gefäß-, Stoffwechsel- und Nervensystem (MAYR und MAYR, 2002). Die Abwehr gegenüber Infektionserregern und Fremdstoffen jeglicher Art, sowie der körpereigenen transformierten Zellen besteht aus einem Bündel eng miteinander vernetzter Einzel- und Gemeinschaftsleistungen zellulärer und humoraler Art. Die Entwicklung der körpereigenen Abwehr erfolgte im Laufe der Evolution von unspezifischen über paraspezifischen zu antigenspezifischen Mechanismen. Keine dieser Abwehrleistungen ist dabei verloren gegangen (JANEWAY und MEDZHITOV, 2002). Die Wirkung des phylogenetisch älteren paraspezifischen Teils des komplexen Immunsystems mit seinen zellulären und humoralen Anteilen erfolgt als Sofortreaktion. Zu den zellulären Anteilen des paraspezifischen Immunsystems werden Mikrophagen und Makrophagen sowie die Natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) gezählt. Die Wirkung der humoralen Komponenten erfolgt unter anderem über Lysozyme und Mediatoren wie Zytokine. Über die Mediatoren des humoralen Anteils wird die paraspezifische Abwehr reguliert und die Interaktion mit dem spezifischen Teil des Immunsystems gesteuert (MAYR und MAYR, 2002). Der phylogenetisch jüngere, spezifische Teil des Immunsystems benötigt die Auseinandersetzung mit einem spezifischen Antigen und wird deshalb erst nach Tagen wirksam (McCOULLOUGH and SUMMERFIELD, 2005). Durch seine Spezifität und Sensibilität erfasst der antigenspezifische Teil des Immunsystems geringste Mengen antigener Substanzen. Damit ermöglicht er dem hochentwickelten Organismus sich nicht nur effizienter gegen exogene und endogene antigene Noxen zu wehren, sondern ihnen gegenüber einen länger andauernden spezifischen Schutz aufzubauen. Zelluläre Komponenten des spezifischen Immunsystems sind dabei die T-Lymphozyten mit einer Vielzahl spezialisierter Subtypen. Die B-Lymphozyten mit ihrer Bildung der spezifischen Antikörper und der Gedächtniszellen gehören zu dem humoralen Anteil (MAYR und MAYR, 2002). Bevor dieser Schutz jedoch seine Wirksamkeit erlangt, tritt in der ersten Verteidigungslinie der paraspezifische Teil des Immunsystems mit einer Sofortreaktion seines zellulären und humoralen Anteils in Aktion. Kann eine mögliche Infektion nicht in dieser Instanz gestoppt werden, erfolgt die Benachrichtigung an den antigenspezifischen Teil (JECKSTADT et al., 1988).

## **Immunkompetenzprofil**

Als Immunkompetenz wird das Ausmaß und die Effektivität der Immunantwort bezeichnet. Zur Einschätzung der Immunkompetenz erfolgt die Untersuchung und Messung einer oder mehrerer Komponenten des Immunsystems. Diese Komponenten gelten als Indikator für die Funktionsfähigkeit des Immunsystems (ADAMO, 2004). Nach MAYR und MAYR (2002) besteht die Immunabwehr aus eng miteinander verknüpften Einzelereignissen. Eine separate Untersuchung dieser Einzelereignisse, bestehend aus dem Eindringen eines Erregers, der Identifikation, des Kontaktes mit Immunzellen, der intrazellulären Aufnahme und schließlich der Elimination, kann *in vitro* erfolgen. Anhand der *in vitro* Methoden kann die Zellpopulation, die Anzahl der phagozytierenden Zellen und das Verhältnis der zu eliminierenden Partikel dazu genau definiert werden. Bei Untersuchungen *in vivo* ist das Ergebnis immunologischer Parameter eng mit den Steuerungsmechanismen und den komplexen Ablauf im Tier verbunden. Neben den Zielzellen und den humoralen Komponenten des strömenden Blutes sind dabei auch ortsständige Makrophagen von Lunge, Milz und Leber beteiligt. Zusätzlich hat das Kreislaufgeschehen und die Zirkulationsgeschwindigkeit des Blutes einen Anteil an der Immunabwehr. Die Methode der *in vitro* Messung im Vollblut kommt den zellulären Funktionen unter natürlichen Bedingungen am nächsten, da Einflüsse der Zellfraktionierung ausgeschaltet und die Kommunikation zwischen den Zellen erhalten bleiben (WINTER, 1987).

Zur Darstellung des Immunstatus eines Tieres ist es notwendig, verschiedene immunologische Parameter gleichzeitig zu untersuchen (BUSCHMANN, 1989). Denn nur eine große Zahl von Parametern der immunologischen Antwort können eine Aussage über die verschiedenen ausschlaggebenden Faktoren für unterschiedliche Belastungen geben (DETILLEUX et al., 1994). Die Auswirkungen verschiedener Einflussgrößen wie die Ernährung, Leistung oder Umweltbedingungen auf die Immunabwehr sind anhand der Untersuchung einzelner immunologischer Parameter nur schwer zu interpretieren. KEIL et al. (2001) untersuchten die Beziehungen zwischen verschiedenen immunologischen Parametern und der Immunabwehr gegen spezifische Erreger bei Mäusen. Nach dem Einsatz von unterschiedlichen Konzentrationen von Dexamethason konnten sie eine Reduzierung der Natürlichen Killerzellen und der T-Zellsubtypen feststellen. Gleichzeitig war bei der Konzentration der Neutrophilen Granulozyten eine Steigerung erkennbar. Die Resistenz der Mäuse gegen eine Infektion mit *Listeria monocytogenes* nahm jedoch nur bei dem Einsatz der höchsten Konzentration von Dexamethason ab. Mit der Erstellung eines sog. Immunkompetenzprofiles anhand von etablierten immunologischen Verfahren werden zahlreiche immunologische Parameter gleichzeitig untersucht. In der Literatur werden eine Reihe

von Immunkompetenzprofilen für verschiedene Tierarten beschrieben, in denen sowohl zelluläre als auch humorale Immunparameter einbezogen wurden (RIEDEL-CASPARI et al., 1988; KAHL et al., 1989; PONTI et al., 1989; BONIZZI et al., 1989; JOLING et al., 1993; SUNDRUM, 1997; TUSCHERER et al., 1998). Bei diesen Profilen erfolgte neben der Bestimmung der zellulären Anteile des Blutes, der Erythrozyten- und der Leukozytenzahl sowie zur genaueren Identifizierung der Erstellung eines Differentialblutbildes, die Ermittlung des Prozentsatzes von B- und T-Lymphozyten sowie von Helfer- und Supressorzellen. Des weiteren wurden die mitogene Stimulierbarkeit der Lymphozyten durch unterschiedliche Lektine, die Aktivität von Natural-Killer-Zellen gegenüber Zielzellen und die Phagozytosefähigkeit von isolierten Zellen oder des Vollblutes gemessen. Die Bestimmung der Phagozytosefähigkeit kann mit direkten und indirekten Methoden erfolgen. Direkte Methoden erfassen die Zahl der pro zur Phagozytose fähigen Zellen aufgenommenen Partikel oder den Prozentsatz der abgetöteten Bakterien. Mit Hilfe der indirekten Methoden kann die bakterizide Aktivität der Zellen durch die Zunahme des Sauerstoffverbrauchs, der Glucoseoxidation oder der Freisetzung von Sauerstoffradikalen ermittelt werden. Als weitere Parameter werden die bakterizide Wirkung des Vollblutes oder des Serums, die Immunglobulinspiegel und die Antikörperbildung gegenüber spezifischen Antigenen zur Erstellung eines Immunkompetenzprofils eingesetzt.

## **2.2 Methoden zur Erfassung des Gesundheitsstatus**

### **2.2.1 Milchleistung und Milchinhaltsstoffe**

Die Leistungsfähigkeit einer Milchkuh wird sowohl an der Qualität als auch an der absoluten Menge der produzierten Milch gemessen. Die Milchmengenleistung sowie einige Milchinhaltsstoffe werden in Form der Milchleistungsprüfung durch die zuständigen Landeskontrollverbände erfasst und überwacht (GRABOWSKI, 2002). Nach HUTH (1995) besteht die Entwicklung der **Milchmengenleistung** im Laktationsverlauf aus 5 Phasen. Die Laktation beginnt mit einem steilen Leistungsanstieg bei der Abkalbung und endet ca. 2 Wochen *post partum*. Sie beinhaltet den Übergang vom Kolostrum zu reifer Milch. Die Phase 2 besteht aus dem oberen Leistungsbogen mit einem anfänglichen Anstieg und dem späteren Abfall der Milchleistung. Diese Phase dauert, bis die Milchmengenleistung ihr ursprüngliches Niveau der 2. Woche *post partum* wieder erreicht hat. Das ursprüngliche Niveau wird zwischen 5 und 12 Wochen *post partum* erreicht. Die Phase 3 ist durch einen linearen Leistungsabfall charakterisiert und hält etwa bis zur 20. Woche *post partum* an. Diese Reduktion der Milchmenge wird bedingt durch endokrinologische und graviditätsbezogene

Einflüsse mit einem stagnierenden Leistungsabfall in der Phase 4 zwischen der 21. und 32. Woche nach der Geburt aufgehalten. Ab der 33. Woche nach dem Abkalben kommt es bedingt durch das progressive Wachstum des Fötus zu einem verstärkten Leistungsabfall in der Phase 5. Die Milchmengenleistung wird durch verschiedene Faktoren beeinflusst.

Die Milchinhaltsstoffe liefern ebenfalls wichtige Informationen über Fütterung und Management einer Herde (RICHARDT, 2004). Das **Milchfett** wird in erster Linie aus Azetat,  $\beta$ -Hydroxybutyrat, Lipoproteinen, Chylomikronen und langkettigen Fettsäuren synthetisiert. Sein Gehalt ist stark rasseabhängig, steht aber auch in Beziehung zu der Futterzusammensetzung, der Milchleistung und der Laktationsphase (FÜRL, 2005). Die wichtigsten Parameter der Futtermittellieferung als Einflussfaktor der Milchfettsynthese sind der Anteil der strukturwirksamen Rohfaser, der Anteil leicht verdaulicher Kohlenhydrate, das Vorhandensein ruminaler Puffersubstanzen, der Sättigungsgrad der Nahrungsfette und die ruminale Verfügbarkeit der Fettsäuren (MCGUIRE and BAUMAN, 2003). In Energiemangelsituationen wird Körperfett lipolytisch mobilisiert und führt zur Erhöhung der Konzentration freier Fettsäuren sowie von Glycerol im Blut. Das ist neben der Konzentrationserhöhung der Leberlipide und Ketonkörper mit einer Zunahme der Milchfettsynthese verbunden. Dagegen führt eine rohfasearme, konzentratreiche Futtermittellieferung mit Begünstigung der Propionatbildung im Pansen bei Reduzierung der Azetatsynthese zu einem Mangel an Milchfett (FÜRL, 2005).

Das **Milcheiweiß** setzt sich aus den Caseinen und den Molkeproteinen (Serumalbumin,  $\alpha$ -Lactalbumin,  $\beta$ -Lactoglobulin, Immunglobulinen) zusammen (STELWAGEN, 2003). Serumalbumine und Immunglobuline entstammen aus dem Blut (GRABOWSKI, 2000). Die übrigen Milchproteine werden aus den Plasmaamino säuren synthetisiert (FÜRL, 2005). Etwa 60 % der Aminosäuren stammen aus der mikrobiellen Proteinsynthese im Pansen und nur ca. ein Drittel direkt aus den Proteinen der Futtermittel (STELWAGEN, 2003). Jegliche Störung der Aktivität der Pansenflora wirkt sich daher negativ auf den Milcheiweißgehalt aus. Ein hohes Energieniveau der Fütterung, ein ausreichender Eiweißgehalt und aufeinander abgestimmte Abbaubarkeiten im Pansen sind die Voraussetzung für einen hohen Milcheiweißgehalt. Der Milcheiweißgehalt wird wesentlich mehr durch die Energiezufuhr über das Futter als durch die Eiweißzufuhr beeinflusst (DE KRUIF et al. 1998). Der Milchproteingehalt ist zu Laktationsbeginn und in der Spätlaktation am höchsten. Ein initialer Abfall des Gehaltes ist auf eine negative Energiebilanz zurückzuführen (ROSSOW, 2004). Da der Eiweißgehalt negativ mit der Milchmengenleistung korreliert ist, nimmt der Eiweißgehalt mit steigender Milchleistung ab (RICHARDT, 2004). Mit der Regression von Milchmenge und Eiweißgehalt in Prozent lässt sich eine gute allgemeine Aussage über die Leistungsfähigkeit der Fütterung einer Herde treffen (TAVEL et al., 2005). Der Schnittpunkt der Regressionsgeraden mit der willkürlichen

Hilfslinie bei 3,2 % Eiweißgehalt ergibt die energetische Leistungsfähigkeit der Ration (DE KRUIF et al. 1998).

Die alleinige Bewertung des Milchfettgehaltes birgt Fehlermöglichkeiten in der Interpretation, da sich ein Fettanstieg bedingt durch Lipomobilisation und ein Fettabfall bedingt durch Rohfasermangel gegenseitig aufheben können (DE KRUIF et al. 1998). Die gegenläufigen Veränderungen des Milchfett- und Milcheiweißgehaltes bei Energiemangel- bzw. unterversorgung werden bei der Bildung des Fett/Eiweiß-Quotienten deutlicher. Bei einem Energie- bzw. Proteinmangel in der Futtermischung, dem Fettmobilisationssyndrom und bei sekundär gesteigerter Lipolyse ist der Quotient erhöht. Rohfasermangel und Pansenazidose senken den Fett/Eiweiß-Quotient (FÜRL, 2005).

### **2.2.2 Bakterizidie des Vollblutes**

Von zahlreichen Autoren wird der Bakterizidietest als ein sensibler Indikator angesehen, um beim Rind exogene Einflüsse auf den Organismus zu erfassen (DORN et al., 1980; TAYLOR, 1983; RIEDEL-CASPARI et al., 1990; GIESE et al., 1991; SUNDRUM, 1997). Die Quantifizierung der bakteriziden Wirkung des Vollblutes stellt nach TIELEMANN et al. (2005) eine funktionelle und gut durchführbare direkte Methode der Messung der Immunfunktion dar. Unter Beteiligung unspezifischer und spezifischer Faktoren werden sowohl gramnegative als auch grampositive Bakterien inhibiert und destruiert (DORN et al., 1980). Da sich die Zellen in ihrer natürlichen Umgebung befinden, bleiben interzelluläre Wege der Signalübertragung anhand der Zytokine und der weiteren humoralen Komponenten bestehen (DEFORGE et al., 2000). Die bakterizide Wirkung des Vollblutes gegenüber Bakterien ist demnach das Resultat eines komplexen Zusammenwirkens immunologischer Abwehrvorgänge des Organismus. In verschiedenen Studien wurden dem Vollblut zur Messung der Bakterizidie vor allem *S. aureus* oder *E. coli* zugesetzt (RIEDEL-CASPARI et al., 1990; DEFORGE et al., 2000; TIELEMANN et al., 2005). Nach TAYLOR (1983) und RIEDEL-CASPARI et al. (1990) geht der Hauptanteil der bakteriziden Wirkung gegenüber den meisten *E. coli* – Stämmen vom Blutserum aus.

Unterschiedliche Stämme von *E. coli* weisen eine charakteristische Abtötungsrate auf, die über einen Zeitraum von mehreren Wochen konstant bleibt (RIEDEL-CASPARI et al., 1990). In den überwiegenden Arbeiten wurde die Bakterizidie des Vollblutes nach einer festgelegten Zeit der Inkubation gemessen. In einer Longitudinalstudie mit drei unterschiedlichen Inkubationszeiten konnte SUNDRUM (1997) eine Linearität in der Beziehung zwischen Abtötungsrate und Inkubationszeit im Zeitabschnitt von 20 bis 60 Minuten nachweisen. In dieser Untersuchung trat die

bakterizide Wirkung des Vollblutes bereits unmittelbar nach dem Kontakt des Testkeimes mit dem Blut auf. Die Abtötungsrate stieg am Anfang der Inkubation exponentiell an. Nach dieser Anfangsphase war die Beziehung der bakteriziden Wirkung des Vollblutes und den Inkubationszeiten dagegen nahezu linear. Zum Ende der Inkubation wurde eine maximale Abtötungsrate von *E. coli* (98%) erreicht. Diese veränderte sich auch bei einer länger andauernden Inkubation nicht mehr. Demnach ist nach SUNDRUM (1997) die Möglichkeit der Interpretation des Bakterizidietests mit Vollblut hinsichtlich der Effektivität der Immunantwort in der Zeiteinheit (Inkubationszeit) gegeben.

### **2.2.3 Phagozytoseaktivität**

Die Phagozytose zählt zu den wichtigsten Elementen der unspezifischen Abwehr. Die Phagozytose durch periphere polymorphkernige Neutrophile Granulozyten (PMN) stellt einen wichtigen zellulären Schutz gegen in das Körperinnere eingedrungene Fremdstoffe dar (STRUBE et al., 1991). Nach STEVENS et al. (1991) ist bei der Ermittlung des Immunstatus die Phagozytoseaktivität der Neutrophilen Granulozyten von besonderem Interesse, da sie die vorherrschende Population von Phagozyten in dem Blut von Rindern repräsentieren. Unterschiedliche indirekte Methoden geben eine Einsicht in die Phagozytosekapazität durch Messung der Zunahme des Sauerstoffverbrauches oder der Freisetzung von Sauerstoffradikalen, die jedoch dem komplexen Prozess der bakteriziden Funktion der Neutrophilen Granulozyten nur unzureichend abbilden (STEVENS et al., 1991). SILVA et al. (1988) nutzten für die Messung der Phagozytoseaktivität die Methode der Reduktion des Formazansalz MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromid) durch lebende Bakterien zu einem violett gefärbten Formazansalz proportional zu den lebensfähigen Zellen. Dabei setzten die Autoren *E. coli*, *Staphylokokkus aureus* und *Streptokokkus agalactiae* zur Phagozytose ein. Die Phagozytoseaktivität der Zellen war nach Einsatz von *E. coli* und *Streptokokkus agalactiae* in Reinkultur gleich, jedoch höher als bei dem Einsatz von *Staphylokokkus aureus*. Nach NAGAHATA et al. (1986) und STEVENS et al. (1991) bietet das colorimetrische Verfahren mit dem Formazansalz MTT eine sensible und zuverlässige Methode zur Quantifizierung der Phagozytoseaktivität von bovinen Neutrophilen Granulozyten. Es beinhaltet des weiteren die Möglichkeit, veränderte bakterizide Aktivität von Neutrophilen Granulozyten nach einer Immunmodulation zu identifizieren (STEVENS et al., 1991).

Als ein weiteres Verfahren zur Überprüfung der Phagozytoseaktivität wird die Durchflusszytometrie eingesetzt. Die Messung erfolgt mit Hilfe der Fluoreszenz-activated-cell-sorter-(FACS)-Analyse

(EICKHOFF, 2002). Das Prinzip der durchflusszytometrischen Messung besteht darin, den zu testenden Zellen mit Fluorochromen angefärbte Partikel zur Phagozytose anzubieten. Im Durchflusszytometer wird jede einzelne Zelle nach Stoppen der Phagozytose auf das von ihr ausgehende Fluoreszenzlicht geprüft. Dadurch kann sowohl der prozentuale Anteil der phagozytierenden Zellen an der Gesamtpopulation als auch die mittlere Strahlungsintensität der einzelnen Zelle, also die mittlere Phagozytoseaktivität der einzelnen Zelle gemessen werden (GOETZMANN, 1993).

#### **2.2.4 Lymphozytenproliferation**

Nach JOLING et al. (1993) stellt der Lymphozytenproliferationstest eine relativ einfache Methode zur Untersuchung des Immunsystems dar. Einer der Eckpunkte der zellulären Immunität ist die klonale Vermehrung der Lymphozyten als Antwort auf Antigene oder Mitogene. Die zelluläre Immunität lässt sich anhand der Lymphozytenproliferation messen (HILBE, 2000). Nach FRANKLIN et al. (1994) korrelieren die Ergebnisse des Lymphozytenproliferationstests positiv mit der *in vivo* gemessenen Anzahl an T- und B-Lymphozyten. Nach KRISTENSEN et al. (1982) ist der Lymphozytenproliferationstest unter anderem dazu geeignet ist, Einsicht in die immunologische Kompetenz von Individuen zu geben. Ein Nachteil in der Methode des Lymphozytenproliferationstest besteht in den starken individuellen Variationen bedingt durch innere Einflüsse wie die Anzahl der reagierenden Zellen oder äußere Einflüsse wie das Alter des Probanden oder der Testtag (KRISTENSEN et al., 1982; JOLING et al., 1993). Um die Lymphozyten zur Proliferation anzuregen, werden den Zellen *in vitro* Mitogene zugesetzt.

Mitogene sind Substanzen, die eine Zellteilung induzieren und eine unspezifische polyklonale Vermehrung durch Blastenbildung und Induktion der DNS-Synthese der Lymphozyten bewirken (HILBE, 2002). Die Quantifizierung der nach der Inkubation mit den Mitogenen vorhandenen Zellen kann, wie bei der Methode zur Messung der Phagozytoseaktivität, mittels des Formazansalzes MTT erfolgen. Als Mitogene werden in der Regel Lektine und Endotoxine gramnegativer Bakterien eingesetzt (KRISTENSEN, 1982). Das Mitogen Concanavalin A (ConA) wird aus der Schwertbohne (*Canavalia ensiformis*) gewonnen und ist ein T-Zellmitogen, welches die T-Lymphozyten zur Transformation zu aktiven Blasten anregt. Gleichzeitig induziert ConA die Sekretion von Zytokinen durch die aktivierten Zellen. Aus der roten Feuerbohne (*Phaseolus vulgaris*) wird das Mitogen Phytohämagglutinin (PHA) gewonnen. PHA gilt ebenso wie ConA als T-Zellmitogen. Zur Stimulation der T-Lymphozyten durch PHA ist ein stetiger Kontakt zwischen dem Mitogen und den Lymphozyten Voraussetzung. Das Mitogen Pokeweed Mitogen (PWM) ist

ein Extrakt aus der *Phytolacca americana* (Kermesbeere oder Amerikanischer Nachtschatten) und stimuliert die T- und B-Lymphozyten (HILBE, 2002). Eine weitere Möglichkeit der Messung stimulations-abhängiger Zellproliferation ist die Nutzung der Zellmarkierung mit fluoreszierenden, nicht toxischen Farbstoffen, und deren quantitative Bestimmung mit Hilfe der Durchflusszytometrie. Als Nachweis der Proliferation dient hier die Abnahme der Fluoreszenzfärbung durch die Aufteilung der Farbe auf die beiden Tochterzellen während der Zellteilung (LYONS, 2000).

### **2.2.5 Spezifische Antikörperproduktion**

Die Erfassung der Immunantwort auf die Vakzinierung mit einem spezifischen Antigen wird von verschiedenen Autoren als ein wichtiger Bestandteil eines Immunkompetenzprofils beurteilt (RIEDEL-CASPARI und SCHMIDT, 1991; JOLING et al. 1993). Die aktive Schutzimpfung nutzt die phylogenetisch jüngsten Mechanismen des Abwehrpotentials. Werden sie über die Schutzimpfung aktiviert, kommt es im Verbund mit den antigenunspezifischen Teilen des Immunsystems zur Antikörperbildung und damit zu einer spezifischen Immunität. Der Erfolg einer Vakzinierung hängt, neben der Applikationsart und der Qualität des Impfstoffes, sehr wesentlich davon ab, wie stark die spezifische Abwehrleistung des Immunsystems stimuliert, erhöht oder reguliert worden ist (MAYR und MAYR, 2002). Für die Untersuchung der spezifischen Antikörperproduktion bei Milchkühen wurde den Tieren unter anderem Ovalbumin (MALLARD et al., 1998; WAGTER et al., 2003) oder ein BHV-1 Impfstoff (SUNDRUM, 1997; SINCLAIR, 1999) appliziert.

### **2.2.6 Hämatologie**

Die Erstellung eines Blutbildes gehört zu den Routineuntersuchungen bei der Kontrolle und Diagnostik von Erkrankungen. Erfasst werden unter anderem der Hämatokrit, die Erythrozytenzahl, weiterhin die Leukozytenzahl mit Differentialblutbild (HARTMANN und MEYER, 1994). Verschiedenste Erkrankungen gehen beim Wiederkäuer mit einer Veränderung des roten und weißen Blutbildes einher, so dass die Bestimmung der entsprechenden Parameter die Diagnosefindung erleichtern kann (SCHLERKA und BAUMGARTNER, 1983). Nach GRÜNDER (1991) sind Veränderungen des roten Blutbildes diagnostisch und prognostisch wertvoller als die des weißen Blutbildes, da die Leukozytenzahl und das Differentialblutbild zwar häufig aber dennoch unregelmäßig verändert sind. Die Bestimmung des Hämatokrit und der Erythrozytenzahl erlaubt das zuverlässige Erkennen von Anämien und von Hämokonzentrationen (VAN DAMME, 1989). Dabei ist jedoch zu beachten, dass der Hämatokritwert ein Relativwert darstellt, der nur das

Verhältnis der Blutkörperchen zum Plasma angibt (KRAFT und DÜRR, 2005). Physiologische Schwankungen im roten Blutbild ergeben sich vor allem im peripartalen Zeitraum. Dabei fanden BLEUL und SOBIRAJ (2001) die höchsten Erythrozytenzahlen um die Geburt herum. Danach erfolgte ein Abfall, die niedrigste Anzahl der Erythrozyten wurde am 2. Tag *post partum* erreicht. In den letzten Monaten der Trächtigkeit verändert sich der Hämatokrit parallel zur Erythrozytenzahl. Die Leukozyten unterliegen generell vielfältigen Einflüssen, die sich sowohl auf die Anzahl der Leukozyten als auch auf das Differentialblutbild und schließlich auf die Funktion auswirken können (FÜRL, 2000). Bei Veränderungen der Leukozytenzahlen sind sowohl die Leukozytopenien als auch die Leukozytosen von Bedeutung. Bei letzteren muss eine Unterscheidung zwischen physiologischen und pathologischen Veränderungen unterschieden werden. Mit einer physiologischen Erhöhung der Leukozytenzahlen ist bei Stress, Angst oder Geburt zu rechnen. Des Weiteren ist zu beachten, dass Neutrophile Granulozyten die Fähigkeit der Anheftung an die Gefäßwand besitzen. Durch Erhöhung des Blutdrucks wird die Fließgeschwindigkeit des Blutstroms erhöht. Dies führt dazu, dass sich die Neutrophilen von der Wand lösen und im Blut nachgewiesen werden können. Umgekehrt zieht eine Verlangsamung des Blutstroms durch Erweiterung des Gefäßlumens ein Abwandern der Leukozyten aus dem Blutstrom nach sich. Daraus wird ersichtlich, dass jede Beeinflussung des Blutdruckes, sei es durch physiologische Ereignisse oder krankhafte Zustände, zu einer Veränderung der Blutzellzahlen führen kann (KRAFT und DÜRR, 2005). Im peripartalen Zeitraum unterliegen die Leukozytenzahlen ebenfalls physiologische Schwankungen. In ihrer Untersuchung konnten BLEUL und SOBIRAJ (2001) die höchsten Leukozytenzahlen (über dem Referenzbereich) zum Zeitpunkt der Geburt feststellen. Zu einer pathologischen Erhöhung der Leukozytenzahlen kommt es im Verlauf von Infektionserkrankungen, bei bestimmten Intoxikationen und Proteinabbauprozessen. Mit einem Abfall der Leukozytenzahlen ist unter anderem bei viralen Infektionserkrankungen und Intoxikationen zu rechnen (KRAFT und DÜRR, 2005).

### **2.2.7 Klinisch-chemische Blutparameter**

Aufgrund der vielen stoffwechselassoziierten, mit Leistungseinbußen einhergehenden Erkrankungen kommt der Überwachung des Stoffwechsels anhand klinisch-chemischer Blutparameter eine große Bedeutung zu (FÜRL, 2002). Zur Beurteilung der Analysewerte werden diese in der Regel zu Normal- bzw. Referenzbereichen gesetzt. Tiere, deren Werte innerhalb des Referenzbereiches liegen, werden im allgemeinen als gesund bezeichnet. Tiere, deren Werte außerhalb des Referenzbereiches liegen, werden als krank eingestuft. Da die Variationsbereiche von Werten gesunder Tiere mit denen erkrankter Tiere überlappen, ist die Grenze des Referenzbereiches jedoch

nicht die Grenze zum pathologischen Bereich (SUNDRUM, 1997). Aus diesem Grund hat sich nach FÜRLL (2004) ein modifiziertes Verfahren bewährt, das die sog. Kontroll-(K) sowie Toleranz-(T) grenzen für die Stoffwechselkontrolle bei Kühen beschreibt. Kontrollgrenzen entsprechen dem arithmetischen Mittelwert plus/minus halber Standardabweichung, Toleranzgrenzen dem arithmetischen Mittelwert plus/minus einfacher Standardabweichung. Demnach liegt eine Gesundheits- bzw. Leistungsgefährdung dann vor, wenn der analysierte Gruppenwert außerhalb der Kontrollgrenzen oder wenn  $> 20\%$  der Einzelwerte außerhalb der Toleranzgrenzen liegt. Nach MANSFELD et al. (1996) ergeben sich noch weitere Schwierigkeiten bei der Bewertung von Stoffwechselprofilen, unter anderem bedingt durch die Auswahl der Tiere oder die Stichprobengröße. Des Weiteren handelt es sich bei den Laborwerten um stetige Merkmale, die keiner Normalverteilung unterliegen. Eine Reihe äußerer Einflussfaktoren, wie die Jahreszeit und die Tageszeit der Probengewinnung, Proben-transport, -lagerung und -behandlung und die jeweiligen Bestimmungsmethoden wirken sich ebenfalls auf die Ergebnisse von Stoffwechselprofilen aus. Aus diesen Gründen müssen einige Regeln eingehalten werden, um bei Stoffwechsel- und Gesundheitskontrollen sinnvolle Ergebnisse zu erhalten (FÜRLL, 2004). Demnach ist neben der Auswahl der Tiere (Tiere, die am stärksten belastet sind), dem Probenmaterial und der Behandlung der Proben nach der Gewinnung ein besonderes Augenmerk auf den Informationswert der zu analysierenden Parameter zu werfen.

Ein Anstieg der **Freien Fettsäuren** (FFS) im Blut erfolgt durch die Mobilisation des Körperfettes bei kataboler Stoffwechsellaage (SCHOLZ, 1990) und weist auf einen akuten Energiemangel hin (FÜRLL et al., 1992). Die Bestimmung der FFS-Konzentration im Serum dient der Frühdiagnostik von mit dem Fettmobilisationssyndrom vergesellschafteten Erkrankungen (FÜRLL, 2002). Bleibt ein Konzentrationsanstieg der FFS im Blut bei kataboler Stoffwechsellaage über längere Zeit bestehen, kann es zu einer forcierten Ketonkörperbildung und Fetteinlagerung in der Leber kommen. Durch die Konkurrenz um gemeinsame Transportproteine in der Leber entwickelt sich in Phasen negativer Energiebilanz ein gleichgerichteter Konzentrationsanstieg der FFS und des Bilirubins (STAUFENBIEL et al., 1992). Von den Ketonkörpern wird die  **$\beta$ -Hydroxybuttersäure (BHB)** Konzentration aus messtechnischen Gründen bevorzugt bestimmt. Unter Berücksichtigung alimentärer Einflüsse dient sie dem Nachweis von Ketosen und der Interpretation des Energiestoffwechsels (FÜRLL, 2002). Bei ungenügender Verfügbarkeit von Glukose werden Fettsäuren unvollständig abgebaut, wodurch Ketonkörper entstehen. Unter physiologischen Bedingungen reicht die Verwertungskapazität des Organismus aus, um die anfallenden Ketonkörper zu verstoffwechseln. Erfolgt eine über das physiologische Maß hinausgehende Ketonkörperbildung spricht man vom Zustand der Ketose (HARTMANN und MEYER, 1994). Ursache

stoffwechselbedingter Ketosen ist eine ungenügende Gluconeogenese bei unzureichender Versorgung oder aber bei verfetteten Tieren im Gefolge des Fettmobilisationssyndroms mit relativer Insulinresistenz (KRAFT und DÜRR, 2005).

**Bilirubin** entsteht zum überwiegenden Teil aus dem Abbau des Hämoglobins (HARTMANN und MEYER, 1994). Zu einem Anstieg der Gesamtbilirubinkonzentration im Blut kommt es im Gefolge einer vermehrten Bilirubin-I-Bildung bei Hämolysen. Das kann zur Ausbildung eines prähepatischen Ikterus führen. Ein intrahepatischer Ikterus entsteht bei Störungen in der Leberzelle. Dabei steigen die Konzentrationen von Bilirubin-I und -II an. Bei einem posthepatischen Ikterus steigt ebenfalls die Konzentration von Bilirubin-I und -II, hierbei ist der Abfluss der Galle gestört. Eine Sonderform des hepatischen Ikterus stellt der Inanitionsikterus dar. Die bei einer unzureichenden Energieaufnahme durch forcierte Lipolyse in großen Mengen anfallenden Fettsäuren konkurrieren mit dem Bilirubin in den Hepatozyten um dieselben Transportproteine (KRAFT und DÜRR, 2005). Eine Erhöhung der Konzentration bis 20 µmol/l (physiologisch < 5µmol/l) entspricht dabei der natürlichen Reaktion auf einen Energiemangel und sind relativ unbedeutend (FÜRL, 2004). Konzentrationen darüber weisen in der Regel auf Mikrohämolysen hin.

**Cholesterin** ist ein wesentlicher Bestandteil der Lipoproteine und wird in der Leber synthetisiert, sekretiert und aus dem Darm resorbiert (FÜRL, 2000). Sowohl peripartale Belastungen als auch kurzfristige schwere Erkrankungszustände werden gut angezeigt (FÜRL, 2004). Es dient unter anderem als wichtiger Parameter der Erkennung von Leberstörungen, insbesondere der Erkennung des Fettmobilisationssyndroms und den damit assoziierten Erkrankungen (FÜRL, 2000, 2002).

Die Aktivität der **Aspartat-Aminotransferase (ASAT)** ist nicht organspezifisch. Beim Rind ist ihre Aktivität bei Skelett-, Herzmuskel-, Leber- und Uterusschäden erhöht. Bei Lebererkrankungen kommt es zu einem frühen und deutlichen Anstieg der ASAT-Aktivität, die nach Ausschluss von Muskelschäden anhand der Creatinkinase für die Diagnostik von akuten Lebererkrankungen genutzt werden kann (FÜRL, 1997, 2002). Bei Belastungen des Leberstoffwechsels steigt die ASAT-Aktivität später als die Bilirubinkonzentration an, verbleibt jedoch länger auf dem erhöhten Niveau. Dies ist bedeutsam für die Erkennung von Schädigungen der Leber, die z.B. durch Energie- und Rohfasermangel und Eiweißüberschuss hervorgerufen werden (LOTTHAMMER, 1981). In der Zelle ist ASAT sowohl im Zellplasma als auch in den Mitochondrien lokalisiert (HARTMANN und MEYER, 1994). Deutliche Aktivitätssteigerungen der ASAT finden sich daher bei Zellnekrosen, weniger deutliche auch bei Membranschädigungen.

Erhöhungen der Aktivität der **Gamma-Glutamyl-Transferase (γ-GT)** im Blut haben ihre Ursache

im hepatobiliären System, so dass das Enzym als leberspezifisch angesehen werden kann. Im Unterschied zu anderen leberspezifischen Enzymen reagiert die  $\gamma$ -GT verzögert, d.h. der Abbau langsamer als bei anderen Enzymen. Mit einem Abfall ist daher auch erst nach 2 bis 3 Wochen zu rechnen. Die Aktivitätssteigerung wird primär durch Enzyminduktion, d.h. Erhöhung der Produktion ausgelöst (SCHWENDENWEIN, 1995). Auslöser für eine Erhöhung der Enzymaktivität sind in der Mehrzahl der Fälle intra- und extrahepatische Cholestasen. Diese treten unter anderem in Verbindung mit akuten und chronischen Hepatopathien, toxischen Hepatosen und Fibrosen auf (KRAFT und DÜRR, 2005).

Mit der **Glutamat-Dehydrogenase** (GLDH) steht ein mononukläres leberspezifisches Enzym mit einer hohen Stabilität im Serum für die Routinediagnostik der Stoffwechselüberwachung zur Verfügung. Durch die Lokalisation in den Mitochondrien treten Aktivitätserhöhungen erst bei großen Membrandefekten auf, trotzdem gilt das Enzym als empfindlich (KRAFT und DÜRR, 2005). Bei der Aktivitätssteigerung der GLDH muss eine potentielle Funktionsstörung der Nieren ausgeschlossen werden, da sie in hohem Maße auch in den Nieren vorkommt (FÜRLI et al., 2002). Ihre höchste Aktivität ist im zentrolobulären Bereich des Leberläppchens lokalisiert. Sie reagiert bei Störungen in diesem Bereich, z.B. bei Hypoxämien, Gallestauung etc. mit einer schnellen, hochgradigen Aktivitätserhöhung. Bei peripheren Störungen hingegen ist die Erhöhung der Aktivität nur gering (FÜRLI, 1997). Gegenüber der ASAT eignet sich die GLDH besonders zur Erfassung länger einwirkender Noxen (ALBRECHT und UNGLAUB, 1992). Aktivitätssteigerungen der GLDH im Serum werden zur Diagnose chronischer Hepatopathien genutzt (LOTTHAMMER, 1981).

Das **Gesamteiweiß** setzt sich im wesentlichen aus der Albumin- und Globulinfraction zusammen. Fast das gesamte Plasmaprotein, mit Ausnahme der Immunglobuline, wird dabei in den Hepatozyten gebildet. Die Bestimmung der Konzentration von Gesamteiweiß wird hauptsächlich zur Abklärung von Leber- und Nierenfunktionsstörungen, gastrointestinalen Erkrankungen, De- und Hyperhydratation und besseren Interpretation von Hämatokritwerten bestimmt (KRAFT und DÜRR, 2005). Besonders längerfristig anhaltende Energie- und Proteinunterversorgung führen zu einer Verminderung der Gesamteiweißkonzentration (ROSSOW et al. 1987).

Aufgrund der deutlichen Abhängigkeit des **Harnstoff**gehaltes von der Futterzusammensetzung (SMITH, 1996) gilt dieser Parameter als sensibler Indikator für den Eiweißstoffwechsel (LOTTHAMMER, 1981). Durch verstärkten Eiweißabbau infolge von Energiemangelzuständen (SCHOLZ, 1990) oder durch eine gestörte Ausscheidungsfunktion der Niere (KRAFT und DÜRR, 2005) kommt es zu erhöhten Harnstoffkonzentrationen im Blut. Über der physiologischen Norm liegende Werte deuten auf eine absolute oder bei gleichzeitig bestehendem Energiemangel relative

Rohproteinübersversorgung hin. Zu niedrige Werte sprechen für eine Unterversorgung mit Rohprotein bzw. für eine allgemein unzureichende Futteraufnahme. Fütterungsbedingte Veränderungen der Harnstoffgehalte sind innerhalb von 3 bis 4 Tagen nach der Rationsumstellung im Serum nachweisbar (LOTTHAMMER, 1981).

Durch die vielen Einflussfaktoren auf den Blutglukosespiegel und die unterschiedlichen Regelkreise, die einem sinkenden Blutglukosespiegel entgegenwirken, ist dieser Parameter als individuelles Maß für den Energiestoffwechsel nicht geeignet. Generell sind schwankende Blutglukosewerte nicht die Folge einer ungenügenden oder übermäßigen Energieaufnahme, sondern vielmehr das Ergebnis einer gestörten Glukosehomöostase, wie sie z.B. im Verlauf einer Ketose oder des Fettlebersyndroms auftreten (PAYNE und PAYNE, 1987). **Kalzium** ist für die grundlegenden biologischen Prozesse wie Muskelkontraktion, Membranpermeabilität, Enzymaktivität, Blutgerinnung, nervale Impulsation sowie Hormonabgabe unentbehrlich (HARTMANN und MEYER, 1994). Die Absorptionsrate hängt deutlich vom Versorgungszustand und physiologischen Leistungsstadium ab. Die Kalziumverwertbarkeit steigt bei einem verminderten Angebot bzw. vermehrten Bedarf. Eine Verminderung der Kalziumabsorption ist bei hohen Fettgehalten der Ration und mit zunehmendem Lebensalter der Kühe zu erwarten (KIRCHGESSNER, 1997). Die Einschätzung der Kalziumversorgung der Milchkuh ist problematisch. Die Blutuntersuchung bietet einzig die Möglichkeit der Diagnose akuter Mangelzustände. Auskunft über die Versorgungslage gibt sie nicht (BUHMANN und GRÜNDER, 1985).

**Phosphor** kommt als anorganisches Phosphat und als organischer Phosphatester vor. Das anorganische Phosphat ist an der oxydativen Phosphorylierung, am Erythrozytenstoffwechsel und an Energiespeicherungs- und übertragungsprozessen beteiligt. Nach HARTMANN und MEYER (1994) sind Phosphorkonzentrationen im Blutplasma, im Speichel und Harn wenig geeignet, Auskunft über die Versorgungslage zu geben. Die Einschätzung der Ernährungssituation gelingt am einfachsten durch die Untersuchung des Blutplasmas bzw. -serums auf anorganisches Phosphat (LOTTHAMMER, 1981). Durch die Bestimmung der Serumkonzentration lässt sich ein akuter Mangel gut, ein chronischer Mangel jedoch erst bei starker Unterversorgung diagnostizieren (MARTENS, 1995).

### 2.3 Wirkungsweise der Modulation des Immunsystems

Der Ausdruck „Immunmodulation“ wird generell zur Beschreibung der pharmakologischen Manipulation des Immunsystems genutzt. Stoffe, die eine derartige Veränderung bewirken, werden als Immunmodulatoren bezeichnet. Obwohl diese Bezeichnung gleichermaßen Immunstimulantien wie Immunsuppressiva umfasst, wird der Begriff in erster Linie für Stoffe verwendet, die erwünschte Immunreaktionen verstärken und unerwünschte unterdrücken sollen (QUINN, 1990). Die spezifische Immunmodulation (Applikation von Impfstoffen oder Seren) wird genutzt, um eine Antwort des Immunsystems auf spezifische Antigene zu induzieren. Die unspezifische Immunmodulation wird eingesetzt, um Reaktion eines Tieres auf Krankheiten überwachen und verbessern zu können (WINNICKA et al. 2000). Immunmodulatoren, die zu einer unspezifischen Immunmodulation führen, werden z.T. auch als „Interferoninducer“, „Paramunitätsinducer“ oder als „Biological Response Modifier“ bezeichnet (MAYR und MAYR, 2002). Die Gruppe der Immunmodulatoren zeichnet sich durch einen beachtlichen Umfang und fehlende Homogenität aus. Da die jeweiligen Wirkungsmechanismen kaum bekannt sind, ist eine Einteilung der Substanzen hinsichtlich ihrer Aktivität schwierig. So erscheint bislang eine Klassifizierung anhand der jeweiligen Herkunft am sinnvollsten, wobei eine strenge Einteilung auch hier kaum möglich ist. Es werden physiologische, synthetische und Immunmodulatoren mikrobiologischer, pflanzlicher oder tierischer Herkunft unterschieden (QUINN, 1990). Zu den physiologischen Immunmodulatoren zählen unter anderem neuroendokrine Hormone, Zytokine, und Glukokortikoide. Imidazole, Isoprinosine und aromatische Amine werden den synthetischen Immunmodulatoren zugeordnet. Aus der Vielzahl der mikrobiellen Immunmodulatoren sei an dieser Stelle als Beispiel nur „Parapoxvirus ovis“ (Zylexis<sup>®</sup>, ehemals Baypamun<sup>®</sup>) genannt. Zu den Immunmodulatoren pflanzlicher Herkunft wird unter anderem Echinacea, zu denen tierischer Herkunft Gamma-Globulin gezählt. Der Einsatz von Immunmodulatoren, auch als „Paramunisierung“ bezeichnet, soll ein optimales Funktionieren der unspezifischen zellulären und humoralen Abwehrmechanismen bewirken. Sie kann je nach Ausgangslage des Patienten funktionell stimulierend (z.B. durch Erhöhung der Phagozytose), regulierend (z.B. durch Bildung von bestimmtem Interleukinen, Interferon) oder reparierend (z.B. durch Supprimierung der Bildung von IgE, Feedback-Mechanismen) sein, d.h. sie wirkt insgesamt restaurierend (MAYR und MAYR, 2002). In der Regel kommt es zu einer Erhöhung der unspezifischen Abwehr und über Mediatoren zu einer Verbesserung der Interaktion in dem Netzwerk des unspezifischen und spezifischen Immunsystems (MAYR und MAYR, 2002). In verschiedenen *in-vitro* und *in-vivo* Untersuchungen bei unterschiedlichen Tierspezies wurde der Einfluss von Immunmodulatoren aus Pockenviren auf zelluläre Komponenten und vor allem auf die Induktion von Zytokinen dargestellt (GLITZ, 2002).

Sie bewirken eine Lymphozytenproliferation, die Erhöhung der Phagozytoseaktivität, eine Aktivierung der „natürlichen Killerzellen“ (NK-Zellen) und die Bildung bzw. Freisetzung von Zytokinen wie Interferon- $\alpha$ - und - $\gamma$ , Interleukin 1, 2 und 12, die Steigerung der „Kolonien-Stimulierenden Aktivität“ (CSA) sowie die Freisetzung des Tumornekrosefaktors- $\alpha$  (TFN- $\alpha$ ) (RIEDEL-CASPARI et al., 1991; MAYR und MAYR, 1995; FACHINGER et al., 2000; WINNICKA et al., 2000).

Hinsichtlich der Anwendungsmöglichkeiten haben verschiedene Autoren den Einsatz von Immunmodulatoren zur Infektionsprophylaxe bei erwartenden Stressbedingungen untersucht. FRERKING et al. (1995) fassten in ihrer Arbeit die klinischen Erfahrungen mit Paramunitätsinducern beim Rind anlässlich von Tierschauen zusammen. Zum Schutz gegen eine Ansteckung mit dem BHV-1 Virus wurden ab 1988 IBR-negative Rinder und Kühe auf sieben Tierschauen mit Baypamun<sup>®</sup> behandelt. Bis 1994 wurden nach der Rückkehr der Ausstellungstiere in 8 Herkunftsbetrieben ein IBR-Ausbruch festgestellt. Eine Aussage über den prozentualen Anteil erfolgte dabei jedoch nicht. Nach Angaben der Autoren war dieser Anteil im Vergleich zu vorherigen Ausstellungen gering. NONNECKE et al. (1997) prüften die Einwirkungen von durch Kortikosteroide induziertem Stress auf das Immunsystem von Rindern. Den in den Versuch einbezogenen Bullen wurde an drei aufeinander folgenden Tagen Dexamethason injiziert. Die Applikation des Medikamentes führte zu einer Reduktion der *in-vitro* Sekretion von Interferon- $\gamma$  und Immunglobulin M durch die mit PWM stimulierten mononukleären Leukozyten. In der Untersuchung von WINNICKA et al. (2000) erfolgte die Überprüfung des Effektes von Baypamun<sup>®</sup> auf immunologische Reaktionen bei 18 Ziegen mit einem mittels Dexamethason supprimierten Immunsystem. Die in die Untersuchung einbezogenen Tiere wurden in zwei Gruppen aufgeteilt. Eine Gruppe erhielt eine Applikation des Paramunitätsinducers Baypamun<sup>®</sup> an zwei aufeinander folgenden Tagen. An den beiden nächsten Tagen wurde den Ziegen ein Dexamethason Präparat gespritzt. Bei der anderen Gruppe erfolgte zuerst die Gabe des Dexamethason und im Anschluss die Applikation des Paramunitätsinducers. Die Proben wurden jeweils vor und an 5 Tagen nach der Immunmodulation gezogen. Die Ergebnisse zeigten bei der Gruppe, die zuerst paramunisiert wurde (Gruppe 1), signifikante Unterschiede in der Gesamtleukozytenzahl und den Anteilen der Neutrophilen Granulozyten und Lymphozyten. In der Gruppe, die vor der Paramunisierung Dexamethason (Gruppe 2) erhielt, war ein signifikanter Abfall der Anzahl der Lymphozyten und eine Steigerung des Anteiles der Neutrophilen Granulozyten erkennbar. Die Phagozytoseaktivität stieg in der Gruppe 1 signifikant an. In der Gruppe 2 dagegen war ein Abfall der Phagozytoseaktivität nachzuweisen.

Den Einfluss von Baypamun® auf die Kortisolkonzentration im Plasma während der Umgruppierung von Jungsauen beschrieben PAVICIC et al. (2003). Zwei Gruppen von Sauen wurden dabei an verschiedenen Tagen vor der Umgruppierung der Paramunitätsinducer appliziert. Die Umgruppierung einer Kontrollgruppe erfolgte ohne die Applikation des Paramunitätsinducers. Die Konzentrationen des Kortisols waren bei beiden Testgruppen am 3. Tag nach der Umgruppierung signifikant niedriger im Vergleich zu der Kontrollgruppe. PAVICIC et al. (2004) untersuchten ferner den Effekt des Paramunitätsinducers Baypamun® auf den Kortisollevel abgesetzter und transportierter Ferkel. Zwei Testgruppen von Ferkeln bekamen in dieser Studie 5 bis 3 bzw. 3 bis 1 Tage vor dem Absetzen den Immunmodulator appliziert. Der Transport einer Gruppe dauerte 95 Minuten, die andere Gruppe wurde über eine Zeit von 140 Minuten zum Mäster transportiert. Zum Vergleich wurde eine Gruppe ohne den Immunmodulator abgesetzt und zum Bestimmungsort transportiert. Die höchste Konzentration an Plasmakortisol wurde in der Kontrollgruppe festgestellt. Weder die Anwendungszeiten des Paramunitätsinducers noch die Transportzeit hatten einen Einfluss auf die Kortisolkonzentration. Als weitere Einsatzmöglichkeiten für Paramunitätsinducer werden in der Literatur unter anderem die Erhöhung der Immunantwort beim Einsatz von spezifischen Impfstoffen, die Begleittherapie bei Antibiotikabehandlungen, die Beschleunigung und Unterstützung der Entwicklung der Immunität von Neugeborenen und Jungtieren sowie der metaphylaktische Einsatz bei respiratorischen Erkrankungen beschrieben (u.a. KRAISS, 1987; STRUBE et al., 1989; QUINN, 1990; BIUK-RUDAN et al., 2004).

ZECCONI et al. (1999) führten eine Untersuchung über die Effizienz eines Paramunitätsinducers zur Prophylaxe einer Infektion des Euters von Milchkühen mit *Staph. aureus* durch. Die Autoren konnten eine signifikante Reduktion der Mastitisinzidenz ausgelöst durch *Staph. aureus* um den Geburtszeitraum nachweisen. Nach SUNDRUM (1997) ergibt sich weiterhin die Möglichkeit der Differenzierung von Eustress und Distress und damit die Identifizierung von Belastungen mit Hilfe einer Challenge durch Immunmodulatoren. Der Autor konnte mit der Immunreaktion auf eine induzierte Belastung durch die Applikation von ACTH mit einer Wahrscheinlichkeit von ca. 90 % eine richtige Differenzierung zwischen klinisch gesunden und kranken Tieren vornehmen.

## **2.4 Einflussgrößen auf das Abwehrvermögen**

### **2.4.1 Fütterung/Energieversorgung**

Eine gesunde und den Ansprüchen des Körpers angepasste Ernährung hat beim Menschen einen großen Einfluss auf die Reaktionsfähigkeit des Immunsystems. Unterernährung und

Mangelernährung gelten als der häufigste Grund für eine Immundefizienz weltweit (CHANDRA, 1997). Insbesondere ein Mangel in der Energie- bzw. Proteinversorgung ist verbunden mit einer signifikanten Schädigung der Phagozytoseaktivität, der Produktion von Zytokinen oder der Bildung von spezifischen Antikörpern. Ein Mangel an einzelnen Spurenelementen oder Vitaminen hat vergleichbare Auswirkungen auf das Immunsystem. Demgegenüber kann nach CHANDRA (1997) eine Überernährung ebenso zu einer Schwächung der Immunabwehr führen. Die Abwehrmechanismen von Tieren werden in ähnlicher Weise von dem Ernährungsstatus bestimmt. Nach LALLES (1997) unterdrücken Mangelsituationen im Energie- und Proteinhaushalt oder in der Versorgung mit Vitaminen und Spurenelementen das Abwehrvermögen. Eine adäquate Bereitstellung dieser Futterinhaltsstoffe stellt die Immunantwort wieder her. Eine bedarfsgerechte Ernährung gilt somit als Voraussetzung für eine optimale Immunantwort. LACETERA et al. (2005) untersuchten die Beziehungen zwischen dem Body Condition Score und der Funktion der Lymphozyten bei Milchkühen um den Geburtszeitraum. Für die Studie erfolgte die Kategorisierung der Kühe in einen mageren, guten und überkonditionierten Ernährungszustand. Proben von den Tieren wurden in einem Zeitraum von 21 Tagen vor bis 35 Tage nach der Kalbung entnommen. Während der Versuchsphase zeigten alle Kühe eine Reduktion des Body Condition Scores. Die überkonditionierten Tiere zeigten dabei einen signifikant höheren Körpermasseverlust gegenüber den mageren Kühen. Nach der Kalbung war die Konzentration der Freien Fettsäuren der überkonditionierten Kühe höher im Vergleich zu den anderen beiden Gruppen. Des Weiteren trat bei den Kühen mit einer hohen Körpermasse eine geringere Sekretion von Interferon- $\gamma$  am Tag 7 vor der Kalbung auf. Die Sekretion von Immunglobulin M war bei diesen Tieren an den Tagen 14 und 35 nach der Kalbung geringer gegenüber den anderen Gruppen. Anhand der Lymphozytenproliferation konnten keine Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. Eine begrenzte **Energie- und Proteinversorgung** verändert eine Vielzahl von Funktionen der Immunabwehr (Verringerung der Lymphozytenproliferation, der Phagozytoseaktivität und der Antikörperproduktion) (LALLES, 1997; STABEL et al., 2003). Nach LALLES (1997) treten diese Auswirkungen besonders bei jungen Wiederkäuern auf, die Effekte bei älteren Individuen sind dagegen begrenzt. Zu einem entsprechenden Ergebnis kamen POLLOCK et al. (1993) in ihrer Untersuchung. Demnach bewirkte eine restriktive Fütterung von Kälbern eine verminderte Lymphozytenproliferation mit verschiedenen Mitogenen. Nach Untersuchungen von POELARENDS et al. (1999) über die Effekte der Energiebilanz auf die Funktion der Neutrophilen Granulozyten bei Milchkühen wies dagegen die Energiebilanz eine negative Korrelation zu der Freisetzung von Sauerstoffradikalen der Neutrophilen Granulozyten auf. Als Konsequenz der Mobilisierung der körpereigenen Reserven steigt die Konzentration der Freien Fettsäuren im

Blutplasma stark an (HOLTENIUS et al., 2003). In der Folge werden die Freien Fettsäuren vermehrt zu Ketonkörpern umgebaut. In verschiedenen Untersuchungen konnten negative Auswirkungen der Ketonkörper auf die Immunantwort nachgewiesen werden. So bewirkten hohe Konzentrationen von Ketonkörpern eine reduzierte Lymphozytenproliferation nach Stimulierung mit Mitogen, eine reduzierte Phagozytoseaktivität und die Abnahme des Sauerstoffverbrauches sowie der chemotaktischen Aktivität der neutrophilen Granulozyten (SURIYASATHAPON et al., 1999; HOEBEN et al., 2000).

COLLARD et al. (1999) konnten in ihrer Arbeit signifikante Beziehungen zwischen der Energiebilanz und verschiedenen Erkrankungen herausarbeiten. In dieser Untersuchung zeigten Kühe mit Problemen des Verdauungsapparates längere Perioden einer negativen Energiebilanz. Kühe mit Störungen im Bewegungsapparat, vor allem bei Auftreten einer Klauenrehe, hatten eine reduzierte tägliche Energiebilanz und ein größeres totales Energiedefizit.

Zur Prüfung der Auswirkungen einer über den Bedarf liegenden Rohproteinversorgung auf die immunologische Abwehr induzierte SUNDRUM (1997) in seiner Arbeit verschiedenen Varianten einer Rohproteinübersorgung bei weiblichen und männlichen Jungrindern, Mutter- und Milchkühen. Dabei konnte keine immunsuppressive Wirkung der Rohproteinübersorgung festgestellt werden. Eine Vielzahl von Einzelfuttermitteln sollen ebenso verschiedene Auswirkungen auf das Immunsystem haben (SPEARS, 2000).

Besondere Bedeutung kommt in diesem Zusammenhang den **Spurenelementen** und den **Vitaminen** zu. In verschiedenen Studien über die Unterversorgung mit **Kupfer** konnte bei Kälbern die Reduktion der Phagozytoseaktivität nachgewiesen werden (TORRE et al., 1996; GENGELBACH et al., 1997). Demgegenüber zeigte ein Mangel an Kupfer keine Effekte auf die Lymphozytenproliferation bei Kälbern (TORRE et al., 1995; WARD et al., 1997). Untersuchungen beim Menschen und Labortieren ergaben eine Reduktion der Immunantwort bei bestehenden **Zinkmangel** (CHESTERS, 1997). KINCAID (1997) konnten dagegen beim Rind keinen Einfluss von Zinkmangel auf die Phagozytoseaktivität und die Lymphozytenproliferation bei Kälbern nachweisen. Ein Mangel an **Selen** beeinflusst negativ die Abtötung von Bakterien durch die Neutrophilen Granulozyten aus dem Blut und der Milch (HOGAN et al. 1990). Nach einer Ergänzung der Futtermittel mit **Vitamin E** bei Milchkühen zu Beginn der Laktation konnten HOGAN et al. (1990) eine gesteigerte bakterizide Wirkung der Neutrophilen Granulozyten feststellen. Nach MICHAL et al. (1994) führte die Supplementierung von  **$\beta$ -Karotin** und **Vitamin A** zu einer verbesserten Lymphozytenproliferation nach der Stimulierung mit den Mitogenen ConA, PHA und PWM. Die bakterizide Aktivität der Neutrophilen Granulozyten wurde dagegen nicht beeinflusst.

## 2.4.2 Laktationsstadium

Die Phase um die Geburt herum (Puerperium) ist die Zeit der größten Anpassungsvorgänge bei der Milchkuh. Die Trockenstehperiode wird als Ruhephase betrachtet, bevor mit der Geburt und der einsetzenden Laktation vielseitige hormonelle Veränderungen eintreten (BELL, 1995). Mit einsetzender Milchleistung benötigen die Kühe eine große Menge an Energie, die sie zu diesem Zeitpunkt allein durch die Futterraufnahme nicht decken können. Während die Tiere in der Regel 5-6 Wochen nach der Geburt die höchste Milchleistung erbringen, steigt die Futterraufnahme erst ab der 10. Woche *post partum* auf das maximale Niveau. Als Folge dieser Diskrepanz kann zu Beginn der Laktation eine negative Energiebilanz entstehen (FLACHOWSKY et al., 2002). Das Energiedefizit wird durch die Mobilisierung körpereigener Reserven kompensiert. Die Mobilisierung der körpereigenen Reserven kann jedoch zu einem Verlust an Körpersubstanz führen (GALLO et al., 1996). Die höchsten Anforderungen an die Energiebereitstellung werden von den Kühen demnach zu Beginn der Laktation gestellt (NRC, 2001). Seit langem ist bekannt, dass die Milchkühe im Puerperium für Krankheiten besonders anfällig sind. Die häufigsten Erkrankungen der Milchkühe, wie Milchfieber, Ketose, Nachgeburtsverhaltung und Labmagenverlagerung, treten vor allem in den ersten 2 Wochen nach der Geburt auf (GOFF and HORST, 1997). Bei Kühen in der Früh-laktation werden bis zu 50 % der freien Fettsäuren in der Leber zu Ketonkörpern oder Triglyceriden umgebaut (BELL, 1995). Die negativen Auswirkungen der Ketonkörper auf die Immunantwort wurden bereits im Kapitel 2.4.1 besprochen. Zahlreiche Arbeiten befassten sich in diesem Zusammenhang mit der Frage nach den Beziehungen zwischen der Immunabwehr und dem Zeitpunkt der Laktation. In der Untersuchung von DETILLEUX et al. (1995) verbesserte sich die Phagozytoseaktivität in der Zeit um die Geburt und erreichte einen um 20 % höheren Level im Vergleich zu den Werten 5-4 Wochen vor der Geburt. Demgegenüber stieg die ungerichtete Migration der Neutrophilen Granulozyten bis 2 Wochen vor der Geburt an, um dann während der ersten Woche *post partum* stark abzufallen. Die zielgerichtete Migration der Neutrophilen Granulozyten zeigte keine Veränderung um den Geburtszeitraum. Die Anzahl der zirkulierenden Neutrophilen Granulozyten stieg ab der 5. Woche vor der Geburt bis zum Zeitpunkt der Geburt stark an. Eine Woche nach der Geburt kam es zu einer drastischen Abnahme. Bis zur 3. Woche erfolgte eine erneute Steigerung. Die Werte bis zur 5. Woche vor der Geburt wurden 5 Wochen nach der Geburt wieder erreicht. In der Arbeit von VAN KAMPEN und MALLARD (1997) wurden die Variationen der Konzentrationen der T-Zell-Subtypen und der B-Zellen 8 Wochen vor der Geburt bis 16 Wochen danach untersucht. Dabei zeigten sich zwischen der 3. Woche vor der Geburt und der 1. Woche nach der Geburt die größten Schwankungen mit den niedrigsten Konzentrationen. Bis zu der 16. Woche *post partum* bewegten sich die Konzentrationen wieder auf das

Ausgangsniveau von der 8. Woche vor der Geburt zu. Die Konzentrationen der B-Zellen zeigten dagegen kaum Variationen in Bezug zum Geburtszeitraum. Die Ergebnisse von KIMURA et al. (1999) waren in diesem Zusammenhang ähnlich. Ab der 2. Woche vor der Geburt nahmen die Konzentrationen der T-Zell-Subpopulationen ab, erreichten bei der Kalbung den geringsten Wert und stiegen bis zu der 2. Woche post partum wieder an. MEHRZARD et al. (2001) überprüften in ihrer Untersuchung die Chemilumineszenz der Neutrophilen Granulozyten zu Beginn, in der Mitte und am Ende der Laktation. Dabei zeigten die Neutrophilen Granulozyten die geringste Chemilumineszenz zu Beginn der Laktation im Vergleich zur Mitte und dem Ende der Laktation. Den Einfluss einer Mastektomie auf die Konzentrationen der T-Zell-Subpopulationen um den Geburtszeitraum überprüften KIMURA et al. (2002). Die Konzentrationen bei den Kühen mit einem intakten Euter variierten ähnlich den Ergebnissen der anderen Arbeiten. Die Änderungen waren vor allem zwischen der 2. Woche vor und der 2. Woche nach der Geburt erkennbar, mit einem Tiefpunkt bei der Kalbung. Die Kühe, deren Euter amputiert worden war, zeigten diese Variationen in den Konzentrationen der T-Zell-Subtypen nicht. Nach LESSARD et al. (2004) werden auch die funktionellen Eigenschaften der Lymphozyten von der Geburt beeinflusst. In der Untersuchung dieser Autoren gaben die Ergebnisse ein Absinken der Lymphozytenproliferation nach der Stimulierung mit dem Mitogen ConA ab der 3. Woche vor der Geburt wieder. Eine Woche nach der Geburt wurde der tiefste Wert erreicht, danach stieg die Lymphozytenproliferation bis zu der 6. Woche wieder an. Zu diesem Zeitpunkt war die Lymphozytenproliferation höher im Vergleich zu der 6. Woche vor der Geburt. Die Produktion von Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  war ebenfalls eine Woche nach der Geburt signifikant herabgesetzt im Vergleich zu der Produktion 6 Wochen vor und nach der Geburt.

### **2.4.3 Erkrankungen**

Nach GOFF (2006) konnten die bisherigen Forschungen die Beziehungen zwischen metabolischen Erkrankungen bei Milchkühen und einer herabgesetzten Immunabwehr konkretisieren. Eine Störung in der Immunabwehr kann darüber hinaus zu einer Infektionskrankheit führen. Des Weiteren wurde in zahlreichen epidemiologischen Studien das bestehende Risiko einer zusätzlichen Erkrankung bei einer bereits vorhanden metabolischen Störung veranschaulicht (GOFF, 2006). CAI et al. (1994) untersuchten in diesem Zusammenhang die Beziehungen zwischen verschiedenen Erkrankungen um den Geburtszeitraum und den Funktionen der Neutrophilen Granulozyten. Die Autoren konnten verschiedene Störungen in der Funktionen der Neutrophilen Granulozyten bei allen Kühen mit Gesundheitsstörungen feststellen. Die Chemotaxis der Neutrophilen Granulozyten nahm bei Kühen mit einer Nachgeburtshaltung während der ersten Woche *post partum* signifikant ab. In der

Phagozytoseaktivität traten dagegen keine Unterschiede zwischen gesunden Kühen und den Kühen mit einer Nachgeburtsverhaltung auf. Vor der Geburt war die Bildung von Sauerstoffradikalen der Kühe mit einer Gebärmutterentzündung und die Chemotaxis der Kühe mit einer Mastitis signifikant geringer. HOLTENIUS et al. (2004) untersuchten in ihrer Arbeit die Konzentrationen von metabolischen Parametern sowie die Gesamtleukozytenzahl und das Differentialblutbild bei Kühen mit einem niedrigen und hohen jährlichen Vorkommen einer Mastitis. Die Kühe für die Untersuchung wurden aus Herden mit einer hohen Milchleistung (> 8100 kg) und einer guten Eutergesundheit (gemessen an der Zellzahl in der Milch) ausgewählt, die sich in dem jährlichen Auftreten einer Mastitis unterschieden. Die nach der Häufigkeit des Vorkommens einer Mastitis gebildeten Gruppen zeigten keine signifikanten Unterschiede in der Milchleistung. Die Probennahme zur Messung der Parameter erfolgte in einem Zeitfenster ab der 3. Woche vor der Geburt bis 15 Wochen nach der Kalbung. Jede Kuh wurde jeweils nur einmal beprobt. Für die Auswertung wurden die Daten in drei Perioden eingeteilt. Periode 1 umfasste die Proben von 3 Wochen bis einen Tag vor der Geburt. Die Periode 2 beinhaltete die Proben von einem Tag bis 3 Wochen nach der Geburt. In der Periode 3 wurden die Proben ab der 4. Woche bis 15 Wochen nach der Geburt zusammengefasst. Die Anzahl der Eosinophilen Granulozyten und der Lymphozyten zeigte signifikante Unterschiede im Vergleich der drei unterteilten Perioden. Die Lymphozyten waren in der Periode 3 am höchsten. Die niedrigste Anzahl an Eosinophilen Granulozyten war in der Periode 2 erkennbar. In Abhängigkeit von dem Auftreten einer Mastitis konnten die Autoren eine höhere Zahl der Neutrophilen Granulozyten bei den Kühen mit einer höheren Häufigkeit des Vorkommens dieser Erkrankung feststellen. Im Gegensatz dazu war die Zahl der Eosinophilen Granulozyten und der Lymphozyten zu jedem Zeitpunkt in dieser Gruppe niedriger. Von den metabolischen Parametern zeigte sich einzig ein Unterschied zwischen den Gruppen mit unterschiedlicher Mastitisinzidenz bei der Konzentration von  $\beta$ -Hydroxybuttersäure während der Zeit 3 Wochen nach der Kalbung.

Die Beziehungen zwischen dem Triglyzeridgehalt der Leber und den Eigenschaften der Neutrophilen Granulozyten überprüften ZERBE et al. (2000). Keine der in die Untersuchung einbezogenen Kühe zeigt klinische Symptome eines Fettlebersyndroms. Unabhängig von den erhöhten Konzentrationen der Triglyzeride, die nach der Kalbung erkennbar waren, zeigten alle Kühe vor der Geburt einen niedrigen Gehalt an Triglyzeriden in der Leber. Der Gehalt an Triglyzeriden zeigte signifikante positive Korrelationen zu den Konzentrationen der Freien Fettsäuren und der  $\beta$ -Hydroxybuttersäure im Serum. Die Fähigkeit der Neutrophilen Granulozyten des Blutes zu Bildung von Sauerstoffradikalen war nach der Kalbung bei den Kühen mit einem höheren Triglyzeridgehalt der Leber etwas geringer. Der Unterschied konnte jedoch nicht statistisch

gesichert werden. In der Phagozytoseaktivität der Neutrophilen Granulozyten konnten zu keinem Zeitpunkt Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. Eine *in vitro* Studie über die Effekte von Freien Fettsäuren auf die Funktion der Lymphozyten von 9 trächtigen Färsen führten LACETERA et al. (2004) durch. Dabei wurden verschiedene Konzentrationen von Freien Fettsäuren angelehnt an vorliegende Konzentrationen bei gesunden Tieren und eine Konzentration entsprechend bei einer Ketose den Zellsuspensionen zugesetzt. Die Lymphozytenproliferation und die Sekretion von IgM und Interferon- $\gamma$  waren bereits bei den eingesetzten Konzentrationen der Freien Fettsäuren vermindert, die entsprechend bei gesunden Tieren gefunden werden. Nach SURIYASATHAPORN et al. (1999) ergaben Untersuchungen über die Beziehung zwischen verschiedenen Konzentrationen von  $\beta$ -Hydroxybuttersäure und der Chemotaxis der Leukozyten eine signifikant niedrigere Chemotaxis bei Kühen mit einer hohen im Vergleich zu Kühen mit einer geringen Konzentration von  $\beta$ -Hydroxybuttersäure. In einem zweiten Experiment fügten SURIYASATHAPORN et al. (1999) Ketonkörper in Konzentrationen entsprechend einer subklinischen und einer klinischen Ketose Zellkulturen hinzu. Die Funktion der Leukozyten war bei Zugabe von mittleren und hohen Konzentrationen an  $\beta$ -Hydroxybuttersäure in diesem Versuch ebenfalls reduziert.

## **2.5 Zusammenhänge zwischen Milchleistung, Stoffwechsel und Abwehrvermögen**

In verschiedenen Arbeiten wurde die Frage nach einem erhöhten Erkrankungsrisiko bei steigender Milchleistung bearbeitet (URIBE et al., 1995; PRYCE et al., 1998; KLUG et al., 2002). Nach LOTTHAMMER (1999) entsteht die Problematik der Gesundheits- und Fruchtbarkeitsstörungen bei hohen Milchmengenleistungen einerseits durch das beim Rind als Wiederkäuer begrenzte Futteraufnahmevermögen. Dadurch besteht die Gefahr einer defizitären Energieversorgung. Andererseits kann die Energiekonzentration des Futters für das Rind aus physiologischen Gesichtspunkten nicht beliebig gesteigert werden. Neben einer hohen Energie- und Nährstoffaufnahme benötigen Kühe eine ausreichende Menge an strukturwirksamen Substanzen, die sicherstellen, dass die Tiere hinreichend wiederkäuen und die motorischen Prozesse im Pansen ungestört ablaufen. Die für einen ungestörten Ablauf der Pansenvorgänge unbedingt erforderliche ausreichende Strukturbereitstellung ist bei Hochleistungstieren ungleich schwieriger vorzuhalten als bei niederleistenden Tieren (FLACHOWSKY et al., 2002). Es entsteht bei der Hochleistungskuh eine Konkurrenzsituation zwischen Milchleistung und Gesundheit als Folge einer starken Stoffwechsel- und Leberbelastung mit entsprechenden Schädigungen vor allem in der Zeit der Hochlaktation in den ersten Wochen *post partum*. Dadurch kann eine Reihe von Körperfunktionen, insbesondere der Leber, der Fortpflanzungsorgane und auch der Abwehr bei höherer Milchleistung

beeinträchtigt werden (LOTTHAMMER, 1999). Nach VEERKAMP et al. (1995) verlieren Hochleistungskühe während der Früh lactation an Körpermasse, unabhängig davon, ob sie energiereich- oder arm gefüttert wurden. GRÖHN et al. (1995) konnten dagegen in ihrer Untersuchung keine erhöhtes Erkrankungsrisiko bei steigender Milchleistung nachweisen. Sie interpretierten das Fehlen von Korrelationen zwischen der Milchleistung und der Erkrankungsinzidenz als einen Ausdruck dafür, dass Hochleistungskühe nicht zwanghaft ein erhöhtes Erkrankungsrisiko haben, solange die Haltung und die Fütterung ihren gestiegenen Bedürfnissen entsprechen. Nach ALAND et al. (2005) haben die häufigsten Erkrankungen der Kühe in der modernen Milchproduktion multifaktorielle Ursachen. Das Immunsystem der einzelnen Tiere spielt in diesem Zusammenhang eine wichtige Rolle. Ist die Immunantwort nicht adäquat, ist das Tier unfähig sich effizient gegen unterdrückende Faktoren zu wehren. LOTTHAMMER (1999) untersuchte in seiner Arbeit die Beziehungen zwischen Leistungsniveau, Gesundheit, Fruchtbarkeit und Nutzungsdauer bei Milchrindern. Der Autor konnte einen kontinuierlichen signifikanten Abfall der Erstbesamungsträchtigkeitsergebnisse bei steigender Jahresmilchmengenleistung darstellen. Die Erkrankungen bzw. die Behandlungen von Stoffwechselstörungen nahmen mit steigender Jahresmilchmengenleistung bis zu der Leistungsgruppe von 9500 bis 11000 kg Jahresmilchleistung stetig zu. Des Weiteren konnte eine positive Beziehung zwischen der Herdenleistung und dem Auftreten von Labmagenverlagerungen festgestellt werden. Hinsichtlich der Nutzungsdauer ist nach Lotthammer (1999) bei einer hohen Milchmengenleistung in der 1. Laktation eine kürzere Nutzungsdauer zu erwarten. Eine weitere Untersuchung der Beziehungen zwischen Milchleistung und Erkrankungshäufigkeit führten FLEISCHER et al. (2001) durch. In die Untersuchung wurden 8 Erkrankungskomplexe einbezogen: Nachgeburtshaltung, Gebärmutterentzündung, Ovarialzysten, Mastitis, Klauenerkrankungen, Milchfieber, Ketose und Labmagenverlagerung. Die Daten wurden jeweils für die vorhergehende Laktation und für die Laktation, in der die Erkrankung diagnostiziert wurde, berechnet. In den Betrieben variierte die Milchleistung von 6389 bis 8635 kg Milch und die Laktationsnummer von 2,2 bis 3,7. Alle untersuchten Erkrankungen wurden im ersten Drittel der Laktation diagnostiziert. Zwischen der vorangegangenen 305-Tage Leistung und der Nachgeburtshaltung, Mastitis, Milchfieber, Ketose und Labmagenverlagerungen konnten signifikante Beziehungen nachgewiesen werden. Die Milchleistung in der aktuell untersuchten Laktation wies eine signifikante Beziehung zu Ovarialzysten, Klauenerkrankungen und Milchfieber auf. Die Berechnung der Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer Erkrankung in Relation zu der Milchleistung in der 3. Laktation zeigte eine drastische Steigerung der Mastitis und der Ovarialzysten abhängig von der Milchleistung. SEIDLER et al. (1999) stellten mit ihrem Versuchsansatz eines immunologischen Status von Zuchtbullen unter energiedefizienten

Bedingungen die Frage nach Zusammenhängen zwischen Leistungs- und Abwehrvermögen. Ziel dieser Studie war die experimentelle Induktion einer energiedefizitären Stoffwechsellage bei Bullen als Vatertiere. Auf deren Basis sollten genetisch fixierte immunologische Reaktionsmuster verdeutlicht werden. Es wurde für die Untersuchung die Hypothese aufgestellt, dass eine leistungsabhängige Immunsuffizienz vor allem auf korrelierte Selektionseffekte zwischen Stoffwechsel und Immunsystem zurückzuführen sei. In den Versuch wurden 27 klinisch gesunde Bullen einbezogen, die 9 Tage lang restriktiv gefüttert wurden. Die Blutabnahme zur Bestimmung der immunologischen und metabolischen Parameter erfolgte an drei Tagen während der restriktiven Fütterung und 2 Tage nach der Rückkehr zur Normalfütterung. Für die Auswertung wurden die Daten der Tiere in eine Gruppe mit einem hohen Relativzuchtwert Milch (H) und in eine Gruppe mit einem mittleren bis niedrigen Relativzuchtwert Milch (N) unterteilt. Bei der Signifikanzschwelle von  $p < 0,1$  zeigte die Gruppe H im Vergleich zu der Gruppe N höhere GGT-Aktivitäten, höhere Glucosespiegel, höhere Bilirubinspiegel, höhere Erythrozytenzahlen und geringere Leukozytenzahlen.

Die Beziehungen zwischen Futteraufnahme, Milchmenge und -inhaltsstoffen, Energieretention sowie klinisch-chemischen Blutparametern untersuchten TEICHMANN et al. (2002) bei Mutterkühen. Die Ergebnisse ergaben, dass sich die postpartale Lipolyserate in den Konzentrationen bzw. Aktivitäten ausgewählter klinisch-chemischer Blutparameter widerspiegelte. Je intensiver die Mobilisation von Rückenfett erfolgte, desto höher waren die Konzentrationen bzw. Aktivitäten von Bilirubin, FFS, GGT, Harnstoff, Triacylglycerol und GLDH. LOTTHAMMER (1991) ermittelte zwischen dem Milchfett- und Eiweißgehalt und der Häufigkeit von Ketosen deutliche Beziehungen. Besonders bei einem Milchfettgehalt von über 5 % in den ersten 3 Wochen *post partum* bestand eine signifikant höheren Frequenz von subklinischen Ketosen. In der Untersuchung von SEGGEWISS (2004) korrelierte der Fett/Eiweiß-Quotient signifikant negativ mit der Energiebilanz. Dabei war der Korrelationskoeffizient zu Laktationsbeginn am höchsten.

Eine Untersuchung zur Einschätzung der Stoffwechsellage von Herden in Großbritannien führten WARD und PARKER (1999) durch. In einer nachfolgenden Arbeit untersuchten sie eventuelle Zusammenhänge zwischen der Milchleistung der untersuchten Herden und der BHB-Konzentration. Eine signifikante Korrelation zwischen der Leistung und diesem Stoffwechselfparameter konnten die Autoren nicht nachweisen. SINCLAIR et al. (1999) überprüften eine mögliche Beziehung zwischen der Stoffwechsellage und der Immunfunktion bei hochleistenden Milchkühen. Die in den Versuch einbezogenen Kühe wurden an einem Tag der Untersuchung mit einer BHV-1 Vakzine geimpft. Aus diesem Grund befanden sich die Tiere in unterschiedlichen Laktationsstadien. Die Kühe

gehörten zu zwei verschiedenen genetischen Linien, eine selektierte Linie mit einem hohen Relativzuchtwert für Fett-und-Eiweiß-Produktion und eine unselektierte Kontrollgruppe. Beide Gruppen wurden jeweils zum Vergleich mit einer TMR mit einem niedrigen und einem hohen Energiegehalt gefüttert. So entstanden für die Auswertung 4 verschiedene Gruppen. 13 Tage nach der Impfung war die Antikörperbildung bei den meisten Kühen nachweisbar. 29 von 111 Kühen zeigten keine Antikörperbildung, diese Tiere gehörten allen 4 gebildeten Gruppen an. In diesem Fall bestand kein Unterschied zwischen den Gruppen. Die Zahl der Kühe mit Antikörperproduktion zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Die initiale Antikörperbildung war bei der Gruppe mit einem hohen Relativzuchtwert für Fett-und-Eiweiß-Produktion und einer energiearmen Fütterung geringer als bei den anderen Gruppen. Der Einfluss der Fütterung war in diesem Zusammenhang signifikant. DETILLEUX et al. (1995) führten eine Studie über immunologische Störungen bei Kühen um den Geburtszeitraum mit einer Zuchtlinie für eine mittlere und eine hohe Leistung durch. Der Unterschied in der Milchleistung betrug zwischen den beiden Gruppen 1500 kg Milch. Kühe mit einer höheren Milchleistung zeigten eine höhere Chemilumineszenz und gerichtete Migration der Neutrophilen Granulozyten, eine höhere Anzahl der zirkulierenden Neutrophilen Granulozyten und der mononukleären Zellen.

Die Abhängigkeit der Variation zwischen Kühen in der Funktion von Neutrophilen Granulozyten von der Milchleistung und der Energiebilanz untersuchten POELARENDS et al. (1999). Blutproben zur Messung der immunologischen Parameter wurden 30 Tage vor, 30 Tag nach und 120 Tage nach der Kalbung gezogen. Direkt nach der Kalbung erfolgte eine Blutprobenentnahme zur Analyse der Parameter FFS, Harnstoff, Glucose und  $\beta$ -Hydroxybuttersäure. Zur Einschätzung der Funktion der Neutrophilen Granulozyten wurde die Phagozytoseaktivität, die Bildung von Sauerstoffradikalen und die Bildung von Sauerstoffradikalen nach der Phagozytose bestimmt. Die Milchleistung zeigte keinen Effekt auf die Phagozytoseaktivität. Bei den Kühen mit einer höheren Futteraufnahme und einer höheren positiven Energiebilanz konnte eine geringere Produktion von Sauerstoffradikalen festgestellt werden.

### **3. Versuchstiere, Material und Methoden**

#### **3.1 Versuchsbetrieb und Versuchstiere**

Die Untersuchungen wurden von Dezember 2003 bis Mai 2005 in einem Milchviehbetrieb in Thüringen mit einem Bestand von 350 Kühen der Rasse „Deutsche Schwarzbunte“ durchgeführt. Die Herde wies zum Zeitpunkt der Untersuchung ein Durchschnittsalter von 4,5 Jahren und eine durchschnittliche Leistung von 8.950 kg Milch bei 3,75% Fett und 3,42% Eiweiß im Milchjahr 2002/2003 auf. Die Remontierung fand ausschließlich aus der eigenen Nachzucht statt. Die Abkalbungen waren über das ganze Jahr verteilt, wobei es zu einer Häufung in den Monaten November, Dezember und Januar kam. Die Kühe wurden zweimal täglich in einem Melkkarussell mit 24 Plätzen, das mit einer Abnahmeautomatik und einer automatischen Milchmengenerfassung ausgerüstet war, gemolken.

#### **Haltung und Fütterung**

Die Aufstallung der Kühe erfolgte in zwei in Verbindung stehenden Ställen. Der Stall 1 war als Tieflaufstall mit Stroheinstreu und planbefestigten Fressplätzen eingerichtet. Bei dem Stall 2 handelte es sich um einen planbefestigten Laufstall mit Stoheinstreu. Die Milchviehherde wurde nach dem Laktationsstadium in vier Gruppen unterteilt. Daneben gab es eine Gruppe mit kranken Tieren und eine kombinierte Gruppe mit Färsen und trockenstehenden Kühen. Ca. 3 Wochen vor der Abkalbung wurden die Trockensteher in einen dritten Stall verbracht; bei diesem handelte es sich ebenfalls um einen Tieflaufstall mit Stroheinstreu. Die Fütterung in der Trockenstehphase erfolgte mit Anwelksilage und Maissilage, sowie Heu zur Aufnahme ad libitum. Die Kühe in der Transitphase wurden mit 50 % der Ration der Hochleistungskühe und Heu gefüttert. Während der Laktation erhielten die Kühe abhängig von der Milchleistung und dem Laktationsstadium die in den Tabellen 1 und 2 aufgeführten Rationen. Die Rationen wurden als Totale Mischration (TMR) mit Hilfe eines Futtermittelwagens zweimal am Tag vorgelegt.

Tabelle 3.1: Zusammensetzung der TMR und die berechnete Menge an Frischmasse bzw. Trockenmasse für den Erhaltungsbedarf einer Milchkuh mit 650 kg Lebendgewicht und einem Leistungsbedarf für 35,0 l und 25,0 l Milch bei 4,0 % Fett und 3,4 % Eiweiß zu Beginn des Versuchszeitraumes

Zusammensetzung der Ration für 35l				Zusammensetzung der Ration für 25l			
Futtermittel	Menge in FM (kg)	Menge in TM (kg)	TM (%)	Futtermittel	Menge in FM (kg)	Menge in TM (kg)	TM (%)
Grassilage 1.Schnitt	12	5,82	49	Grassilage 1.Schnitt	24	11,64	49
Maissilage	20	5,68	28				
Deukalac UDP 39	1,5	1,29	86				
Rapskuchen	0,8	0,7	88	Rapskuchen	1,2	1,05	88
Deukaproferm 18/3	2	1,77	89				
Melasse	1,5	1,38	92	Melasse	1,5	1,38	92
Winterweizen	4	3,42	86	Winterweizen	3,5	3	86
Biertreber	5	1,3	26	Biertreber	5	1,3	26
Mineralfutter 20/4/8	0,3	0,3	100	Mineralfutter 20/4/8	0,3	0,3	100
<b>Gesamt TMR</b>	<b>47,2</b>	<b>21,7</b>	<b>46</b>	<b>Gesamt TMR</b>	<b>35,5</b>	<b>18,7</b>	<b>53</b>

Tabelle 3.2: Analyse der Rationen für den Erhaltungsbedarf einer Milchkuh mit 650 kg Lebendgewicht und einem Leistungsbedarf für 35,0 l und 25,0 l Milch bei 4,0 % Fett und 3,4 % Eiweiß zu Beginn des Versuchszeitraumes

	Ration für 35 l	Ration für 25 l
<b>Rohprotein (%TM)</b>	16,5	15,9
<b>UDP (%)</b>	27,7	20,9
<b>nutzbares Rohprotein (%TM)</b>	16,8	14,6
<b>Rohfett (%TM)</b>	4	4
<b>Stärke und Zucker (%TM)</b>	26,8	18,2
<b>Rohfaser (%TM)</b>	16,9	22,8
<b>NEL/kg TM (MJ)</b>	6,92	6,44
<b>Calcium (g)</b>	187	186,4
<b>Phosphor (g)</b>	93	94
<b>Natrium (g)</b>	41	39,1
<b>Magnesium (g)</b>	63	55,1
<b>Gesamt NEL (MJ)</b>	<b>150</b>	<b>120</b>

## **3.2 Versuchsanordnung**

### **Auswahlkriterien der Versuchstiere**

Für die Untersuchung wurden aus der Milchvieherde nur die multiparen Kühe berücksichtigt. Auf diese Weise sollte der Einfluss der Laktationsnummern gering gehalten werden. In den Versuch wurden zum einen klinisch gesunde Kühe einbezogen. Des weiteren erfolgte die Berücksichtigung von zum Zeitpunkt der ersten Untersuchung klinisch erkrankten Kühen, dadurch handelte es sich bei den Erkrankungen um Nachgeburtsverhaltung, Gebärparese, Klauengeschwüren und Mastitis. Aus dieser Vorauswahl kamen diejenigen Kühe in den Versuch, deren Abkalbung zum Tag der ersten Untersuchung 10 bis 21 Tage zurücklag. Aus labortechnischen Gründen erfolgte die Untersuchung an jeweils acht Kühen gleichzeitig. Insgesamt konnten nach diesen Auswahlkriterien 88 Kühe in den Versuch einbezogen werden.

### **Versuchsdesign**

Die Untersuchung der in den Versuch einbezogenen Kühe erfolgte jeweils am Anfang und in der Mitte der Laktation. Dabei wurden Blutproben von allen Kühen an drei Untersuchungstagen (0, 2, 7) entnommen. An den Tagen 0 und 2 erfolgte die Applikation des Paramunitätsinducers Zylexis® (Fa. Pfizer) (ehemalig Baypamun®) zur Stimulierung des unspezifischen Immunsystems. Eine detaillierte Erläuterung des Versuchsaufbaus ist der Abbildung 3.1 zu entnehmen.

Um zusätzlich die Reaktionsfähigkeit des spezifischen Immunsystems anhand der Bildung von spezifischen Antikörpern zu berücksichtigen, wurde den Kühen am Tag 0 der Untersuchung zu Beginn der Laktation ein Tollwutimpfstoff verabreicht. Bei dem Impfstoff handelte es sich um Rabisin® (Fa. Merial). Dieser Impfstoff wurde vom Paul-Ehrlich-Institut in Langen zur Verfügung gestellt. Die Blutentnahmen zur Bestimmung des Antikörpertiters erfolgten am Tag 0 vor der Impfung und 14 Tage später. Im Anschluss wurde ein Untersuchungsrythmus im Abstand von 8 Wochen bis zum 2. Untersuchungszeitpunkt in der Mitte der Laktation durchgeführt. Die Proben wurden im Paul-Ehrlich-Institut in Langen untersucht.

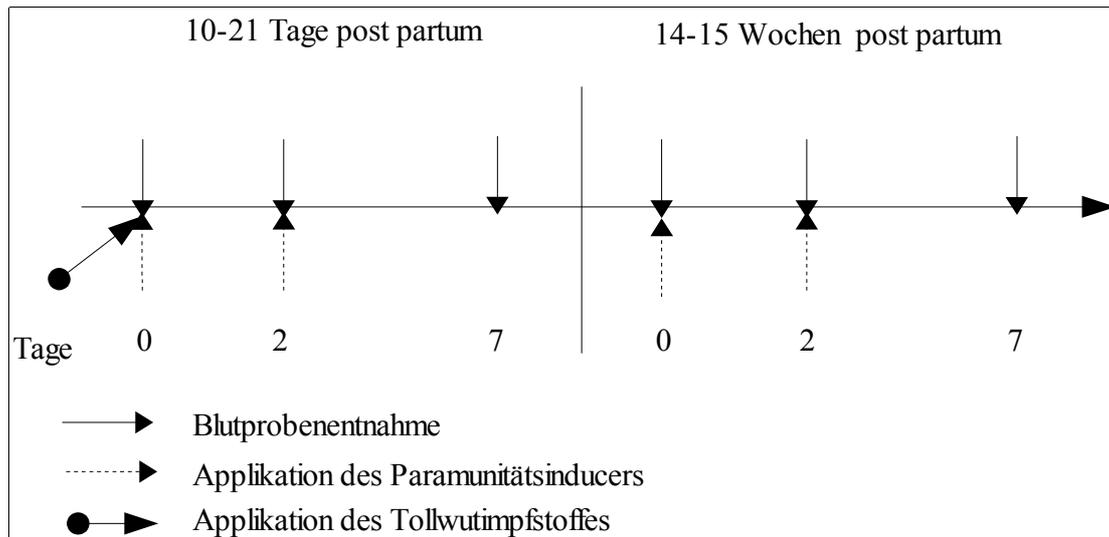


Abbildung 3.1: Darstellung der Versuchsanordnung in Form einer Zeitachse

### Blutentnahme und Applikation der Impfstoffe

Die Entnahme des Blutes erfolgte aus der *Vena jugularis externa* unter Einsatz von Venoject® Vakuum Blutentnahmeröhrchen (Fa. Terumo), denen zur Gerinnungshemmung Heparin zugesetzt war. Das gewonnene Blut wurde binnen 2 Stunden bei 2600 U/min zentrifugiert. Das Serum wurde anschließend bis zur blutchemischen Untersuchung im Labor der Medizinischen Tierklinik Leipzig eingefroren. Des weiteren erfolgten innerhalb von 2 Stunden nach der Blutentnahme Untersuchungen zur Hämatologie sowie Untersuchungen zur Bestimmung der paraspezifischen Immunkompetenz im Labor des Fachgebietes. Um tageszeitliche Schwankungen zu minimieren, fanden die Blutentnahmen regelmäßig ca. eine Stunde nach dem morgendlichen Melken zwischen 7.00 Uhr und 7.30 Uhr statt. Die Applikation der Immunstimulantien erfolgte jeweils vor der ersten Blutprobenentnahme. Es wurden 2 ml des Paramunitätsinducers Zylexis® (Pfizer) intramuskulär und 1 ml des Tollwutimpfstoffes Rabisin® (Merial) subkutan verabreicht.

### Datenerfassung

Anhand der automatischen Milchmengenerfassung, der Herdenmanagementsoftware und des Milchleistungsprüfprotokolles erfolgte eine Erfassung folgender kuhbezogener Daten für eine genauere Identifizierung der in den Versuch einbezogenen Kühe: Laktationsnummer, Kalbedatum, Erstkalbealter, Anzahl der Besamungen, Jahresleistung hinsichtlich der Milchmengen und Milchinhaltsstoffe zum Zeitpunkt der Untersuchung, Einstiegsmilchmenge zu Beginn der Laktation und die Milchmenge sowie die Milchinhaltsstoffe zu den zwei Untersuchungszeitpunkten zu Beginn und in der Mitte der Laktation.

## Ziel der Untersuchung

Ziel der Untersuchung war es, den Einfluss des Laktationsstadiums, der Milchleistung und einer klinischen Erkrankung auf die untersuchten Parameter der Tiergesundheit und insbesondere auf das immunologische Reaktionsvermögen zu prüfen. Für die Auswertung wurden die in den Versuch einbezogenen Kühe daher in 3 Gruppen unterteilt.

## Gruppeneinteilung

Für die Auswertung der Daten wurden die in den Versuch einbezogenen Kühe im Anschluss an die Untersuchungen in Gruppen unterteilt. Die Aufteilung der klinisch gesunden Kühe erfolgte anhand der nach Fett und Eiweiß korrigierten 305-Tage-Leistung der untersuchten Laktation. Kühe mit einer Milchmengenleistung von 6.500-8.990 kg wurden in der Gruppe M (mittleres Leistungsniveau) zusammengefasst. Die Gruppe H (hohes Leistungsniveau) bestand aus Kühen mit einer Milchmengenleistung von 9.000-12.500 kg. Die klinisch erkrankten Kühe wurden in einer weiteren Gruppe (K) zusammengefasst.

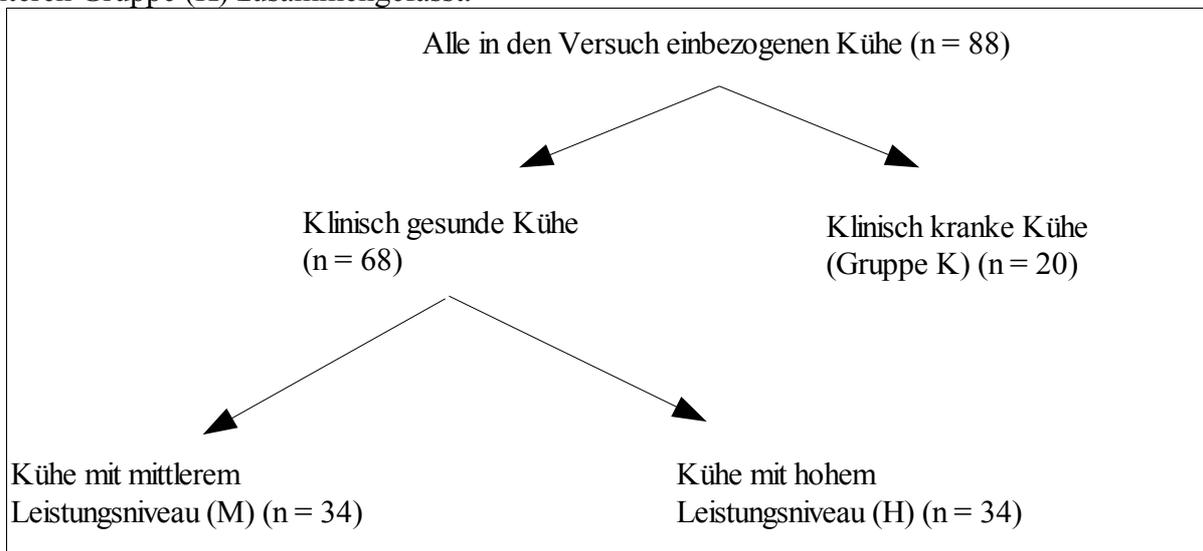


Abbildung 3.2: Darstellung der Gruppeneinteilung für die Auswertung

### **3.3 Laboranalytische Bestimmungen**

#### **3.3.1 Hämatologie**

##### **3.3.1.1 Gesamtleukozyten -bzw. -erythrozytenzahl**

Die Bestimmung der Anzahl der Gesamtleukozyten und der Gesamterythrozyten im heparinisierten Blut erfolgte mittels des Zellzählgerätes M 901 V (Fa. Mölab). Das Gerät arbeitet nach dem Widerstandsänderungsmeßprinzip (konduktometrisches Prinzip). Das Prinzip basiert auf der geringen Leitfähigkeit von Zellen in einer Kochsalzlösung. Da Kochsalzlösung eine hohe Leitfähigkeit besitzt, ist es möglich, Strom vom Kapillarrinnenraum über eine definierte Kapillaröffnung zu einer Referenzelektrode im Messbecher zu leiten. Mittels eines Unterdrucksystems wird ein Teil der Messlösung in die Kapillaröffnung eingesaugt. Dabei verändern die Zellen in der Messlösung beim Passieren der Kapillaröffnung den Stromfluss. Durch die konstante, über die Elektroden angelegte Kapillarspannung, werden mit Hilfe einer elektronischen Schaltung die erzeugten definierten Impulse ausgewertet und gezählt.

##### **3.3.1.2 Differentialblutbild**

Für das Differentialblutbild wurde ein Blutausschrieb angefertigt und nach der Pappenheimer Methode angefärbt. Die Leukozyten und die Lymphozyten wurden unter dem Lichtmikroskop mittels eines manuellen Zählgerätes erfasst. Anschließend wurden die Relativ-(Prozent)-Zahlen ermittelt.

##### **3.3.1.3 Hämatokritwert**

Der Hämatokrit wurde mittels der Mikrohämatokritmethode bestimmt. Die Mikrohämatokritröhrchen wurden für 6 Minuten bei 10000 Umdrehungen zentrifugiert. Die Auswertung erfolgte durch das Ablesen des prozentualen (relativen) Anteils der korpuskulären Anteile am Gesamtblut.

#### **3.3.2 Immunkompetenzprofil**

##### **3.3.2.1 Vollblutbakterizidie**

Zur Bestimmung der bakteriziden Wirkung des Vollblutes wurde das von RIEDEL-CASPARI et. al. (1988) beschriebene Verfahren in leicht modifizierter Form mit einem „Attaching and Effacing“ E.

Coli-Stamm (AEEC) angewandt. Die jeweils frisch hergestellte Verdünnung zur Durchführung des Testes enthielt  $1 \times 10^{4,25}$  koloniebildende Einheiten (KbE) pro ml NaCl-Lösung. 200 µl der Keimsuspension wurden mit 50 µl heparinisierten Vollblut bei 37°C inkubiert. An jedem Versuchstag wurde ein Sechsfach-Ansatz mit 50 µl der Keimsuspension ohne Blutzusatz als Kontrolle angesetzt. Aufgrund der Ergebnisse eigener Vorversuche und den Angaben von SUNDRUM (1997) wurde für den Testansatz eine Zeitreihe mit drei Inkubationszeiten (15, 30 und 45 Minuten) erstellt. Die Inkubation fand unter leichten Schüttelbewegungen im Wasserbad statt. Nach der Inkubation wurden 10 ml 56°C warmer Nähragar dem Ansatz hinzugegeben, vorsichtig durchmischt und in Petrischalen ausgegossen (Koch'sches Plattengußverfahren). Anschließend erfolgte eine weitere Inkubation des Kontroll- sowie Testansatzes für 24 Stunden bei 37°C im Brutschrank. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe eines manuellen Zählgerätes durch Zählen der koloniebildenden Einheiten. Diese wurden in Beziehung zu den ohne Blutzusatz inkubierten Kontrollplatten (= 100 %) gesetzt. Bei allen untersuchten Kühen wurde nach der Inkubationszeit von 45 Minuten eine Abtötung von annähernd 100 % erreicht. Die Darstellung der Linearität erfolgt im Kapitel 4.2.1 im Ergebnisteil. Aufgrund dieser Linearität wurde die Steigung der Abtötungsrate zwischen den Inkubationszeiten von 15 und 45 Minuten errechnet. Die Steigung wurde als Abtötungsrate/min ausgegeben und beschreibt die Abtötung in der Zeiteinheit bzw. die Geschwindigkeit der Abtötungsrate. Die Steigung wurde mit der folgenden Formel berechnet:

$$m = (y_2 - y_1) / (x_2 - x_1).$$

### **3.3.2.2 Zellisolierung**

Für die Isolierung der Lymphozyten und der polymorphkernigen Neutrophilen Granulozyten wurden die mit Heparin versetzten Blutproben verwendet. Nach HILBE (2002) und eigenen Vorversuchen erwies sich eine zweistündige Einwirkungszeit des Heparins auf das Blut als optimal in Bezug auf die Zellausbeute. Um die Zellfraktionen aus dem Vollblut zu isolieren und zu gewinnen, wurde jeweils 25 ml Blut auf 15 ml Histopaque® in einem 50 ml Röhrchen mit konischem Boden geschichtet. Anschließend erfolgte eine Zentrifugierung für 30 min bei 1150 g. Bei diesem Zentrifugationsverfahren handelte es sich um eine diskontinuierliche Gradientenzentrifugation, bei der die Erythrozyten und die Granulozyten sedimentieren, während die Lymphozyten und die Thrombozyten zwischen Histopaque® und Plasma eine lymphozytenreiche Interphase (mononukleäre Zellen = MNC) bilden (LÜTKES, 1989). Diese Interphase sowie die Neutrophilen Granulozyten (Polymorphkernige Neutrophile Granulozyten = PMN), die sich in einer schmalen Schicht über den Erythrozyten befanden, wurden vorsichtig abpipettiert und in 15 ml

Schraubröhrchen verbracht. Im Anschluss erfolgte nach Zugabe von HBSS (physiologische Kochsalzlösung nach Hank) zu der MNC-Zellfraktion eine dreimalige Waschung, um möglichst viele Thrombozyten zu entfernen. Die Suspension wurde bei dem ersten Waschgang mit 720 g und bei den weiteren Waschgängen mit jeweils 220 g zentrifugiert. Nach der letzten Waschung wurden die Zellen in 1 ml RPMI incl. Gentamycin überführt, nachdem der Überstand (wie nach jedem Waschgang) abgesaugt wurde. Die Waschungen der PMN-Zellfraktion wurden mit doppelt konzentriertem PBS vorgenommen. Zusätzlich war eine Lysierung der Erythrozyten mit destilliertem kaltem H<sub>2</sub>O erforderlich. Die ersten drei Waschgänge wurden ebenfalls mit 720 g bzw. 220 g durchgeführt. Bei den letzten beiden Waschungen erfolgte die Zentrifugation mit 80 g. Nach jedem Waschgang wurden die Überstände abgesaugt. Nach der letzten Waschung wurden die Zellen in 1 ml RPMI aufgenommen. Die Zahl der gewonnenen Zellen wurde mittels des Zellzählgerätes M 901 V (Fa. Mölab) bestimmt.

### **3.3.2.3 Phagozytoseaktivität**

Zur Bestimmung der Phagozytoseaktivität der isolierten Neutrophilen Granulozyten wurde das von STEVENS et al. (1991) beschriebene colorimetrische Verfahren in leicht modifizierter Form angewandt. In der vorliegenden Untersuchung wurde als Keim ein „Attaching and Effacing“ E. Coli-Stamm (AEEC) eingesetzt. Das Prinzip der Methode besteht in der Reduktion des Formazansalzes MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromid) von lebenden Bakterien zu einem violett gefärbten Formazansalz proportional zu den lebensfähigen Zellen. Für den Test wurden die aus dem heparinisierten Blut isolierten polymorphkernigen Neutrophilen Granulozyten (PMN) auf eine standardisierte Zellkonzentration von  $1 \times 10^7$ /ml eingestellt. Bei der Verdünnung wurde der Zellfraktion 5% fetales Kälberserum zugegeben. Gemäß des Verfahrens wurden 100 µl Zellsuspension jeweils für den vierfachen Kontroll- sowie Testansatz eingesetzt. Die Keimsuspension von 100 % entsprach einer Konzentration des eingesetzten Keimes von  $0,8 \times 10^8$ /ml. Zu dem Testansatz kamen 50 µl der 100 %igen Keimlösung, anschließend erfolgte eine Inkubation über 60 min. Für eine Eichkurve wurden Keimsuspensionen von 10 %, 30 % und 70 % hergestellt. Nach der Inkubation wurde dem Kontroll- und dem Testansatz 50 µl 4%iges Saponin zugesetzt, welches noch vorhandene PMN-Zellen lysiert, nicht jedoch die Keime. Im Anschluss erfolgte die Messung der Reduktion des Formazans (MTT) zu einem violetten Farbstoff durch die verbliebenen Bakterien. Dies wurde in einem Plattenspektrophotometer (Fa. Dynatech Mr5000) bei einer Wellenlänge von 570 nm bei einem Referenzfilter von 630 nm ermittelt. Anhand der Extinktionswerte, die mit der Formel:

Optische Dichte (OD) Testansatz – OD Kontrollansatz = Real-OD

berechnet wurden, wurde mittels der Eichkurve die Abtötungsrate abgeleitet.

#### **3.3.2.4 Lymphozytenproliferationstest**

Die Kapazität der Lymphozyten zur Proliferation nach Stimulierung durch Mitogene wurde gemäß der von LÜTKES (1989) beschriebenen Methode in leicht modifizierter Methode durchgeführt. Es wurden die Mitogene Concanavalin A (ConA), Phytohämagglutinin (PHA) und Pokeweed Mitogen (PWM) in folgenden Konzentrationen eingesetzt: ConA: 52,50 µg/ml, PHA: 28,0 µg/ml, PWM: 7 µg/ml. Die bei der Zellisolierung gewonnenen mononukleären Zellen (MNC) wurden auf eine Konzentration von  $2 \times 10^6$ /ml Suspension eingestellt. Der Testansatz (Zellsuspension (150 µl/Well)) und Mitogene (25 µl/Well) und der Kontrollansatz (Zellsuspension (150 ml/Well)) wurden in einem Vierfachansatz in Mikrotiterplatten überführt, danach erfolgte eine Inkubation für 68 Stunden bei 37°C und 5 % CO<sub>2</sub>. Zur Darstellung der vorhandenen lebensfähigen Zellen wurde wiederum das Formazansalz MTT eingesetzt. Dieses wurde während einer anschließenden Inkubationszeit von 4 Stunden von den vorhandenen lebenden Zellen zu einem violetten Farbstoff reduziert. Diese Reduktionskapazität der vorhandenen Zellen wurde in einem Plattenspektrophotometer bei einer Wellenlänge von 550 nm und einem Referenzfilter von 690 nm ermittelt. Die Ergebnisse wurden mittels folgender Formel berechnet:

Optische Dichte (OD) der stimulierten Zellen (Testansatz) / OD der nicht stimulierten Zellen (Kontrolle) = Proliferationsindex (PI).

#### **3.3.3 Klinisch-chemische Blutuntersuchung**

Die Bestimmungen klinisch-chemischer Parameter in den Blutseren wurden im Labor der Medizinischen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig durchgeführt. Die für die Analysen verwandten klinisch-chemischen Untersuchungsmethoden und die Referenzbereiche der ausgesuchten Parameter sind in Tabelle 3 dargestellt. Folgende Parameter wurden untersucht: β-Hydroxy-Butyrat (BHB), freie Fettsäuren (FFS), Glucose, Cholesterol, Bilirubin, Gesamteiwweiß, Harnstoff, Aspartat-Amino-Transferase (ASAT), Glutamat-Dehydrogenase (GLDH), Gamma-Glutamyl-Transferase (γ-GT), Kalzium (Ca) und anorganisches Phosphor (Pan).

Die Aktivitätsbestimmung der Enzyme erfolgte am Hitachi 704 bei 37°C.

Die Labormethoden wurden täglich laborinternen Kontrollen mittels Precinorm und Precipath (Fa. BOEINGER MANNHEIM) sowie Kontrollseren von RANDOX hinsichtlich ihrer Präzision

unterzogen (relative Streuung 1,3-4,1%).

Tabelle 3.1: Darstellung der klinisch-chemischen Parameter, deren Bestimmungsmethoden und dafür verwandte Geräte sowie Referenzbereiche der Parameter (Medizinische Tierklinik Leipzig)

	Parameter/Einheit/Material			Gerät	Methode	Referenzbereich
Energie- u. Fettstoffwechsel	BHB (β-Hydroxybuttersäure)	mmol/l	S	Hitachi 704	UV-Methode	2 < 0,6
	FFS (Freie Fettsäuren)	μmol/l	S		Kinetischer UV-Test	< 350
	Glucose	mmol/l	S		Hexokinase-Methode	1 2,2-3,3
	Cholesterol	mmol/l	S		CHOD-PAP-Methode	1 > 2,5
	Bilirubin	mmol/l	S		Nach Jendrassik u. Grof	2 < 5
Leber- u. Muskelstoffwechsel	GLDH (Glutamat-Dehydrogenase)	U/l	S	Hitachi 704	UV-Test; optimierte Standardmethode der DGKC*	1 < 30
	γ-GT (Gamma-Glutamyl-Transferase)	U/l	S		Methode nach Szasz	1 < 50
	ASAT (Aspartat-Amino-Transferase)	U/l	S		optimierte Standardmethode der DGKC	1 < 80
Eiweißstoffwechsel	Gesamtprotein	g/l	S	Hitachi 704	Biuret-Methode	1 60-80
	Harnstoff	mmol/l	S		Kinetischer UV-Test	1 2,5-5,0
Mineralstoffwechsel	Ca (Calcium)	mmol/l	S	Hitachi 704	Mit o-Kresolphthalein	1 2,3-2,8
	Pan (anorganisches Phosphor)	mmol/l	S		Molybdat-Reaktion	1 1,55-2,29

1 = Fa. BOEINGER MANNHEIM

2 = Fa. RANDOX

\* = Ciba Corning Chloride Analyser 925

### 3.3.4 Methode der Tollwutantikörperbestimmung

Zur Bestimmung der spezifischen Immunreaktion wurde bei den Versuchstieren eine subkutane Impfung mit einer inaktivierten Vakzine (Rabisin®) zur aktiven Immunisierung gegen den Erreger der Tollwut (Lyssa-Virus) durchgeführt. Das nach der Impfung gewonnene Blut wurde zunächst zentrifugiert, und das dadurch separierte Serum tiefgefroren. Die Untersuchung der Proben wurde

im Paul-Ehrlich-Institut in Langen durchgeführt. Die Antikörperbestimmung erfolgte mittels eines standardisierten Immunfluoreszenztest (Fluorescent Antibody Virusneutralization Test – FAVN), der eine modifizierte Form des RFFIT darstellt (CLIQUET et al., 1998).

### **3.4 Materialien**

Die für die verschiedenen Methoden angewandten Materialien sind detailliert im Anhang aufgeführt.

### **3.5 Biostatistische Auswertung**

Die biostatistische Bearbeitung der gewonnenen Daten erfolgte mit dem Programm SPSS for Windows Release 11,0 (SPSS INC. 2001). Als Test zur Prüfung auf Normalverteilung des Datenmaterials fand der Kolmogorov-Smirnov-Test Anwendung. Für die einzelnen Gruppen wurden als Mittelwert und Streuungsmaß das arithmetische Mittel und die Standardabweichung berechnet. Die Mittelwertvergleiche wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben durchgeführt. Zur Berechnung der Korrelation der einzelnen Parameter wurden Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman ermittelt. Für alle Berechnungen wurde als Signifikanzniveau eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha = 5\%$  ( $p < 0,05$ ) festgelegt. Die Steigung der Vollblutbakterizidie wurde mit der Formel  $m = (y_2 - y_1) / (x_2 - x_1)$  berechnet.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Produktionsleistungen

In die Untersuchung wurden sowohl klinisch gesunde als auch klinisch erkrankte Milchkühe einbezogen. Dabei erfolgte eine weitere Unterteilung der klinisch gesunden Kühe anhand der nach Fett und Eiweiß korrigierten 305-Tage-Leistung. Kühe mit einer Milchmengenleistung von 6.500-8.990 kg Milch/Kuh/Jahr wurden in der Gruppe M (mittleres Leistungsniveau) zusammengefasst. Die Gruppe H (hohes Leistungsniveau) bestand aus Kühen mit einer Milchmengenleistung von 9.000-12.500 kg Milch/Kuh/Jahr. Die klinisch erkrankten Kühe wurden in der Gruppe (K) zusammengefasst. Die Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die mittleren Produktionsleistungen und über verschiedene kuhbezogene Daten zum Zeitpunkt der untersuchten Laktation.

Tabelle 4.1: Mittlere Produktionsleistungen in den Gruppen der klinisch gesunden Kühe M (mittleres Leistungsniveau) und H (hohes Leistungsniveau) und der Gruppe der klinisch erkrankten Kühe (K)

		<b>Gruppe M</b> (n = 34)	<b>Gruppe H</b> (n = 34)	<b>Gruppe K</b> (n = 20)
<b>Laktationsnummer</b>		2,5 <sup>a</sup> ± 1,1	3,1 <sup>b</sup> ± 1,3	3 <sup>ab</sup> ± 1,3
<b>Erstkalbealter (in Monaten)</b>		26 <sup>a</sup> ± 3	29 <sup>b</sup> ± 3	28 <sup>ab</sup> ± 2
<b>Anzahl Besamungen</b>		1,6 ± 1,1	2,1 ± 1,1	2,0 ± 1,0
<b>Zwischenkalbezeit (in Tagen)</b>		381 <sup>a</sup> ± 42	418 <sup>b</sup> ± 56	393 <sup>ab</sup> ± 40
<b>Einstiegsmilchmenge in kg zu Beginn der Laktation</b>		29,2 <sup>ab</sup> ± 5,8	31,3 <sup>a</sup> ± 6,4	24,9 <sup>b</sup> ± 8,4
<b>Korrigierte 305 Tage Leistung</b>	<b>Milch kg</b>	7.833 <sup>a</sup> ± 784	10.282 <sup>b</sup> ± 1397	8.917 <sup>c</sup> ± 1531
	<b>Fettgehalt in %</b>	3,94 ± 0,52	3,95 ± 0,46	3,92 ± 0,54
	<b>Eiweißgehalt in %</b>	3,50 <sup>a</sup> ± 0,22	3,49 <sup>ab</sup> ± 0,26	3,38 <sup>b</sup> ± 0,22
	<b>FCME kg</b>	7.887 <sup>a</sup> ± 640	10.343 <sup>b</sup> ± 1017	8.867 <sup>c</sup> ± 1288
	<b>Fett/Eiweiß-Quotient</b>	1,12 ± 0,11	1,13 ± 0,1	1,16 ± 0,13

<sup>a,b,c</sup>Werte mit unterschiedlichen Indizes in der gleichen Zeile unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ )

Als Folge der Gruppeneinteilung wiesen die Kühe der Gruppe M mit einer mittleren Leistung von 7.833 kg Milch/Kuh/Jahr eine signifikant geringere nach Fett und Eiweiß korrigierte 305-Tage-Milchleistung auf als die Kühe der Gruppe H mit einer mittleren Leistung von 10.282 kg Milch/Kuh/Jahr ( $p < 0,05$ ). Die zu Beginn der Laktation klinisch erkrankten Kühe (Gruppe K) zeigten mit durchschnittlich 8.867 kg eine signifikant höhere korrigierte Milchleistung als die Kühe mit einer mittleren und eine signifikant niedrigere Leistung als die Kühe mit einer hohen Leistung ( $p < 0,05$ ). Die Leistungsgruppen M und H unterschieden sich ferner signifikant in der Laktationsnummer, dem Erstkalbealter und der Zwischenkalbezeit ( $p < 0,05$ ). Die klinisch erkrankten Kühe lagen mit ihren Werten jeweils zwischen den Gruppen der klinisch gesunden Kühe. Bei den zu Beginn der Laktation klinisch erkrankten Kühe (Gruppe K) bestand eine signifikant geringere Einstiegsmilchmenge (24,9 kg) im Vergleich zu der Gruppe mit einem hohen Leistungsniveau (31,3 kg) ( $p < 0,05$ ). Hinsichtlich der Milchinhaltsstoffe waren einzig Unterschiede im Eiweißgehalt zwischen den klinisch kranken Kühen und den Kühen mit einer mittleren Leistung ersichtlich. Die klinisch kranken Kühe zeigten mit 3,38 % einen signifikant geringeren Eiweißgehalt im Vergleich zu der Gruppe der Kühe mit einer mittleren Leistung (3,50 %) ( $p < 0,05$ ).

In der Tabelle 4.2 sind die Milchmengenleistungen und die Milchinhaltsstoffe der drei Gruppen in Abhängigkeit zu verschiedenen Laktationszeitpunkten dargestellt.

Tabelle 4.2: Milchmengenleistung und Milchinhaltsstoffe der drei Gruppen zu Laktationsanfang (LA, 10-21 Tage p.p.) und Laktationsmitte (LM, ca. 100 Tage p.p.)

	<b>Gruppe M</b> (n = 34)		<b>Gruppe H</b> (n = 34)		<b>Gruppe K</b> (n = 20)	
	<b>LA</b>	<b>LM</b>	<b>LA</b>	<b>LM</b>	<b>LA</b>	<b>LM</b>
<b>Milch kg</b>	36,0 <sup>a,A</sup> ± 5,9	30,9 <sup>b,1</sup> ± 5,5	41,2 <sup>B</sup> ± 7,1	39,9 <sup>2</sup> ± 5,3	31,2 <sup>A</sup> ± 10,8	33,9 <sup>1</sup> ± 7,4
<b>Fettgehalt in %</b>	3,70 ± 0,85	3,75 ± 0,63	3,76 ± 0,53	3,62 ± 0,55	4,55 ± 2,01	3,81 ± 0,8
<b>Eiweißgehalt in %</b>	3,21 <sup>a</sup> ± 0,34	3,40 <sup>b</sup> ± 0,33	3,15 <sup>a</sup> ± 0,26	3,44 <sup>b</sup> ± 0,31	3,18 ± 0,36	3,26 ± 0,22
<b>FCME kg</b>	34,5 <sup>a,A</sup> ± 6,0	30,0 <sup>b,1</sup> ± 4,3	39,4 <sup>B</sup> ± 6,8	38,4 <sup>2</sup> ± 4,6	31,6 <sup>A</sup> ± 10,8	32,8 <sup>1</sup> ± 5,8
<b>Fett/Eiweiß-Quotient</b>	1,15 <sup>A</sup> ± 0,23	1,11 ± 0,18	1,2 <sup>a,A</sup> ± 0,19	1,06 <sup>b</sup> ± 0,16	1,4 <sup>B</sup> ± 0,45	1,18 ± 0,28

<sup>a,b</sup>Werte mit unterschiedlichen Indizes innerhalb der Gruppen zwischen LA und LM unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ )

<sup>A,B</sup>Werte mit unterschiedlichen Indizes zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt LA unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ )

<sup>1,2</sup>Werte mit unterschiedlichen Indizes zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt LM unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ )

Die Milchkühe in den beiden Leistungsgruppen M und H zeigten zu Beginn der Laktation höhere Milchmengenleistungen als in der Mitte der Laktation. Bei der Gruppe mit einem mittleren Leistungsniveau (M) konnte dieser Unterschied statistisch gesichert werden ( $p < 0,05$ ). Bei den klinisch erkrankten Kühen war hingegen in der Mitte der Laktation eine geringfügig höhere Milchleistung erkennbar. Hinsichtlich der Milchinhaltsstoffe traten innerhalb der Leistungsgruppen M und H signifikant geringere Eiweißgehalte zu Beginn der Laktation auf ( $p < 0,05$ ). Die klinisch kranken Kühe (Gruppe K) bewegten sich mit einem Fettgehalt von 4,55 % in der Milch zu Laktationsanfang über dem Referenzbereich (3,8 % - 4,2 %). Die hohe Standardabweichung deutet jedoch auf große tierindividuelle Schwankungen hin. In der Laktationsmitte lag der Fettgehalt mit 3,81 % wieder im Referenzbereich. Die Gruppe mit einem hohen Leistungsniveau (H) zeigte zu Beginn der Laktation einen signifikant höheren Fett/Eiweiß-Quotienten im Vergleich zur Mitte der Laktation ( $p < 0,05$ ).

Die Gruppe der Kühe mit einem hohen Leistungsniveau zeigte zu beiden Laktationszeitpunkten signifikant höhere Milchleistungen im Vergleich zu den Kühen mit einer mittleren Leistung und den klinisch kranken Kühen ( $p < 0,05$ ). Hinsichtlich der Milchinhaltsstoffe wiesen die klinisch kranken Kühe zu Beginn der Laktation einen signifikant höheren Fett/Eiweiß-Quotienten auf als die klinisch gesunden Tiere in den beiden Leistungsgruppen M und H ( $p < 0,05$ ).

## **4.2 Parameter der Tiergesundheit**

Der Tiergesundheitsstatus wurde anhand der Untersuchung von verschiedenen Stoffwechselfparametern, hämatologischen Parametern, sowie Immunparametern beurteilt.

### **4.2.1 Einzeltierübersicht der immunologischen Parameter**

Die Untersuchung von immunologischen Parametern erfolgte anhand der:

- Phagozytoseaktivität (als Abtötungsrate in %) der isolierten polymorphkernigen Granulozyten
- Proliferation der isolierten Lymphozyten durch eine Stimulierung mit den Mitogenen Concanavalin A (ConA), Phytohämagglutinin (PHA) und Pokeweed Mitogen (PWM)
- bakteriziden Wirkung des Vollblutes (Vollblutbakterizidie)
- spezifischen Antikörperproduktion nach der Applikation eines Tollwutimpfstoffes.

Die immunologischen Parameter (mit Ausnahme der spezifischen Antikörperproduktion) wurden vor und nach einer Stimulierung mit einem Paramunitätsinducer untersucht. Mit der Stimulierung sollte das Reaktionsvermögen der Tiere auf den Stimulus erfasst werden.

Die Ergebnisse der immunologischen Parameter werden zunächst in der Gesamtübersicht ohne eine Gruppenbildung für die einzelnen in den Versuch einbezogenen Kühe zu den 6 verschiedenen Untersuchungstagen dargestellt. Mit dieser Aufstellung soll veranschaulicht werden, in welchen Größenordnungen sich die Werte bewegen. Im Anschluss erfolgt eine detaillierte Auswertung der Ergebnisse der drei Gruppen in Abhängigkeit von den geprüften Einflussgrößen (Laktationszeitpunkt, Milchleistung sowie einer akuten klinischen Erkrankung zu Beginn der Laktation).

### a) Vollblutbakterizidie

Die Bakterizidie des Vollblutes wurde in der vorliegenden Untersuchung zu den Inkubationszeiten 15, 30 und 45 Minuten gemessen. Die Auswertung erfolgte durch Auszählung der Koloniebildenden Einheiten (KbE). Die KbE des Versuchsansatzes wurden in Beziehung zu den KbE der Kontrollplatten gesetzt und die prozentuale Abtötungsrate errechnet. Bei allen untersuchten Kühen wurde nach der Inkubationszeit von 45 Minuten eine Abtötung von annähernd 100 % erreicht. In der Abbildung 4.1 ist die Beziehung zwischen der Abtötungsrate und der Inkubationszeit im Zeitabschnitt von 15 bis 45 Minuten dargestellt. Aufgrund der angenäherten Linearität wurde die Differenz ( $\Delta$ ) der Abtötungsrate pro Zeiteinheit zwischen den Inkubationszeiten von 15 und 45 Minuten errechnet. Die Differenz ( $\Delta$ ) wird als Abtötungsrate/min angegeben und beschreibt die Abtötung pro Zeiteinheit bzw. die Geschwindigkeit der Abtötung des Testkeimes. Die Differenz pro Zeiteinheit wurde mit folgender Formel berechnet:  $m = (y_2 - y_1) / (x_2 - x_1)$ .

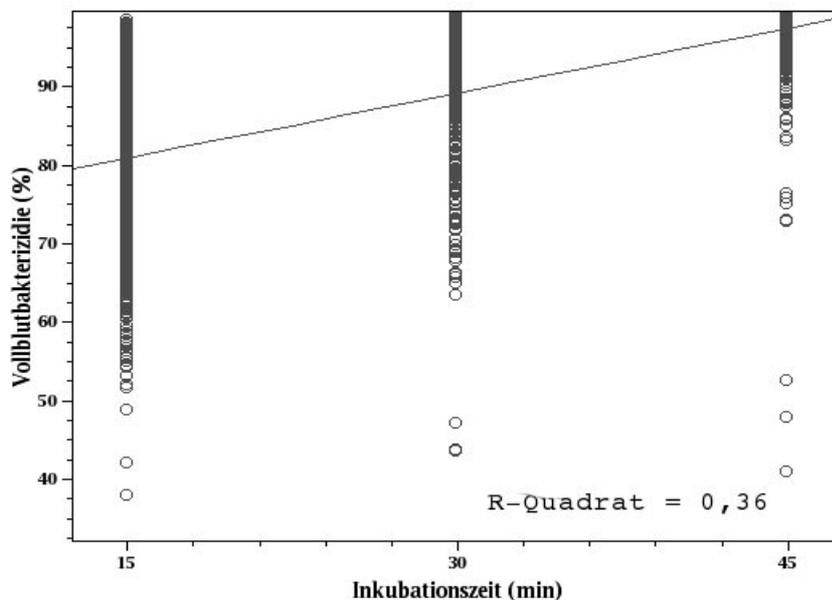


Abbildung 4.1: Darstellung der Abtötungsrate der Vollblutbakterizidie (in %) aller in den Versuch einbezogenen Kühe in Abhängigkeit von der Inkubationszeit (n = 88)

In der Abbildung 4.2 ist die Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut aller 88 in den Versuch einbezogenen Kühe für alle sechs Untersuchungstage dargestellt.

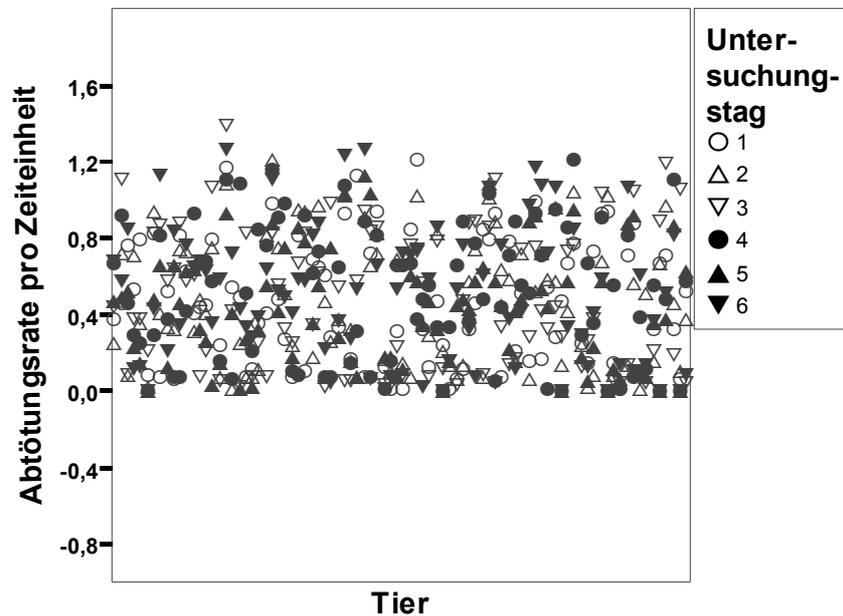


Abbildung 4.2: Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut aller in den Versuch einbezogenen Kühe zu den sechs einzelnen Untersuchungstagen (n = 88)

Die Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut aller untersuchten Kühe bewegte sich in einem Zeitfenster von 0,1 bis 1,4. Die mittlere Abtötungsrate pro Zeiteinheit aller in den Versuch einbezogenen Kühe lag bei 0,49 mit einer Standardabweichung von 0,33. 58 % dieser Werte lagen im Bereich der Standardabweichung. Die Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut wies ein Maximum auf, das unabhängig vom Untersuchungszeitpunkt nicht überschritten wurde.

### b) Phagozytoseaktivität

Die Abbildung 4.3 zeigt die Phagozytoseaktivität aller 88 in den Versuch einbezogenen Kühe zu den 6 einzelnen Untersuchungstagen. Aus den Punktwolken ergibt sich eine Bandbreite für die Phagozytoseaktivität mit einer minimalen Abtötungsrate von 1,1 % und einer maximalen Abtötung von 59,1 %. Der Mittelwert der Phagozytoseaktivität lag bei 27,9 % mit einer Standardabweichung von 7,4. 73 % der Werte lagen innerhalb des Bereiches der Standardabweichung. Es konnte kein Einfluss der Untersuchungstage auf die Phagozytoseaktivität festgestellt werden.

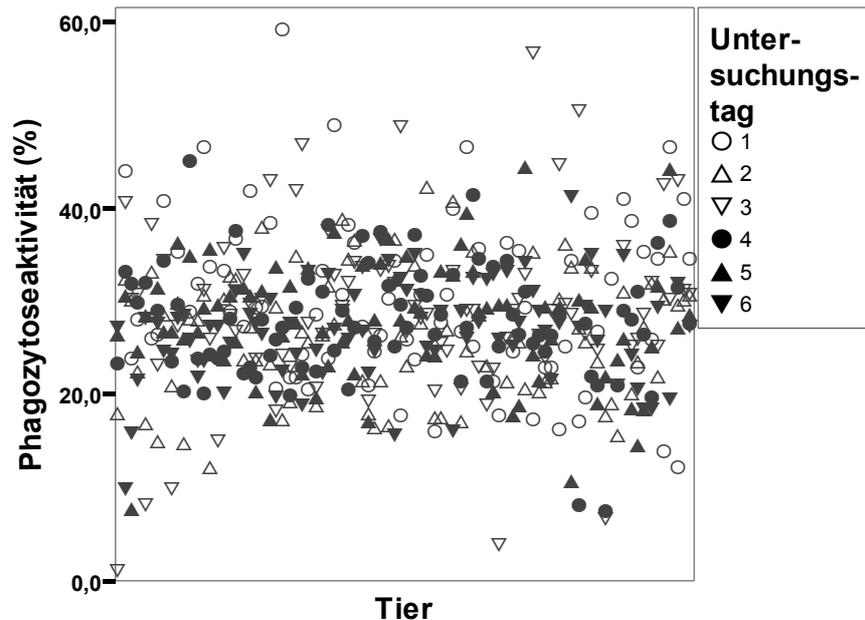


Abbildung 4.3: Phagozytoseaktivität aller in den Versuch einbezogenen Kühe zu den sechs einzelnen Untersuchungstagen (n = 88)

### c) Lymphozytenproliferation

In den Abbildungen 4.4 bis 4.6 sind die Ergebnisse der Lymphozytenproliferation nach der Stimulierung mit den Mitogenen ConA, PHA und PWM aller in den Versuch einbezogenen Kühe zu den sechs Untersuchungstagen dargestellt. Die Werte der Lymphozytenproliferation bewegten sich ebenfalls in begrenzten Bereichen. Der mittlere Proliferationsindex nach der Stimulierung mit dem Mitogen ConA lag bei 2,0 mit einer Standardabweichung von 1,1. Die Werte bewegten sich zwischen einem Minimum von 0,49 und einem Maximum von 9,77. 86 % aller Werte befanden sich innerhalb des Bereiches der Standardabweichung.

Die Werte des Proliferationsindex nach der Stimulierung mit dem Mitogen PHA bewegten sich in einem Bereich von 0,8 und 4,1. Die mittlere Lymphozytenproliferation lag bei einem Proliferationsindex von 1,5 mit einer Standardabweichung von 0,5. Dabei befanden sich 78 % der Werte innerhalb des Bereiches der Standardabweichung.

Nach Einsatz des Mitogens PWM zur Stimulierung der Lymphozyten bewegten sich die Werte in einem Bereich von 0,72 und 6,55. Der mittlere Proliferationsindex lag bei 1,9 bei einer Standardabweichung von 0,9. In dem Bereich der Standardabweichung befanden sich 80 % der Werte.

Von den verschiedenen Untersuchungstagen ging unabhängig vom eingesetzten Mitogen kein gerichteter Einfluss auf die Lymphozytenproliferation aus.

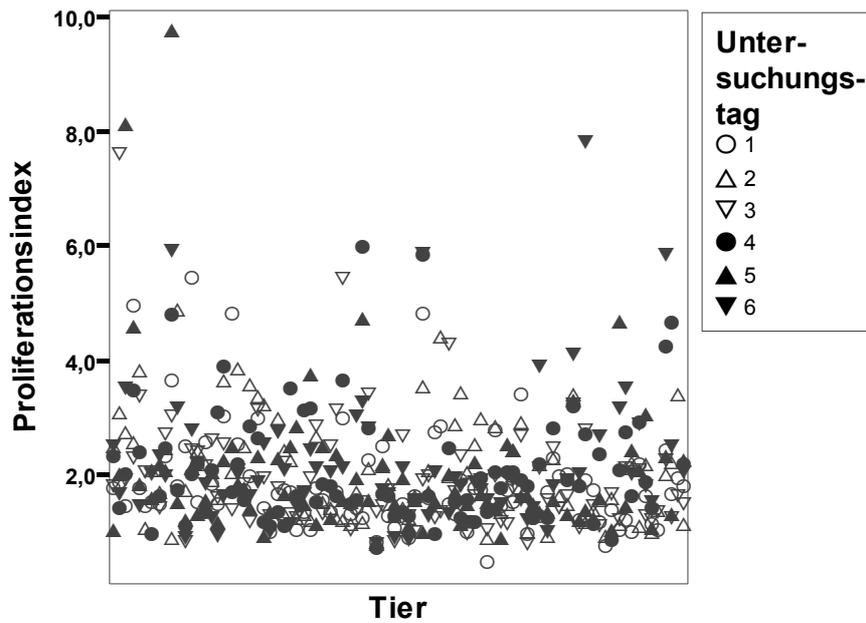


Abbildung 4.4: Indexwerte der Lymphozytenproliferation nach der Stimulierung mit dem Mitogen ConA aller in den Versuch einbezogenen Kühe zu den sechs einzelnen Untersuchungstagen (n = 88)

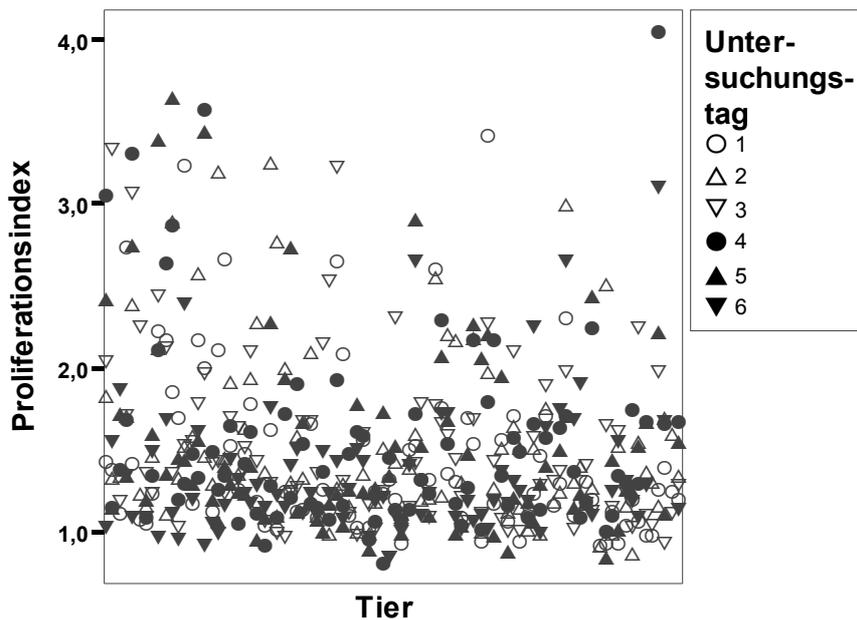


Abbildung 4.5: Indexwerte der Lymphozytenproliferation nach der Stimulierung mit dem Mitogen PHA aller in den Versuch einbezogenen Kühe zu den sechs einzelnen Untersuchungstagen (n = 88)

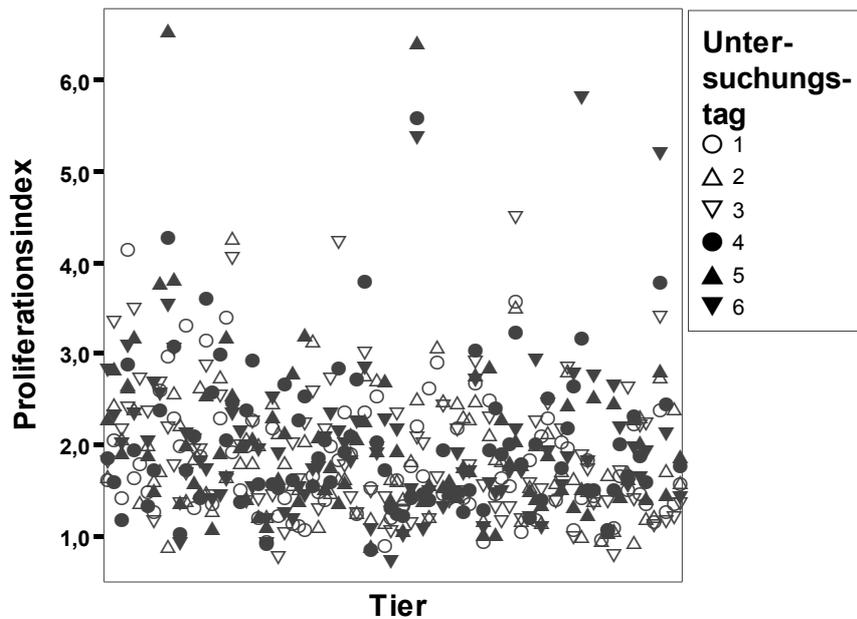


Abbildung 4.6: Indexwerte der Lymphozytenproliferation nach der Stimulierung mit dem Mitogen PWM aller in den Versuch einbezogenen Kühe zu den sechs einzelnen Untersuchungstagen (n = 88)

#### d) Antikörperbildung gegen einen Tollwut-Impfstoff

Die Abbildung 4.7 veranschaulicht die Antikörperbildung aller in den Versuch einbezogenen Kühe im Untersuchungszeitraum bis 164 Tage nach der Applikation des Tollwutimpfstoffes. Alle Tiere wiesen vor der Impfung keinen Antikörpertiter gegen Tollwut auf ( $< 0,1$  IU/l). Bis 14 Tage nach der Impfung stieg der Titer der Kühe steil an. Ab Tag 14 zeigten die Kühe einen steilen Abfall des Titers bis zum Tag 104. Von diesem Zeitpunkt an fiel der Titer weniger drastisch bis zum letzten Untersuchungstermin am Tag 164 nach der Impfung.

Zusammenfassend wird festgestellt, dass sich die Werte der Immunparameter Vollblutbakterizidie, Phagozytoseaktivität und Lymphozytenproliferation mit den Mitogenen ConA, PHA und PWM in engen Bereichen bewegten. Anhand der Darstellung als Punktwolken war keine gerichtete Verteilung der Werte erkennbar.

Nachfolgend werden die Parameter der Tiergesundheit in Abhängigkeit der geprüften Einflussgrößen ausgewertet.

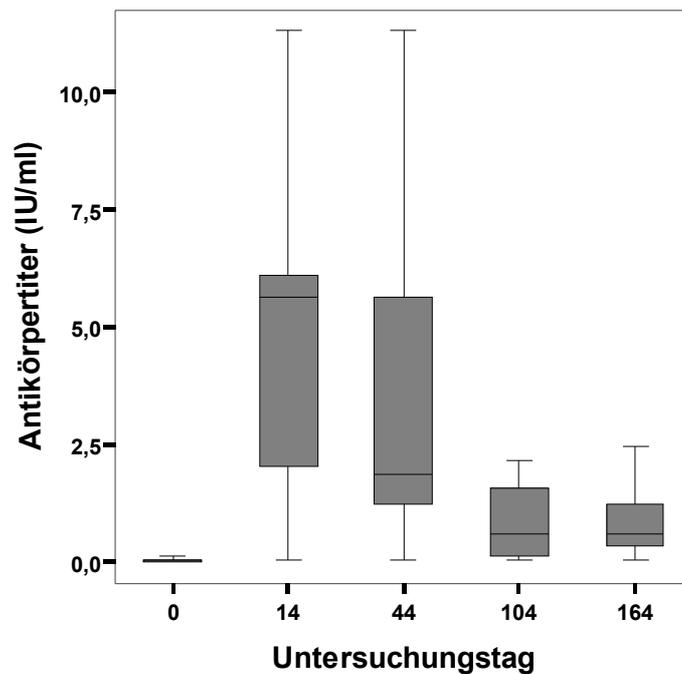


Abbildung 4.7: Mittlerer Antikörpertiter (IU/ml) nach Tollwutimpfung aller in den Versuch einbezogenen Kühe in Abhängigkeit vom Tag der Probennahme (n = 88)

#### 4.2.2 Beziehungen zwischen dem Laktationszeitpunkt, der Milchmengenleistung und den Parametern der Tiergesundheit der klinisch gesunden Kühe am Untersuchungstag 0

Die Bestimmungen aller Gesundheitsparameter erfolgte jeweils am Untersuchungstag 0 zu Beginn und in der Mitte der Laktation. Um die Beziehung zwischen dem Laktationszeitpunkt und den Parametern der Tiergesundheit zu überprüfen, wurden die Ergebnisse der Parameter der Tiergesundheit zu diesen zwei unterschiedlichen Zeitpunkten der Laktation miteinander verglichen.

Der Einfluss der Milchmengenleistung auf Parameter der Tiergesundheit wurde durch den Vergleich der Ergebnisse der Gruppe mit einem mittleren Leistungsniveau (Gruppe M) und der Gruppe mit einem hohen Leistungsniveau (Gruppe H) überprüft.

##### 4.2.2.1 Stoffwechselfparameter

In der Untersuchung wurden folgende Stoffwechselfparameter berücksichtigt:

- $\beta$ -Hydroxybuttersäure (BHB), Freie Fettsäuren (FFS), Glucose, Cholesterol (Chol.), Bilirubin (Bili.), Gesamteiweiß (GEW), Harnstoff (Hst), Aspartat-Amino-Transferase (ASAT), Glutamat-Dehydrogenase (GLDH), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT), Kalzium (Ca) und anorganisches Phosphor (P).

In den Abbildungen 4.8 und 4.9 sind die Konzentrationen der  $\beta$ -Hydroxybuttersäure (BHB) und der Freien Fettsäuren (FFS) jeweils zu Beginn und in der Mitte der Laktation am Tag 0 der Untersuchung der Gruppe mit einem mittleren Leistungsniveau (M) und der Gruppe mit einem hohen Leistungsniveau (H) dargestellt.

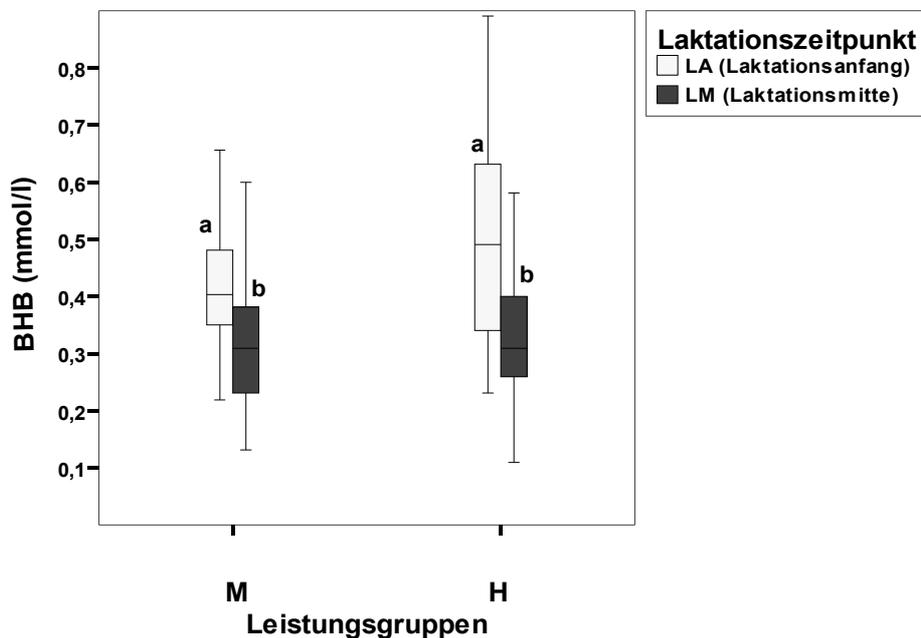


Abbildung 4.8: Mittlere Konzentration der  $\beta$ -Hydroxybuttersäure (BHB) in mmol/l in den Gruppen M und H in Abhängigkeit vom Laktationszeitpunkt am Untersuchungstag 0 (je Gruppe n = 34)

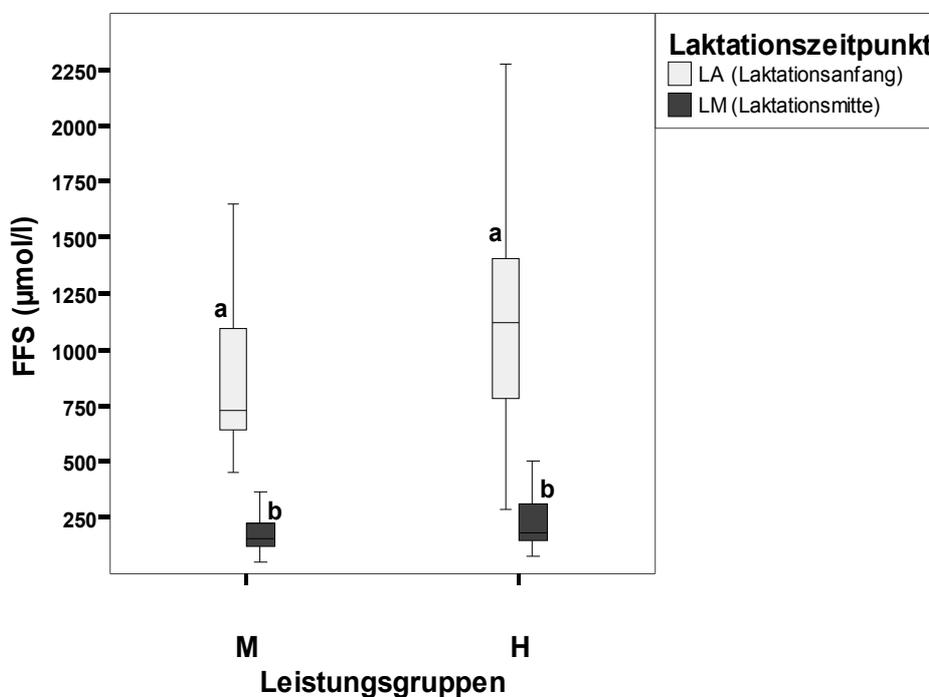


Abbildung 4.9: Mittlere Konzentration der Freien Fettsäuren (FFS) in  $\mu$ mol/l der Gruppen M und H in Abhängigkeit vom Laktationszeitpunkt am Untersuchungstag 0 (je Gruppe n = 34)

Die Kühe der Leistungsgruppen M und H wiesen zu Laktationsbeginn signifikant höhere Konzentrationen an  $\beta$ -Hydroxybuttersäure und Freien Fettsäuren im Vergleich zur Laktationsmitte auf ( $p < 0,05$ ). Die mittlere Konzentration der Freien Fettsäuren lag zu Beginn der Laktation bei beiden Gruppen oberhalb des Referenzbereiches von  $< 350 \mu\text{mol/l}$ . Die Tabelle 4.3 enthält die absoluten Zahlen der mittleren Konzentration der  $\beta$ -Hydroxybuttersäure, der Freien Fettsäuren sowie des Bilirubins in den Leistungsgruppen M und H zu Beginn und in der Mitte der Laktation. Die Kühe beider Gruppen wiesen bei allen drei Parametern höhere mittlere Konzentrationen am Laktationsanfang im Vergleich zur Laktationsmitte auf ( $p < 0,05$ ), allerdings war der Unterschied in der mittleren Konzentration des Bilirubins nur bei der Gruppe der Kühe mit einer hohen Leistung (H) signifikant ( $p < 0,05$ ).

Zwischen den Kühen mit einem mittleren und einem hohen Leistungsniveau bestanden weder zu Beginn noch in der Mitte der Laktation in den Konzentrationen von  $\beta$ -Hydroxybuttersäure, Freien Fettsäuren und Bilirubin signifikanten Unterschiede.

Tabelle 4.3: Mittlere Konzentration der Stoffwechselfparameter  $\beta$ -Hydroxybuttersäure (BHB), Freien Fettsäuren (FFS) und Bilirubin der Gruppen M und H am Untersuchungstag 0 zu Beginn und in der Mitte der Laktation

Parameter	Gruppe	LA	LM	Referenzbereiche (Kraft u. Dürr, 2005)
<b>BHB (mmol/l)</b>	<b>M</b> (n = 34)	0,4 <sup>a</sup> $\pm 0,2$	0,3 <sup>b</sup> $\pm 0,2$	< 0,6
	<b>H</b> (n = 34)	0,5 <sup>a</sup> $\pm 0,2$	0,4 <sup>b</sup> $\pm 0,1$	
<b>FFS (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	<b>M</b> (n = 34)	867 <sup>a</sup> $\pm 336$	293 <sup>b</sup> $\pm 404$	< 350
	<b>H</b> (n = 34)	1168 <sup>a</sup> $\pm 616$	311 <sup>b</sup> $\pm 315$	
<b>Bilirubin (mmol/l)</b>	<b>M</b> (n = 34)	4,4 $\pm 3,2$	3,2 $\pm 1,6$	< 5
	<b>H</b> (n = 34)	4,0 <sup>a</sup> $\pm 1,6$	2,7 <sup>b</sup> $\pm 1,0$	

<sup>a,b</sup>Werte mit unterschiedlichen Indizes unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ )

In der Tabelle 4.4 sind die Ergebnisse von Cholesterin, Harnstoff, Aspartat-Amino-Transferase (ASAT), Glutamat-Dehydrogenase (GLDH), Gamma-Glutamyl-Transferase ( $\gamma$ -GT), Gesamtprotein, Glucose, Calcium und Phosphor dargestellt. Die Kühe beider Gruppen zeigten in der Mitte der Laktation signifikant höhere mittlere Aktivitäten der ASAT, GLDH  $\gamma$ -GT sowie eine höhere mittlere Konzentration des Cholesterol im Vergleich zum Laktationsanfang ( $p < 0,05$ ). Bei der

ASAT und GLDH traten in der Laktationsmitte Aktivitätssteigerungen über den Referenzbereich hinaus auf. Ein entsprechendes Ergebnis bezogen auf den Laktationszeitpunkt wurde auch bei den mittleren Konzentrationen an Harnstoff, Gesamtprotein, Kalzium und Phosphor im Blut festgestellt. Beide Gruppen wiesen signifikant höhere Konzentrationen der Parameter Harnstoff und Phosphor in der Mitte der Laktation auf ( $p < 0,05$ ). Zu diesem Zeitpunkt lag die Konzentration des Harnstoffs bei den Kühen der zwei Gruppen mit jeweils 5,9 mmol/l über dem Referenzbereich von 2,5-5,0 mmol/l. Die mittleren Konzentrationen von Gesamtprotein und Kalzium waren ebenfalls bei beiden Gruppen in der Laktationsmitte höher als am Laktationsanfang. Der Unterschied beim Gesamtprotein konnte für die Gruppe M, beim Kalzium für die Gruppe H statistisch gesichert werden ( $p < 0,05$ ). Bei dem Gehalt der Glucose zeigten die Kühe der Gruppen M und H keine unterschiedlichen Konzentrationen in Abhängigkeit vom Laktationszeitpunkt.

Die Milchkühe der beiden Leistungsgruppen M und H zeigten nur bei dem Parameter Cholesterol signifikante Unterschiede. Dabei wiesen Kühe mit einem hohen Leistungsniveau sowohl am Anfang als auch in der Mitte der Laktation signifikant höhere Konzentrationen gegenüber den Kühen mit einem mittleren Leistungsniveau auf ( $p < 0,05$ ).

Zur Prüfung von Abhängigkeiten zwischen der Milchleistung und den Stoffwechselfparametern wurden alle in den Versuch einbezogenen Kühe zusammengefasst. Eine Beziehung konnte nur zwischen der Milchleistung und den Freien Fettsäuren (FFS) zu Beginn der Laktation dargestellt werden. Es bestand eine signifikant positive Korrelation ( $r = 0,49$ ) zwischen der Milchleistung und der mittleren Konzentration der Freien Fettsäuren ( $p < 0,05$ ).

Tabelle 4.4: Mittlere Konzentration verschiedener Stoffwechselfparameter der Gruppen M und H am Untersuchungstag 0 zu Beginn und in der Mitte der Laktation

	<b>Gruppe</b>	<b>LA</b>	<b>LM</b>	<b>Referenzbereiche</b> (Kraft u. Dürr, 2005)
<b>Cholesterol</b> (mmol/l)	<b>M</b> (n = 34)	2,6 <sup>a,A</sup> ± 0,6	4,7 <sup>b,A</sup> ± 1,1	> 2,0
	<b>H</b> (n = 34)	3,2 <sup>a,B</sup> ± 0,9	5,3 <sup>b,B</sup> ± 1,3	
<b>Harnstoff</b> (mmol/l)	<b>M</b> (n = 34)	5,0 <sup>a</sup> ± 1,6	5,9 <sup>b</sup> ± 1,4	3,3-5,0
	<b>H</b> (n = 34)	4,9 <sup>a</sup> ± 1,4	5,9 <sup>b</sup> ± 1,4	
<b>ASAT (U/l)</b>	<b>M</b> (n = 34)	66,1 <sup>a</sup> ± 26,1	106,3 <sup>b</sup> ± 43,3	< 80
	<b>H</b> (n = 34)	72,5 <sup>a</sup> ± 20,9	104,0 <sup>b</sup> ± 39,5	
<b>GLDH (U/l)</b>	<b>M</b> (n = 34)	31,7 <sup>a</sup> ± 40,5	55,8 <sup>b</sup> ± 74,2	< 30
	<b>H</b> (n = 34)	25,0 <sup>a</sup> ± 31,3	36,5 <sup>b</sup> ± 35,8	
<b>γ-GT (U/l)</b>	<b>M</b> (n = 34)	28,3 <sup>a</sup> ± 6,7	39,7 <sup>b</sup> ± 18,3	< 50
	<b>H</b> (n = 34)	27,7 <sup>a</sup> ± 10,8	34,2 <sup>b</sup> ± 12,0	
<b>Gesamtprotein</b> (g/l)	<b>M</b> (n = 34)	81,5 <sup>a</sup> ± 7,4	87,4 <sup>b</sup> ± 5,3	60-80
	<b>H</b> (n = 34)	84,3 ± 6,0	87,4 ± 7,1	
<b>Glucose</b> (mmol/l)	<b>M</b> (n = 34)	3,4 ± 0,5	3,3 ± 0,3	2,2-3,3
	<b>H</b> (n = 34)	3,5 ± 0,5	3,4 ± 0,5	
<b>Kalzium</b> (mmol/l)	<b>M</b> (n = 34)	2,49 ± 0,18	2,52 ± 0,10	2,3-2,8
	<b>H</b> (n = 34)	2,47 <sup>a</sup> ± 0,13	2,56 <sup>b</sup> ± 0,11	
<b>Phosphor</b> (mmol/l)	<b>M</b> (n = 34)	1,55 <sup>a</sup> ± 0,30	1,80 <sup>b</sup> ± 0,29	1,6-2,3
	<b>H</b> (n = 34)	1,57 <sup>a</sup> ± 0,32	1,78 <sup>b</sup> ± 0,30	

<sup>a,b</sup>Werte mit unterschiedlichen Indizes in der gleichen Zeile unterscheiden sich signifikant (p < 0,05)

AB Werte mit unterschiedlichen Indizes in der gleichen Spalte unterscheiden sich signifikant (p < 0,05)

#### 4.2.2.2 Hämatologische Parameter

Folgende hämatologische Parameter wurden untersucht:

- Gesamterythrozytenzahl, Gesamtleukozytenzahl, Hämatokrit sowie die prozentuale Zusammensetzung der Leukozyten (Differentialblutbild).

Die Ergebnisse der hämatologischen Parameter der Leistungsgruppen M und H am Anfang und in der Mitte der Laktation am Untersuchungstag 0 sind in der Tabelle 4.5 abgebildet. Die Kühe in beiden Leistungsgruppen zeigten am Laktationsanfang eine signifikant geringere Erythrozytenzahl im Blut als in der Laktationsmitte ( $p < 0,05$ ). Die Kühe mit einem hohen Leistungsniveau wiesen darüber hinaus in der Mitte der Laktation einen signifikant höheren Hämatokrit als zu Anfang der Laktation auf ( $p < 0,05$ ). Bei dem Differentialblutbild zeigten die Milchkühe der Gruppen M und H in der Laktationsmitte im Vergleich zum Anfang der Laktation einen signifikant höheren Anteil der Eosinophilen Granulozyten auf ( $p < 0,05$ ). Zwischen den anderen hämatologischen Parametern waren keine Unterschiede in Abhängigkeit vom Laktationszeitpunkt vorhanden. Alle untersuchten hämatologischen Parameter bewegten sich zu jedem Untersuchungszeitpunkt in den jeweiligen Referenzbereichen.

Im Vergleich der beiden Leistungsgruppen zeigte die Gruppe mit einer mittleren Leistung sowohl beim Hämatokrit als auch bei der Erythrozytenzahl einen signifikant höheren Wert als die Gruppe mit einem hohen Leistungsniveau ( $p < 0,05$ ). Dieser Unterschied war nur am Anfang der Laktation erkennbar. In den Ergebnissen der übrigen hämatologischen Parameter unterschieden sich die Kühe der beiden Leistungsgruppen nicht.

Tabelle 4.5: Mittlere hämatologische Kenngrößen in den Gruppen M und H zu Beginn und in der Mitte der Laktation am Untersuchungstag 0

	<b>Gruppe</b>	<b>LA</b>	<b>LM</b>	<b>Referenzbereiche</b> (Kraft u. Dürr, 2005)
<b>Erythrozytenzahl (T/l)</b>	<b>M</b> (n = 34)	6,9 <sup>a,A</sup> ± 0,5	7,3 <sup>b</sup> ± 0,6	5-10
	<b>H</b> (n = 34)	6,6 <sup>a,B</sup> ± 0,5	7,1 <sup>b</sup> ± 0,6	
<b>Leukozytenzahl (G/l)</b>	<b>M</b> (n = 34)	7,8 ± 1,9	7,9 ± 1,7	5-10
	<b>H</b> (n = 34)	7,1 ± 1,9	7,5 ± 1,4	
<b>Hämatokrit (%)</b>	<b>M</b> (n = 34)	33 <sup>A</sup> ± 2	33 ± 3	28-38
	<b>H</b> (n = 34)	31 <sup>a,B</sup> ± 2	33 <sup>b</sup> ± 3	
<b>Stabkernige Granulozyten (%)</b>	<b>M</b> (n = 34)	0,2 ± 0,6	0,0 ± 0,2	0-3
	<b>H</b> (n = 34)	0,2 ± 0,5	0,0 ± 0,0	
<b>Segmentkernige Granulozyten (%)</b>	<b>M</b> (n = 34)	40 ± 14	40 ± 14	25-45
	<b>H</b> (n = 34)	41 ± 16	36 ± 14	
<b>Lymphozyten (%)</b>	<b>M</b> (n = 34)	57 ± 15	55 ± 14	45-65
	<b>H</b> (n = 34)	56 ± 17	59 ± 15	
<b>Monozyten (%)</b>	<b>M</b> (n = 34)	0,4 ± 0,8	0,1 ± 0,4	2-6
	<b>H</b> (n = 34)	0,2 ± 0,6	0,1 ± 0,4	
<b>Basophile Granulozyten (%)</b>	<b>M</b> (n = 34)	0,3 ± 0,8	0,5 ± 0,8	0-2
	<b>H</b> (n = 34)	0,5 ± 0,9	0,6 ± 0,8	
<b>Eosinophile Granulozyten (%)</b>	<b>M</b> (n = 34)	2 <sup>a</sup> ± 3	4 <sup>b</sup> ± 4	1-10
	<b>H</b> (n = 34)	2 <sup>a</sup> ± 2	4 <sup>b</sup> ± 4	

<sup>a,b</sup>Werte mit unterschiedlichen Indizes in der gleichen Zeile unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ )

<sup>A,B</sup> Werte mit unterschiedlichen Indizes in der gleichen Spalte unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ )

### 4.2.2.3 Immunparameter

#### a) Phagozytoseaktivität

Die Abbildung 4.10 stellt die Phagozytoseaktivität der Gruppen M und H am Anfang und in der Mitte der Laktation am Untersuchungstag 0 dar. Die Milchkühe mit einem mittleren Leistungsniveau zeigten zu Beginn der Laktation eine signifikant höhere Phagozytose gegenüber der Laktationsmitte ( $p < 0,05$ ). Die Gruppe mit einem hohen Leistungsniveau wies dagegen in Abhängigkeit vom Laktationsstadium keine signifikanten Unterschiede in der Phagozytoseaktivität auf.

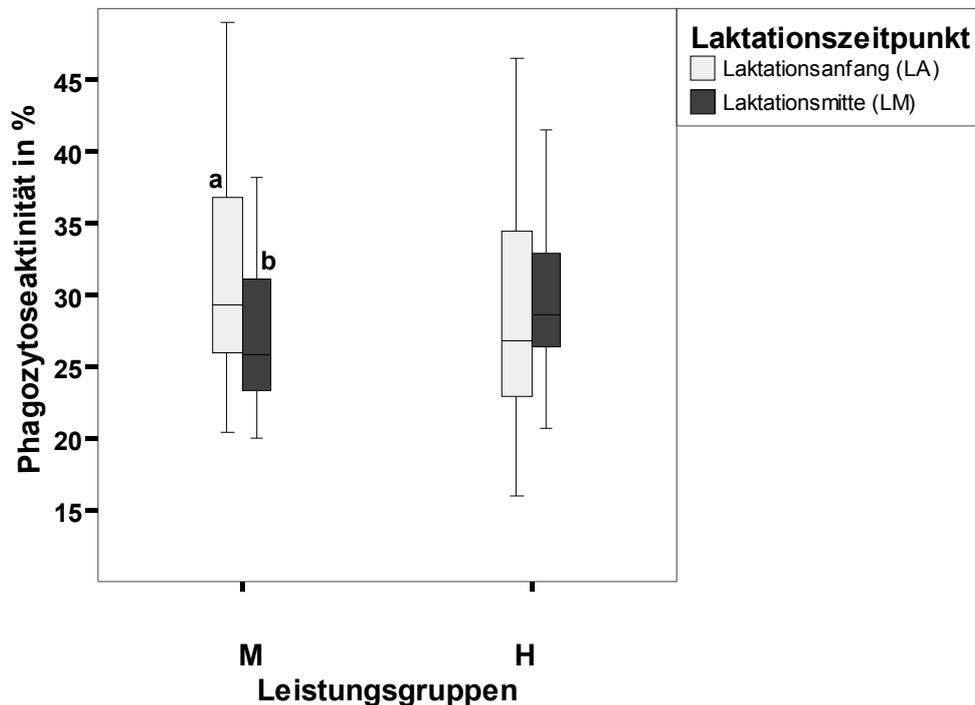


Abbildung 4.10: Mittlere Phagozytoseaktivität in % der Gruppen M und H in Abhängigkeit vom Laktationszeitpunkt am Untersuchungstag 0 (je Gruppe  $n = 34$ )

Der Vergleich zwischen den Leistungsgruppen lies keine signifikanten Unterschiede erkennen.

### b) Vollblutbakterizidie

In der Tabelle 4.6 sind die mittleren Abtötungsraten pro Zeiteinheit in den Gruppen M und H am Anfang und in der Mitte der Laktation am Untersuchungstag 0 abgebildet.

Tabelle 4.6: Mittlere Abtötungsrate pro Zeiteinheit in den Gruppen M und H zu Beginn und in der Mitte der Laktation am Untersuchungstag 0

Gruppe	Laktationszeitpunkt	
	Laktationsanfang (LA)	Laktationsmitte (LM)
<b>M</b> (n = 34)	0,48 ± 0,29	0,53 ± 0,36
<b>H</b> (n = 34)	0,45 ± 0,37	0,53 ± 0,31

Die mittlere Abtötungsrate pro Zeiteinheit schwankte zwischen 0,45 und 0,53, wobei weder bei dem Vergleich in Abhängigkeit vom Laktationszeitpunkt noch bei dem Vergleich der beiden Leistungsgruppen untereinander signifikante Unterschiede bestanden.

### c) Lymphozytenproliferation

Die Tabelle 4.7 zeigt die mittleren Werte der Lymphozytenproliferation durch die Mitogene ConA, PHA und PWM in den Gruppen M und H zu Beginn und in der Mitte der Laktation am Tag 0 der Untersuchung.

Bei den Kühen in den beiden Leistungsgruppen konnten am Untersuchungstag keine signifikanten Unterschiede in der Lymphozytenproliferation mit allen drei angewandten Mitogenen zwischen dem Anfang und der Mitte der Laktation festgestellt werden.

Zwischen den Kühen in den beiden Leistungsgruppen bestanden ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in der Lymphozytenproliferation mit den drei Mitogenen am Untersuchungstag 0.

Tabelle 4.7: Mittlere Werte der Lymphozytenproliferation durch die Mitogene ConA, PHA und PWM in den Gruppen M und H zu Beginn und in der Mitte der Laktation am Untersuchungstag 0

Gruppe	Mitogen	Laktationszeitpunkt	
		Laktationsanfang (LA)	Laktationsmitte (LM)
M	ConA (n = 34)	2,1 ± 1,1	2,2 ± 0,9
	PHA (n = 34)	1,6 ± 0,6	1,6 ± 0,7
	PWM (n = 34)	1,9 ± 0,8	2,1 ± 0,8
H	ConA (n = 34)	1,8 ± 0,9	2,0 ± 1,2
	PHA (n = 34)	1,5 ± 0,5	1,4 ± 0,4
	PWM (n = 34)	1,8 ± 0,6	2,0 ± 0,9

#### d) Spezifische Antikörperproduktion

In der Abbildung 4.11 ist die spezifische Antikörperbildung der Milchkühe in den Gruppen M und H im Untersuchungszeitraum bis 164 Tage nach der Applikation des Tollwutimpfstoffes dargestellt. Die Kühe in den beiden Leistungsgruppen zeigten zu keinem Zeitpunkt der Untersuchung signifikante Unterschiede in der Antikörperbildung.

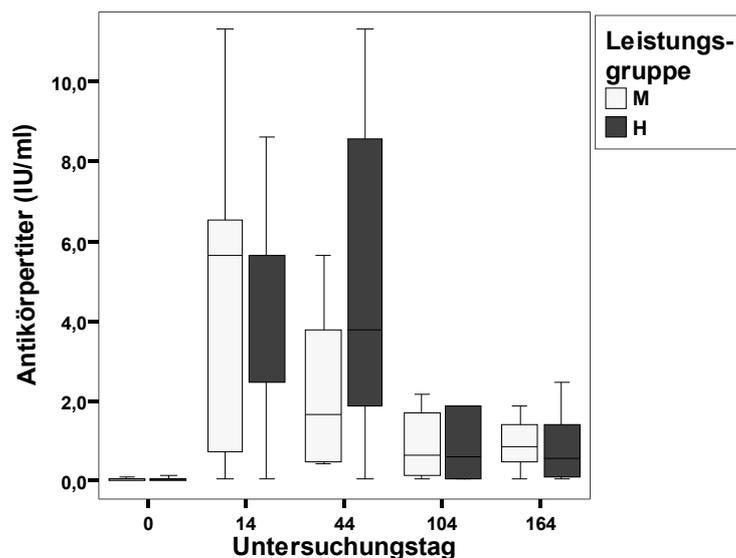


Abbildung 4.11: Mittlerer Antikörpertiter (IU/ml) nach Tollwutimpfung der Gruppen M und H in Abhängigkeit vom Tag der Probennahme (je Gruppe n = 34)

In der Tabelle 4.8 sind die Korrelationen zwischen den Immunparametern und der Milchleistung dargestellt. Bei keinem der untersuchten Immunparameter konnte eine Beziehung zu der Höhe der Milchleistung festgestellt werden.

Tabelle 4.8: Korrelationen der Immunparameter zu der Milchleistung aller in den Versuch einbezogenen Kühe (n = 88)

	<b>Immunparameter</b>					
			<b>Lymphozytenproliferation</b>			
	<b>Phagozytose aktivität</b>	<b>Vollblutbak- terizidie</b>	<b>ConA</b>	<b>PHA</b>	<b>PWM</b>	<b>Antikörper titer</b>
<b>Milchleistung</b>	-0,09	0,03	-0,12	-0,11	-0,02	-0,02

**Zusammenfassend wird festgestellt:**

In Abhängigkeit von dem Laktationszeitpunkt konnten bei den Kühen in den beiden Leistungsgruppen zu Beginn der Laktation am Untersuchungstag 0 signifikant höhere Konzentrationen an  $\beta$ -Hydroxybuttersäure und Freien Fettsäuren festgestellt werden. Die Kühe mit einem hohen Leistungsniveau zeigten darüber hinaus eine signifikant höhere Bilirubinkonzentration am Laktationsanfang. Die Konzentrationen der Freien Fettsäuren lagen bei den Kühen in beiden Leistungsgruppen am Anfang der Laktation oberhalb des Referenzbereiches. Die Konzentrationen bzw. Aktivitäten der Parameter Cholesterin, Harnstoff, ASAT, GLDH,  $\gamma$ -GT, Gesamtprotein, Kalzium und Phosphor waren in der Mitte der Laktation signifikant höher als am Laktationsanfang ( $p < 0,05$ ), wobei die Konzentrationen bzw. Aktivitäten von ASAT, GLDH, Harnstoff und Gesamtprotein in der Mitte der Laktation oberhalb der Referenzbereiche lagen. Zwischen den Kühen mit einer mittleren und einer hohen Leistung konnten keine Unterschiede in den Konzentrationen bzw. Aktivitäten der untersuchten Stoffwechselfparameter nachgewiesen werden. Hinsichtlich der hämatologischen Parameter zeigten die Kühe mit einem mittleren und einem hohen Leistungsniveau zu Beginn der Laktation am Tag 0 eine signifikant geringere Erythrozytenzahl und einen signifikant geringeren Hämatokrit als in der Mitte der Laktation. Die weiteren hämatologischen Parameter unterschieden sich in Abhängigkeit vom Laktationsstadium nicht. In Bezug auf die Milchleistung wiesen die Kühe mit einer mittleren Leistung zu Beginn der Laktation eine höhere Erythrozytenzahl und einen höheren Hämatokrit im Vergleich zu den Kühen mit einer hohen Leistung auf ( $p < 0,05$ ). Bei den weiteren hämatologischen Parametern konnten keine Unterschiede in Abhängigkeit von der Milchleistung festgestellt werden. Die Werte aller Parameter lagen zu jedem Zeitpunkt innerhalb des Referenzbereiches.

In Abhängigkeit von dem Laktationszeitpunkt zeigten einzig die Kühe mit einer mittleren Leistung zu Beginn der Laktation eine signifikant höhere Phagozytoseaktivität als in der Mitte der Laktation ( $p < 0,05$ ). Darüber hinaus führte der Einfluss des Laktationszeitpunktes zu keiner signifikanten Veränderung der Immunparameter. Zwischen der Milchleistung und den Immunparametern konnte keine Beziehung nachgewiesen werden.

#### **4.2.3 Parameter der Tiergesundheit der klinisch gesunden Kühen nach Stimulierung mit einem Paramunitätsinducer**

##### **4.2.3.1 Stoffwechselfparameter**

Anhand der Stoffwechselfparameter konnte sowohl zu Beginn als auch in der Mitte der Laktation bei den Kühen in beiden Leistungsgruppen keine Reaktion auf die Challenge mit einem Paramunitätsinducer festgestellt werden (siehe Tabelle A1 im Anhang).

Die beiden Leistungsgruppen zeigten keine Unterschiede in den Konzentrationen und Aktivitäten der Stoffwechselfparameter nach der Challenge.

##### **4.2.3.2 Hämatologische Parameter**

Die hämatologischen Parameter der Kühe mit einem mittleren und einem hohen Leistungsniveau veränderten sich nach der Challenge mit einem Paramunitätsinducer weder am Anfang noch in der Mitte der Laktation (siehe Tabelle A2 im Anhang).

Die Kühe mit einer hohen und einer mittleren Leistung zeigten nach der Challenge vergleichbare Werte.

##### **4.2.3.3 Immunparameter**

###### **a) Phagozytoseaktivität**

Die Veränderung der Phagozytoseaktivität nach der Challenge mit einem Paramunitätsinducer bei den Milchkühen in den Gruppen M und H zu Beginn und in der Mitte der Laktation ist in der Tabelle 4.9 dargestellt. Die Kühe mit einem mittleren Leistungsniveau reagierten am Laktationsanfang auf die Applikation des Paramunitätsinducers Zylexis® mit einer signifikanten Reduzierung der mittleren Phagozytoseaktivität von Tag 0 zu Tag 2 ( $p < 0,05$ ). Nach einer zweiten Applikation des Paramunitätsinducer am Untersuchungstag 2 kam es zu keiner weiteren signifikanten Veränderung der Phagozytoseaktivität. In der Mitte der Laktation konnte bei den

Kühen mit einer mittleren Leistung weder auf die erste noch auf die zweite Challenge eine Reaktion festgestellt werden. Die Kühe mit einer hohen Leistung zeigten zu keinem Zeitpunkt der Laktation eine signifikante Reaktion auf die Challenge.

Die Kühe mit einem mittleren und einem hohen Leistungsniveau wiesen weder zu Beginn noch in der Mitte eine unterschiedliche Phagozytoseaktivität nach der Challenge auf.

Tabelle 4.9: Mittlere Phagozytoseaktivität (in %) vor und nach der Challenge bei den Milchkühen in den Leistungsgruppen M und H am Anfang und in der Mitte der Laktation

Gruppe	Laktationszeitpunkt	Untersuchungstag		
		0	2 (nach 1. Challenge)	7 (nach 2. Challenge)
M	LA (n = 34)	32,1 <sup>a</sup> ± 9,3	25,7 <sup>b</sup> ± 6,5	27,7 <sup>ab</sup> ± 10,0
	LM (n = 34)	27,5 ± 5,8	27,7 ± 6,0	25,4 ± 5,1
H	LA (n = 34)	27,8 ± 7,5	26,4 ± 7,7	28,9 ± 9,0
	LM (n = 34)	29,4 ± 5,0	28,8 ± 6,2	28,2 ± 4,9

<sup>a,b</sup>Werte mit unterschiedlichen Indizes in der gleichen Zeile unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ )

### b) Vollblutbakterizidie

In der Tabelle 4.10 ist die mittlere Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut in den Gruppen M und H vor und nach der Challenge am Anfang und in der Mitte der Laktation dargestellt. Weder zu Beginn noch in der Mitte der Laktation konnte bei den Kühen in den beiden Leistungsgruppen eine Reaktion auf die Challenge festgestellt werden. Auch eine zweite Applikation des Paramunitätsinducer führte zu keiner Veränderung der Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut.

Zwischen den Kühen in den beiden Leistungsgruppen bestanden keine Unterschiede in den Reaktionen auf die Challenge.

Tabelle 4.10: Mittlere Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut bei den Kühen in den Gruppen M und H vor und nach der Challenge am Anfang und in der Mitte der Laktation.

Gruppe	Laktationszeitpunkt	Untersuchungstag		
		0	2 (nach 1. Challenge)	7 (nach 2. Challenge)
M	LA (n = 34)	0,48 ± 0,29	0,49 ± 0,35	0,51 ± 0,36
	LM (n = 34)	0,53 ± 0,36	0,42 ± 0,27	0,57 ± 0,29
H	LA (n = 34)	0,45 ± 0,37	0,48 ± 0,32	0,45 ± 0,34
	LM (n = 34)	0,53 ± 0,31	0,50 ± 0,32	0,57 ± 0,38

### c) Lymphozytenproliferation

Die Tabelle 4.11 veranschaulicht die Ergebnisse der Lymphozytenproliferation der Kühe in den Gruppen M und H mit den Mitogenen ConA, PHA und PWM vor und nach der Challenge zu Beginn und in der Mitte der Laktation. Die Kühe in den beiden Leistungsgruppen zeigten nach der Applikation des Paramunitätsinducers bei allen Mitogenen sowohl zu Beginn als auch in der Mitte der Laktation keine Reaktion auf die Challenge. Weder nach der ersten noch nach der zweiten Challenge konnte eine Veränderung der Lymphozytenproliferation festgestellt werden.

Bei den Mitogenen ConA und PHA zeigten die Kühe mit einer mittleren Leistung am Tag 2 am Anfang der Laktation nach der Stimulierung mit dem Paramunitätsinducer eine signifikant höhere Lymphozytenproliferation im Vergleich zu den Kühen mit einer hohen Leistung ( $p < 0,05$ ). Nach der 2. Challenge bestanden zwischen den Leistungsgruppen keine signifikanten Unterschiede mehr. An den Tagen 2 und 7 in der Laktationsmitte nach der Applikation des Stimulus wies die Gruppe der Kühe mit einer mittleren Leistung bei allen drei Mitogenen nur noch eine tendenziell höhere Lymphozytenproliferation im Vergleich mit der Gruppe der Kühe mit einer hohen Leistung auf.

Tabelle 4.11: Mittlere Lymphozytenproliferation bei den Kühen in den Gruppen M und H mit den Mitogenen ConA, PHA und PWM vor und nach der Challenge am Anfang und in der Mitte der Laktation

		<b>Gruppe</b>					
		<b>M</b> (n = 34)	<b>H</b> (n = 34)	<b>M</b> (n = 34)	<b>H</b> (n = 34)	<b>M</b> (n = 34)	<b>H</b> (n = 34)
		<b>Untersuchungstag</b>					
<b>Laktationszeitpunkt</b>	<b>Mitogen</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2</b> (nach der 1. Challenge)	<b>2</b> (nach der 1. Challenge)	<b>7</b> (nach der 2. Challenge)	<b>7</b> (nach der 2. Challenge)
<b>LA</b>	<b>ConA</b>	2,1 ± 1,1	1,8 ± 0,9	2,4 <sup>a</sup> ± 0,9	1,9 <sup>b</sup> ± 0,9	2,1 ± 1,2	1,9 ± 1,0
	<b>PHA</b>	1,6 ± 0,6	1,5 ± 0,5	1,8 <sup>a</sup> ± 0,6	1,4 <sup>b</sup> ± 0,4	1,6 ± 0,5	1,5 ± 0,5
	<b>PWM</b>	1,9 ± 0,8	1,8 ± 0,6	2,0 ± 0,7	1,9 ± 1,1	2,0 ± 0,7	1,9 ± 0,8
<b>LM</b>	<b>ConA</b>	2,2 ± 0,9	2,0 ± 1,2	2,4 ± 1,9	1,7 ± 0,7	2,1 ± 1,0	1,9 ± 1,0
	<b>PHA</b>	1,6 ± 0,7	1,4 ± 0,4	1,7 ± 0,8	1,4 ± 0,5	1,3 ± 0,3	1,3 ± 0,4
	<b>PWM</b>	2,1 ± 0,8	2,0 ± 0,9	2,3 ± 1,1	1,8 ± 0,5	2,0 ± 0,6	1,8 ± 0,8

<sup>a,b</sup>Werte mit unterschiedlichen Indizes in der gleichen Zeile unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ )

**Zusammenfassend wird festgestellt:**

Nach der Challenge konnten weder Veränderungen der Stoffwechsel- noch hämatologischen Parameter festgestellt werden.

Hinsichtlich der Immunparameter reagierten in Abhängigkeit von dem Laktationszeitpunkt einzig die Kühe mit einer mittleren Leistung zu Beginn der Laktation auf die Challenge. Sie zeigten eine signifikanten Reduktion der Phagozytoseaktivität. Bei allen anderen Immunparametern konnte weder bei den Kühen mit einer mittleren noch mit einer hohen Leistung zu keinem Zeitpunkt der Laktation eine signifikante Reaktion auf die Challenge nachgewiesen werden.

Im Vergleich der beiden Leistungsgruppen zeigten die Kühe mit einer mittleren Leistung nach der Challenge eine signifikant höhere Lymphozytenproliferation als die Kühe mit einer hohen Leistung. Darüber hinaus waren keine unterschiedlichen Reaktionen nach der Challenge der Kühe in den beiden Leistungsgruppen M und H erkennbar.

#### 4.2.4 Beziehung zwischen Parametern der Tiergesundheit und einer akuten Erkrankung zu Beginn der Laktation am Untersuchungstag 0

Die Beziehungen zwischen einer akuten Erkrankung zu Beginn der Laktation und den Parametern der Tiergesundheit wurden anhand des Vergleichs der Ergebnisse am Untersuchungstag 0 der Gruppen mit den klinisch gesunden Kühen (Gruppen M und H) und der Gruppe mit den klinisch erkrankten Kühen (Gruppe K) überprüft.

##### 4.2.4.1 Stoffwechselfparameter

In der Tabelle 4.12 sind die Ergebnisse der Stoffwechselfparameter im Vergleich der klinisch erkrankten Kühe (Gruppe K) und der klinisch gesunden Kühe (Gruppen M und H) am Tag 0 der Untersuchung dargestellt. Die Gruppe der klinisch erkrankten Kühe zeigte gegenüber den klinisch gesunden Kühen der Gruppen M und H keine signifikanten Unterschiede in den Konzentrationen bzw. Aktivitäten der untersuchten Stoffwechselfparameter. Wie auch bei den klinisch gesunden Kühen bewegte sich die Konzentration der Freien Fettsäuren der klinisch erkrankten Kühe oberhalb des Referenzbereiches. Alle anderen Stoffwechselfparameter lagen innerhalb der physiologischen Grenzen.

Tabelle 4.12: Mittlere Konzentrationen verschiedener Stoffwechselfparameter im Vergleich der Gruppen M, H und K am Untersuchungstag 0

	Gruppe			Referenzbereiche (Kraft u. Dürr, 2005)
	M (n = 34)	H (n = 34)	K (n = 20)	
<b>BHB (mmol/l)</b>	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,4 ± 0,2	< 0,6
<b>Glucose (mmol/l)</b>	3,4 ± 0,5	3,5 ± 0,5	3,3 ± 0,4	2,2-3,3
<b>FFS (µmol/l)</b>	867 ± 336	1168 ± 616	683 ± 327	< 350
<b>Bilirubin (mmol/l)</b>	4,4 ± 3,2	4,0 ± 1,6	3,3 ± 3,0	< 5
<b>Cholesterol (mmol/l)</b>	2,6 ± 0,6	3,2 ± 0,9	2,8 ± 0,8	> 2,5
<b>Gesamtprotein (g/l)</b>	81,5 ± 7,4	84,3 ± 6,0	80,5 ± 6,6	60-80
<b>Harnstoff (mmol/l)</b>	5,0 ± 1,6	4,9 ± 1,4	4,1 ± 1,1	2,5-5,0
<b>ASAT (U/l)</b>	66,1 ± 26,1	72,5 ± 20,9	74,1 ± 30,2	< 80
<b>GLDH (U/l)</b>	31,7 ± 40,5	25,0 ± 31,3	19,1 ± 17,5	< 30
<b>GGT (U/l)</b>	28,3 ± 6,7	27,7 ± 10,8	37,6 ± 26,4	< 50
<b>Kalzium (mmol/l)</b>	2,49 ± 0,18	2,47 ± 0,13	2,43 ± 0,14	2,3-2,8
<b>Phosphor (mmol/l)</b>	1,55 ± 0,30	1,57 ± 0,32	1,58 ± 0,25	1,55-2,29

#### 4.2.4.2 Hämatologische Parameter

In Tabelle 4.13 sind die Ergebnisse der hämatologischen Parameter am Untersuchungstag 0 im Vergleich der klinisch erkrankten und klinisch gesunden Kühe dargestellt. Die klinisch erkrankten Kühe zeigten einen signifikant geringeren Hämatokrit als die Kühen mit einem mittleren Leistungsniveau ( $p < 0,05$ ). Im Vergleich mit den Kühen mit einer hohen Leistung bestand kein Unterschied. Im Bezug auf die Leukozytenzahl war ein vergleichbares Ergebnis festzustellen. Die klinisch erkrankten Kühe wiesen eine signifikant geringere Leukozytenzahl als die Kühe mit einer mittleren Leistung auf ( $p < 0,05$ ). Von den Kühen mit einer hohen Leistung unterschieden sich die klinisch erkrankten Kühe nicht. Darüber hinaus zeigten die klinisch kranken Tiere keine signifikanten Unterschiede in den übrigen hämatologischen Parametern gegenüber den klinisch gesunden Kühen.

Tabelle 4.13: Ergebnisse ausgewählter hämatologischer Parameter am Untersuchungstag 0 im Vergleich der Gruppen M, H und K

	Gruppe			Referenzbereiche (Kraft u. Dürr, 2005)
	M (n = 34)	H (n = 34)	K (n = 20)	
<b>Hämatokrit (%)</b>	33 <sup>a</sup> ± 2,2	31 <sup>b</sup> ± 2,2	30 <sup>b</sup> ± 3,8	28-38
<b>Leukozytenzahl (G/l)</b>	7,8 <sup>a</sup> ± 1,9	7,1 <sup>ab</sup> ± 1,9	6,6 <sup>b</sup> ± 2,5	2,2-3,3
<b>Erythrozytenzahl (T/l)</b>	6,9 ± 0,5	6,6 ± 0,5	6,5 ± 0,8	5-10 T/l
<b>Stabkernige Granulozyten (%)</b>	0,2 ± 0,6	0,2 ± 0,5	0,1 ± 0,3	0-3 %
<b>Segmentkernige Granulozyten (%)</b>	40,1 ± 14,2	41,3 ± 16,4	33,7 ± 16,1	25-45 %
<b>Lymphozyten (%)</b>	56,9 ± 14,6	56,1 ± 17,8	62,9 ± 16,1	45-65 %
<b>Monozyten (%)</b>	0,4 ± 0,8	0,2 ± 0,6	0,8 ± 2,1	2-6 %
<b>Basophile Granulozyten (%)</b>	0,3 ± 0,8	0,5 ± 0,9	0,2 ± 0,4	0-2 %
<b>Eosinophile Granulozyten (%)</b>	2,0 ± 3	2,0 ± 2	2,0 ± 3	1-10 %

<sup>a,b</sup> Werte mit unterschiedlichen Indizes in der gleichen Zeile unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ )

#### 4.2.4.3 Immunparameter

##### a) Phagozytoseaktivität

In der Tabelle 4.14 sind die Ergebnisse der Phagozytoseaktivität der klinisch erkrankten und gesunden Kühen am Untersuchungstag 0 dargestellt. Die klinisch kranken Kühe zeigten keine Unterschiede in der Phagozytoseaktivität im Vergleich zu den klinisch gesunden Kühen.

Tabelle 4.14: Mittlere Phagozytoseaktivität am Untersuchungstag 0 im Vergleich der Gruppen M, H und K

Gruppe		
M (n = 34)	H (n = 34)	K (n = 20)
32,1 ± 9,3	27,8 ± 7,5	30,1 ± 10,1

##### b) Vollblutbakterizidie

In der Tabelle 4.15 ist die Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut am Tag 0 der Untersuchung im Vergleich der klinisch erkrankten und klinisch gesunden Kühe dargestellt. Zwischen den klinisch erkrankten Kühen und den klinisch gesunden Kühen kein signifikanter Unterschied in der Abtötungsrate pro Zeiteinheit.

Tabelle 4.15: Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut am Untersuchungstag 0 im Vergleich der Gruppen M, H und K

Gruppe		
M (n = 34)	H (n = 34)	K (n = 20)
0,48 ± 0,29	0,45 ± 0,37	0,48 ± 0,31

##### c) Lymphozytenproliferation

In der Abbildung 4.12 ist die Lymphozytenproliferation mit dem Mitogen PHA im Vergleich der klinisch erkrankten und gesunden Kühen veranschaulicht. Die klinisch erkrankten Kühe zeigten eine signifikant geringere Lymphozytenproliferation mit dem Mitogen PHA (1,2) im Vergleich zu den beiden Gruppen der klinisch gesunden Kühe (M = 1,6; H = 1,5) ( $p < 0,05$ ).

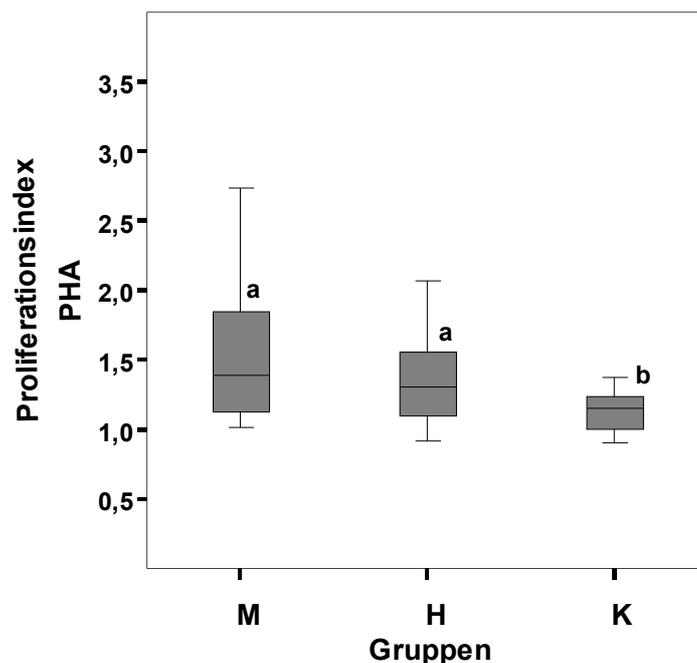


Abbildung 4.12: Proliferationsindex der Lymphozytenproliferation mit dem Mitogen PHA am Untersuchungstag 0 im Vergleich der Gruppen M, H und K (Gruppe M und H: n = 34; Gruppe K: n = 20)

Die Ergebnisse der Lymphozytenproliferation mit den Mitogen ConA und PWM sind in der Tabelle 4.16 abgebildet. Bei der Lymphozytenproliferation mit den Mitogenen ConA und PWM bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den klinisch erkrankten und den klinisch gesunden Kühen.

Tabelle 4.16: Proliferationsindex der Lymphozytenproliferation mit dem Mitogenen ConA und PWM am Untersuchungstag 0 im Vergleich der Gruppen M, H und K

Mitogen	Gruppe		
	M (n = 34)	H (n = 34)	K (n = 20)
ConA	2,1 ± 1,1	1,8 ± 0,9	1,6 ± 0,6
PWM	1,9 ± 0,8	1,8 ± 0,6	1,5 ± 0,4

#### d) Spezifische Antikörperproduktion

Die Ergebnisse der initialen spezifischen Antikörperproduktion 14 Tage nach der Impfung der klinisch erkrankten und klinisch gesunden Kühe sind in der Tabelle 4.17 dargestellt. Die klinisch erkrankten Kühe wiesen keine Unterschiede in der initialen Antikörperproduktion im Vergleich zu den klinisch gesunden Kühen auf.

Tabelle 4.17: Mittlere initiale Antikörperbildung 14 Tage nach Applikation des Tollwutimpfstoffes im Vergleich der Gruppen M, H und K

<b>Gruppe</b>		
<b>M</b> (n = 34)	<b>H</b> (n = 34)	<b>K</b> (n = 20)
4,78 ± 3,75	5,41 ± 3,62	6,06 ± 2,69

**Zusammenfassend wird festgestellt:**

Die klinisch erkrankten Kühe zeigten im Vergleich mit den klinisch gesunden Kühen keine unterschiedlichen Konzentrationen bzw. Aktivitäten der untersuchten Stoffwechselfparameter.

Hinsichtlich der hämatologischen Parameter wiesen die klinisch erkrankten Kühe eine signifikant geringere Leukozytenzahl sowie einen signifikant geringeren Hämatokrit als die klinisch gesunden Kühe auf. Sowohl die Anzahl der Leukozyten als auch der Hämatokrit bewegten sich dabei innerhalb des Referenzbereiches.

Bis auf die Lymphozytenproliferation mit dem Mitogen PHA konnten keine signifikanten Unterschiede in den Immunparametern zwischen den klinisch erkrankten und den klinisch gesunden Kühen dargestellt werden. Ein Einfluss der klinischen Erkrankung konnte anhand der Immunparameter nicht nachgewiesen werden.

**4.2.5 Parameter der Tiergesundheit der klinisch erkrankten Kühe nach Stimulierung mit einem Paramunitätsinducer**

**4.2.5.1 Stoffwechselfparameter**

Die klinisch erkrankten Kühe reagierten ebenso wie die klinisch gesunden Kühe auf die Challenge mit keiner Veränderung der Konzentrationen bzw. Aktivitäten der Stoffwechselfparameter. Nach der Challenge zeigten die klinisch erkrankten und klinisch gesunden Kühe keine Unterschiede in den Ergebnissen der Stoffwechselfparameter (siehe Tabelle A1 im Anhang).

**4.2.5.2 Hämatologische Parameter**

Sowohl die hämatologischen Parameter der klinisch erkrankten als auch die der klinisch gesunden

Kühe veränderten sich nach der Challenge nicht. Es bestanden keine Unterschiede in den Werten nach der Challenge zwischen den klinisch erkrankten und den klinisch gesunden Kühen (siehe Tabelle A 2im Anhang).

#### 4.2.5.3 Immunparameter

##### a) Phagozytoseaktivität

In der Tabelle 4.18 ist die Phagozytoseaktivität vor und nach der Challenge im Vergleich der klinisch erkrankten und klinisch gesunden Kühe dargestellt. Von den klinisch gesunden Kühen reagierten einzig die Kühe mit einer mittleren Leistung auf die Challenge mit einer Reduktion der Phagozytoseaktivität von Tag 0 zu Tag 2 (  $p < 0,05$ ). Die Kühe mit einer hohen Leistung und die klinisch erkrankten Kühe zeigten weder auf die Challenge am Tag 0 noch am Tag 2 eine Reaktion. In der Phagozytoseaktivität der klinisch erkrankten und klinisch gesunden Kühe war an den Tagen nach der Challenge kein Unterschied festzustellen.

Tabelle 4.18: Mittlere Phagozytoseaktivität vor und nach der Challenge im Vergleich der Gruppen M, H und K

Gruppe	Untersuchungstag		
	0	2 (nach der 1. Challenge)	7 (nach der 2. Challenge)
<b>M</b> (n = 34)	32,1 <sup>a</sup> ± 9,3	25,7 <sup>b</sup> ± 6,5	27,7 <sup>ab</sup> ± 10,0
<b>H</b> (n = 34)	27,8 ± 7,5	26,4 ± 7,7	28,9 ± 9,0
<b>K</b> (n = 20)	30,1 ± 10,1	27,2 ± 6,1	30,0 ± 9,2

<sup>a,b</sup>Werte mit unterschiedlichen Indizes in der gleichen Zeile unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ )

##### b) Vollblutbakterizidie

Die Tabelle 4.19 zeigt die Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut vor und nach der Applikation des Stimulus der klinisch erkrankten und gesunden Kühe. Die klinisch erkrankten Kühe zeigten ebenso wie die klinisch gesunden Kühe weder nach der ersten noch nach der zweiten Challenge eine Veränderung der Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut.

Tabelle 4.19: Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut vor und nach der Challenge im Vergleich der Gruppen M, H und K

Gruppe	Untersuchungstag		
	0	2 (nach der 1. Challenge)	7 (nach der 2. Challenge)
<b>M</b> (n = 34)	0,48 ± 0,29	0,49 ± 0,35	0,51 ± 0,36
<b>H</b> (n = 34)	0,45 ± 0,37	0,48 ± 0,32	0,45 ± 0,34
<b>K</b> (n = 20)	0,48 ± 0,31	0,39 ± 0,34	0,45 ± 0,42

### c) Lymphozytenproliferation

In der Tabelle 4.20 ist die mittlere Lymphozytenproliferation mit den Mitogenen ConA, PHA und PWM vor und nach der Challenge im Vergleich der Gruppen M, H und K dargestellt. Die klinisch erkrankten Kühe wiesen nach der ersten Challenge eine signifikante Erhöhung der Lymphozytenproliferation mit dem Mitogen PHA auf ( $p < 0,05$ ). Bei den anderen Mitogenen zeigten sie wie die klinisch gesunden Kühe keine Reaktion auf die Challenge. Nach der 2. Challenge zeigten die klinisch erkrankten Kühe ebenso wie die klinisch gesunden Kühe keine signifikanten Veränderungen der Lymphozytenproliferation. Am Untersuchungstag 2 nach der Challenge zeigten die klinisch kranken Kühe bei den drei eingesetzten Mitogenen eine signifikant geringere Lymphozytenproliferation gegenüber den Kühen mit einer mittleren Leistung. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen beschränkte sich am Untersuchungstag 7 auf das Mitogen PHA ( $p < 0,05$ ).

Tabelle 4.20: Mittlere Lymphozytenproliferation mit den Mitogenen ConA, PHA und PWM vor und nach der Challenge im Vergleich der Gruppen M, H und K

Mitogen	Gruppe	Untersuchungstag		
		0	2 (nach 1. Challenge)	7 (nach 2. Challenge)
ConA	M (n = 34)	2,1 ± 1,1	2,4 <sup>A</sup> ± 0,9	2,1 ± 1,2
	H (n = 34)	1,8 ± 0,9	1,9 <sup>B</sup> ± 0,9	1,9 ± 1,0
	K (n = 20)	1,6 ± 0,6	1,8 <sup>B</sup> ± 0,7	1,7 ± 0,6
PHA	M (n = 34)	1,6 ± 0,6	1,8 <sup>A</sup> ± 0,6	1,6 <sup>A</sup> ± 0,5
	H (n = 34)	1,5 ± 0,5	1,4 <sup>B</sup> ± 0,4	1,5 <sup>AB</sup> ± 0,5
	K (n = 20)	1,2 <sup>a</sup> ± 0,3	1,4 <sup>b,B</sup> ± 0,5	1,4 <sup>b,B</sup> ± 0,4
PWM	M (n = 34)	1,9 ± 0,8	2,0 <sup>A</sup> ± 0,7	2,0 ± 0,7
	H (n = 34)	1,8 ± 0,6	1,9 <sup>AB</sup> ± 0,6	1,9 ± 0,8
	K (n = 20)	1,5 ± 0,4	1,6 <sup>B</sup> ± 0,6	1,7 ± 0,7

<sup>a,b</sup>Werte mit unterschiedlichen Indizes in der gleichen Zeile unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ )

<sup>A,B</sup>Werte mit unterschiedlichen Indizes zwischen den Gruppen bei einem Mitogen unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ )

### Zusammenfassend wird festgestellt:

Nach der Challenge konnten bei den klinisch erkrankten Kühen keine Veränderungen der Stoffwechsel- und hämatologischen Parameter festgestellt werden.

Die klinisch erkrankten Kühe zeigten nach der Challenge eine signifikant höhere Lymphozytenproliferation mit dem Mitogen PHA am Untersuchungstag 2. Im Vergleich zu den gesunden Tiere wiesen die klinisch erkrankten Kühe am Tag 2 bei allen drei Mitogenen und am Tag 7 bei dem Mitogen PHA eine signifikant geringere Lymphozytenproliferation als die Kühe mit einer mittleren Leistung auf. Anhand der weiteren Immunparameter konnten keine signifikant unterschiedlichen Reaktionen auf die Challenge der klinisch erkrankten und klinisch gesunden Kühe nachgewiesen werden.

## **5. Diskussion**

Bei den vorangestellten Untersuchungen stand die Frage im Vordergrund, ob und inwieweit metabolische Belastungszustände durch den Laktationszeitpunkt, die Höhe der Milchleistung und Belastungen durch eine akute klinische Erkrankung von Milchkühen mit Hilfe von Parametern der Immunabwehr und der Reaktion der Immunabwehr auf einen Stimulus abgebildet werden können. Daneben kamen Stoffwechselfparameter sowie hämatologische Parameter zur Einschätzung der Belastungszustände zum Einsatz.

### **5.1 Einzeltierübersicht der immunologischen Parameter**

Die Ergebnisse der immunologischen Parameter wurden zunächst ohne eine Gruppenbildung für die einzelnen in den Versuch einbezogenen Kühe an allen 6 Untersuchungstagen dargestellt, um einen Überblick über die Variation der Parameter zu gewinnen.

Zur Beurteilung der Analysenwerte von stoffwechselrelevanten und hämatologischen Parametern werden diese in der Regel in Relation zu Referenzbereichen gesetzt. Tiere, deren Werte innerhalb des Referenzbereiches liegen, werden im allgemeinen als gesund und Tiere, deren Werte außerhalb des Referenzbereiches liegen, als krank eingestuft. Weil die Variationsbreite von Werten gesunder Tiere mit denen kranker Tiere überlappen, ist die Grenze des Referenzbereiches jedoch nicht die Grenze zum pathologischen Bereich (SUNDRUM, 1997).

Den Referenzbereichen liegen die klinisch-chemischen sowie hämatologischen Messdaten klinisch gesunder Tiere zugrunde. Die Festlegung wird nach verschiedenen Gesichtspunkten mit Hilfe statistischer Maßzahlen wie arithmetisches Mittel und Standardabweichung vorgenommen (WILLER und LEOPOLD, 1989). Die Berechnung der Toleranzgrenzen erfolgt je nach Häufigkeitsverteilung parametrisch oder nicht parametrisch. Der Aussagegehalt parametrischer oder nicht parametrischer Methoden wird wesentlich vom Probenumfang bestimmt. Je nach dem Grad von Schiefe und Exzess sind etwa 200 bis 400 Beobachtungen bei normal- bzw. lognormalverteilten Merkmalen erforderlich (LINNET, 1987). Neben der Geburt existieren zahlreiche Faktoren, die auf die Konzentration bzw. Aktivität einwirken und damit erhebliche praktische Schwierigkeiten und Unsicherheiten in der Anwendung von Referenzbereichen verursachen können (SUNDRUM, 1997). LEHWENICH (1999) konnte in seiner Untersuchung deutliche Unterschiede in den Referenzbereichen der Parameter von Stoffwechsel und Hämatologie zu verschiedenen Laktationszeitpunkten feststellen. Nach FÜRLL (2002) hat sich ein modifiziertes Verfahren bewährt, das die sog. Kontroll-(K) sowie Toleranz-(T)grenzen für die Stoffwechselkontrolle bei Kühen beschreibt. Kontrollgrenzen entsprechen dem arithmetischen Mittelwert plus/minus halber

Standardabweichung, Toleranzgrenzen dem arithmetischen Mittelwert plus/minus einfacher Standardabweichung. Demnach liegt eine Gesundheits- bzw. Leistungsgefährdung dann vor, wenn der analysierte Gruppenwert außerhalb der Kontrollgrenzen liegt oder wenn sich  $> 20\%$  der Einzelwerte außerhalb der Toleranzgrenzen befinden.

Für Immunparameter liegen in der Literatur keine Angaben zu Referenzwerten vor, da für immunologische Testverfahren eine Vielzahl voneinander abweichende Methodenbeschreibungen bestehen. Jedes immunologische Testverfahren hat dabei ein spezifisches Spektrum labortechnischer und methodischer Varianzursachen (KRISTENSEN et al., 1981). Die Vergleichbarkeit der Resultate zwischen verschiedenen Untersuchungslabors in Abhängigkeit von der jeweiligen Methode ist daher in erheblichem Maß eingeschränkt. Das erschwert die Beurteilung von Ergebnissen aus verschiedenen Untersuchungen und verhindert, dass anhand von Einzelwerten Aussagen über den immunologischen Status eines Tieres getroffen werden.

## **5.2 Beziehungen zwischen dem Laktationszeitpunkt, der Milchleistung und den ausgewählten Parametern der Tiergesundheit**

### **5.2.1 Stoffwechselfparameter**

#### **Laktationsstadium**

Zu Beginn der Laktation kann als Folge der Diskrepanz zwischen der drastisch ansteigenden Milchleistung und dem begrenzten Futteraufnahmevermögen eine negative Energiebilanz entstehen (FLACHOWSKY et al., 2002). Der Organismus wirkt dem Energiedefizit durch die Mobilisierung körpereigener Reserven entgegen. Dadurch kommt es nach SCHOLZ (1990) zu einem Anstieg der Freien Fettsäuren im Blut. Eine erhöhte Konzentration der Freien Fettsäuren weist auf einen akuten Energiemangel hin (FÜRLL, 1992). In der eigenen Untersuchung wurde zu Beginn der Laktation eine signifikant höhere mittlere Konzentration der Freien Fettsäuren im Vergleich zu der Mitte der Laktation bei den Kühen in beiden Leistungsgruppen festgestellt. Ferner lag die mittlere Konzentration der Freien Fettsäuren der Kühe in beiden Leistungsgruppen zu Beginn der Laktation außerhalb des Referenzbereiches, während sich die mittlere Konzentration in der Mitte der Laktation wieder innerhalb der Grenzen des Referenzbereiches bewegte. Die Ergebnisse deuten auf eine bestehende Energiemangelsituation bei einem Großteil der Versuchskühe zu Beginn der Laktation hin.

Bei einem Anstieg der Freien Fettsäuren werden diese vermehrt zu Ketonkörpern umgebaut, so dass eine erhöhte Konzentration der Ketonkörper in Folge eines Energiemangels bei Hochleistungskühen

in den ersten Laktationswochen entsteht (FÜRLL, 2002). ZAHN (2006) konnte in ihrer Studie über die Stoffwechseluntersuchung bei klinisch gesunden Kühen unter besonderer Berücksichtigung der Superoxid-Dismutase eine erhöhte Konzentration der Ketonkörper in der Frühaktation ermitteln. Die Untersuchung der Kühe erfolgte in der Laktationsperiode von 4-5 Wochen vor bis 8-12 Wochen nach der Geburt. Bis zwei Wochen nach der Geburt kam es zu einem signifikanten Anstieg der Konzentration von  $\beta$ -Hydroxybuttersäure über den Referenzbereich hinaus gegenüber der Konzentration eine Woche vor der Geburt. Bis 12 Wochen nach der Geburt erfolgte wiederum ein deutlicher Abfall der  $\beta$ -Hydroxybuttersäure-Gehalte im Blut. Ähnliche Ergebnisse hinsichtlich der Konzentration von  $\beta$ -Hydroxybuttersäure zu Beginn der Laktation fanden auch REIST et al. (2003), WILKEN (2003) und HOEDEMAKER et al. (2004). In der eigenen Untersuchung konnte eine signifikant höhere  $\beta$ -Hydroxybuttersäure-Konzentration zu Beginn der Laktation als in der Mitte der Laktation festgestellt werden. Die Konzentration lag jedoch im Gegensatz zu der Untersuchung von ZAHN (2006) zu beiden Zeitpunkten innerhalb des Referenzbereiches.

Die bei einer unzureichenden Energieaufnahme durch forcierte Lipolyse anfallenden Fettsäuren konkurrieren mit dem Bilirubin um dieselben Transportproteine (KRAFT und DÜRR, 2005). Eine Erhöhung der Bilirubinkonzentration im Blut ist die Folge. Dementsprechend fanden LOTTHAMMER (1988) wie auch ZAHN (2006) erhöhte Bilirubinkonzentrationen ein bis zwei Wochen nach der Geburt, die bis 10-12 Wochen nach der Geburt wieder innerhalb des Referenzbereiches lagen. In der eigenen Untersuchung war die Konzentration des Bilirubins zwar zu Beginn der Laktation höher im Vergleich zu der Mitte der Laktation, jedoch konnte keine Erhöhung über den Referenzbereich hinaus festgestellt werden.

WILKEN (2003) konnte in ihrer Untersuchung eine Erhöhung der Bilirubinkonzentration über den Referenzbereich nur in der 1. Woche *post partum* feststellen. Nach der 1. Woche wurde der Grenzwert für Bilirubin nicht mehr überschritten.

Mit der Verbesserung der energetischen Versorgung steigt die Lipoproteinsynthese der Leber und damit der Blutcholesterolgehalt an (BAUER, 1990). Dieser Zusammenhang wird von den Ergebnissen der eigenen Untersuchung bestätigt, wonach die Kühe in beiden Leistungsgruppen in der Mitte der Laktation eine signifikant höhere Cholesterolkonzentration als zu Beginn der Laktation aufwiesen. ZAHN (2006) fand ebenfalls einen signifikanten Anstieg der Cholesterolkonzentration ab der 2. Woche bis 12 Wochen nach der Geburt.

Nach ROSSOW (2003) ist die bei einer negativen Energiebilanz auftretende Ketose stets durch erhöhte Mobilisation von Körperfett und einen Mangel an Glucose gekennzeichnet. Ein Mangel an Glucose bestand bei den Kühen in den beiden Leistungsgruppen der eigenen Untersuchung nicht.

Die mittleren Konzentrationen der Glucose bewegte sich bei den Kühen in beiden Leistungsgruppen an der oberen Grenze des Referenzbereiches. Zur Bewertung der Plasmakonzentration von  $\beta$ -Hydroxybuttersäure gibt ROSSOW (2003) eine Konzentration zwischen 1,05 und 3,26 mmol/l für die Diagnostik einer subklinischen Ketose an.

Unter Berücksichtigung der verschiedenen Stoffwechselfparameter kann geschlussfolgert werden, dass sich die Kühe in der vorangestellten Studie am Anfang der Laktation in einer gegenüber der Laktationsmitte negativen Energiebilanz befanden, da die Konzentrationen von  $\beta$ -Hydroxybuttersäure, Freien Fettsäuren, Bilirubins und Cholesterol zu Beginn der Laktation signifikant höher lagen als in der Mitte der Laktation. Aufgrund der Tatsache, dass die Parameter außer den Freien Fettsäuren nicht über den Referenzbereich hinaus erhöht waren, kann geschlussfolgert werden, dass bei den Kühen weder eine subklinische Ketose noch ein Fettmobilisationssyndrom vorlag.

Die Gehalte der Milchhaltsstoffe wiesen zumindest bei den Kühen mit einer hohen Leistung ebenfalls auf ein Energiedefizit zu Beginn der Laktation hin. Nach FÜRLL (2005) erlauben Analysen der Milchhaltsstoffe Rückschlüsse auf den Stoffwechselstatus. Die gegenläufigen Veränderungen des Milchfett- und Milcheiweißgehaltes bei Energiemangel bzw. -unterversorgung werden bei der Bildung des Fett/Eiweiß- Quotienten deutlicher als bei der einzelnen Betrachtung von Milchfett- und eiweiß. Bei einem Energie- bzw. Proteinmangel in der Futterration, dem Fettmobilisationssyndrom und bei sekundär gesteigerter Lipolyse ist der Quotient erhöht. In der eigenen Untersuchung zeigten die Kühe mit einem hohen Leistungsniveau zu Beginn der Laktation einen signifikant höheren Fett/Eiweiß- Quotienten als in der Laktationsmitte. Da der Quotient jedoch innerhalb des Referenzbereiches lag, bestand auch bei den Milchhaltsstoffen kein Hinweis auf eine verstärkte Lipolyse mit einem gesteigerten Umbau der Freien Fettsäuren zu Ketonkörpern.

In Bezug auf die untersuchten Enzyme konnten in der vorliegenden Studie in Abhängigkeit vom Laktationsstadium signifikant höhere Aktivitäten der Enzyme ASAT, GLDH und  $\gamma$ -GT bei den Kühen in beiden Leistungsgruppen in der Laktationsmitte im Vergleich zum Laktationsanfang festgestellt werden. Darüber hinaus befanden sich die Aktivitäten der Enzyme GLDH und  $\gamma$ -GT in der Laktationsmitte oberhalb des Referenzbereiches. Nach LOTTHAMMER et al. (1988) sind erhöhte GLDH-Aktivitäten besonders *postpartal* in der Frühaktation durch subklinische Leberschäden zu erwarten. Grundsätzlich muss bei einer Aktivitätssteigerung der GLDH eine potentielle Nierenfunktionsstörung ausgeschlossen werden, da die GLDH in hohem Maße auch in den Nieren vorkommt (FÜRLL, et al. 2002). Die Erhöhungen der Aktivität des Enzyms  $\gamma$ -GT haben nach SCHENDENWEIN (1995) ihre Ursache im hepatobiliären System, so dass das Enzym als

leberspezifisch angesehen werden kann. Die Aktivität von ASAT steigt bei Lebererkrankungen früh an, sie kann daher nach Ausschluss von Muskelschäden für die Diagnostik von akuten Lebererkrankungen genutzt werden (FÜLL, 2002). ZAHN (2006) fand eine signifikante Aktivitätssteigerung der GLDH ab der 2. Woche, die auch 12 Wochen nach der Geburt signifikant höher war als vor der Geburt. In der Untersuchung der Autorin blieb die Erhöhung innerhalb des Referenzbereiches. Bei der ASAT-Aktivität konnte die Autorin einen signifikanten Anstieg bis 2 Wochen nach der Geburt feststellen, bis 4 Wochen nach der Geburt bestand wiederum ein signifikanter Abfall. Aufgrund einer negativen Energiebilanz *post partum* und einer daraus folgenden Fettmobilisation fanden auch HOEDEMAKER et al. (2004) ein simultanes Ansteigen der ASAT- und GLDH-Aktivitäten während der ersten zwei Wochen *post partum*. Nach den Ergebnissen von MANSFELD et al. (1996) ist die Abnahme der ASAT-Aktivität mit zunehmender Laktationsdauer ein Ausdruck einer abnehmenden Leberbelastung im Laktationsverlauf. Bei der GLDH-Aktivität kommt es jedoch zu einer weniger starken Beeinflussung durch die Laktationsdauer. In der Untersuchung von LEHWENICH (1999) zur Durchführung der Stoffwechselüberwachung in der Bestandsbetreuung von Milchviehherden wurden die höchsten Aktivitäten der GLDH 3-5 Wochen *post partum* und der  $\gamma$ -GT 13-15 Wochen *post partum* festgestellt. Nur die Aktivität des Enzyms ASAT war in der ersten Woche *post partum* am höchsten. Dieses Enzym reagiert im Vergleich zu der GLDH und  $\gamma$ -GT früher auf eine Leberschädigung.

Nach TEICHMANN et al. (2002) spiegelt sich eine gesteigerte Lipolyserate bei einem Energiedefizit besonders in der Frühaktation in erhöhten Konzentrationen bzw. Aktivitäten von Bilirubin,  $\gamma$ -GT, Harnstoff, Triacylglycerol und GLDH wieder.

In der eigenen Untersuchung konnte anhand der Enzymaktivitäten keine erhöhte Leberbelastung zu Laktationsbeginn festgestellt werden. Die Ergebnisse der Leberenzyme befanden sich in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Parameter  $\beta$ -Hydroxybuttersäure, Bilirubin und Cholesterol. Die erhöhten Konzentrationen der Freien Fettsäuren zu Beginn der Laktation weisen zwar auf eine negative Energiebilanz zu diesem Zeitpunkt hin, jedoch befanden sich die Werte der übrigen Parameter innerhalb der Referenzbereiche. Das Vorliegen einer akuten Leberbelastung zu Beginn der Laktation kann somit ausgeschlossen werden.

Die erhöhten Aktivitäten von ASAT und GLDH in der Laktationsmitte weisen auf eine erhöhte Beanspruchung des Leberstoffwechsels zu diesem Zeitpunkt der Laktation hin. Im Zusammenhang mit den im Anschluss diskutierten erhöhten Harnstoffkonzentrationen ist die erhöhte Beanspruchung des Leberstoffwechsels möglicherweise die Folge eines Rohproteinüberschusses in der Laktationsmitte. Dementsprechend fand SUNDRUM (1997) eine erhöhte AST-Aktivität bei

Milchkühen mit einer exzessiven Rohproteinversorgung.

Die in der Laktationsmitte höheren Gehalte an Harnstoff und Gesamteiweiß im Blut entsprechen den Ergebnissen von LEHWENICH (1999), der die höchsten Harnstoff- und Gesamtproteingehalte in den Wochen 13-15 *post partum* fand. In dieser Phase sollte nach MANSFELD et al. (1996) und LEHWENICH (1999) die Energiebilanz positiv sein und die Milchleistungskurve ihren Gipfel überschritten haben, so dass bei einer höheren Konzentration des Harnstoffs von einer Rohproteinübersorgung ausgegangen werden kann. In der Untersuchung von ZAHN (2006) lag die Konzentration von Gesamtprotein 4 Wochen nach der Geburt höher gegenüber den Werten vor und direkt nach der Geburt. GOFF und HORST (1997) sehen eine geringere Gesamtproteinkonzentration in der Frühaktation im Zusammenhang mit einer verzögerten Anpassung des Pansens an eine veränderte höherenergetische Futtermittellage.

Die in der Laktationsmitte im Vergleich zum Anfang der Laktation höheren Konzentrationen von Kalzium und Phosphor in der eigenen Untersuchung bestätigen die Ergebnisse von LEHWENICH (1999). Der Autor fand sowohl beim Kalzium als auch beim Phosphor die niedrigsten Konzentrationen in der ersten Woche *post partum*. Zu einem ähnlichen Ergebnis kam auch ZAHN (2006), wonach die Konzentration von Kalzium bis 12 Wochen nach der Geburt anstieg. Die geringeren Konzentrationen von Kalzium und Phosphor sind die Folge eines drastischen Anstiegs der Mineralstoffausscheidung über die Milch zu Beginn der Laktation.

### **Milchleistung**

Nach LOTTHAMMER (1999) entsteht besonders bei der Hochleistungskuh eine Konkurrenzsituation zwischen der Milchleistung und der Gesundheit als Folge einer starken Stoffwechsel- und Leberbelastung mit entsprechenden Risiken vor allem in den ersten Wochen nach der Geburt. Entsprechend kann bei höherer Milchleistung eine Reihe von Körperfunktionen, insbesondere der Leber, der Fortpflanzungsorgane und auch der Immunabwehr, beeinträchtigt werden. Das erhöhte Risiko einer Erkrankung bei hohen Milchmengenleistungen entsteht durch das begrenzte Futteraufnahmevermögen in der Frühaktation und die damit verbundene Gefahr einer defizitären Energieversorgung. Die Versorgung der Hochleistungskühe mit hoher Energie und gleichzeitig ausreichend strukturwirksamer Substanzen ist ungleich schwieriger als bei niederleistenden Tieren (FLACHOWSKY et al., 2002). Dementsprechend liegt die Belastung, die von einer hohen Milchleistung ausgeht, vor allem in einem höheren Energiedefizit und den damit einhergehenden Stoffwechselbelastungen. Im Hinblick auf das Verhältnis von der Milchleistung zu den Stoffwechselparametern, die die Energieversorgung abbilden, konnten WARD und PARKER

(1999) sowie WILKEN (2003) keine signifikante Beziehung zwischen der Konzentration der  $\beta$ -Hydroxybuttersäure und der Milchleistung feststellen. Nach ROSSOW et al. (1991) stehen dagegen die Ketonkörperkonzentrationen und die Milchleistung in einem proportionalen Verhältnis. Die eigenen Ergebnisse wiesen in diesem Zusammenhang eine signifikant positive Korrelation zwischen der Milchleistung und der Konzentration der Freien Fettsäuren auf, während die Konzentration der  $\beta$ -Hydroxybuttersäure von der Milchleistung unbeeinflusst blieb.

Ein erhöhtes Energiedefizit der Kühe mit einem hohen Leistungsniveau konnte in der vorliegenden Untersuchung nicht nachgewiesen werden. Die Kühe mit einer hohen Milchleistung wiesen bis auf den Cholesterolgehalt keine Unterschiede in den Konzentrationen bzw. Aktivitäten der untersuchten Stoffwechselfparameter im Vergleich zu den Kühen mit einer mittleren Leistung auf. Hinsichtlich des Cholesterols zeigten die Kühe mit einer hohen Leistung eine sowohl am Anfang als auch in der Mitte der Laktation signifikant höhere Konzentration als die Kühe mit einer mittleren Leistung. Nach BAUER (1990) weist eine höherer Gehalt von Cholesterol im Blut auf eine bessere Energieversorgung hin.

## **5.2.2 Hämatologische Parameter**

### **Laktationsstadium**

Die Kühe mit einer mittleren und einer hohen Leistung zeigten hinsichtlich der Gesamterthrozytenzahl, die Kühe mit einer hohen Leistung zusätzlich hinsichtlich des Hämatokrit-Wertes höhere Werte in der Laktationsmitte im Vergleich zum Laktationsanfang. Das Ergebnis der Erythrozytenzahl entspricht dem Ergebnis von LEHWENICH (1999). ZAHN (2006) fand keine Unterschiede in der Anzahl der Leukozyten, Lymphozyten, Neutrophile Granulozyten sowie beim Hämatokrit in Abhängigkeit von Laktationszeitpunkt. LEHWENICH (1999) ermittelte den geringsten Hämatokrit dagegen 13-15 Wochen post partum. Demgegenüber fanden BENYSEK (1971) und BLEUL und SOBIRAJ (2001) die höchsten Erythrozytenzahlen *intra-* bis drei Stunden *post partal*. STÄMPFLI (1981) beschrieb den höchsten Hämatokrit 10 Tage nach der Geburt. Nach BENYSEK (1971) steigen Erythrozytenzahl und Hämatokrit parallel in den letzten Monaten der Trächtigkeit an. Eine Veränderung der Leukozytenzahlen in Abhängigkeit vom Laktationszeitpunkt konnte weder in den Ergebnissen von LEHWENICH (1999) noch in der eigenen Untersuchung festgestellt werden. BLEUL und SOBIRAJ (2001) fanden die höchsten Leukozytenzahlen direkt um die Geburt herum.

## **Milchleistung**

Hinsichtlich der hämatologischen Parameter zeigten die Kühe mit einer mittleren Leistung zu Beginn der Laktation eine höhere Erythrozytenzahl und einen höheren Hämatokrit-Wert im Vergleich zu den Kühen mit einer hohen Leistung. Bei den weiteren hämatologischen Parametern konnten keine Unterschiede in Abhängigkeit von der Milchleistung festgestellt werden. Vergleichbare Ergebnisse liegen in der Literatur nicht vor.

### **5.2.3 Immunparameter**

#### **Laktationsstadium**

In der vorliegenden Untersuchung konnte bei den Kühen mit einem mittleren Leistungsniveau zu Beginn der Laktation eine höhere Phagozytoseaktivität als in der Mitte der Laktation festgestellt werden. Bei den Kühen mit einer hohen Leistung bestand dagegen kein Unterschied in der Phagozytoseaktivität in Abhängigkeit vom Laktationszeitpunkt. In der Literatur liegen nur wenige Angaben über die Phagozytoseaktivität von laktierenden Kühen zu verschiedenen Laktationszeitpunkten vor. DETILLEUX et al. (1995) konnten eine höhere Phagozytoseaktivität um den Geburtszeitraum im Vergleich zu der Periode 5-4 Wochen vor der Geburt feststellen. Daten zur Phagozytoseaktivität im Puerperium wurden nicht erhoben. Im Gegensatz zu den eigenen Ergebnissen ermittelten MEHRZARD et al. (2001) in ihrer Untersuchung über die Funktion von Neutrophilen Granulozyten während verschiedener Laktationszeitpunkte zu Beginn der Laktation die geringste Chemilumineszenz-Aktivität.

Als ein weiterer immunologischer Parameter wurde in der vorliegenden Arbeit die Bakterizidie des Vollblutes untersucht. Aufgrund einer angenäherten Linearität zwischen der Abtötungsrate und den Inkubationszeiten wurde die Differenz ( $\Delta$ ) der Abtötungsrate pro Zeiteinheit zwischen den Inkubationszeiten von 15 und 45 Minuten errechnet. Die Differenz ( $\Delta$ ) wurde als Abtötungsrate/min ausgegeben und beschreibt die Abtötung pro Zeiteinheit. Eine angenäherte Linearität zwischen der Abtötungsrate des Vollblutes und den gewählten Inkubationszeiten wurde auch von SUNDRUM (1997) festgestellt. In der eigenen Untersuchung konnte kein Unterschied in der Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut bei den Kühen in beiden Leistungsgruppen in Abhängigkeit von dem Laktationszeitpunkt nachgewiesen werden. In der Literatur bestehen keine Angaben zu dem Verhalten der Vollblutbakterizidie in Abhängigkeit von dem Laktationszeitpunkt.

Bei der Lymphozytenproliferation mit den Mitogenen ConA, PHA und PWM konnten ebenfalls für beide Leistungsgruppen keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Zeitpunkten zu Beginn und Mitte der Laktation festgestellt werden. In der Untersuchung von LESSARD et al. (2004)

stellten sich dagegen Unterschiede in der Lymphozytenproliferation in Abhängigkeit vom Laktationszeitpunkt dar. Die Autoren ermittelten die geringste Lymphozytenproliferation mit dem Mitogen ConA eine Woche nach der Geburt. Bis zu der 6. Woche nach der Geburt stieg die Lymphozytenproliferation an und erreichte dabei einen höheren Wert als 6 Wochen vor der Geburt. In der Untersuchung von KEHRLI et al. (1989) zeigten ebenfalls die Kühe um die Geburt herum die geringste Proliferationsrate der durch die Mitogene ConA, PHA und PWM stimulierten Lymphozyten. Bis zur 2. Woche nach der Geburt stieg die Lymphozytenproliferation wieder an.

Zur Erfassung der Reaktionen des spezifischen Immunsystems wurde in der eigenen Untersuchung den Kühen ein Tollwutimpfstoff appliziert, um die Antikörperbildung zu bestimmen. Das Ergebnis der Ak-Bildung beschränkt sich auf potentielle Unterschiede bei der parallelen Entwicklung im Laktationsverlauf. Derartige Unterschiede konnten nicht festgestellt werden.

In zahlreichen Arbeiten wurde der Einfluss eines Energiedefizites zu Beginn der Laktation auf die Immunabwehr untersucht. Dabei konnten vor allem negative Auswirkungen von Ketonkörpern auf die Immunantwort nachgewiesen werden. In der Untersuchung von HOEBEN et al. (2000) bestand eine signifikante Beziehung in Abhängigkeit vom Laktationszeitpunkt zwischen den Konzentrationen der  $\beta$ -Hydroxybuttersäure, der Freien Fettsäuren und des Bilirubins und der Chemilumineszenz-Aktivität der Neutrophilen Granulozyten. Danach erreichten die Konzentrationen dieser Stoffwechselfparameter die höchsten Werte in der 2. Woche nach der Geburt. Zu diesem Zeitpunkt wurde die geringste Chemilumineszenz-Aktivität der Neutrophilen Granulozyten festgestellt. Nach SURIYASATHAPORN et al. (1999) zeigten Kühe mit erhöhten Konzentrationen der  $\beta$ -Hydroxybuttersäure eine signifikant geringere Chemotaxis der Leukozyten im Vergleich zu Kühen mit geringeren Konzentrationen an  $\beta$ -Hydroxybuttersäure. In Untersuchungen von LACETERA et al. (2004) bewirkten bereits geringfügig erhöhte Konzentrationen der Freien Fettsäuren eine verminderte Lymphozytenproliferation.

In der vorliegenden Untersuchung wurde anhand der erhöhten Konzentrationen der Freien Fettsäuren bei einem Großteil der Kühe in den beiden Leistungsgruppen ein negatives Energiedefizit nachgewiesen. Im Zusammenhang mit einer von diesem Energiedefizit potentiell ausgehenden Belastung zu Beginn der Laktation konnten in der eigenen Untersuchung keine Unterschiede in den Immunparametern in Abhängigkeit von dem Laktationszeitpunkt festgestellt werden.

Die fehlende Übereinstimmung der Ergebnisse in der vorliegenden Studie mit den Angaben aus der Literatur ist möglicherweise in der Methodik der Untersuchungen begründet. SURIYASATHAPORN et al. (1999) sowie LACETERA et al. (2004) kamen zu ihren Ergebnissen

bei der Durchführung von *in-vitro* Untersuchungen. Die Autoren setzten verschiedene Konzentrationen von Ketonkörpern und freien Fettsäuren isolierten Zellsuspensionen zu, die danach eine verminderte Lymphozytenproliferation bzw. Chemotaxis aufwiesen. *In-vivo* scheinen dagegen erhöhte Konzentrationen von Freien Fettsäuren zu keiner Beeinträchtigung immunologischen Abwehr zu führen.

### **Milchleistung**

Abhängig von der Milchleistung konnten zwischen den Kühen mit mittlerem und hohem Leistungsniveau keine Unterschiede in der Phagozytoseaktivität festgestellt werden. Auch in der Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut unterschieden sich die Kühe in den beiden Leistungsgruppen nicht. Im Hinblick auf die Lymphozytenproliferation zeigten die Kühe mit einer mittleren und einer hohen Leistung sowohl am Laktationsanfang als auch in der Laktationsmitte vergleichbare Ergebnisse. Darüber hinaus konnte keine Abhängigkeit der initialen Antikörperbildung gegen Tollwut von der Milchleistung festgestellt werden. Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die untersuchten Immunparameter durch das im Versuch vorliegende Milchleistungsniveau nicht beeinflusst wurden.

In der Untersuchung von POELARENDS et al. (1999) über den Effekt der Milchleistung und Energiebilanz auf die Funktion der Neutrophilen Granulozyten konnte kein Einfluss der Milchleistung auf die Phagozytoseaktivität nachgewiesen werden. Die Autoren konnten allerdings bei Kühen mit einer höheren Futteraufnahme und einer höheren positiven Energiebilanz eine geringere Produktion von Sauerstoffradikalen feststellen. Die Autoren schlussfolgerten, dass eine hohe Milchleistung nicht zwangsläufig zu einer Beeinträchtigung der immunologischen Abwehr führen muss, so lange das Futteraufnahmevermögen ausreichend ansteigt.

SINCLAIR et al. (1999) überprüften eine mögliche Beziehung zwischen der Stoffwechselbelastung und der Immunfunktion von hochleistenden Milchkühen. Die Kühe gehörten zwei genetischen Linien an, eine selektierte Linie mit einem hohen Relativzuchtwert für Fett- und Eiweiß-Bildung und eine unselektierte Kontrollgruppe. Beide Gruppen wurden zusätzlich jeweils mit einer TMR mit einem hohen und niedrigen Energiegehalt gefüttert. Den Kühen wurde ein BHV-1 Impfstoff appliziert, um die initiale Antikörperproduktion prüfen zu können. Dabei zeigten die Kühe mit einem hohen Relativzuchtwert für Fett- und Eiweiß-Bildung und einer energiearmen Fütterung die geringste initiale Antikörperbildung. Aus den statistischen Berechnungen in dieser Untersuchung ergab sich ein signifikanter Effekt der Fütterung, jedoch nicht des Relativzuchtwertes für Fett- und Eiweiß-Bildung.

Die eigenen Ergebnisse stimmen mit Angaben aus der Literatur im Hinblick auf den Einfluss der Milchleistung auf die immunologische Abwehr überein. In diesen Studien wurden wie in der eigenen Arbeit die Untersuchungen *in-vivo* durchgeführt. Dadurch wird die Annahme bestätigt, dass die fehlende Übereinstimmung der Ergebnisse im Hinblick auf den Einfluss eines Energiedefizites auf Immunparameter durch die unterschiedlichen angewandten Methoden zu begründen ist.

#### **5.2.4 Immunologisches Reaktionsvermögen nach Stimulierung**

##### **Laktationsstadium**

Um das Reaktionsvermögen der Immunabwehr auf einen Reiz zu beurteilen, erfolgte im vorliegenden Versuch eine Challenge durch einen Paramunitätsinducer.

In beiden Leistungsgruppen zeigten die Milchkühe weder bei den Stoffwechselfparametern noch bei den hämatologischen Parametern eine Reaktion auf die Challenge.

Die Kühe mit einer mittleren Leistung reagierten auf die am Tag 0 durchgeführte Challenge mit einer signifikanten Reduktion der Phagozytoseaktivität am Tag 2. Auf die zweite Challenge am Tag 2 reagierten die Kühe nicht mit veränderten Werten. Die Kühe mit einer hohen Leistung wiesen weder nach der ersten noch nach der zweiten Challenge eine Veränderung der Phagozytoseaktivität auf. Im Hinblick auf die Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut und die Lymphozytenproliferation mit den Mitogenen ConA, PHA und PWM konnten bei den Kühen in beiden Leistungsgruppen keine signifikanten Veränderungen nach der Challenge festgestellt werden.

Vergleichbare Untersuchungen, die das Reaktionsvermögen des Immunsystems nach einer Challenge in Abhängigkeit von Belastungen ausgehend vom Laktationszeitpunkt bei Milchkühen überprüft haben, werden in der Literatur nicht beschrieben .

SUNDRUM (1997) untersuchte die Immunantwort von Rindern und Kühen unter verschiedenen Fütterungsbedingungen nach der Stimulierung durch eine Applikation von ACTH. Alle untersuchten Tiergruppen reagierten auf die Challenge durch ACTH mit einem signifikanten Anstieg der Vollblutbakterizidie. Darüber hinaus war die Vollblutbakterizidie sowohl bei Mastbullen als auch bei Milchkühen mit einer exzessiven Proteinversorgung signifikant höher als bei den Tieren mit einer moderaten Rohproteinübersorgung.

Anhand der ACTH-Applikation konnte demnach eine Reaktion des Immunsystems ausgelöst werden. In der eigenen Untersuchung war bis auf die Phagozytoseaktivität bei den Kühen mit einer mittleren Leistung keine Reaktion auf die Challenge mit einem Paramunitätsinducer festzustellen.

## Milchleistung

Bei den Kühen in den beiden Leistungsgruppen konnten keine signifikanten Reaktionen auf die Challenge am Tag 0 und 2 bei den untersuchten Immunparametern festgestellt werden. Dagegen zeigten die Kühe mit einer mittleren Leistung zu Beginn der Laktation am Tag 2 nach der ersten Challenge eine signifikant höhere Lymphozytenproliferation mit den Mitogenen ConA und PHA als die Kühe mit einer hohen Leistung. Dieser Unterschied konnte nach der Wiederholung der Challenge am Tag 7 nicht mehr festgestellt werden. In der Laktationsmitte konnten weder nach der ersten noch nach der zweiten Challenge Unterschiede zwischen den Kühen in Abhängigkeit von der Milchleistung nachgewiesen werden.

In der Literatur liegen keine Angaben zur Reaktion des Immunsystems auf eine Challenge durch einen Paramunitätsinducer in Abhängigkeit von der Milchleistung von Kühen vor.

Dagegen wurden einige Untersuchungen zur Wirksamkeit und Einsatzmöglichkeiten des Paramunitätsinducers Baypamun® (jetzt Zylexis®) durchgeführt.

Bei jungen Rindern wurde die Möglichkeit der Paramunisierung zur Prophylaxe der Infektion mit BHV-1 Viren in verschiedenen placebokontrollierten Studien untersucht. Dabei wurde einheitlich eine Reduktion der klinischen Symptome und der Virusausscheidung erreicht (STRUBE et al., 1989; KRETZDORN et al., 1994; CASTRUCCI et al., 1995). Zudem wurde die Dauer der Erkrankung gegenüber placebobehandelten Kälbern deutlich verkürzt (MENGE et al., 1999; ZIEBELL et al., 1999).

In Untersuchungen von MENGE et al. (1999) und ZIEBELL et al. (1999) führte die Paramunisierung bei neu zusammengestellten Absatzkälbern aus verschiedenen Betrieben zu einer signifikanten Reduktion der klinischen Symptome respiratorischer Erkrankungen gegenüber placebobehandelten Tieren.

Bei der prophylaktischen Paramunisierung von neugeborenen Kälbern wurde keine Auswirkung auf die Mortalitätsrate gegenüber Kontrolltieren festgestellt. Die Blutwerte paramunisierter Tiere wiesen eine höhere Phagozytoseaktivität, einen höheren Gesamtimmunglobulinspiegel und eine höhere Serumbakterizidie auf (HANSCHKE, 1997). Auch GIESE et al. (1991) konnten beim Einsatz von Immunmodulatoren beim Kalb mittels *in-vitro* Methoden eine signifikante Steigerung der Vollblutbakterizidie nach Einsatz eines viralen Paramunitätsinducers feststellen.

In Bezug auf andere Tierarten überprüften WINNICKA et al. (2002) den Effekt von Baypamun® (jetzt Zylexis®) auf immunologische Reaktionen bei Ziegen mit einem mittels Dexamethason supprimierten Immunsystem. Dabei konnte nach der Paramunisierung eine Steigerung der

Phagozytoseaktivität festgestellt werden.

In der vorliegenden Studie konnte im Gegensatz zu den Angaben in der Literatur nach dem Einsatz des Paramunitätsinducers keine signifikante Steigerung der Immunantwort bei den Kühen in den beiden Leistungsgruppen nachgewiesen werden. Die Angaben in der Literatur beziehen sich vor allem auf die Reaktion von Kälbern. Deren Immunsystem ist noch nicht vollständig ausgeprägt, so dass die Möglichkeit besteht, von außen in die Entwicklung der immunologischen Abwehr einzugreifen. Die Ergebnisse über eine positive Wirkung des Paramunitätsinducers auf die Prophylaxe der BHV-1 Infektion wurde nur anhand klinischer Symptome und im Vergleich zu einer Kontrollgruppe dargelegt. Die potentielle Veränderung von Immunparametern wurde nicht untersucht.

Die eigenen Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Reaktionen des Immunsystems von klinisch gesunden Kühen mit einer hohen und einer mittleren Leistung unabhängig vom Laktationsstadium mittels eines Paramunitätsinducer nicht gezielt beeinflusst werden können. Die Immunparameter bewegten sich in einem begrenzten Bereich, der auch nach einer Challenge nicht überschritten wurde. Möglicherweise liegen bei den Milchkühen Selbstregulationsprozesse vor, die von einer Challenge durch einen Paramunitätsinducer nicht überlagert werden können. Die Wirkung einer Challenge mit ACTH auf die Immunparameter hängt möglicherweise damit zusammen, dass es sich bei ACTH um ein körpereigenes Hormon handelt und dementsprechend in den homöostatischen Regelkreis der Tiere mit einbezogen ist.

### **5.3 Beziehungen zwischen einer akuten Erkrankung und den Parametern der Tiergesundheit**

#### **5.3.1 Stoffwechselfparameter**

Die klinisch erkrankten Kühe zeigten im Vergleich zu den klinisch gesunden Kühen keine Unterschiede in den Konzentrationen bzw. Aktivitäten der untersuchten Stoffwechselfparameter. Damit konnten die in der vorliegenden Studie einbezogenen klinischen Erkrankungen anhand der Stoffwechselfparameter nicht ausdifferenziert werden.

FÜRLI et al. (2002) konnten dagegen bei kranken Kühen (Labmagenverlagerung und Puerperalstörungen) deutlich höhere Konzentrationen von  $\beta$ -Hydroxybuttersäure und Freien Fettsäuren bei kranken Kühen besonders in der Früh-laktation feststellen. In der eigenen Untersuchung konnten diese Zusammenhänge zwischen den Stoffwechselfparametern und den untersuchten klinischen Erkrankungen gerade zu Beginn der Laktation nicht festgestellt werden.

Um die Beziehung zwischen den Stoffwechselfparametern und Erkrankungen differenzierter darstellen zu können, sollten in einer zukünftigen Studie die Krankheiten einzeln betrachtet werden, was in der vorliegenden Arbeit aufgrund der zu geringen n-Zahl nicht möglich war.

### **5.3.2 Hämatologische Parameter**

Die klinisch erkrankten Kühe zeigten in der vorliegenden Untersuchung eine signifikant geringere Gesamtleukozytenzahl sowie einen signifikant geringeren Hämatokrit im Vergleich mit den klinisch gesunden Kühen. Sowohl die Anzahl der Leukozyten als auch der Hämatokrit bewegten sich dabei innerhalb des Referenzbereiches. Im Gegensatz zu den eigenen Ergebnissen konnte SUNDRUM (1997) im Hinblick auf die Gesamtleukozytenzahl keine Unterschiede zwischen den Versuchstieren in Abhängigkeit vom Gesundheitsstatus feststellen.

HOLTENIUS et al. (2004) untersuchten die Konzentrationen von hämatologischen Parametern in Abhängigkeit von dem Vorkommen einer Mastitis. Dabei zeigte sich eine höhere Anzahl der Neutrophilen Granulozyten sowie eine geringere Anzahl von Lymphozyten bei einer gesteigerten Mastitisinzidenz.

Nach KRAFT und DÜRR (2005) kann eine Leukozytopenie eine Folge eines erhöhten Verbrauches an Leukozyten sein. Die in der eigenen Untersuchung bei den klinisch erkrankten Kühen signifikant geringere Anzahl der Leukozyten im Blut kann möglicherweise auf einen vermehrten Verbrauch oder ein Abwandern der Leukozyten in die Gewebe bei einer akuten Erkrankung hindeuten. Dafür würde auch die tendenziell höhere Anzahl der Neutrophilen segmentkernigen Granulozyten und die in der Tendenz geringere Anzahl der Lymphozyten sprechen. Es muss jedoch bedacht werden, dass sich alle hämatologischen Parameter der klinisch erkrankten Kühe innerhalb physiologischer Grenzen bewegten, so dass ohne einen Vergleich mit den klinisch gesunden Kühen die hämatologischen Parameter nicht auf eine klinische Erkrankung hindeuten.

### **5.3.3 Immunparameter**

Die klinisch erkrankten Kühe zeigten in der vorliegenden Studie keine Unterschiede in der Phagozytoseaktivität und Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut gegenüber den klinisch gesunden Kühen. Im Hinblick auf die Lymphozytenproliferation und die Antikörperbildung gegen Tollwutvakzine konnten ebenfalls keine Unterschiede zwischen den klinisch erkrankten und klinisch gesunden Kühen festgestellt werden. Einzig bei der Lymphozytenproliferation mit dem Mitogen PHA zeigten die klinisch erkrankten Kühe geringere Werte als die klinisch gesunden Tiere. Anhand der untersuchten immunologischen Parameter konnte in der vorliegenden Studie eine verminderte Immunabwehr als Folge einer akuten klinischen Erkrankung nicht nachgewiesen werden.

Die eigenen Ergebnisse stimmen mit den Ergebnissen von CAI et al. (1994) überein. Die Autoren konnten ebenfalls keine Unterschiede in der Phagozytoseaktivität von klinisch gesunden Kühen und Kühen mit einer Nachgeburtserhaltung feststellen. Allerdings nahm in ihrer Untersuchung die Chemotaxis der Neutrophilen Granulozyten bei Kühen mit einer Nachgeburtserhaltung während der ersten Woche *post partum* ab. KIMURA et al. (2002) konnten dagegen in Zusammenhang mit Nachgeburtserhaltungen eine reduzierte Phagozytoseaktivität bereits vor der Geburt bei Kühen, die nach der Geburt an einer Nachgeburtserhaltung erkrankten, feststellen. Diese reduzierte Phagozytoseaktivität bestand bis 2 Wochen nach der Geburt.

Im scheinbaren Widerspruch zu der allgemeinen Grundannahme, dass gesundheitsgefährdende Belastungen mit einer Immunsuppression einhergehen, wiesen die klinisch erkrankten Kühe in einem Versuch von SUNDRUM (1997) sogar eine signifikant höhere bakterizide Wirkung des Vollblutes im Vergleich zu klinisch gesunden Kühen auf. Von erhöhten Bakterizidiewerten im Vollblut von erkrankten Kälbern berichten GIESE et al. (1991).

### **5.3.4 Immunologisches Reaktionsvermögen nach Stimulierung**

Die klinisch erkrankten Kühe zeigten nach der ersten und der wiederholten Challenge ebenso wie die klinisch gesunden Kühe keine Reaktion der Phagozytoseaktivität, der Abtötungsrate pro Zeiteinheit im Vollblut und der Lymphozytenproliferation mit den Mitogenen ConA, PHA und PWM. Einzig am Tag 2 nach der ersten Challenge wiesen die klinisch erkrankten Kühe eine signifikant geringere Lymphozytenproliferation mit allen drei angewandten Mitogenen als die Kühe mit einem mittleren Leistungsniveau auf. Im Vergleich zu den Kühen mit einem hohen Leistungsniveau bestanden keine Unterschiede in der Lymphozytenproliferation. Am Tag 7 nach der wiederholten Challenge konnten weder Unterschiede zu den Kühen mit einer mittleren noch mit

einer hohen Leistung festgestellt werden.

Diese Ergebnisse nach einer Challenge des Immunsystems entsprechen nicht den Ergebnissen von SUNDRUM (1997). In dieser Untersuchung fiel die Vollblutbakterizidie nach einer Challenge mit ACTH bei den kranken Kühen deutlich ab. Bei den gesunden Kühen stieg sie dagegen signifikant an. Nach SUNDRUM (1997) deutet dieser Verlauf der Immunreaktion auf eine Erschöpfung bzw. Überbelastung des Reaktionsvermögens hin. Eine derartige Erschöpfung der Immunreaktion bei den Kühen in der eigenen Untersuchung konnte unter den vorherrschenden Versuchsbedingungen nicht dargestellt werden.

Darüber hinaus sind in der Literatur keine Angaben über die Reaktionen anhand von immunologischen Parametern von Milchkühen auf eine Challenge vorhanden.

In der vorliegenden Studie wiesen die Reaktionen auf eine Challenge durch einen Paramunitätsinducer keine Beziehung zum Gesundheitsstatus auf. Damit zeigte keine der in der vorliegenden Untersuchung geprüften Einflussgrößen eine Beeinflussung der Immunreaktion auf die Challenge durch den Paramunitätsinducer.

#### **5.4 Abgleich der Arbeitshypothesen mit den erzielten Ergebnissen**

*1. Mit Hilfe des immunologischen Reaktionsvermögens lassen sich verschiedene Belastungen der Milchkühe darstellen.*

In der vorliegenden Untersuchung konnten Belastungen im Puerperium, durch die Milchleistung und durch eine klinische Erkrankung mit Hilfe des immunologischen Reaktionsvermögen nicht dargestellt werden.

*2. Durch die Challenge mit einem Paramunitätsinducer kommt es in Abhängigkeit vom Belastungszustand zu unterschiedlichen Reaktionen des Immunsystems.*

Die in den Versuch einbezogenen Kühe zeigten weder in Abhängigkeit vom Laktationsstadium noch von der Milchleistung oder einer klinischen Erkrankung eine unterschiedliche Reaktion auf die Challenge mit einem Paramunitätsinducer.

### *3. Die Reaktionen der körpereigenen Abwehr von klinisch erkrankten Kühen unterscheiden sich von denen gesunder Kühe.*

Diese Annahme konnte anhand der Ergebnisse der vorangestellten Untersuchung nicht bestätigt werden. Die Reaktionen des Immunsystems der klinisch kranken Kühe unterschieden sich nicht von denen der klinisch gesunden Kühe.

## **5.5 Schlussfolgerungen**

Die vorangestellte Untersuchung sollte Aufschluss darüber geben, ob die Untersuchung des immunologischen Reaktionsvermögens eine geeignete Methode darstellt, um Gesundheitsstörungen von Milchkühen zu erfassen, bevor es zu einem Ausbruch einer akuten Erkrankung und damit zu Einschränkungen des Leistungsvermögens kommt. Weder die potentielle Belastung durch ein Energiedefizit zu Beginn der Laktation noch durch eine hohe Milchleistung zeigten Beziehungen zu den untersuchten Immunparametern. Auch die Reaktionen der klinisch erkrankten Kühe unterschieden sich nicht von denen der klinisch gesunden Kühe. Die Immunparameter zeigten sich somit ungeeignet, die in der vorliegenden Studie geprüften Belastungsgrößen anzuzeigen. Anhand der Reaktion auf eine Challenge konnten die Belastungen durch das Laktationsstadium, die Milchleistung und eine klinische Erkrankung ebenfalls nicht dargestellt werden. Alle in den Versuch einbezogenen Kühe zeigten keine Reaktion auf die Challenge.

Darüber hinaus zeigten alle Kühe an den einzelnen Untersuchungstagen bei allen immunologischen Parametern große Schwankungen, ohne dass eine Ausdifferenzierung der Daten hinsichtlich der Einflussgrößen zu erkennen war. Auch konnten anhand der Stoffwechselfparameter und hämatologischen Parameter metabolische Belastungen durch eine hohe Milchleistung und eine akute Erkrankung nicht dargestellt werden.

Möglicherweise unterliegen die immunologischen Reaktionen einer Selbstregulation, die einer Beeinflussung der Immunparameter von außen entgegensteht. Hierfür spricht auch, dass sich die Werte der Immunparameter unabhängig von den Einflussgrößen in einem abgegrenzten Bereich bewegten.

## 6. Zusammenfassung

Mit ansteigenden Jahresmilchleistungen werden die Kühe einer hohen metabolischen Belastung ausgesetzt, die bei einer suboptimalen Gestaltung der Lebensbedingungen mit einer Erhöhung der Inzidenzrate von Faktorenkrankheiten einhergehen kann. Im Vordergrund der Untersuchungen stand die Frage, inwieweit metabolische Belastungszustände von Milchkühen in der Phase des Puerperiums und in Abhängigkeit von der Milchleistung sowie Belastungen durch eine klinische Erkrankung zu Beginn der Laktation mit Hilfe von Parametern der immunologischen Abwehr und der Reaktion des Immunsystems auf eine Challenge dargestellt werden können.

In die Untersuchung wurden insgesamt 68 klinisch gesunde sowie 20 klinisch erkrankte Milchkühe der Rasse Holstein Friesian einbezogen. Die Untersuchungen erfolgten in den Zeiträumen 10-21 Tage sowie 14-15 Wochen nach der Kalbung. Dazu wurden an jeweils drei Untersuchungstagen (Tag 0, 2, 7) Blutproben aus der *Vena jugularis* entnommen. Zur Stimulierung des unspezifischen Immunsystems wurde in beiden Versuchszeiträumen an den Untersuchungstagen 0 und 2 der Paramunitätsinducer Zylexis® appliziert. Ferner wurde den Kühen zu Beginn der Laktation der Tollwutimpfstoff Rabisin® verabreicht.

Für die Auswertung wurden die untersuchten Milchkühe in Gruppen unterteilt. Die klinisch gesunden Kühe wurden anhand der nach Fett und Eiweiß korrigierten 305-Tage-Leistung in die Gruppe M = mittleres Leistungsniveau (Milchmengenleistung 6.500-8.990 kg) und die Gruppe H = hohes Leistungsniveau (Milchmengenleistung 9.000-12.500 kg) aufgeteilt. Die klinisch erkrankten Kühe wurden in der Gruppe K zusammengefasst.

Zur Beurteilung der Immunabwehr wurden die Parameter Phagozytoseaktivität der isolierten Neutrophilen Granulozyten, die Vollblutbakterizidie, die Lymphozytenproliferation mit den Mitogenen ConA, PHA und PWM sowie die spezifische Antikörperbildung gegen Tollwut untersucht. Anhand der Parameter Phagozytoseaktivität, Vollblutbakterizidie und Lymphozytenproliferation wurde zusätzlich die Reaktion auf die Challenge mit dem Paramunitätsinducer Zylexis® überprüft. Zur Erfassung der metabolischen Belastungszustände wurden verschiedene Stoffwechselfparameter und hämatologische Parameter erfasst.

Zu Beginn der Laktation konnten bei den Kühen in der mittleren und hohen Leistungsgruppe signifikant höhere Konzentrationen an  $\beta$ -Hydroxybuttersäure und Freien Fettsäuren im Vergleich zu der Laktationsmitte festgestellt werden. Die Kühe mit einem hohen Leistungsniveau zeigten darüber hinaus eine signifikant höhere Bilirubinkonzentration am Laktationsanfang gegenüber der Laktationsmitte. Die mittlere Konzentration der freien Fettsäuren lag bei den Kühen in beiden Leistungsgruppen oberhalb des Referenzbereiches und wies auf eine negative Energiebilanz zu

Laktationsbeginn hin. Die mittleren Konzentrationen bzw. Enzymaktivitäten der Parameter Cholesterol, Harnstoff, AST, GLDH,  $\gamma$ -GT, Gesamtprotein, Kalzium und Phosphor wiesen in der Laktationsmitte signifikant höhere Werte als am Laktationsanfang auf. Dabei lagen die mittleren Enzymaktivitäten von AST und GLDH sowie die Konzentrationen von Harnstoff und Gesamtprotein in der Laktationsmitte oberhalb des Referenzbereiches.

Die untersuchten Stoffwechselfparameter wurden durch die Challenge mit einem Paramunitätsinducer nicht signifikant beeinflusst.

Hinsichtlich der Immunparameter zeigten die Milchkühe mit einem mittleren Leistungsniveau in Abhängigkeit vom Laktationszeitpunkt zu Beginn der Laktation eine signifikant höhere Phagozytoseaktivität gegenüber der Laktationsmitte ( $p < 0,05$ ). Die Gruppe mit einem hohen Leistungsniveau wies dagegen keine signifikanten Unterschiede in der Phagozytoseaktivität zwischen den beiden Untersuchungszeiträumen auf. Bei den Immunparametern Vollblutbakterizidie und Lymphozytenproliferation konnten bei den Kühen beider Gruppen keine signifikanten Unterschiede in Abhängigkeit vom Laktationszeitpunkt festgestellt werden.

Im Hinblick auf die Milchleistung wiesen die Kühe in den beiden Leistungsgruppen am Untersuchungstag 0 weder zu Beginn noch in der Mitte der Laktation signifikante Unterschiede bezüglich der untersuchten Immunparameter auf.

Nach der Challenge durch den Paramunitätsinducer reagierten einzig die Kühe mit einer mittleren Leistung zu Beginn der Laktation auf die Challenge mit einer signifikanten Reduzierung der mittleren Phagozytoseaktivität von Tag 0 zu Tag 2 ( $p < 0,05$ ). Bei den weiteren untersuchten Immunparametern konnten weder bei den Kühen mit einer mittleren noch mit einer hohen Leistung eine signifikante Reaktion auf die Challenge nachgewiesen werden.

Die klinisch erkrankten Kühe zeigten im Vergleich zu den klinisch gesunden Kühen keine unterschiedlichen Konzentrationen bzw. Aktivitäten der untersuchten Stoffwechselfparameter. Auch konnten anhand der immunologischen Parameter und der Reaktion auf die Challenge keine Unterschiede zwischen den klinisch gesunden Kühen festgestellt werden.

Die in der vorliegenden Untersuchung geprüften metabolischen Belastungen konnten weder anhand der Immunparameter noch durch die Reaktion der Immunparameter auf eine Challenge dargestellt werden. Es wird geschlussfolgert, dass das immunologische Reaktionsvermögen nicht geeignet ist, um als Indikator für Belastungszustände bei der Milchkuh herangezogen zu werden.

## 7. Summary

With increasing milk yield, dairy cows are exposed to high metabolic stress, which, in case of subdominal environmental conditions, can be accompanied by an elevated incidence rate of multifactorial diseases.

The aim of the study was to investigate how far metabolic stress in the stage of lactation and in relation to the milk yield in early lactation can be described with parameters of the immune defence and the reaction of immune response after a challenge. The examination should also give information about the suitability of immune parameters as an indicator of stress.

In the study, 68 clinical healthy and 20 diseased dairy cows of the breed Holstein Friesian were included. The cows were examined 10-21 days and 14-15 weeks after parturition. At both stages of lactation blood samples were taken out of the *Vena jugularis* on three days (0, 2, 7). On day 0 and 2 the cows were given the immunomodulator Zylexis® to stimulate the innate immune response. To investigate the specific immune response on the base of antibody production, the cows were vaccinated using the rabies vaccine Rabisin® on day 0 at the beginning of lactation.

For data analysis the cows were divided into three groups after the examination. The division of the clinical healthy cows was carried out by the 305-days milk yield corrected by fat plus protein (FCME yield). These cows were divided into group M = average milk yield (milk yield 6.500-8.990 kg) and into group H = high milk yield (milk yield 9.000-12.500 kg). The diseased cows were placed into group K.

To assess the immune response, the sensitivity to phagocytosis of neutrophil leucocytes, the bactericidal activity of the whole blood, lymphocyte transformation test, in which the lymphocytes were stimulated by the mitogens ConA, PHA and PWM, and the antibody production versus rabies vaccine was tested. Additionally, the immune response was investigated after a challenge with the immunomodulator Zylexis®. Furthermore blood parameters were monitored to categorize the cows' metabolic state.

Both production groups of cows (group M & H) showed significantly higher concentrations of  $\beta$ -hydroxybutyrate and non esterified fatty acids in early lactation than in mid-lactation. Dairy cows with a high milk yield also showed a higher concentration of bilirubin in early lactation than in mid-lactation. The average concentration of non non esterified fatty acids of all cows was above the normal reference range, indicating a negative energy balance at early lactation.

The average concentration and activities respectively of cholesterol, urea AST, GLDH,  $\gamma$ -GT, total protein, calcium and inorganic phosphorous were significantly higher in the mid of lactation than in the beginning. In mid-lactation mean values of urea and total protein concentration and the enzyme

activities of GLDH and AST were above the reference values.

The metabolic parameters were not influenced by the challenge with the immunomodulator.

Regarding the parameters of the immune response in dependence of the stage of lactation, the dairy cows of group M showed a significantly higher phagocytosis activity at the beginning of lactation than in mid-lactation ( $p < 0,05$ ), whereas the dairy cows in group H did not show significant differences between the two testing periods. There were no significant differences in the immune response bactericidal activity of the whole blood and lymphocyte transformation depending on the stage of lactation in any of the two groups of cows.

Regarding the milk yield, no significant differences were found on day 0, neither at the beginning of lactation nor at mid-lactation in terms of the examined immune parameters of both groups of cows.

After challenge with the immunomodulator only the cows of group M showed a significant reduction of the phagocytosis at the beginning of lactation from day 0 to day 2 ( $p < 0,05$ ). None of the groups showed any significant reaction to the challenge in terms of the other monitored metabolic parameters and the immune response.

In comparison with the clinical healthy cows, the clinical diseased cows did not show any differences in terms of concentration levels or activities of the examined metabolic parameters and the immune response. Also, there were no differences regarding the immune parameters and the reaction to the challenge between the healthy and the diseased cows.

The metabolic strains, investigated in the present examination could neither be described by the immune parameters nor by the immune response after challenge.

Based on the results, it is concluded that immune parameters are not suitable to indicate metabolic stress in dairy cows.

## 8. Literaturverzeichnis

ADAMO, S. A., 2004: How should behavioural ecologists interpret measurement of immunity? *Anim Behav.* 68, 1443-1449.

ALAND, A., Z. KAART, V. POIKALAINEN, and J. PRAKS, 2005: Incidence of multifactorial diseases in estonian dairy herds – a survey. *Dtsch Tierärztl Wochenschr.* 112, 441-480.

ALBRECHT, E., und W. UNGLAUB, 1992: Zur Anwendung der GLDH-Bestimmung in Rinderproblembeständen. *Tierärztl Umsch.* 47, 427-430.

BAUER, J., 1990: Untersuchung zur Anwendung der invasiven Rückenfettdickenmessung beim Rind. *Diss. vet. med.*, Berlin.

BELL, A. W., 1995: Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J Anim Sci.* 73, 2804-2819.

BENYSEK, V., 1971: The red blood picture in cows in the last month of pregnancy, during parturition and the period of puerperium. *Acta Vet Brno.* 40, 177-185.

BIUK-RODAN, N., L. SVER, I. VALPOTIC, J. MADIC, Z. ZUPANCIC, N. VIJTIUK, and Z. PAVIVIC, 2004: Effect of Baypamun treatment on Aujeszky's Disease Virus (ADV) transmission in pigs. *Acta Vet Brno.* 73 59-68.

BLEUL, U., und A. SOBIRAJ, 2001: Hämatologische Verlaufsuntersuchungen bei Rindern intra und post partum. Teil 2: Einfluss der Nachgeburtsverhaltung. *Tierärztl Praxis* 29 (G), 339-344.

BONIZZI, L., M. AMADORI, M. MELEGARI, W. PONTI, A. CECCARELLI, and E. BOLANZI, 1989: Characterization of some parameters of non-specific immunity in beef cattle (I). *J Vet Med B* 36, 365-373.

BREVES, G., und M. RODEHUTSCORD, 1999: Gibt es Grenzen in der Zucht auf Milchleistung? - Aus der Sicht der Physiologie. *Züchtungskunde* 71, 420-427.

BUHMANN, M., und H.D. GRÜNDER, 1985: Der Wert von Harn- und Blutuntersuchungen für die Beurteilung der Kalziumversorgung von Milchkühen. *Dtsch Tierärztl Wochenschr.* 92, 259-262.

BUSCHMANN, H., 1989: Möglichkeiten und Aussichten der Resistenzzüchtung bei landwirtschaftlichen Nutztieren. *Tierärztl Umsch.* 44, 517-523.

CAI, T. Q., P. G. WESTON, L. A. LUND, B. BRODIE, D. J. MCKENNA, and W. C. WAGNER, 1994: Association between neutrophil functions and periparturient disorders in cows. *Am J Vet Res.* 55, 934-943.

CASTRUCCI, G., M. FERRARI, B. I. OSBURN, F. FRIGERI, F. BARRECA, S. TAGLIATI, and V. CUTERI, 1995: The use of a non-specific defence mechanism inducer in calves exposed to bovine herpesvirus-1 infection: preliminary trials. *Comp Immun Microbiol Infect Dis.* 18, 85-91.

- CHANDRA, R. K., 1997: Nutrition and the immune system: an introduction. *Am J Clin Nutr.* 66, 460S-463S.
- CHESTERS, J. K., 1997: Zinc. In: *Handbook of Nutritionally essential mineral elements.* Marcel Dekker Inc., New York. 185-230.
- CLIQUET, F., M. AUBERT, and L. SAGNE, 1998: Development of a fluorescent antibody virus neutralisation test (FAVN test) for the quantitation of rabies-neutralising antibody. *J Immunol Methods* 212, 79-87.
- COOLARD, B. L., P. J. BOETTCHER, J. C. M. DEKKERS, L. R. SCGAEFFER, and D. PETITCLERC, 1999: Relationships between energy balance and health traits of dairy cattle in early lactation. In: *Metabolic stress in dairy cows.* British Society of Animal Science 24, 171-175.
- DE KRUIF, A., R. MANSFELD, und M. HOEDEMAKER, 1998: *Tierärztliche Bestandsbetreuung beim Milchrind.* Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.
- DEFORGE, L. E., K. L. BILLECI, and S. KRAMER, 2000: Effect of IFN- $\gamma$  on the killing of *S. aureus* in human whole blood. Assessment of bacterial viability by CFU determination and by a new method using alamarBlue. *J Immunol Methods* 245, 79-89.
- DETILLEUX, J. C., K. J. KOEHLER, A. E. FREEMAN, M. E. KEHRLI JR., and D. H. KELLEY, 1994: Immunological parameters of periparturient Holstein cattle: Genetic variation. *J Dairy Sci.* 77, 2640-2650.
- DETILLEUX, J. C., M. E. KEHRLI JR., J. R. STABEL, A. E. FREEMAN, and D. H. KELLEY, 1995: Study of immunological dysfunction in periparturient Holstein cattle selected for high and average milk production. *Vet Immunol Immunopathol.* 44, 251-267.
- DORN, W., G. MEHLHORN, und C. KLEMM, 1980: Untersuchungen zur Serumbakterizidie beim Kalb. *Arch Exper Vet Med.* 34, 635-650.
- EICKHOFF, S., 2002: Standardisierung der quantitativen Messung reaktiver Sauerstoffspezies und der Phagozytoseaktivität caniner neutrophiler Granulozyten mittels Durchflusszytometrie. *Diss. vet. med., Hannover.*
- FACHINGER, V., T. SCHLAPP, W. STRUBE, N. SCHMEER, and A. SAALMÜLLER, 2000: Poxvirus-induced immunostimulating effects on porcine leukocytes. *J Virol.* 74, 7943-7951.
- FLACHOWSKY, G., P. LEBZIEN, und U. MEYER, 2002: Vorteile und Grenzen hoher Milchleistungen aus der Sicht der Tierernährung. *Züchtungskunde* 74, 85-103.
- FLEISCHER, P., M. METZNER, M. BEYERBACH, M. HOEDEMAKER, and W. KLEE, 2001: The relationship between milk yield and the incidence of some diseases in dairy cows. *J Dairy Sci.* 84, 2025-2035.
- FRANKLIN, S. T., J. W. YOUNG, and B. J. NONNECKE, 1994: Proliferation and phenotype of bovine mononuclear leucocytes in cultures stimulated by pokeweed mitogen. *J Dairy Sci.* 77, 3592-3600.

- FRERKING, H., R. KRAMER, R. SCHIELE, und B. RÖDER, 1995: Klinische Erfahrungen mit Paramunitätsinducern beim Rind anlässlich von Tierschauen. Dtsch Tierärztl Wochenschr. 102, 188-189.
- FÜRL, M., 1997: Fit und gesund in die neue Laktation. Milchzind 6, 48-51.
- FÜRL, M., 2000: Das Fettmobilisationssyndrom. Großtierpraxis 1, 24-34.
- FÜRL, M., 2002: Grundlagen der Stoffwechselfdiagnostik und Überwachung. In: FÜRL, M. (Hrsg.): Stoffwechselstörungen bei Wiederkäuern: Erkennen – Behandeln – Vorbeugen. Med. Tierklinik, Leipzig, 28-44.
- FÜRL, M., 2004: Stoffwechselkontrollen und Stoffwechselüberwachung bei Rindern. Teil 1: Chancen, Regel, Risiken. Nutztierpraxis aktuell 9.
- FÜRL, M., 2005: Spezielle Untersuchungen beim Wiederkäuer. In: KRAFT, W., und U. M. DÜRR: Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. Schattauer Verlag Stuttgart, New York, 6. Auflage, 444-474.
- FÜRL, M., B. HIEBEL, und C. NAURUSCHAT, 2002: Wie „leberspezifisch“ ist die GLDH beim Rind? In: FÜRL, M. (Hrsg.): Stoffwechselstörungen bei Wiederkäuern: Erkennen – Behandeln – Vorbeugen. Med. Tierklinik, Leipzig, 45-46.
- FÜRL, M., W. DECKERT, M. SCHÄFER, und A. WEHLITZ, 1992: Lipolyse und Ketogenese bei Milchkühen – Beobachtungen im Laktationsverlauf. Mh Vet Med. 47, 119-124.
- GALLO, L., P. CARNIER, and M. CASSANDRO, 1996: Change in body condition score of Holstein cows as affected by parity and mature equivalent milk yield. J Dairy Sci. 79, 1009-1015.
- GENGELBACH, G. P., J. D. WARD, J. W. SPEARS, and T. T. BROWN, 1997: Effects of copper deficiency coupled with high dietary iron or molybdenum on phagocytic cell function and response of calves to a respiratory disease challenge. J Anim Sci. 75, 1112-1118.
- GIESE, J., G. RIEDEL-CASPARI, und F. W. SCHMIDT, 1991: Zum Einsatz von Immunmodulatoren beim neugeborenen Kalb – Wirksamkeitsprüfung mittels in-vitro Methoden. Tierärztl Umsch. 46, 336-344.
- GLITZ, F., 2002: Wirkungen und Einsatzmöglichkeiten eines Immunmodulators (Baypamun®) bei Nutztieren. Tierärztl Umsch. 57, 142-151.
- GOETZMANN, E. A., 1993: Flow cytometry: basic concepts and clinical applications in immunodiagnosics. Clin Lab Sci. 6, 177-182.
- GOFF, J. P., 2006: Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health. J Dairy Sci. 89, 1292-1301.
- GOFF, J. P., and R. L. HORST, 1997: Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. J Dairy Sci. 80, 1260-1268.

- GRABOWSKI, N. T., 2000: Körpergewichtsentwicklung, Milchinhaltsstoffe und Milchmengenleistung als Kriterien zur laktationsbegleitenden Beurteilung des Gesundheitszustandes hochleistender DSB-Kühe in Laufstallhaltung. Diss. vet. med., Hannover.
- GRÖHN, Y. T., J. A. HERTL, J. L. HARMAN, 1994: Effects of early lactation milk yield on reproductive disorders in dairy cows. *Am J Vet Res.* 55, 1521-1528.
- GRÖHN, Y. T., S. W. EICKER, and J. A. HERTL, 1995: The association between 305-day milk yield and disease in New York state dairy cows. *J Dairy Sci.* 78, 1693-1702.
- GRÜNDER, H.-D., 1991: Aussagefähigkeit von Blutuntersuchungsbefunden. *Prakt Tierarzt* 72, 12-17.
- HANSCHKE, H., 1997: Einfluss von Baypamun® auf die Entwicklung von Kälbern unter der Betrachtung von Immun- und Blutwerten. Diss. vet. med., Berlin.
- HARTMANN, H., und H. MEYER, 1994: *Klinische Pathologie der Haustiere.* Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart.
- HILBE, M., 2000: Einfluss von akutem Stress auf das Immunsystem beim Rind unter Berücksichtigung des Sexualzyklus. Diss. vet. med., Zürich.
- HOEBEN, D., E. MONFARDINI, G. OPSOMER, C. BURVENICH, H. DOSOGNE, A. DE KRUIF, and J.-F. BECKERS, 2000: Chemiluminescence of bovine polymorphonuclear leukocytes during the periparturient period and relation with metabolic markers and bovine pregnancy-associated glycoprotein. *J Dairy Res.* 67, 249-259.
- HOEDEMAKER, M., D. PRANGE, H. ZERBE, J. FRANK, A. DAXENBERG, and H.H.D. MEYER, 2004: Peripartal propylene glycol supplementation and metabolism, animal health, fertility and production in dairy cows. *J Dairy Sci.* 87, 2136-2145.
- HOGAN, J. S., K. L. SMITH, W. P. WEISS, D. A. TODHUNTER, and W. L. SCHOCKEY, 1990: Relationship among vitamin E, selenium, and bovine blood neutrophils. *J Dairy Sci.* 73, 2372-2378.
- HOLTENIUS, K., K. PERSSON WALLER, B. ESSEN-GUSTAVSSON, P. HOLTENIUS, and C. HALLEN SANDGREN, 2004: Metabolic parameters and blood leukocyte profiles in cows from herds with high or low mastitis incidence. *Vet J.* 168, 65-73.
- HOLTENIUS, P., S. AGENÄS, C. DELAVALD, and Y. CHILLIARD, 2003: Effects of feeding intensity during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. *J Dairy Sci.* 88, 883-891.
- HUTH, F.-W., 1995: *Die Laktation des Rindes – Analyse, Einfluss, Korrektur.* Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart.
- JANEWAY, C. A. JR., and R. MEDZHITOV, 2002: Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol.* 20, 450-457.
- JECKSTADT, S., W. LEIBOLD, J. SCHRÖDER, und K. PETZOLDT, 1988: In-vivo- und in-vitro-Wirkungen eines „biologischen Immunmodulators“. *Berl Münch Tierärztl Wschr.* 101, 85-91.

- JOLING, P., K. S. MOK, G. DE VRIES REILINGH, P. J. WEVER, R. S. CORNELIS, J. P. OSKAM, and A. M. HENKEN, 1993: An evaluation of immune competence in different swine breeds. *Vet Q.* 15, 9-15.
- KAHL, D., J. SPECK, und D. K. FLOCK, 1989: In-vitro-Parameter zur Erfassung der Immunkompetenz von Hühnern unterschiedlicher Linien. 1. Mitteilung: Die Zytotoxizität von aviärem Vollblut gegenüber Saccharomycellen. *Dtsch Tierärztl Wochenschr.* 96, 285-332.
- KEHRLI, M. E. JR., B. J. NONNECKE, and J. A. ROTH, 1989: Alterations in bovine lymphocyte function during the periparturient period. *Am J Vet Res.* 50, 215-220.
- KEIL, D., R. W. LUEBKE, and S. B. PRUETT, 2001: Quantifying the relationship between multiple immunological parameters and host resistance: Probing the limits of Reductionism. *J Immunol.* 167, 4543-4552.
- KIMURA, K., J. P. GOFF, M. E. KEHRLI JR., and T. A. REINHARDT, 2002: Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cows. *J Dairy Sci.* 85, 544-550.
- KIMURA, K., J. P. GOFF, M. E. KEHRLI JR, and J. A. HARP, 1999: Phenotype analysis of peripheral mononuclear cells in periparturient dairy cows. *J Dairy Sci.* 82, 315-319.
- KINKAID, R. L., B. P. CHEW, and J. D. CRONRATH, 1997: Zinc oxide and amino acids as sources of dietary zinc for calves: Effects on uptake and immunity. *J Dairy Sci.* 80, 1381-1388.
- KIRCHGESSNER, M., 1997: Tierernährung. DLG-Verlag, Frankfurt (Main).
- KLUG, F., F. REHBOCK, und A. WANGLER, 2003: Die Nutzungsdauer beim weiblichen Milchrind (Teil 1). *Großtierpraxis* 3, 5-12.
- KOLB, E., und K. ELZE, 1995: Durch Energiemangel beim Rind ausgelöste Fortpflanzungsstörungen. *Prakt Tierarzt* 76, 623-626.
- KRAFT, W., und U. M. DÜRR, 2005: Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 6. Auflage, Schattauer Verlag, Stuttgart/New York.
- KRAISS, A., 1987: Zur Proliferationsfähigkeit von Lymphozyten demodikosekranker Hunde bei immunzellstimulierender Therapie. *Tierärztl Praxis* 15, 63-66.
- KRETDORN, D., W.STRUBE, und W.SCHMEER, 1994: Clinical trials and field experiences with parapox ovis-based immunostimulants in livestock animals. Symposium about immunomodulators of the W.A.V.M.I. 2.-7. Okt. Perugia, Italien, 22-27.
- KRISTENSEN, F., B. KRISTENSEN, and S. LAZARY, 1982: The lymphocyte stimulation test in veterinary immunology. *Vet Immunol Immunopathol.* 3, 203-277.
- LACETERA, N., D. SCALIA, O. FRANCI, U. BERNABUCCI, B. RONCHI, and A. NARDONE, 2004: Effects of nonesterified fatty acids on lymphocyte function in dairy heifers. *J Dairy Sci.* 87, 1012-1014.

- LACETERA, N., D. SCALIA, U. BERNABUCCI, B. RONCHI, D. PIRAZZI, and A. NARDONE, 2005: Lymphocyte functions in overconditioned cows around parturition. *J Dairy Sci.* 88, 2010-2016.
- LALLES, J. P., 1997: Nutrition and immunology in ruminants, pigs, poultry. Production disease in farm animals.
- LEHWENICH, T., 1999: Untersuchungen zur Durchführung der Stoffwechselüberwachung in der Bestandsbetreuung von Milchviehherden. Diss. vet. med, Berlin.
- LESSARD, M., N. GAGNON, D. L. GODSON, and H. V. PETIT, 2004: Influence of parturition and diets enriched in n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids on immune response of dairy cows during the transition period. *J Dairy Sci.* 87, 2197-2210.
- LINNET, K., 1987: Two-stage transformation systems for normalization of reference distributions evaluated. *Clin Chem.* 33, 381-389.
- LOTTHAMMER, K.-H., 1981: Gesundheits- und Fruchtbarkeitsstörungen beim Milchrind. *Tierärztl Praxis* 9, 541-551.
- LOTTHAMMER, K.-H., 1991: Beziehungen zwischen einigen Blut- und Milchinhaltsstoffen als Indikatoren der Energieversorgung und der Fruchtbarkeit sowie Euter- und Stoffwechselstörungen bei Milchrindern. *Mh Vet Med.* 46, 639-643.
- LOTTHAMMER, K.-H., 1999: Beziehungen zwischen Leistungsniveau, Gesundheit, Fruchtbarkeit und Nutzungsdauer bei Milchrindern – Untersuchungen in einer Hochleistungsherde-. *Tierärztl Umsch.* 54, 544-553.
- LOTTHAMMER, K.-H., H.-J. BOEHNKE, und M. MORAWIETZ, 1988: Beziehungen zwischen verschiedenen Blutparametern als Kriterien für Stoffwechselstörungen und dem Milchzellgehalt bei Milchrindern. *Dtsch Tierärztl Wochenschr.* 95, 353-408.
- LÜTKES, S., 1989: Immunologische Untersuchungen an Jungrindern mit chronischer Bleibelastung. Diss. vet. med., Hannover.
- LYONS, A. B., 2000: Analysing cell division in vivo and in vitro using flow cytometric measurement of CFSI dye dilution. *J Immunol Methods*, 243, 147-154.
- MALLARD, B. A., J. C. DEKKERS, M. J. IRELAND, K. E. LESLIE, S. SHARIF, S. LACEY VANKAMPEN, L. WAGTER, and B. N. WILKIE, 1998: Alteration in immune responsiveness during the peripartum period and its ramnification on dairy cow and calf health. *J Dairy Sci.* 81, 585-595.
- MANSFELD, R., W. GRÜNEBERG, E. THIEMANN, und E. GRUNERT, 1996: Statistische Auswertungen zur Nutzung von Stoffwechselprofilen in der Herdendiagnostik in Milcherzeugerbetrieben. *Züchtungskunde* 68, 325-345.
- MARTENS, H., 1995: Die Konzentration von Mineralstoffen im Plasma von Wiederkäuern: Geeigneter Parameter zur Beurteilung der Mineralstoffversorgung? *Tierärztl Umsch.* 50, 321-326.

- MAYR, A., und B. MAYR, 2002: Körper eigene Abwehr. Von der Empirie zur Wissenschaft. Tierärztl Umsch. Spezial 4.
- MAYR, B., und MAYR, A., 1995: Zum derzeitigen Stand der präklinischen Forschung über die Wirksamkeit und Unschädlichkeit von Paramunitätsinducern aus Pockenviren. Tierärztl Praxis 23, 542-552.
- MCCULLOUGH, K. C., and A. SUMMERFIELD, 2005: Basic concepts of immune response and defence development. ILAR J. 46, 230-240.
- MCGUIRE, M. A., and D. E. BAUMAN, 2003: Milk fat. In: ROGINSKY, H., J. W. FUQUAY, and P. F. FOX (Hrsg.): Encyclopedia of dairy sciences. Academic Press, London, 1828-1834.
- MEHRZAD, J., H. DOSOGNE, E. MEYER, R. HEYNEMAN, and C. BURVENICH, 2001: Respiratory burst activity of blood and milk neutrophils in dairy cows during different stages of lactation. J. Dairy Res. 68, 399-415.
- MENGE, C., B. NEUFELD, E. HEINEN, N. SCHMEER, G. BALJER, and L. H. WIELER, 1999: Establishment of immunological parameters to monitor the efficacy of biological response modifiers in cattle ex vivo in vitro. 26<sup>th</sup> World Vet. Congress (WVA), 23.-26. September, Lyon.
- MICHAEL, J. J., L. R. HEIRMAN, T. S. WONG, B. P. CHEW, M. FRIGG, and L. VOKER, 1994: Modulatory effects of dietary  $\beta$ -carotene on blood and mammary leukocyte function in periparturient dairy cows. J Dairy Sci. 77, 1408-1421.
- NAGAHATA, H., A. YATSU, and H. NODA, 1986: The evaluation of a quantitative assay for estimating the bactericidal activity of bovine neutrophils by nitroblue tetrazolium reduction. Br Vet J. 142, 578-584.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC), 2001. Nutrients Requirements of dairy cattle. 7<sup>th</sup> revised edition, National Academy Press, Washington.
- NONNECKE, B. J., J. L. BURTON, and M.E. KEHRLI JR., 1997: Associations between function and composition of blood mononuclear leukocyte populations from holstein bulls treated with dexamethasone. J Dairy Sci. 80, 2403-2419.
- PAVICIC, Z., M. VUCEMILO, A. TOFANT, N. VIJTIUK, M. POPOVIC, M. BALENOVIC, and T. BALENOVIC, 2003: Effect of immunostimulator Baypamun<sup>®</sup> on plasma cortisol concentration in gilts regrouped during late stage of pregnancy. Acta Vet Brno. 72, 509-514.
- PAVICIC, Z., T. BALENOVIC, A. TOFANT, M. POPOVIC, K. MATKOVIC, und N. BIUK-RUDAN, 2004: Effekte des Paramunitätsinducers Baypamun<sup>®</sup> auf den Cortisollevel abgesetzter und transportierter Ferkel. Tierärztl Umsch. 59, 450-453.
- PAYNE, J. M., and S. PAYNE, 1987: The metabolic profile test. Oxford University Press, Oxford, New York, Tokio.
- POELARENDS, J. J., L. KRUIJT, H. VAN DER GAAST, R. F. VEERKAMP, 1999: Effect of milk yield and energy balance on neutrophil function in dairy cows. In: Metabolic stress in dairy cows. British Society of Animal Science 24, 203-208.

- POLLOCK, J. M., T. G. ROWAN, J. B. DIXON, S. D. CARTER, D. SPILLER, and H. WARENIUS, 1993: Alteration of cellular immune responses by nutrition and weaning in calves. *Res Vet Sci.* 55, 298-306.
- PONTI, W., M. AMADORI, F. AGNOLETTI, L. BONIZZI, E. PERI, and C. CALDORA, 1989: Characterization of some parameters of non-specific immunity in beef cattle (II). *J Vet Med. B* 36, 402-408.
- PRYCE, J. E., R. J. ESSLEMONT, R. THOMPSON, R. VEERKAMP, M. A. KOSSAIBATI, and G. SIMM, 1998: Estimation of genetic parameters using health, fertility and production data from a management recording system for dairy cattle. *J Anim Sci.* 66, 577-584.
- QUINN, P. J., 1990: Mechanisms of action of some immunomodulators used in veterinary medicine. *Adv Vet Sci Comp Med.* 35, 43-99.
- REIST, M., D. ERDIN, D. V. EUW, K. TSCHUEMPERLIN, H. LEUENBERGER, C. DELAVAUD, and Y. CILLIARD, 2003: Concentrate feeding strategy in lactating dairy cows; Metabolic and endocrine changes with emphasis on leptin. *J Dairy Sci.* 86, 1690-1706.
- RICHARDT, W., 2004: Milchinhaltstoffe als Indikatoren für die Fütterung und Gesundheit von Milchkühen. Themen zur Tierernährung, Fachtagung Deutsche Vilomix 2003/2004.
- RIEDEL-CASPARI, G., and F. W. SCHMIDT, 1991: The influence of colostral leukocytes in the immune system of the neonatal calf. III. Effects of phagocytosis. *Dtsch Tierärztl Wochenschr.* 98, 330-334.
- RIEDEL-CASPARI, G., G. BALJER, and F. W. SCHMIDT, 1990: Die bakterizide Wirkung von Kälbervollblut gegenüber 6 *E. coli*-Stämmen. DVG-Bericht, Tagung der Fachgruppe „Bakteriologie“, 30.05.-01.06.1990, Rauschholzhausen, 1-6.
- RIEDEL-CASPARI, G., G. RÖTTGERMANN, S. MOLLNAR, and F. W. SCHMIDT, 1988: Influence of a high-fat ration on parameters of defence against infection in weaned pigs. *Dtsch Tierärztl Wochenschr.* 95, 287-291.
- ROSSOW, N., 2003: Ketose der Milchkuh – Wesen der Erkrankung und Bekämpfungsstrategie. <http://www.portal-rind.de/portal/Index.php>
- ROSSOW, N., 2004: Nutzung der Ergebnisse der Milchleistungsprüfung für die Fütterungs- und Stoffwechselkontrolle. [http://www.portal-rind.de/portal/data/artikel/68/artikel\\_68.pdf](http://www.portal-rind.de/portal/data/artikel/68/artikel_68.pdf)
- ROSSOW, N., B. STAUFENBIEL, R. STAUFENBIEL, H. GÜRTLER, D. DARGEL, and R. NEUER, 1991: Zur Bewertung erhöhter Ketonkörperkonzentrationen bei der Milchkuh. *Mh Vet Med.* 46, 11-17.
- ROSSOW, N., U. JACOBI, M. SCHÄFER, R. LIPPMANN, G. FURCHT, L. SLANINA, L. VRZGULA, and W. EHRENTAUT, 1987: Stoffwechselüberwachung bei Haustieren – Probleme, Hinweise, Referenzwerte. *Tierhygiene- Information, Eberswalde-Finow* 19.
- SCHENDENWEIN, I., 1995: Selektive Labordiagnostik nichtinfektiöser Erkrankungen. Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart.

- SCHLERKA, G., und W. BAUMGARTNER, 1983: Labordiagnostik in der Klautierpraxis. 1. Die hämatologische Untersuchung. Tierärztl Umsch. 38, 273-285.
- SCHOLZ, H., 1990: Stoffwechselkontrolle in der Milchkuhherde an Hand von Blut- und Milchparametern. Prakt Tierarzt 71, 32-35.
- SEGGEWISS, S., 2004: Überprüfung der Bedeutung von Milchinhaltsstoffen für die Beurteilung der Energie-, Protein- und Strukturversorgung von HF-Kühen. Diss. vet. med., Hannover.
- SEIDLER, T., C. KRETSCHMAR, U. MÜLLER, T. DALLE, M. RÖPKR, und M. KRÜGER, 1999: Immunologischer Status von Zuchtbullen unter energiedefizienten Bedingungen: Existieren Zusammenhänge zwischen Leistungs- und Abwehrvermögen? 23. Kongress der DVG, 13.-16. April, Bad Nauheim, 139-142.
- SILVA, I. D., N. C. JAIN, T. B. FARVER, and J. G. ZINKL, 1988: Phagocytic and postphagocytic activities of bovine neutrophils for pure and mixed bacterial cultures. J Dairy Sci. 71, 2513-2519.
- SINCLAIR, M. C., B. L. NIELSEN, J. D. OLDHAM, and H. W. REID, 1999: Consequences for immune function of metabolic adaptations to load. In: Metabolic stress in dairy cows. British Society of Animal Science 24, 113-118.
- SMITH, B. P., 1996: Large animal internal medicine. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis.
- SPEARS, J. W., 2000: Micronutrients and immune function in cattle. Proc Nutr Soc. 59, 587-594.
- STABEL, J. R., J. P. GOFF, and K. KIMURA, 2003: Effects of supplemental energy on metabolic and immune measurements in periparturient dairy cows with Johne's disease. J Dairy Sci. 86, 3527-3535.
- STAUFENBIEL, R., U. JOHANNSEN, H. DARGEL, und N. ROSSOW, 1992: Experimentelle Untersuchungen zur Leberverfettung der Milchkuh bei Futterrestriktion. Mh Vet Med. 47, 559-566.
- STÄMPLI, G., J. STIRNIMANN, und U. KÜPFER, 1981: Einfluss des Laktationsstadiums und der Trächtigkeit auf hämatologische und klinisch-chemische Werte bei der Milchkuh. Schweiz Arch Tierheilkd. 123, 189-205.
- STELWAGEN, K., 2003: Milk protein. In: ROGINSKY, H., J. W. FUQUAY, and P. F. FOX (Hrsg.): Encyclopedia of dairy sciences. Academic Press, London, 1828-1834.
- STEVENS, M. G., M. E. KEHRLI, and P. C. CANNING, 1991: A colorimetric assay for quantitating bovine neutrophil bactericidal activity. Vet Immunol Immunopathol. 28, 45-56.
- STRUBE, K., R. HÜHN, W. BUSCH, und E. WERNER, 1991: Ein Phagozytostest zur Einschätzung der lokalen Abwehrsituation bei Endometritistherapie unter besonderer Berücksichtigung des Uterofertileinsatzes beim Rind. Dtsch Tierärztl Wochenschr. 98, 230-234.
- STRUBE, W., D. KRETDORN, J. GRUNMACH, R.-D. BERGLE, und P. THEIN, 1989: Wirksamkeit des Paramunitätsinducers Baypamun® (PIND-ORF) zur Prophylaxe und Metaphylaxe einer experimentellen Infektion mit Virus der Infektiösen Bovinen Rhinotracheitis. Tierärztl Praxis 17, 267-272.

- SUNDRUM, A., 1997: Beurteilung der Auswirkungen überhöhter Rohproteinversorgung beim Rind mit biochemischen und immunologischen Blutparametern. Schriftenreihe Institut für Organischen Landbau, Dr. Köster Verlag, Berlin.
- SURIYASATHAPORN, W., A. J. J. M. DAEMEN, E. N. NOORDHUIZEN-STASSEN, S. J. DIELEMANN, M. NIELEN, and Y. H. SCHUKKEN, 1999:  $\beta$ -hydroxybutyrate levels in peripheral blood and ketone bodies supplemented in culture media affect the in vitro chemotaxis of bovine leukocytes. *Vet Immunol Immunopathol.* 68, 177-186.
- TAYLOR, P. W., 1983: Bactericidal and bacteriolytic activity of serum against gram-negative bacteria. *Microbiol Rev.* 47, 46-83.
- TEICHMANN, S., R. FAHR, und M. FÜRLI, 2002: Beziehungen zwischen Futteraufnahme, Milchmenge und -inhaltsstoffen, Energieretention sowie klinisch-chemischen Blutparametern bei Milchkühen. In: FÜRLI, M. (Hrsg.): Stoffwechselstörungen bei Wiederkäuern: Erkennen – Behandeln – Vorbeugen. Med. Tierklinik, Leipzig, 17-18
- TIELEMANN, B. I., J. B. WILLIAMS, R. E. RICKLEFS, and K. C. KLASING, 2005: Constitutive innate immunity is a component of the pace-of-life syndrome in tropical birds. *Proc R Soc. B.* 1-7.
- TORRE, P. M., R. J. HARMON, L. M. SORDILLO, G. A. BOISSONNEAULT, R. W. HEMKEN, D. S. HEMKEN, and T. W. CLARK, 1995: Modulation of bovine mononuclear cell proliferation and cytokine production by dietary copper insufficiency. *J Nutr Immunol.* 3, 3-20.
- TORRE, P. M., R. J. HARMON, R. W. HEMKEN, T. W. CLARK, D. S. TRAMMELL, and B. A. SMITH, 1996: Mild dietary copper insufficiency depresses blood neutrophil function in dairy cattle. *J Nutr Immunol.* 4, 3-24.
- TUSCHERER, M., B. PUPPE, A. TUSCHERER, and E. KANITZ, 1998: Effects of social status after mixing on immune, metabolic and endocrine responses in pigs. *Physiol Behav.* 64, 363-360.
- URIBE, H. A., B. W. KENNEDY, S. W. MARTIN, and D. F. KELTON, 1995: Genetic parameters for common health disorders of Holstein cows. *J Dairy Sci.* 78, 421-430.
- VAN DAMME, D., 1989: The role of the laboratory in dairy practice. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 5, 557-565.
- VAN KAMPEN, C., and B. A. MALLARD, 1997: Effects of peripartum stress and health on circulating bovine lymphocyte subsets. *Vet Immunol Immunopathol.* 59, 79-91.
- VEERKAMP, R. F., G. SIMM, and J. D. OLDHAM, 1995: Genotype by environment interactions: experience from Langhill. In: Breeding and feeding the high genetic merit dairy cow. British Society of Animal Science 19, 59-65.
- VON TAVEL, L., M. KIRCHHOFER, M. G. DOHERR, T. KAUFMANN, U. KUEPFER, and R. EICHER, 2005: Comparison of methods to evaluate the energy supply in dairy cows. *Dtsch Tierärztl Wochenschr.* 112, 441-480.

- WAGTER, L. C., B. A. MALLARD, B. N. WILKIE, K. E. LESLIE, P. J. BOETTCHER, and J. C. M. DEKKERS, 2003: The relationship between milk production and antibody response to ovalbumin during the peripartum period. *J Dairy Sci.* 86, 169-173.
- WARD, J. D., G. P. GENGBACH, and J. W. SPEARS, 1997: The effects of copper deficiency with or without high dietary iron or molybdenum on immune function of cattle. *J Anim Sci.* 75, 1400-1408.
- WARD, W. R., and PARKER, C. S., 1999: Field evidence of metabolic stress in dairy cows?. In: *Metabolic stress in dairy cows.* British Society of Animal Science 24, 21-26.
- WILLER, H., und T. LEOPOLD, 1989: Biometrische Aspekte bei der Festlegung von Normal- und Referenzbereichen. *Mh. Vet. Med.* 44, 293-295.
- WILKEN, H., 2003: Endotoxin-Status und Antioxidative Kapazität sowie ausgewählte Stoffwechselfparameter bei gesunden Milch- und Mutterkühen. *Diss. vet. med.*, Leipzig.
- WINNICKA, A., W. KLUCINSKI, J. KAWIAK, G. HOSER, and J. SIKORA, 2000: Effect of Baypamun® on blood leucocytes in normal and dexamethasone treated goats. *J Vet Med. A* 47, 385-394.
- WINTER, M., 1987: Ein Vergleich mehrerer Methoden zur Messung der Phagozytoseaktivität von Granulozyten des Schweines. *Diss. vet. med.*, München.
- ZAHN, N., 2006: Stoffwechseluntersuchung bei klinisch gesunden Kühen unter besonderer Berücksichtigung der Superoxid-Dismutase. *Diss. vet. med.*, Leipzig.
- ZECCONI, A., V. BRONZO, A. CASULA, C. LUZZAGO, P. MORONI, R. PICCININI, and G. SPREAFICO, 1999: Efficacy of a biological response modifier in preventing staphylococcus aureus intramammary infections after calving. *J Dairy Sci.* 82, 2101-2107.
- ZERBE, H., N. SCHNEIDER, W. LEIBOLD, T. WENSING, T. A. M. KRUIP, and H. J. SCHUBERTH, 2000: Altered functional and immunophenotypical properties of neutrophilic granulocytes in postpartum cows associated with fatty liver. *Theriogenology* 54, 771-786.
- ZIEBELL, K.-L., S. KYRIAKIS, D. KRETZDORN, und K. FAILING, 1999: Clinical trials demonstrating safety and efficacy of baypamune, a non specific immunomodulator in livestock animal. 26<sup>th</sup> World Vet. Congress (WVA), 23.-26. September, Lyon.

## 9. Anhang

### Materialien

#### Gesamtleukozyten -bzw. erythrozytenzahl

##### Materialien:

Name	Firma	Bestellnummer
Cello Ton®	Mölab	200003
Cello Clean®	Mölab	200019
Hämolyse Reagenz®	Mölab	200012

#### Hämatokritwert

##### Materialien:

Name	Firma	Bestellnummer
Mikro-Hämatokrit-Kapillaren	Schütt	9.411220
Versiegelungskitt	Schütt	9.411240

#### Vollblutbakterizidie

##### Materialien:

Name	Firma	Bestellnummer
NaCl 0,9%		
Standard-I-Nähragar	Merck	1.07881
Petrischalen steril	Sarstedt	821473

#### Zellisolierung

##### Materialien:

Name	Firma	Bestellnummer
Histopaque®-1077	Sigma	H8889
HBSS	Sigma	H6136
Sodium Bicarbonat	Sigma	S-7277
PBS	Sigma	P-3813
RPMI	Biochrom	T 121-01
L-Glutamin	Merck	1.00289

Name	Firma	Bestellnummer
HEPES	Merck	1.10110
Gentamycin	Biochrom	A-2710

### Phagozytoseaktivität

#### Materialien:

Name	Firma	Bestellnummer
RPMI	Biochrom	T 121-01
L-Glutamin	Merck	1.00289
HEPES	Merck	1.10110
Sodium Bicarbonat	Sigma	S-7277
Fetales Kälberserum	Sigma	F7524
Saponin	Sigma	S-7900
MTT	Sigma	M2128
Lichrosolv®	Merck	31.03.08
Mikrotiterplatten steril	Sarstedt	821581

### Lymphozytenproliferationstest

#### Materialien:

Name	Firma	Bestellnummer
RPMI	Biochrom	T 121-01
L-Glutamin	Merck	1.00289
HEPES	Merck	1.10110
Sodium Bicarbonat	Sigma	S-7277
Gentamycin	Biochrom	A-2710
Fetales Kälberserum	Sigma	F7524
MTT	Sigma	M2128
Lichrosolv®	Merck	31.03.08
Mikrotiterplatten steril	Sarstedt	821581
PBS	Sigma	P-3813
Concanavalin A	Sigma	C5275
Phytohämagglutinin	Sigma	L9132
Pokeweed Mitogen	Sigma	L8777

## Tabellen

Tabelle A1: Mittlere Konzentrationen verschiedener Stoffwechselfparameter der Gruppen M, H und K vor und nach der Challenge (Gruppe M und H jeweils n = 34, Gruppe K n = 20)

	Gruppe	Laktationsstadium	Untersuchungstag			Referenzbereich (Kraft und Dürr, 2005)
			0	2	7	
<b>BHB (mmol/l)</b>	<b>M</b>	<b>LA</b>	0,43 ± 0,15	0,49 ± 0,16	0,46 ± 0,12	< 0,6
		<b>LM</b>	0,33 ± 0,17	0,28 ± 0,10	0,26 ± 0,07	
	<b>H</b>	<b>LA</b>	0,50 ± 0,18	0,56 ± 0,23	0,54 ± 0,19	
		<b>LM</b>	0,35 ± 0,14	0,34 ± 0,10	0,33 ± 0,11	
	<b>K</b>	<b>LA</b>	0,41 ± 0,16	0,91 ± 1,9	0,45 ± 0,18	
<b>FFS (µmol/l)</b>	<b>M</b>	<b>LA</b>	866 ± 336	1036 ± 463	824 ± 370	< 350
		<b>LM</b>	293 ± 404	254 ± 206	218 ± 184	
	<b>H</b>	<b>LA</b>	1168 ± 616	1196 ± 527	1011 ± 486	
		<b>LM</b>	311 ± 315	275 ± 222	230 ± 133	
	<b>K</b>	<b>LA</b>	682 ± 327	972 ± 573	786 ± 385	
<b>Bilirubin (mmol/l)</b>	<b>M</b>	<b>LA</b>	4,4 ± 3,2	4,5 ± 1,7	3,7 ± 1,0	< 5
		<b>LM</b>	3,2 ± 1,6	3,1 ± 1,1	2,9 ± 1,3	
	<b>H</b>	<b>LA</b>	4,0 ± 1,6	5,5 ± 5,1	4,4 ± 1,7	
		<b>LM</b>	2,7 ± 1,0	3,1 ± 1,4	2,5 ± 0,8	
	<b>K</b>	<b>LA</b>	3,3 ± 3,0	3,0 ± 2,5	4,3 ± 3,0	

	Gruppe	Laktationsstadium	Untersuchungstag			Referenzbereich (Kraft und Dürr, 2005)
<b>Cholesterin (mmol/l)</b>	<b>M</b>	<b>LA</b>	2,6 ± 0,6	3,2 ± 0,8	3,6 ± 0,8	> 2,0
		<b>LM</b>	4,7 ± 1,1	5,0 ± 1,0	5,0 ± 1,1	
	<b>H</b>	<b>LA</b>	3,2 ± 0,9	3,4 ± 0,8	3,7 ± 0,8	
		<b>LM</b>	5,3 ± 1,3	5,5 ± 1,1	5,5 ± 1,2	
	<b>K</b>	<b>LA</b>	2,6 ± 0,8	3,0 ± 0,9	3,4 ± 0,9	
<b>Harnstoff (mmol/l)</b>	<b>M</b>	<b>LA</b>	5,0 ± 1,6	5,7 ± 1,9	5,8 ± 1,6	3,3-5,0
		<b>LM</b>	5,9 ± 1,4	6,2 ± 1,1	6,0 ± 1,0	
	<b>H</b>	<b>LA</b>	4,9 ± 1,4	5,0 ± 1,1	5,2 ± 1,3	
		<b>LM</b>	5,9 ± 1,4	6,2 ± 1,4	6,0 ± 1,0	
	<b>K</b>	<b>LA</b>	4,1 ± 1,1	4,7 ± 1,5	5,1 ± 1,2	
<b>AST (U/l)</b>	<b>M</b>	<b>LA</b>	66,1 ± 26,1	80,5 ± 23,1	77,12 ± 19,0	< 80
		<b>LM</b>	106,3 ± 43,3	107,7 ± 41,8	100,5 ± 36,9	
	<b>H</b>	<b>LA</b>	72,5 ± 20,9	77,0 ± 16,7	74,2 ± 15,6	
		<b>LM</b>	104,0 ± 39,5	102,0 ± 35,0	108,2 ± 39,2	
	<b>K</b>	<b>LA</b>	74,1 ± 30,2	80,4 ± 34,9	80,4 ± 26,9	
<b>GLDH (U/l)</b>	<b>M</b>	<b>LA</b>	31,7 ± 40,5	38,0 ± 49,4	36,4 ± 36,1	< 30
		<b>LM</b>	55,8 ± 74,2	50,2 ± 48,1	48,2 ± 42,8	
	<b>H</b>	<b>LA</b>	25,0 ± 31,3	22,3 ± 25,5	25,9 ± 33,7	
		<b>LM</b>	36,5 ± 35,8	32,2 ± 24,3	37,5 ± 29,8	
	<b>K</b>	<b>LA</b>	19,1 ± 17,5	30,5 ± 18,3	23,4 ± 23,3	

	Gruppe	Laktationsstadium	Untersuchungstag			Referenzbereich (Kraft und Dürr, 2005)
<b><math>\gamma</math>-GT (U/l)</b>	<b>M</b>	<b>LA</b>	28,3 ± 6,7	32,8 ± 29,5	33,2 ± 27,8	< 50
		<b>LM</b>	39,7 ± 18,3	41,8 ± 18,0	40,9 ± 19,9	
	<b>H</b>	<b>LA</b>	27,7 ± 10,8	28,1 ± 9,6	27,2 ± 9,6	
		<b>LM</b>	34,2 ± 12,0	37,5 ± 11,4	37,3 ± 11,7	
	<b>K</b>	<b>LA</b>	37,6 ± 26,4	49,6 ± 27,1	34,9 ± 18,1	
	<b>Gesamtprotein (g/l)</b>	<b>M</b>	<b>LA</b>	81,5 ± 7,4	82,0 ± 6,3	
<b>LM</b>			87,4 ± 5,3	88,0 ± 5,5	87,9 ± 6,4	
<b>H</b>		<b>LA</b>	84,3 ± 6,0	85,3 ± 6,0	86,8 ± 6,6	
		<b>LM</b>	87,4 ± 7,1	88,3 ± 6,8	88,2 ± 6,6	
<b>K</b>		<b>LA</b>	80,5 ± 6,6	84,2 ± 7,5	86,6 ± 8,0	
<b>Glucose (mmol/l)</b>		<b>M</b>	<b>LA</b>	3,4 ± 0,5	3,2 ± 0,4	3,3 ± 0,4
	<b>LM</b>		3,3 ± 0,3	3,4 ± 0,3	3,3 ± 0,3	
	<b>H</b>	<b>LA</b>	3,5 ± 0,5	3,4 ± 0,4	3,4 ± 0,5	
		<b>LM</b>	3,4 ± 0,5	3,4 ± 0,4	3,4 ± 0,4	
	<b>K</b>	<b>LA</b>	3,3 ± 0,4	3,2 ± 0,5	3,3 ± 0,6	
	<b>Kalzium (mmol/l)</b>	<b>M</b>	<b>LA</b>	2,49 ± 0,17	2,52 ± 0,13	2,53 ± 0,15
<b>LM</b>			2,52 ± 0,10	2,53 ± 0,09	2,55 ± 0,22	
<b>H</b>		<b>LA</b>	2,47 ± 0,13	2,48 ± 0,19	2,52 ± 0,13	
		<b>LM</b>	2,56 ± 0,11	2,55 ± 0,13	2,56 ± 0,12	
<b>K</b>		<b>LA</b>	2,43 ± 0,14	2,45 ± 0,14	2,48 ± 0,11	

	<b>Gruppe</b>	<b>Laktations- stadium</b>	<b>Untersuchungstag</b>			<b>Referenz- bereich</b> (Kraft und Dürr, 2005)
<b>Phosphor (mmol/l)</b>	<b>M</b>	<b>LA</b>	1,55 ± 0,30	1,62 ± 0,35	1,53 ± 0,30	1,6-2,3
		<b>LM</b>	1,80 ± 0,29	1,79 ± 0,26	1,81 ± 0,42	
	<b>H</b>	<b>LA</b>	1,57 ± 0,32	1,57 ± 0,36	1,64 ± 0,35	
		<b>LM</b>	1,78 ± 0,30	1,70 ± 0,45	1,67 ± 0,36	
	<b>K</b>	<b>LA</b>	1,58 ± 0,25	1,60 ± 0,28	1,57 ± 0,32	

Tabelle A2: Mittlere hämatologische Kenngrößen der Gruppen M, H und K vor und nach der Challenge (Gruppe M und H jeweils n = 34, Gruppe K n = 20)

	Gruppe	Laktationsstadium	Untersuchungstag			Referenzbereich (Kraft und Dürr, 2005)
			0	2	7	
Hämatokrit (%)	M	LA	33 ± 2,2	33 ± 2,5	33 ± 2,5	28-38 %
		LM	33 ± 2,9	33 ± 3,1	34 ± 3,0	
	H	LA	31 ± 2,2	31 ± 2,0	31 ± 1,8	
		LM	33 ± 2,7	33 ± 2,7	33 ± 2,8	
	K	LA	30 ± 3,8	30 ± 4,0	30 ± 4,3	
Erythrozytenzahl (T/l)	M	LA	6,9 ± 0,5	6,7 ± 0,5	6,7 ± 0,5	5-10 T/l
		LM	7,3 ± 0,6	7,2 ± 0,6	7,2 ± 0,6	
	H	LA	6,6 ± 0,5	6,5 ± 0,5	6,5 ± 0,5	
	K	LA	6,5 ± 0,8	6,4 ± 0,8	6,3 ± 0,9	
Leukozytenzahl (G/l)	M	LA	7,8 ± 1,9	7,5 ± 1,8	8,0 ± 1,9	5-10 G/l
		LM	7,9 ± 1,7	7,9 ± 1,5	7,8 ± 1,7	
	H	LA	7,1 ± 1,9	7,1 ± 2,0	7,0 ± 1,4	
		LM	7,5 ± 1,4	7,4 ± 1,4	7,3 ± 1,5	
	K	LA	6,6 ± 2,5	6,7 ± 2,3	7,2 ± 1,8	
Stabkernige Granulozyten (%)	M	LA	0,2 ± 0,6	0,1 ± 0,4	0,1 ± 0,4	0-3%
		LM	0,0 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	
	H	LA	0,2 ± 0,5	0,1 ± 0,3	0,1 ± 0,2	
		LM	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	
	K	LA	0,1 ± 0,3	0,1 ± 0,2	0,2 ± 0,5	

			Untersuchungstag			
<b>Segmentkernige Granulozyten (%)</b>	<b>M</b>	<b>LA</b>	40,1 ± 14,2	37,6 ± 11,0	40,1 ± 14,8	25-45 %
		<b>LM</b>	39,5 ± 13,8	41,5 ± 12,3	37,8 ± 13,1	
	<b>H</b>	<b>LA</b>	41,3 ± 16,4	42,1 ± 15,1	39,6 ± 11,5	
		<b>LM</b>	36,4 ± 13,1	37,4 ± 13,5	38,9 ± 15,4	
	<b>K</b>	<b>LA</b>	33,7 ± 16,1	36,3 ± 13,0	41,2 ± 15,7	
	<b>Lymphozyten (%)</b>	<b>M</b>	<b>LA</b>	56,9 ± 14,6	60,0 ± 11,7	
<b>LM</b>			55,5 ± 13,7	53,0 ± 12,6	57,8 ± 14,5	
<b>H</b>		<b>LA</b>	56,1 ± 17,8	54,9 ± 14,8	57,0 ± 12,9	
		<b>LM</b>	58,9 ± 14,7	59,2 ± 13,7	57,2 ± 15,1	
<b>K</b>		<b>LA</b>	62,9 ± 16,1	61,8 ± 12,8	54,5 ± 16,1	
<b>Monozyten (%)</b>		<b>M</b>	<b>LA</b>	0,4 ± 0,8	0,2 ± 0,6	0,1 ± 0,2
	<b>LM</b>		0,1 ± 0,4	0,2 ± 0,6	0,1 ± 0,3	
	<b>H</b>	<b>LA</b>	0,2 ± 0,6	0,1 ± 0,3	0,1 ± 0,3	
		<b>LM</b>	0,1 ± 0,4	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,5	
	<b>K</b>	<b>LA</b>	0,8 ± 2,1	0,2 ± 0,5	0,1 ± 0,2	
	<b>Basophile Granulozyten (%)</b>	<b>M</b>	<b>LA</b>	0,3 ± 0,8	0,4 ± 0,7	0,4 ± 0,6
<b>LM</b>			0,5 ± 0,8	0,6 ± 0,7	0,6 ± 1,0	
<b>H</b>		<b>LA</b>	0,5 ± 0,9	0,4 ± 0,8	0,3 ± 0,5	
		<b>LM</b>	0,6 ± 0,8	0,4 ± 0,6	0,5 ± 0,7	
<b>K</b>		<b>LA</b>	0,2 ± 0,4	0,4 ± 0,7	0,4 ± 0,8	

			<b>Untersuchungstag</b>			
<b>Eosinophile Granulozyt en (%)</b>	<b>M</b>	<b>LA</b>	2 ±3	2 ±2	3 ±3	1-10 %
		<b>LM</b>	4 ±4	5 ±4	4 ±3	
	<b>H</b>	<b>LA</b>	2 ±2	2 ±2	3 ±3	
		<b>LM</b>	4 ±4	3 ±2	3 ±3	
	<b>K</b>	<b>LA</b>	2 ±3	1 ±2	4 ±4	

## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei der Durchführung und Fertigstellung meiner Arbeit unterstützt haben.

Mein Dank gilt:

Herrn Prof Dr. Albert Sundrum und Herrn Prof. Dr. Manfred Fürll für die freundliche Bereitstellung der Arbeit, die jederzeit gewährte Unterstützung bei der Durchführung der Untersuchungen sowie für die hilfreichen Anmerkungen bei der Durchsicht des Manuskriptes.

Meinen Kollegen im Fachgebiet Tierernährung und Tiergesundheit für die tatkräftige und moralische Unterstützung.

Herrn Uwe Richter für die Hilfe und die Geduld bei der statistischen Auswertung und der Formatierung.

Frau Susanne Hartmann für die hervorragende Zusammenarbeit im Labor.

Den Mitarbeitern des Versuchsbetriebes und insbesondere Herrn Klaus Kaiser für die Bereitstellung der Tiere sowie der tatkräftigen Unterstützung bei den Untersuchungen.

Im Besonderen meinen Eltern, meiner Familie, Claus und Familie und meinen Freunden, ohne deren Verständnis und Unterstützung die Durchführung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

### **Erklärung**

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt und andere als die in der Dissertation angegebenen Hilfsmittel nicht benutzt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder unveröffentlichten Schriften entnommen sind, habe ich als solche kenntlich gemacht. Kein Teil dieser Arbeit ist in einem anderen Promotions- oder Habilitationsverfahren verwendet worden.

Witzenhausen, den 20. Juli 2006