

Untersuchungen zum Stoffwechsel-Monitoring bei
Milchkühen unter besonderer Berücksichtigung von
Haptoglobin und ausgewählten klinischen Parametern

Von

Franziska Elisabeth Hajek

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

Untersuchungen zum Stoffwechsel-Monitoring bei
Milchkühen unter besonderer Berücksichtigung von
Haptoglobin und ausgewählten klinischen Parametern

von Franziska Elisabeth Hajek

aus Isny im Allgäu

München 2021

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

Lehrstuhl für Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:

Univ.-Prof. Dr. Rolf Mansfeld

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph. D.

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Rolf Mansfeld

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Michael H. Erhard

Tag der Promotion: 06. Februar 2021

Die vorliegende Arbeit wurde gemäß §6 Abs. 2 der Promotionsordnung für die Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München in kumulativer Form verfasst.

Folgende wissenschaftliche Arbeiten sind in dieser Dissertationsschrift enthalten:

Hajek, F, Mansfeld, R. Übersicht zu Zusammenhängen zwischen Änderungen der Bewegungsintensität und Ketose bei Milchkühen. Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere 2019; 47: 380-389

Hajek, F et al. Nutzung der Haptoglobinkonzentration im Blutserum als Indikator im Tiergesundheitsmonitoring bei Milchkühen. Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere 2020; 48: 228-238

Für Dich!

Wir stehen immer noch vor der Tür, hinter der die großen Antworten warten.
(Arthur Miller)

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT – ERSTE VERÖFFENTLICHUNG..	2
	Übersicht zu Zusammenhängen zwischen Änderungen der Bewegungsintensität und Ketose bei Milchkühen	2
III.	TIERE, MATERIAL UND METHODEN	19
1.	Betriebe	19
1.1.	Fleckvieh	19
1.2.	Braunvieh	20
2.	Ablauf in den Betrieben.....	21
2.1.	Milchprobennahme.....	21
2.2.	Datengewinnung und Untersuchung der Tiere.....	22
2.3.	Blutprobennahme	23
3.	Verarbeitung der Milch- und Blutproben	24
3.1.	Milchproben	24
3.2.	Blutproben.....	25
4.	Aktivität und Wiederkautätigkeit.....	25
5.	Statistische Methoden	26
IV.	ERGEBNISSE HAPTOGLOBIN - ZWEITE VERÖFFENTLICHUNG	28
	Nutzung der Haptoglobinkonzentration im Blutserum als Indikator im Tiergesundheitsmonitoring bei Milchkühen	28
V.	WEITERE UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE.....	51
1.	NEFA	51
2.	BHB	54
3.	Aktivität.....	57
4.	Wiederkautätigkeit.....	58
VI.	DISKUSSION	59
1.	Diskussion der Methoden	59

2.	Diskussion der Ergebnisse	61
VII.	SCHLUSSBETRACHTUNG	65
VIII.	ZUSAMMENFASSUNG	66
IX.	SUMMARY	68
X.	LITERATUR	70
XI.	DANKSAGUNG	78

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AMS	Automatisches Melksystem
a.p.	Ante partum
AST	Aspartat-Aminotransferase
BHB	Beta (β) - Hydroxybutyrat
BCS	Body-Condition-Score
BLE	Bundesamt für Landwirtschaft und Ernährung
BMEL	Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft
CK	Kreatinkinase
DIM	Days in milk, Laktationstag
DLQ	Deutscher Verband für Leistungs- und Qualitätsprüfungen e.V.
ELISA	Enzyme-linked immunosorbant assay
GLDH	Glutamatdehydrogenase
HIS	Health index score
Hp	Haptoglobin
IKT	Innere Körpertemperatur

KI	Konfidenzintervall
LKV	Landeskuratorium der Erzeugerringe für tierische Veredelung in Bayern e.V.
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität München
LOP	Leistungsoberprüfer
LS	Locomotion Score
LSM	Least Square Mean
MPR	Milchprüfring Bayern e.V.
NEFA	Non-esterified fatty acids, freie Fettsäuren
o.b.B.	Ohne besonderen Befund
OR	Odds Ratio
PMAS	Poor metabolic adaptation syndrome
p.p.	Post partum
RFD	Rückenfettdicke
SCC	Somatic cell count, Somatische Zellzahl
SCK	Subklinische Ketose

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Wochenplan für Probennahme, Untersuchung und Auslieferung der Geräte zur Milchprobennahme (Shuttles)	20
Abbildung 2: Zeitintervalle der Proben- und Datengewinnung pro Tier vom Tag 0 bis 50 Tage post partum (p.p.) (d0 = Tag der Kalbung, d5 = 5 Tage p.p., d10 = 10 Tage p.p., d30 = 30 Tage p.p., d50 = 50 Tage p.p.)	21

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Übersicht der erhobenen Parameter aus den Herdenmanagement- Programmen der automatischen Melksysteme.....	26
Tabelle 2: Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse der numerischen Variablen bei einem NEFA-Grenzwert im Blutserum von 0,7 mmol/l	52
Tabelle 3: Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse der Faktorvariablen bei einem NEFA-Grenzwert im Blutserum von 0,7 mmol/l.....	53
Tabelle 4: Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse der numerischen Variablen bei einem BHB-Grenzwert im Blutserum von 1,2 mmol/l	55
Tabelle 5: Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse der Faktorvariablen bei einem BHB-Grenzwert im Blutserum von 1,2 mmol/l	56
Tabelle 6: Zusammenhänge zwischen der täglichen Aktivität und der NEFA- Konzentration im Blut sowie dem Laktose-Gehalt der Milch, Ergebnisse der multiplen Regressionsanalyse	57
Tabelle 7: Zusammenhänge zwischen der täglichen Wiederkauaktivität und der Haptoglobin-Konzentration im Blut sowie dem Harnstoff-Gehalt der Milch, Ergebnisse der multiplen Regressionsanalyse	58

I. EINLEITUNG

Der peripartale Zeitraum stellt die kritischste Phase im Leben der Milchkuh dar. Vor allem hochleistende und ältere Tiere nehmen nicht genug Futter auf, um ihren Energiebedarf ausreichend decken zu können. Stoffwechselstörungen, wie Ketosen oder das „poor metabolic adaptation syndrome“ (PMAS) sind mögliche Folgen (BAIRD, 1982; BELL, 1995; TREMBLAY et al., 2018).

In mehreren Studien wurde festgestellt, dass mit der Beurteilung der Aktivität (EDWARDS & TOZER, 2004; ITLE et al., 2015; STANGAFERRO et al., 2016a) sowie des Steh- und Liegeverhaltens der Tiere (SEPULVEDA-VARAS et al., 2014; KAUFMAN et al., 2016) eine frühzeitige Krankheitserkennung möglich ist. Dies ist in der Transitphase besonders im Hinblick auf Stoffwechselerkrankungen ein interessanter Ansatz, um verdächtige Tiere schon zu erkennen, bevor sich Veränderungen im Blut zeigen (EDWARDS & TOZER, 2004). Auch durch Lahmheiten kann es zu einer verminderten Aktivität der Tiere kommen. Es konnten Zusammenhänge zwischen Lahmheiten, Klauenerkrankungen und Ketosen dargestellt werden (CALDERON & COOK, 2011; NIELSEN et al., 2013; SUTHAR et al., 2013).

Haptoglobin als Akute-Phase-Protein ist ein wichtiger Entzündungsmarker bei der Milchkuh (ECKERSALL & CONNER, 1988; HORADAGODA et al., 1999). Signifikante Anstiege der Haptoglobinkonzentration sind bis eine Woche nach der Kalbung nachweisbar. Dies lässt auf eine Entzündungsreaktion um den Zeitpunkt der Kalbung schließen (HUMBLET et al., 2006). Bei Erhöhungen der somatischen Zellzahl in der Milch (SUOJALA et al., 2008), Lahmheiten (BAGGA et al., 2016) und Ketosen (EL-DEEB & EL-BAHR, 2017) steigen die Haptoglobinkonzentrationen ebenfalls an. Aufgrund der Halbwertszeit von 45 Stunden kann die Messung der Haptoglobin-Werte nach der Therapie zur Überprüfung des Therapieerfolges herangezogen werden (RICHTER, 1974; ECKERSALL & CONNER, 1988).

Ziel der Dissertation war es, die Zusammenhänge zwischen Stoffwechselstörungen, Haptoglobinkonzentrationen im Blut, ausgewählten klinischen Parametern, Aktivität und Wiederkautätigkeit darzustellen.

II. LITERATURÜBERSICHT – ERSTE VERÖFFENTLICHUNG

Übersicht zu Zusammenhängen zwischen Änderungen der Bewegungsintensität und Ketose bei Milchkühen

Overview on the relationship between changes in activity and ketosis in dairy cows

Franziska Hajek, Rolf Mansfeld

Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere 2019; 47: 380-389

Übersichtsartikel

Übersicht zu Zusammenhängen zwischen Änderungen der Bewegungsintensität und Ketose bei Milchkühen

Overview on the relationship between changes in activity and ketosis in dairy cows

Autoren

Franziska Hajek, Rolf Mansfeld

Institut

Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung der Tierärztlichen
Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Schlüsselwörter

Stoffwechsel, Bewegung, Aktivität, Stehverhalten, Liegeverhalten, Lahmheit,
Klauenerkrankungen

Key words

Metabolism, movement, activity, standing behavior, lying behavior, lameness,
claw diseases

eingereicht 21.09.2019

akzeptiert 29.10.2019

Bibliografie

DOI <http://dx.doi.org/10.1055/a-1037-9173>

Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere 2019; 47: 380–389

© Georg Thieme Verlag KG Stuttgart New York

ISSN 1434-1220

Korrespondenzadresse

Mag. med. vet. Franziska Hajek

Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung

Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Sonnenstraße 16

85764 Oberschleißheim

Franziska.Hajek@campus.lmu.de

Hajek F et al. Übersicht zu Zusammenhängen ... Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere
Nutztiere 2019; 47: 380–389

ZUSAMMENFASSUNG

Mit einer Prävalenz von bis zu 43% zählt die subklinische Ketose zu den häufigsten Erkrankungen von Milchkühen in der Transitphase. Sie kann ihrerseits Auslöser für Folgeerkrankungen wie klinische Ketose oder Lahmheit sein. Eine Überwachung der Tiere in dieser Phase ist sehr wichtig. Hierzu eignen sich außer der Bestimmung von β -Hydroxybutyrat bzw. Actetoacetat in Blut, Milch und Harn sowie der Beobachtung der Tiere auch computergestützte Systeme. Dafür werden Daten, wie die Tieridentifikation und Aktivitätsdaten, auf einem Datenlogger aufgezeichnet und gespeichert und an einen Computer übermittelt. Eine Änderung der Aktivität kann schon Tage vor dem Auftreten anderer Symptome ein Hinweis auf eine zugrundeliegende Krankheit sein. Im Zusammenhang mit Ketose lässt sich schon 5 Tage vor der klinischen Diagnose eine Aktivitätsabnahme beobachten. So leisten diese Daten einen wertvollen Beitrag für Landwirt und Tierarzt zur Überwachung des Gesundheitszustands der Herde. Auch für die Erkennung einer beginnenden Lahmheit kann die Aktivitätsmessung eingesetzt werden. Bei vorliegender Lahmheit nimmt die Bewegungsaktivität ab und die Liegeperioden werden länger. Die Aktivitätsmessung über den Transponder gibt im Rahmen eines Herdenmonitorings wichtige Hinweise auf die Lahmheitsprävalenz in einer Herde. Zusätzlich zur Aktivitätsmessung sollte eine visuelle Beurteilung durchgeführt werden. Hierzu wurden Lahmheitsscores (Locomotion Score, Gait Score) entwickelt, anhand derer der Lahmheitsstatus der Herde erhoben werden kann. Damit lassen sich die Tiere in Lahmheitsklassen einteilen und dadurch werden die Tiere erkannt, die einer Klauenpflege oder Behandlung unterzogen werden sollten, um Folgeerkrankungen zu reduzieren oder zu vermeiden. Plausibel ist, dass die Tiere aufgrund der Lahmheit, der damit einhergehenden reduzierten Aktivität und der daraus folgenden verminderten Futteraufnahme eine subklinische oder klinische Ketose entwickeln. Sowohl aus Sicht der Tiergesundheit als auch aus wirtschaftlichen Gründen ist eine frühzeitige Krankheitserkennung und -prophylaxe wünschenswert und sollte deshalb Ziel eines Herdenmonitorings sein.

ABSTRACT

With a prevalence of up to 43% subclinical ketosis is one of the most common diseases in dairy cows in their transition period. In itself, this may cause subsequent diseases such as clinical ketosis or lameness. Therefore, monitoring of animals in this stage is of importance. In addition to the measurement of β -hydroxybutyrate or acetoacetate in blood, milk, and urine as well as the observation of the animals, computer-assisted systems are suitable means of monitoring. Information such as animal identification and activity data are recorded on a data logger and transmitted to a computer. A change in activity may be an indication of an underlying disease days before the onset of additional clinical signs. In cases of ketosis, a decrease in activity may be observed 5 days before the clinical diagnosis is made. Thus, these data are a valuable contribution in monitoring the cattle herd's health status for both the farmer and the veterinarian. Activity measurement may also be employed for the detection of a beginning lameness. In the presence of lameness, the individual's activity decreases and periods of lying

are longer. Activity measurement via transponder as a part of the herd monitoring provides important information on lameness prevalence in the herd. In the presence of a lameness a visual assessment should additionally be made. Lameness scores (Locomotion score, Gait score) have been developed for this purpose and add to determining the lameness status of the herd. This way the animals are divided into different lameness classes. Based on this classification those individuals in need of claw trimming or further treatment may be identified leading to amelioration or prevention of secondary diseases. Due to lameness and subsequent reduction of activity and feed intake, the animals may develop subclinical or clinical ketosis. Therefore, under consideration of both animal welfare and economic factors early disease detection and prophylaxis is desirable and should be a main objective of herd monitoring.

Einleitung

Die subklinische Ketose zählt zu einer der häufigsten Erkrankungen der Milchkuh in der Transitphase. Sie kann wiederum Wegbereiter für Folgeerkrankungen, wie beispielsweise Lahmheit, sein. Eine besondere Überwachung der Tiere in diesem Zeitraum ist aus Gründen des Tierschutzes, aber auch aus wirtschaftlichen Gründen unabdingbar und sollte Teil eines jeden Herdenmonitorings sein.

Subklinische und klinische Ketose

Eine negative Energiebilanz tritt physiologischerweise in der ersten Zeit post partum (p. p.) auf, da die Tiere nach der Kalbung zu wenig Futter aufnehmen, um den Energiebedarf bei hoher Milchleistung decken zu können (3, 6). Dies betrifft vor allem hochleistende und ältere Tiere zu Beginn der Laktation (3, 50). Zusätzlich machen Überfütterung und Überkonditionierung während der Hochträchtigkeit die Tiere empfänglich für metabolische Erkrankungen wie das Lipomobilisationssyndrom, die Ketose (Hyperketonämie) oder das „poor metabolic adaptation syndrome“ (PMAS) (22, 50).

In der Literatur gibt es verschiedene Grenzwerte für β -Hydroxybutyrat (BHB), ab denen von einer subklinischen Ketose (SCK) gesprochen wird (20, 41, 48) (Tab. 1). Als Goldstandard für die Diagnostik der subklinischen Ketose wird die β -Hydroxybutyrat-Bestimmung im Blut angesehen (28, 41, 48). Der Markt bietet Schnelltestgeräte, die eine zuverlässige BHB-Messung direkt im Stall erlauben (29, 34). Die Bestimmung von Ketonkörpern ist auch in der Milch und im Harn möglich (10, 28), doch sind die Ergebnisse aufgrund niedrigerer Sensitivitäten mit Vorsicht zu interpretieren. Im Hinblick auf den Aufwand der Harngewinnung eignet sich diese Methode nicht für das Herdenmonitoring (39).

Tab. 1 Von verschiedenen Autoren genutzte Grenzwerte für die β -Hydroxybutyrat-Konzentration (BHB) im Blut zum Nachweis einer subklinischen Ketose.

Table 1 Limit values for blood β -hydroxybutyric acid (BHB) concentration used by different authors for the detection of subclinical ketosis.

Autoren	BHB-Grenzwert
Duffield et al. (20)	$\geq 1,4$ mmol/l
Iwersen et al. (28)	$\geq 1,2$ oder $\geq 1,4$ mmol/l ¹
Liboreiro et al. (32)	$> 1,0$ mmol/l
Mahrt et al. (35)	$\geq 1,2$ mmol/l
Nielen et al. (39)	$\geq 1,4$ mmol/l
Oetzel (41)	$> 1,4$ mmol/l
Tremblay et al. (50)	$\geq 1,2$ mmol/l
¹ Verwendung zweier Grenzwerte zur Feststellung von Sensitivität und Spezifität der untersuchten Testsysteme bei verschiedenen angenommenen Grenzwerten	

Die Bezeichnung subklinische Ketose beinhaltet das Ausbleiben klinischer Symptome (18, 28, 48). Die durchschnittliche Dauer der subklinischen Ketose beträgt 7,9 Tage (17). Ab einem BHB-Grenzwert von 1,4 mmol/l besteht ein erhöhtes Risiko für das Tier, eine klinische Ketose zu entwickeln (13); Raboisson et al. (42) stellten in ihrer Studie ein $7,30 \pm 3,77$ -fach erhöhtes Risiko fest. Der Übergang der subklinischen zur klinischen Ketose erscheint fließend und BHB-Konzentrationen, bei deren Überschreitung die Tiere klinische Symptome zeigen, sind individuell unterschiedlich (2, 37, 41). McArt et al. (37) bezeichnen BHB-Konzentrationen $> 3,0$ mmol/l als „klinische Ketose“. Folgende Symptome können bei einer klinischen Ketose auftreten: Rückgang der Milchleistung, verminderte Futteraufnahme, reduzierte Aktivität, reduziertes Allgemeinbefinden, starker Rückgang des Body Condition Score (BCS) (Abnahme um ≥ 1), harter Kot, Geruch nach Ketonkörpern, ggf. zentralnervöse Symptome (7), verminderte Pansenfüllung und -tätigkeit, erhöhte Leber- (AST, GLDH) und Bilirubinwerte im Blut (50). Die beschriebenen Symptome korrelieren nicht eng mit den BHB-Werten im Blut, sondern mehr mit der Konzentration der freien Fettsäuren („non-esterified fatty acids“, NEFA). Tremblay et al. (50) bezeichnen das Krankheitsbild daher als „poor metabolic adaptation syndrome“ (PMAS) (50).

Im Zeitraum 1–3 Wochen p. p. ist die Inzidenz der subklinischen Ketose am höchsten (19, 41). In der Studie von McArt et al. (37) variierte sie zwischen 26 und 56% (Mittelwert 43%) und hatte einen Höhepunkt an Tag 5 p. p. (37). Stangaferro et al. (47) ermittelten eine Inzidenz von 5%, die Ketose trat am Tag $9,3 \pm 5,4$ p. p. auf. Die Prävalenz der subklinischen Ketose in den ersten beiden Monaten post partum variiert in den Herden zwischen 8,9 und 43% (17, 19, 37). Studienabhängig erreicht sie ihren Höhepunkt schon an Tag 5 p. p. (37) oder erst zwischen Tag 21 und 25 p. p. In den Zeitraum 11–35 Tage p. p. fallen 56% der Tiere mit Ketose (17). Die mittlere Prävalenz der klinischen Ketose beträgt 1,6%, kann aber in einzelnen Herden auf bis zu 23% ansteigen (7). Die Überwachung der Tiere sollte von der Kalbung bis etwa 6 Wochen p. p. erfolgen, um den Zeitraum abzudecken, in dem Ketosen am häufigsten auftreten (35).

Auf die frühzeitige Diagnostik einer subklinischen Ketose sollte zur Erhaltung der Tiergesundheit, aber auch aus wirtschaftlichen Gründen geachtet werden (17). In

der Studie von McArt et al. (37) gaben Tiere mit einer BHB-Konzentration $\geq 1,2$ mmol/l in den ersten 30 Tagen der Laktation 0,4 kg weniger Milch pro Melkung, in einer anderen Studie gaben sie im Mittel 15 kg weniger Milch pro Tag (21). Bei Betrachtung der 305-Tage-Leistung resultierte ein Milchverlust von 340 ± 48 kg (42). Gleichzeitig sind Tiere mit hoher Milchleistung gefährdeter, ein PMAS zu entwickeln (50). Tiere mit subklinischer Ketose gingen außerdem 1,4-mal häufiger ab oder entwickelten Folgeerkrankungen wie Labmagenverlagerung (37), klinische Ketose, Ovarialzysten, Metritis (17), Mastitis oder Lahmheiten (7). Diskutiert wird, ob diese Erkrankungen aufgrund einer durch die Ketose hervorgehenden Veränderung der Homöostase der Milchkuh in der Transitphase entstehen (7). Nachgewiesen ist, dass Tiere durch die negative Energiebilanz in der Transitphase eine geringere Immunabwehr haben und so anfälliger für Erkrankungen sind (7, 48). Die Risiken für die Entwicklung verschiedener Folgeerkrankungen sind in Tab. 2 dargestellt.

Tab. 2 Wahrscheinlichkeit (OR = Odds Ratio), mit der Milchkühe mit subklinischer Ketose verschiedene Folgeerkrankungen entwickeln (7).

Table 2 Probability (OR = Odds Ratio) for the development of a secondary disease in dairy cows with subclinical ketosis (7).

Folgeerkrankung	Wahrscheinlichkeit (OR) (n = 4709 Tiere in 131 Herden)
Metritis	1,5 (p = 0,03)
Lahmheit	1,7 (p = 0,05)
Mastitis	1,9 (p < 0,01)
Labmagenverlagerung	3,4 (p < 0,01)
gastrointestinale Erkrankung	3,8 (p < 0,01)
klinische Ketose	14,7 (p < 0,01)

Eine Prophylaxe der Ketose ist durch die Fütterung einer Ration mit ausreichend Energie (3) und die Substitution verschiedener energiereicher Futtermittel, z. B. Propylenglykol und Glycerin, möglich (25). Außerdem sollten die Tiere regelmäßig beobachtet und untersucht werden, um andere Erkrankungen frühzeitig zu erkennen, die, ausgelöst durch eine folgende reduzierte Futteraufnahme, zu einer Ketose führen können (3).

Aktivitätsmessung als Mittel der Lahmheitserkennung

Je größer die Betriebe und je hochleistender die Tiere werden, desto mehr Bedeutung erlangen Managementsysteme und eine computergestützte Datenerhebung für die Betriebsleitung und die bestandsbetreuenden Tierärzte (12, 49). Dazu ist eine elektronische Erkennung der Tiere notwendig. Hierfür gibt es Transponder (Pedometer oder Halsband) (12, 49), auf die über einen Magnetchip die Identifikation des Tieres gespielt wird. Im Transponder befindet sich die Elektronik, die weitere Daten, wie die Aktivität des Tieres, messen kann (49). Derzeit gibt es diverse Systeme zur automatisierten Lahmheitserkennung, doch sind nur wenige bereits so weit entwickelt, dass sie in den Betrieben eingesetzt werden können (1, 51). Die Messung der Schrittgeschwindigkeit und der

Stehperioden hat den größten Vorhersagewert für die Erkennung lahmer Tiere (Sensitivität: 90,2%, Spezifität: 90,7%). Durch automatisierte Lahmheitserfassung lassen sich leicht lahme Tiere frühzeitig erkennen (1, 5).

Bei der visuellen Lahmheitsbeurteilung sollte auf den Gang, die Rückenlinie, das Becken und die Gelenke geachtet werden (14, 46). Im Stand sollten die Gliedmaßen vergleichend beurteilt werden, besonders im Hinblick auf Schwellungen, Verletzungen und gefüllte Gelenke. Physiologisch belastet das Tier alle Gliedmaßen gleichmäßig (14). Als Hilfsmittel zur Beobachtung der Tiere sind Kameras geeignet (12, 49). Eine Einteilung nach Schweregrad der Lahmheit kann mittels verschiedener Scoring-Systeme vorgenommen werden (1, 46). Dafür hat sich unter anderem der 5-stufige Locomotion Score nach Sprecher bewährt (46). Zusätzlich zur visuellen und automatisierten Lahmheitsbeobachtung sollte eine regelmäßige Klauenkontrolle erfolgen (12). Die Lahmheitsprävalenz ist je nach Betrieb sehr unterschiedlich (0–81%) (4, 15).

Auch Lahmheiten führen zu wirtschaftlichen Einbußen (1) durch verminderte Milchleistung (24, 52), schlechtere Fruchtbarkeit (33) und ein erhöhtes Abgangsrisiko (8). Zusammen mit der Messung der Milchmenge stellt die Messung der Bewegungsaktivität ein wichtiges Hilfsmittel zur frühzeitigen Erkennung anderer Erkrankungen (21) und für die Brunsterkennung dar (21, 49, 53). Die frühzeitige Erkennung und Vorbeugung von Lahmheiten ist aus wirtschaftlichen Gründen und unter Tierschutzaspekten unabdingbar. In der Studie von Hernandez et al. (26) wurde die Lahmheitsprävalenz durch regelmäßige Klauenpflege um 25% reduziert. Tiere mit einer geringgradigen Lahmheit sollten umgehend einer Klauenkontrolle und -pflege unterzogen werden (51).

Zusammenhänge zwischen Ketose und Bewegungsstörungen

Tab. 3 zeigt eine Übersicht über die Veränderungen des Bewegungsverhaltens bei Milchkühen mit klinischer oder subklinischer Ketose.

Tab. 3 Übersicht über von verschiedenen Autoren festgestellte Veränderungen des Bewegungsverhaltens bei Milchkühen mit subklinischer Ketose (SCK) oder klinischer Ketose.

Table 3 Overview of changes in activity behavior in dairy cows with subclinical ketosis (SCK) or clinical ketosis described by different authors.

Verwendeter Indikator	Veränderung	Kühe (n)	Messfrequenz	Quelle
Bewegungsaktivität ¹	Niedrigste Aktivität am Tag der Diagnose der Ketose durch die klinische Untersuchung ($p < 0,01$)	1080	täglich	Stangaferro et al. (47)
	8 Tage vor der Diagnose der SCK geringere Futteraufnahme und geringere Anzahl Melkungen ($p < 0,05$)	605	1× wöchentlich	King et al. (31)
	Tiere mit SCK waren weniger aktiv als gesunde Tiere ($p < 0,05$)	396	täglich (Aktivität), 1× wöchentlich (Blutprobe)	Liboreiro et al. (32)
Stehverhalten ²	Kühe mit klinischer Ketose stehen tendenziell länger ($p = 0,06$)	184	2× wöchentlich	Itle et al. (27)
	Kühe mit klinischer Ketose haben weniger Stehperioden ($p = 0,02$)	184	2× wöchentlich	Itle et al. (27)
Liegeverhalten ³	Tiere mit SCK liegen tendenziell länger ($p = 0,08$)	339	täglich	Kaufman et al. (30)
	Tiere mit SCK haben weniger Liegeperioden ($p = 0,02$)	274	täglich (Liegeverhalten), 1× wöchentlich (Blutprobe)	Sepulveda-Varas et al. (45)
Lahmheit ⁴	Risiko für Lahmheit steigt bei klinischer Ketose um das 1,7-Fache ($p = 0,05$)	4709	täglich	Berge und Vertenten (7)
	Lahme Tiere haben höhere BHB-Konzentrationen als nicht lahme (durchschnittlich 1,165 mmol/l vs. 0,687 mmol/l, $p < 0,01$)	57	2- bis 3-wöchiger Abstand (Lahmheit), 1× wöchentlich (Blutprobe)	Calderon u. Cook (9)
Klauen-erkrankungen ⁵	Tiere in Betrieben mit vermehrt energiestoffwechselassoziierten Erkrankungen haben ein erhöhtes Risiko für reassozierte Erkrankungen ($p < 0,001$)	3067	retrospektive Auswertung der Daten von 2 Jahren	Nielsen et al. (40)
	Tiere in Betrieben ohne energiestoffwechselassoziierte Erkrankungen haben oft keine Klauenerkrankungen ($p < 0,001$)			

¹ Messung der Bewegungsaktivität mittels Pedometer von Tag 21 ante partum (a. p.) bis Tag 80 post partum (p. p.), Ermittlung der täglichen Aktivität (24 Stunden) (47); Messung der täglichen Bewegungsaktivität (24 Stunden) mittels Halsband über das automatische Melksystem über die gesamte Laktation (31); Messung der Bewegungsaktivität 21 Tage a. p. bis 21 ± 3 Tage p. p. mittels Halsband alle 2 Stunden und über den gesamten Tag (24 Stunden) (32)

² Datenlogger an einer Hinterextremität, Messung der Position der Gliedmaße im Raum in 1-minütigen Abständen (27)

³ Messung 14 Tage a. p. bis 28 Tage p. p. mittels Datenlogger an einer Hinterextremität, Messung über 24 Stunden täglich (30); Messung mittels Datenlogger an einer Hinterextremität, Ermittlung der Lage der Gliedmaße im Raum in 1-minütigen Abständen (45)

⁴ Lahme Tiere hatten einen Locomotion Score von 2 oder mehr (Score 0–3), d. h. das Tier war auf einem oder mehreren Gliedmaßen deutlich lahm (7); Locomotion Score 1–3, Erhebung bis 110 Tage p. p. (9)

⁵ Erhebung der Daten durch den Klauenpfleger bei der Klauenpflege mit einem Computersystem (40)

Ketose und Bewegungsaktivität

Die Messung der Aktivität kann ein wertvolles Hilfsmittel zur frühzeitigen Erkennung ketosekranker Tiere sein (21, 27, 32, 47). Itle et al. (27) beschreiben die Messung als möglichen diagnostischen Parameter zur Erkennung einer Ketose noch bevor Veränderungen im Blut nachweisbar sind. Gemessen wird die Aktivität über einen Datenlogger im Pedometer (21, 27) oder im Halsband (32, 47). Über diese Erfassungssysteme können die Daten zur Auswertung direkt auf einen Computer transferiert werden (21). Mittlerweile gibt es Systeme, die bei Veränderungen der Aktivität eine automatische Warnmeldung ausgeben. So ist die Nutzung der Daten einfach und mit geringem Zeitaufwand für den Landwirt möglich. Es sind jedoch eine kontinuierliche Beobachtung der Daten und Datenauswertungen nötig, um die Herde optimal überwachen zu können (1, 51). Die Interpretation der Auswertungsergebnisse und die Ableitung zu treffender Maßnahmen, insbesondere auf Herdenebene, ist Aufgabe des bestandsbetreuenden Tierarztes (36).

Edwards und Tozer (21) erhoben die Bewegungsaktivität bei 1445 frischlaktierenden Holstein-Friesian-Kühen über 24 Stunden als durchschnittlich gegangene Schritte pro Stunde. Die Auswertungen fanden vom Tag der Kalbung bis zur ersten Brunst bzw. bis maximal 100 Tage nach der Kalbung statt. Nach einer Untersuchung durch einen Tierarzt wurden die Tiere in 2 Gruppen eingeteilt: gesund und krank. „Gesunde Tiere“ waren solche, die weder eine metabolische Erkrankung (z. B. klinische Ketose) noch eine Verdauungsstörung hatten. Bei kranken Tieren lag mindestens eine dieser Erkrankungen vor. Andere Erkrankungen, wie Mastitiden, blieben in der Studie unberücksichtigt. Von ketosekranken Tieren wurden Daten hinsichtlich Veränderungen ihrer Aktivität und Milchleistung erhoben. Die Bewegungsaktivität der Tiere war im Vergleich zu den gesunden Tieren 9 Tage vor Auftreten der klinischen Ketose erhöht ($p < 0,01$) und fiel ab 8 Tage vorher ab ($p < 0,01$). Die Milchleistung sank 6 Tage vor der Diagnose der Ketose ab und war um 15 kg/Tag geringer als die der gesunden Tiere ($p < 0,01$). Hieraus lässt sich schließen, dass Tiere, die später eine klinische Ketose entwickeln, schon 5–6 Tage vor der klinischen Diagnose durch Messung der Bewegungsaktivität und der Milchleistung identifiziert werden können. Die durchschnittliche Bewegungsaktivität der kranken Tiere war um 8–14 Schritte pro Stunde geringer als die der gesunden Tiere ($p < 0,001$). Der größte Unterschied in der Bewegungsaktivität zeigte sich einen Tag vor der Diagnose der Krankheit. An diesem Tag liefen die kranken Tiere im Durchschnitt 15,45 Schritte pro Stunde weniger als die gesunden ($n = 1445$, $SE = 3,21$, $p < 0,0001$). In den ersten 14 Tagen p. p. zeigten sich signifikante Aktivitätsunterschiede zwischen gesunden und kranken Tieren ($p < 0,05$). Ketosekranke Tiere waren bis zum Tag 5 p. p. weniger aktiv und wurden ab Tag 12 wieder aktiver ($p < 0,001$). Den Autoren zufolge könnten ein verändertes Sozialverhalten der Tiere um den Zeitpunkt der Kalbung oder eine Separation der Frischlaktierenden in Abkalbebuchten bzw. der kranken Tiere in Krankenbuchten das Ergebnis dieser Studie beeinflusst haben. Die Kühe, bei denen eine klinische Ketose diagnostiziert wurde, befanden sich durchschnittlich $10 \pm 8,2$ Tage nach der Kalbung (21).

Diese Ergebnisse stehen mit den Resultaten von King et al. (31) in Einklang, die 605 Tiere in 9 Betrieben untersuchten. Bereits 8 Tage vor der Diagnose einer SCK

nahmen die Kühe weniger Futter auf und hatten weniger Melkungen pro Tag ($p < 0,05$). Zudem zeigten sie eine geringere Aktivität als gesunde Tiere ($p < 0,05$ an Tag 8, 7 und 1 vor Diagnose der SCK; $p = 0,10$ 3 Tage vor der Diagnose) (31).

In der Studie von Liboreiro et al. (32) erfolgte die Messung der Aktivität der Tiere 21 Tage ante partum (a. p.) bis 21 Tage p. p. über sog. „heat rumination long distance collars“ (HRLD). Bei 77 Erstkalbinnen und 219 multiparen Kühen wurden mit diesen Halsbändern Aktivität und Wiederkautätigkeit gemessen. Die Aktivität wurde alle 2 Stunden erfasst und die Gesamtaktivität pro Tag ermittelt. In den ante partum und post partum einmal wöchentlich (-18 ± 3 , -11 ± 3 , -4 ± 3 , 3 ± 3 , 10 ± 3 und 17 ± 3 Tage bezogen auf den Zeitpunkt der Kalbung als Tag 0) gewonnenen Blutproben wurden die Konzentrationen von NEFA und BHB sowie Haptoglobin und Kalzium untersucht. Tiere mit BHB-Werten $> 1,0$ mmol/l galten als subklinisch ketosekrank. Die Inzidenz der SCK lag bei 12,7%. Tiere mit einer SCK zeigten post partum eine reduzierte Aktivität ($p = 0,05$; Tag 7–11, 13, 15–17, $p < 0,05$; tendenziell an Tag 12, $p = 0,09$); ante partum unterschied sich die Aktivität im Vergleich zu den gesunden Tieren nicht ($p = 0,96$) (32).

Stangaferro et al. (47) untersuchten bei 1080 Kühen den Zusammenhang zwischen Aktivität und metabolischen Erkrankungen (Labmagenverlagerung, klinische Ketose). Sie stellten ebenfalls die Hypothese auf, dass eine Änderung der Aktivität schon messbar ist, bevor das Tier klinische Symptome zeigt. Sie entwickelten dafür einen „Health Index Score“ (HIS), der Wiederkauverhalten und Aktivität der Tiere vereint, als Alarmsystem für metabolische Erkrankungen. Die Aktivitätsmessung fand über einen Sensor im Halsband täglich 21 Tage a. p. bis 80 Tage p. p. statt. Außerdem wurden während der ersten 10 Tage p. p. täglich klinische Untersuchungen durchgeführt, bei auffälligen Tieren auch über diesen Zeitraum hinaus. Die Blutprobennahmen erfolgten an den Tagen -11 ± 3 und -4 ± 3 , am Tag der Kalbung (Tag 0) und 3 ± 1 , 7 ± 1 , 14 ± 1 und 28 ± 1 . NEFA-Konzentrationen wurden ante und post partum gemessen, BHB-Konzentrationen post partum. Symptome einer klinischen Ketose waren definiert als reduzierter Appetit, positiver Harntest auf Ketonkörper und verringerte Milchleistung. Die Tiere, die an einer Ketose erkrankten, wiesen schon bis zu 5 Tage vor der Diagnose der Ketose weniger Aktivität auf als gesunde Tiere ($p < 0,01$). Die niedrigste Aktivität zeigten die Tiere am Tag der Diagnose der Ketose mittels klinischer Untersuchung (ca. 360 Einheiten weniger pro Tag). Außerdem lag ihr HIS niedriger als der der gesunden Tiere. In Bezug auf Ketose hatte der HIS eine Sensitivität von 91% (95%-Konfidenzintervall [95%-KI]: 83–99) und die Tiere wurden durch Anwendung des HIS früher als krank erkannt als durch eine herkömmliche klinische Untersuchung ($p < 0,01$) (47).

Eine weitere wichtige Erkenntnis der Studien ist, dass Tiere mit SCK länger anhaltende Veränderungen in ihrem Bewegungsverhalten zeigen als Tiere mit akuten Erkrankungen wie akuten Mastitiden (31). Es sollte berücksichtigt werden, dass eine Änderung der Aktivität nicht auf eine bestimmte Krankheit hindeutet, sondern sehr unspezifisch ist (32) und dass auch weitere Einflüsse die Aktivität der Tiere verändern können. Beispielsweise sind Tiere nach Zwillings- und Totgeburten weniger aktiv als nach physiologischen Einlingsgeburten (32); Tiere haben allgemein im Winter und Frühling eine höhere Aktivität als im Sommer und Herbst (21) und Tiere in der 1. Laktation sind aktiver als solche in höheren

Laktationen (21). Ein weiterer die Aktivität der Tiere beeinflussender Faktor ist das Management. Die Tiere zeigen Krankheitsanzeichen und Veränderungen der Aktivität umso deutlicher, je weniger Arbeiten (z. B. Umgruppierungen) im Stall durchgeführt werden und je weniger Personal anwesend ist (27).

Die Messung der Aktivität mittels Pedometer liefert zuverlässige Daten mit sehr geringem personellem Aufwand (44). Eine Verbesserung der Aussage über den Gesundheitszustand der Tiere ist durch die gleichzeitige Messung der Bewegungsaktivität mittels Pedometer und der Wiederkauaktivität mithilfe eines Halsbandes oder Halfters möglich (5, 32, 44, 47).

Ketose und Stehverhalten

Itle et al. (27) verglichen das Stehverhalten von 184 Kühen (62 Erstkalbinnen und 122 multipare Kühe) mit und ohne Ketose im peripartalen Zeitraum, um zu untersuchen, ob dieses Verhalten ein Indikator zur Erkennung kranker Tiere ist. Hierfür wurde die BHB-Konzentration im Serum gemessen. Die Messung fand 2-mal wöchentlich zwischen dem 2. und dem 21. Tag p. p. nach der Melkung am Morgen statt. Die Kühe waren definitionsgemäß ketosekrank, wenn die BHB-Konzentration in mindestens 3 Proben $> 1,2$ mmol/l lag und bei einer Probe $> 2,9$ mmol/l. Als nicht ketosekrank galten Tiere, die BHB-Werte $< 1,2$ mmol/l aufwiesen. Das Stehverhalten wurde 7 Tage a. p. bis 21 Tage p. p. mittels Datenlogger, angebracht an einer Hinterextremität proximal des Sprunggelenks, erhoben. In 1-minütigen Abständen wurde die Position des Fußes im Raum gemessen und ermittelt, ob das Tier steht oder liegt. Die ersten Symptome einer klinischen Ketose traten $4,5 \pm 2,1$ Tage nach der Kalbung auf. Kühe mit klinischer Ketose standen über den gesamten Zeitraum der Messung tendenziell länger als nicht ketosekranke Tiere ($15,0 \pm 0,4$ vs. $13,9 \pm 0,5$ Stunden/Tag; $p = 0,06$). Tiere mit klinischer Ketose standen vor der Kalbung 20% mehr (2,4 Stunden/Tag) und um den Zeitraum der Kalbung (Tag 0) 35% mehr (4,5 Stunden/Tag) als Tiere ohne Ketose. Die kranken Tiere zeigten am Tag der Kalbung 6,3 weniger Stehperioden im Vergleich zu den gesunden Tieren ($14,6 \pm 1,9$ vs. $20,9 \pm 1,8$ Perioden/Tag, $p = 0,002$), doch war die Stehdauer der ketosekranken Tiere länger (71,3 Minuten/Stehperiode, 95%-KI: 59,3–85,5) als die der gesunden Tiere (35,8 Minuten/Stehperiode, 95%-KI: 29,8–42,9) ($p = 0,03$). Nach Itle et al. (27) weisen die ketosekranken Tiere verlängerte Stehzeiten auf, da kranke Tiere energieaufwendige Prozesse wie Hinlegen und Aufstehen vermeiden (27).

Ketose und Liegeverhalten

Kaufman et al. (30) sowie Sepulveda-Varas et al. (45) untersuchten den Zusammenhang zwischen SCK und dem Liegeverhalten der Tiere. In beiden Studien wurde eine SCK mittels Blutuntersuchung diagnostiziert und ein BHB-Wert $> 1,2$ mmol/l als vorliegende SCK definiert. Zur Messung des Liegeverhaltens diente ein an der Hinterextremität angebrachter Datenlogger (30, 45).

Kaufman et al. (30) ermittelten die Liegezeit, die Frequenz und die Länge der Liegephasen von 339 Holstein Kühen 14 Tage a. p. bis 28 Tage p. p. jeweils über den ganzen Tag. Ein erhöhtes Risiko, an einer SCK zu erkranken, wurde mit zunehmender Zahl der Kalbungen des betroffenen Tieres, einer längeren Trockenstehzeit und einer erhöhten Tierdichte im Stall festgestellt. Erstkalbinnen

lagen pro Tag länger als Tiere ab der 2. Laktation. Dies war unabhängig vom Gesundheitsstatus zu beobachten. Multipare Kühe mit SCK lagen tendenziell mehr ($35 \pm 19,7$ bzw. $31 \pm 17,6$ Minuten/Tag länger 1 Woche p. p. bzw. 2 Wochen p. p.; $p = 0,08$) als gesunde Tiere (30).

Sepulveda-Varas et al. (45) untersuchten, ob auch bei Tieren in Weidehaltung Unterschiede im Liegeverhalten erkennbar sind, wenn eine SCK auftritt. Dazu wurde das Liegeverhalten von 227 multiparen Tieren und 47 Erstkalbinnen der Rasse Holstein bis 3 Wochen p. p. erhoben und den Tieren 1-mal wöchentlich eine Blutprobe entnommen. Eine BHB-Konzentration $> 1,2$ mmol/l in mindestens einer der 3 Proben wurde als vorliegende SCK definiert. Erstkalbinnen zeigten mehr Liegephasen als multipare Kühe ($9,7 \pm 0,54$ vs. $8,4 \pm 0,26$, $p = 0,02$), lagen aber insgesamt weniger ($7,5 \pm 0,38$ Stunden/Tag vs. $8,5 \pm 0,19$ Stunden/Tag, $p < 0,001$). Kranke Tiere lagen länger, zeigten aber nicht mehr Liegeperioden. Lahme Kühe mit einer zusätzlichen Erkrankung, wie SCK, wiesen weniger Liegeperioden ($p = 0,04$) auf, doch waren diese 1,7 Stunden pro Tag länger als die der gesunden Tiere ($p < 0,001$). Erstkalbinnen hatten bei Auftreten einer klinischen Ketose deutlich längere Liegezeiten im Vergleich zu multiparen Tieren ($p = 0,01$). Dies lässt darauf schließen, dass Erstkalbinnen Erkrankungen schwieriger bewältigen (45). Munksgaard et al. (38) stellten ebenfalls fest, dass multipare Tiere längere Liegezeiten hatten als Erstkalbinnen und die Liegezeit mit dem Abstand zur Kalbung zunahm. Außerdem lagen im Stall gehaltene Tiere mehr, da sie keine weiten Strecken zur Futtersuche oder zum Melken zurücklegen müssen (38).

Die Veränderungen im Liegeverhalten, wie verlängerte Liegezeiten, können folglich auch zur frühzeitigen Erkennung von Erkrankungen herangezogen werden (30, 45).

Ketose und Lahmheit

In der Studie von Suthar et al. (48) war das Risiko einer Kuh, an einer Lahmheit zu erkranken, bei BHB-Konzentrationen im Blut $\geq 1,1$ mmol/l um das 1,8-fache erhöht bei einer Sensitivität von 39,1% und einer Spezifität von 75,4% ($p < 0,001$) (48). Berge und Vertenten (7) ermittelten bei einer klinischen Ketose ein um das 1,7-fache erhöhtes Risiko einer Lahmheit (7). Die Wahrscheinlichkeit für Lahmheit nimmt mit steigender BHB-Konzentration weiter zu. Die mittlere Odds Ratio für Lahmheit bei Kühen mit Hyperketonämie liegt bei $2,0 \pm 0,2$ (42). Auch Suthar et al. (48) konnten nachweisen, dass das Risiko für das Auftreten von Lahmheiten in den ersten 2–15 Tagen p. p. steigt, je höher die BHB-Konzentration im Blut ist.

Calderon und Cook (9) untersuchten den Zusammenhang zwischen Lahmheit, Verhalten und metabolischem Status in der Transitphase. Bei 40 multiparen Kühen sowie 17 Erstkalbinnen der Rasse Holstein wurden Lahmheiten und der BHB-Status im Blut erhoben. Eine BHB-Konzentration über dem Grenzwert von 1,4 mmol/l wiesen 26,3% der Tiere auf. Mittelgradig und hochgradig lahme Tiere hatten durchschnittliche BHB-Konzentrationen von 1,165 (1,037–1,291) mmol/l. Diese waren signifikant höher als die Konzentrationen bei den leicht lahmen Tieren (0,697 mmol/l; 0,560–0,834 mmol/l, $p < 0,01$) und den Tieren ohne Lahmheit (0,687 mmol/l; 0,551–0,824 mmol/l, $p < 0,01$) (9).

Eine Lahmheit führt zu einer geringeren Futteraufnahme, dies fördert eine negative

Energiebilanz und erhöht die Gefahr für die Entwicklung einer subklinischen oder klinischen Ketose (23, 43). Lahme Tiere liegen bereits vor der Kalbung und auch in der Transitphase vermehrt (20,3 Liegeperioden bei lahmen Tieren im Vergleich zu 15,6 bei gesunden, $p < 0,01$), was wiederum eine verminderte Futteraufnahme zur Folge hat (9).

Ketose und Klauenerkrankungen

Zusammen mit einer zu geringen Aufnahme an Trockenmasse um den Zeitpunkt der Kalbung erhöhen energiestoffwechselassoziierte Erkrankungen wie die Ketose das Risiko für Klauen- und Gliedmaßenkrankungen (16). Nielsen et al. (40) führten in ihrer Studie 6773 Klauenpflegemaßnahmen an 3607 Tieren der Rasse Schwedisches Rotvieh durch. Die am häufigsten auftretenden Klauenprobleme wurden einbezogen: Sohlengeschwür, Sohlenblutung, Doppelsohle, Weiße-Linie-Defekt, Dermatitis (interdigital und digital), Ballenhornerosionen, warzenähnliche Zubildungen und interdigitale Zubildungen. In Betrieben mit einer hohen Inzidenz an energiestoffwechselassoziierten Erkrankungen bestand ein erhöhtes Risiko der Tiere für reassozierte Erkrankungen (Sohlengeschwür, Sohlenblutung). Die Tiere hatten außerdem vermehrt Sohlenblutungen, Doppelsohlen, Weiße-Linie-Defekte, Dermatitis, Ballenhornerosionen und Zubildungen. Die Autoren gaben zu bedenken, dass die reassozierten Veränderungen oft erst 3–5 Monate p. p. sichtbar waren, die eigentliche Veränderung aber aufgrund des Klauenwachstums schon zum Zeitpunkt der Kalbung stattgefunden haben musste. In den Sommermonaten traten weniger Erkrankungen auf als im Winter (OR: 0,15, 95%-KI: 0,02–0,95, $p < 0,001$). In Betrieben mit einer geringen Inzidenz an energiestoffwechselassoziierten Erkrankungen bestand eine erhöhte Wahrscheinlichkeit, dass keinerlei Veränderungen an den Klauen zu finden waren ($p < 0,001$) (40).

FAZIT FÜR DIE PRAXIS

Nach der Kalbung tritt physiologischerweise eine negative Energiebilanz auf, da der Energiebedarf bei steigender Milchleistung über die Futteraufnahme nicht gedeckt werden kann. Dies führt unter anderem zur Körperfettmobilisation und weiter zur Bildung von Ketonkörpern (BHB, Aceton, Acetoacetat). Die Bestimmung der BHB-Konzentration im Blut stellt den Goldstandard in der Ketosediagnostik dar. BHB-Konzentrationen $\geq 1,2$ mmol/l werden als subklinische Ketose definiert. Tiere mit einer subklinischen Ketose haben ein erhöhtes Risiko für Folgeerkrankungen wie klinische Ketose, Labmagenverlagerung oder Lahmheit. Bei stetig wachsenden Herden steigt die Bedeutung computergestützter Hilfsmittel zur Herdenüberwachung. Die Messung der Aktivität sowie des Steh- und Liegeverhaltens sind wertvolle Hilfsmittel zur frühzeitigen Krankheitserkennung. Die Bewegungsaktivität kranker Tiere ist geringer. Tiere mit subklinischer Ketose liegen tendenziell mehr als gesunde Tiere, haben aber nicht mehr Liegephasen. Das Risiko von Klauenerkrankungen ist bei Tieren mit Ketose erhöht. Bei diesen Tieren treten vermehrt Sohlenhornläsionen und reassozierte Erkrankungen auf. Mittel- und hochgradig lahme Tiere zeigen höhere BHB-Konzentrationen als leicht lahme und gesunde Tiere. Lahme Tiere liegen vermehrt, was eine geringere Futteraufnahme bedingt und die negative Energiebilanz fördert. Als Folge sinkt die

Milchleistung der betroffenen Tiere.

Der frühzeitigen Krankheitserkennung und -prophylaxe auf Einzeltier- und Bestandsebene im Rahmen eines Tiergesundheitsmonitorings kommt sowohl aus wirtschaftlichen Gründen als auch unter Tierschutzaspekten große Bedeutung zu.

Interessenkonflikt

Die Autoren bestätigen, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

- [1] Alsaad M, Fadul M, Steiner A. Automatic lameness detection in cattle. *Vet J* 2019; 246: 35–44
- [2] Andersson L. Subclinical ketosis in dairy cows. *Vet Clin North Am: Food Anim Pract* 1988; 4: 233–251
- [3] Baird GD. Primary ketosis in the high-producing dairy cow: Clinical and subclinical disorders, treatment, prevention, and outlook. *J Dairy Sci* 1982; 65: 1–10
- [4] Barker ZE, Leach KA, Whay HR et al. Assessment of lameness prevalence and associated risk factors in dairy herds in England and Wales. *J Dairy Sci* 2010; 93: 932–941
- [5] Beer G, Alsaad M, Starke A et al. Use of extended characteristics of locomotion and feeding behavior for automated identification of lame dairy cows. *Plos One* 2016; 11: 1–18
- [6] Bell AW. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J Anim Sci* 1995; 73: 2804–2819
- [7] Berge AC, Vertenten G. A field study to determine the prevalence, dairy herd management systems, and fresh cow clinical conditions associated with ketosis in western European dairy herds. *J Dairy Sci* 2014; 97: 2145–2154
- [8] Booth CJ, Warnick LD, Groehn YT et al. Effect of lameness on culling in dairy cows. *J Dairy Sci* 2004; 87: 4115–4122
- [9] Calderon DF, Cook NB. The effect of lameness on the resting behavior and metabolic status of dairy cattle during the transition period in a freestall-housed dairy herd. *J Dairy Sci* 2011; 94: 2883–2894
- [10] Carrier J, Stewart S, Godden S et al. Evaluation and use of three cow-side tests for detection of subclinical ketosis in early postpartum cows. *J Dairy Sci* 2004; 87: 3725–3735
- [11] Castillo C, Hernandez J, Bravo A et al. Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. *Vet J* 2005; 169: 286–292
- [12] Chapinal N, de Passille AM, Rushen J et al. Automated methods for detecting lameness and measuring analgesia in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2010; 93: 2007–2013
- [13] Cook N, Oetzel G, Nordlund K. Modern techniques for monitoring high-producing dairy cows 1. Principles of herd-level diagnosis. *Farm Anim Pract* 2006; 28: 510–515
- [14] Desrochers A, Anderson DE, St-Jean G. Lameness examination in cattle. *Vet Clin North Am: Food Anim Pract* 2001; 17: 39–51
- [15] Dippel S, Dolezal M, Brenninkmeyer C et al. Risk factors for lameness in freestall-housed dairy cows across two breeds, farming systems, and countries. *J Dairy Sci* 2009; 92: 5476–5586
- [16] Dohoo IR, Martin SW. Disease, production and culling in Holstein-Friesian cows. III. Disease and production as determinants of disease. *Prev Vet Med* 1984; 2: 671–690
- [17] Dohoo IR, Martin SW. Subclinical ketosis: Prevalence and associations with production and disease. *Can J Comp Med* 1984; 48: 1–5
- [18] Duffield TF, Sandals D, Leslie KE et al. Efficacy of monensin for the prevention of subclinical ketosis in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 1998; 81: 2866–2873
- [19] Duffield TF, Lissemore KD, McBride BW et al. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *J Dairy Sci* 2009; 92: 571–580

-
- [20] Duffield TF, LeBlanc SJ. Interpretation of serum metabolic parameters around the transition period. *Proceedings, Southwest Nutrition and Management Conference 2009*: 106–114
- [21] Edwards JL, Tozer PR. Using activity and milk yield as predictors of fresh cow disorders. *J Dairy Sci* 2004; 87: 524–531
- [22] Goff JP, Horst RL. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J Dairy Sci* 1997; 80: 1260–1268
- [23] González L, Tolkamp B, Coffey M et al. Changes in feeding behavior as possible indicators for the automatic monitoring of health disorders in dairy cows. *J Dairy Sci* 2008; 91: 1017–1028
- [24] Green LE, Hedges VJ, Schukken YH et al. The impact of clinical lameness on the milk yield of dairy cows. *J Dairy Sci* 2002; 85: 2250–2256
- [25] Grummer RR. Nutritional and management strategies for the prevention of fatty liver in dairy cattle. *Vet J* 2008; 176: 10–20
- [26] Hernandez JA, Garbarino EJ, Shearer JK et al. Evaluation of the efficacy of prophylactic hoof health examination and trimming during midlactation in reducing the incidence of lameness during late lactation in dairy cows. *J Am Vet Med Assoc* 2007; 230: 89–93
- [27] Itle AJ, Huzzey JM, Weary DM et al. Clinical ketosis and standing behavior in transition cows. *J Dairy Sci* 2015; 98: 128–134
- [28] Iwersen M, Falkenberg U, Voigtsberger R et al. Evaluation of an electronic cowside test to detect subclinical ketosis in dairy cows. *J Dairy Sci* 2009; 92: 2618–2624
- [29] Iwersen M, Klein-Jobstl D, Pichler M et al. Comparison of 2 electronic cowside tests to detect subclinical ketosis in dairy cows and the influence of the temperature and type of blood sample on the test results. *J Dairy Sci* 2013; 96: 7719–7730
- [30] Kaufman EI, LeBlanc SJ, McBride BW et al. Short communication: Association of lying behavior and subclinical ketosis in transition dairy cows. *J Dairy Sci* 2016; 99: 7473–7480
- [31] King MTM, LeBlanc SJ, Pajor EA et al. Behavior and productivity of cows milked in automated systems before diagnosis of health disorders in early lactation. *J Dairy Sci* 2018; 101: 4343–4356
- [32] Liboreiro DN, Machado KS, Silva PR et al. Characterization of peripartum rumination and activity of cows diagnosed with metabolic and uterine diseases. *J Dairy Sci* 2015; 98: 6812–6827
- [33] Lucey S, Rowlands G, Russell A. The association between lameness and fertility in dairy cows. *Vet Rec* 1986; 118: 628–631
- [34] Mahrt A, Burfeind O, Voigtsberger R et al. Evaluation eines neuen elektronischen Handmessgeräts zur Messung von β -Hydroxybutyrat bei Milchkühen. *Tierärztl Prax Großtiere* 2014; 42: 5–10
- [35] Mahrt A, Burfeind O, Heuwieser W. Evaluation of hyperketonemia risk period and screening protocols for early-lactation dairy cows. *J Dairy Sci* 2015; 98: 3110–3119
- [36] Mansfeld R. Therapiefreiheit – auch nach 100 Jahren ein hohes Gut. *Prakt Tierarzt* 2019; 100: 1076–1080
- [37] McArt JAA, Nydam DV, Oetzel GR. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. *J Dairy Sci* 2012; 95: 5056–5066
- [38] Munksgaard L, Jensen MB, Pedersen LJ et al. Quantifying behavioural priorities – Effects of time constraints on behaviour of dairy cows, *Bos taurus*. *Appl Anim Behav Sci* 2005; 92: 3–14

- [39] Nielen M, Aarts MGA, Jonkers AGM et al. Evaluation of two cow-side tests for the detection of subclinical ketosis in dairy cows. *Can Vet J* 1994; 35: 229–232
- [40] Nielsen C, Stengårde L, Bergsten C et al. Relationship between herd-level incidence rate of energy-related postpartum diseases, general risk factors and claw lesions in individual dairy cows recorded at maintenance claw trimming. *Acta Vet Scand* 2013; 55: 1–10
- [41] Oetzel GR. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Vet Clin North Am: Food Anim Pract* 2004; 20: 651–674
- [42] Raboisson D, Mounie M, Maigne E. Diseases, reproductive performance, and changes in milk production associated with subclinical ketosis in dairy cows: a meta-analysis and review. *J Dairy Sci* 2014; 97: 7547–7563
- [43] Reader JD, Green MJ, Kaler J et al. Effect of mobility score on milk yield and activity in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2011; 94: 5045–5052
- [44] Rutten CJ, Velthuis AGJ, Steeneveld W et al. Invited review: Sensors to support health management on dairy farms. *J Dairy Sci* 2013; 96: 1928–1952
- [45] Sepulveda-Varas P, Weary DM, von Keyserlingk MA. Lying behavior and postpartum health status in grazing dairy cows. *J Dairy Sci* 2014; 97: 6334–6343
- [46] Sprecher DJ, Hostetler DE, Kaneene JB. A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. *Theriogenology* 1997; 14: 1179–1187
- [47] Stangaferro ML, Wijma R, Caixeta LS et al. Use of rumination and activity monitoring for the identification of dairy cows with health disorders: Part I. Metabolic and digestive disorders. *J Dairy Sci* 2016; 99: 7395–7410
- [48] Suthar VS, Canelas-Raposo J, Deniz A et al. Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *J Dairy Sci* 2013; 96: 2925–2938
- [49] Tomaszewski MA. Record-keeping systems and control of data flow and information retrieval to manage large high producing herds. *J Dairy Sci* 1993; 76: 3188–3194
- [50] Tremblay M, Kammer M, Lange H et al. Identifying poor metabolic adaptation during early lactation in dairy cows using cluster analysis. *J Dairy Sci* 2018; 101: 7311–7321
- [51] Van De Gucht T, Saeys W, Van Meensel J et al. Farm-specific economic value of automatic lameness detection systems in dairy cattle: From concepts to operational simulations. *J Dairy Sci* 2018; 101: 637–648
- [52] Warnick LD, Janssen D, Guard CL et al. The effect of lameness on milk production in dairy cows. *J Dairy Sci* 2001; 84: 1988–1997
- [53] Williams J, Ntallaris T, Routly JE et al. Association of production diseases with motor activity-sensing devices and milk progesterone concentrations in dairy cows. *Theriogenology* 2018; 118: 57–62

III. TIERE, MATERIAL UND METHODEN

1. Betriebe

Die Datenerhebung fand von Juni bis Dezember 2018 in 8 Fleckvieh- und 31 Braunvieh-Betrieben in Bayern statt.

1.1. Fleckvieh

Die Daten der Fleckvieh-Tiere wurden in den Betrieben des Projektes Q-Check „Tierwohl in der Milchviehhaltung mit System – Von der betrieblichen Eigenkontrolle bis zum nationalen Monitoring“ im Rahmen des Arbeitspaketes III (Validierung aktuell entwickelter Ketosescreeningtools, auf Basis der Fourier-Transformations-Infrarot-Spektroskopieanalyse von Milchproben, für den bundesweiten Einsatz im Hochdurchsatzverfahren der Milchleistungsprüfung) erfasst. Beteiligte Institutionen waren die Klinik für Wiederkäuer der Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU), das Landeskuratorium der Erzeugerringe für tierische Veredelung in Bayern e.V. (LKV) und der Deutsche Verband für Leistungs- und Qualitätsprüfungen e.V. (DLQ). Das Projekt wurde aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) auf der Grundlage einer Entscheidung des Parlaments der Bundesrepublik Deutschland über das Bundesamt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen des Innovationsförderprogramms unterstützt.

Die Untersuchungen fanden in acht Betrieben statt. Alle Betriebe waren Laufstallbetriebe und nutzten ein automatisches Melksystem (AMS, = Melkroboter); fünf Betriebe hatten ein AMS der Firma Lemmer-Fullwood, zwei Betriebe von Lely und ein Betrieb von DeLaval. In die Untersuchungen wurden die Tiere einbezogen, die sich im Zeitraum 5 bis 50 Tage nach der Kalbung befanden und zu mindestens 75% der Rasse Fleckvieh angehörten. Die Betriebsgröße lag bei durchschnittlich 68 Tieren. Ein Betrieb hatte einen Anteil von ca. 50% Rotbunten und ein weiterer Betrieb von ca. 30% Rot- und Schwarzbunten. Die restlichen Betriebe hatten bis auf einzelne Tiere eine reine Fleckvieh-Herde. Die Bestandsbesuche wurden in jedem Betrieb über sieben Monate einmal wöchentlich durchgeführt. Dienstags und donnerstags wurden jeweils vier Betriebe angefahren, um die Tiere zu untersuchen (Abb. 1).

MO	DI	MI	DO	
Betrieb 1	Betrieb 1	Betrieb 5	Betrieb 5	
Betrieb 2	8.00 Uhr	Betrieb 6	8.00 Uhr	Milchprobennahme
Betrieb 3	Betrieb 2	Betrieb 7	Betrieb 6	Blutprobennahme und Untersuchung
Betrieb 4	9.30 Uhr	Betrieb 8	9.30 Uhr	Shuttle abholen
	Betrieb 3 11.00 Uhr		Shuttle von Betrieb 6 10.45 Uhr	Shuttle liefern
	Betrieb 8 12.30 Uhr		Betrieb 7 11.30 Uhr	Blutproben abliefern
	Betrieb 7 13.00 Uhr		Betrieb 8 13.00 Uhr	
	Shuttle für Betrieb 6 13.45 Uhr		Betrieb 3 14.30 Uhr	
	Betrieb 6 14.00 Uhr		Betrieb 2 15.00 Uhr	
	Betrieb 5 14.45 Uhr		Betrieb 1 15.45 Uhr	
	Betrieb 4 15.45 Uhr		Oberschleißheim	
	Oberschleißheim			

Abbildung 1: Wochenplan für Probennahme, Untersuchung und Auslieferung der Geräte zur Milchprobennahme (Shuttles)

1.2. Braunvieh

Die Betriebsbesuche fanden im Rahmen des Projektes „FSM-IRMi 1.1 – Frühwarnsystem für Stoffwechselerkrankungen von Milchkühen mithilfe von Infrarot-Absorptionsspektren der Milch bei Braunvieh“ statt. Die Projektpartner waren die Klinik für Wiederkäuer der LMU München, das LKV und der Milchprüfing Bayern e.V. (MPR). Finanziert wurde das Projekt durch das bayrische Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, das LKV und den MPR.

Die Besuche fanden in 31 Braunvieh-Betrieben in Bayern statt. Die durchschnittliche Herdengröße lag bei 65 Tieren. Alle Betriebe hatten einen Laufstall, entweder mit Melkstand (24 Betriebe) oder mit automatischem Melksystem (sechs mit Lely, einer mit Lemmer-Fullwood). In das Projekt wurden die Tiere einbezogen, die zwischen 5 und 50 Tagen nach der Kalbung waren und zu mindestens 75% der Rasse Braunvieh angehörten. Über einen Zeitraum von vier Wochen wurden einmal wöchentlich (montags und mittwochs) Proben gewonnen. Pro Untersuchungstag wurden zwei bis drei Betriebe angefahren.

2. Ablauf in den Betrieben

Abbildung 2 liefert eine Übersicht über die gewonnenen Proben und den Zeitraum der Probengewinnung pro Tier.

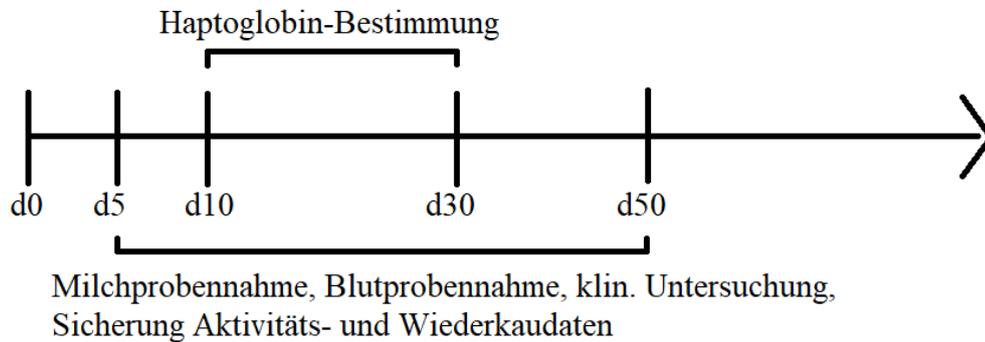


Abbildung 2: Zeitintervalle der Proben- und Datengewinnung pro Tier vom Tag 0 bis 50 Tage post partum (p.p.) (d0 = Tag der Kalbung, d5 = 5 Tage p.p., d10 = 10 Tage p.p., d30 = 30 Tage p.p., d50 = 50 Tage p.p.)

2.1. Milchprobennahme

In Betrieben mit einem automatischen Melksystem erfolgte die Probennahme durch spezielle Geräte zur automatischen Milchprobennahme, sog. Shuttles. Das Shuttle [Typ Ori Collector Version Light SD (Sans Systeme Doseur, Alcalà de Henales, ESP)] wurde von den Tierärzten oder dem Leistungsoberprüfer (LOP) des LKV zu den Betrieben gebracht. Die Milchprobenflaschen mit 0,1 ml Konservierungsmittel (Typ 6845-xx, 50 ml, Bartec Benke; Konservierungsmittel: Chloramphenicol, Ethanol, Bronopol, Zitronensäure-Tri-Natrium-Salz-Dihydrat 99%ig, Patentblau, Natriumazid, Eosin, Xanthan, demineralisiertes Wasser) wurden ebenfalls vom LOP des LKV Bayern vor Beginn der Milchprobennahme zu den Betrieben gebracht. Am Tag vor dem wöchentlichen Betriebsbesuch bestückte der Betriebsleiter das Ori-Collector-Shuttle mit den Probenflaschen und schloss es für 12 oder 24 Stunden an den Melkroboter an. Bei der Beprobung über 12 Stunden erfolgte ein wochenweise wechselndes Anhängen des Shuttles tagsüber beziehungsweise nachts. Eine Probennahme erfolgte von allen Kühen vom 5. bis zum 50. Laktationstag bei jedem Melkvorgang, der innerhalb dieser Zeit durchgeführt wurde. Der Besuch des AMS erfolgte in tierindividuellen Intervallen. Hatte ein Tier zu lange Melkintervalle, wurde es durch den Betriebsleiter in den Wartebereich des Roboters getrieben. Im Durchschnitt ergaben sich so zwei Milchproben pro Kuh und Probennahmetag. Die Auswahl der Tiere erfolgte durch den Betriebsleiter direkt im Herdenmanagement-Programm. Es wurde automatisch

erfasst, wann welches Tier (Halsband- und Ohrmarkennummer) zu welcher Uhrzeit beprobt wurde. Außerdem wurde die Milchmenge pro Melkvorgang in Kilogramm erfasst.

Nach Abschluss der Beprobung entnahm, verschloss und schwenkte der Betriebsleiter die Probenröhrchen, um eine Durchmischung mit dem Konservierungsmittel zu gewährleisten. Bis zur Abholung der Milchproben durch den zuständigen LOP wurden diese im Betrieb auf 2-8°C gekühlt.

Hatten die Betriebe einen Melkstand, so erfolgte die Milchprobennahme mittels LactoCorder (WMB AG, Balgach, CH). Die LactoCorder sowie die Milchprobenflaschen mit Konservierungsmittel wurden am Vortag des Betriebsbesuchs vom LOP an den Hof gebracht. Die Probennahme wurde alternierend am Vorabend oder am Morgen des Bestandsbesuchs durchgeführt. Pro Melkung wurde eine Probe gezogen, sodass nach viermaligem Bestandsbesuch pro Tier je zwei Proben des Abend- und zwei des Morgengemelks vorlagen. Die Auswahl der Tiere erfolgte durch automatisch vom LKV erstellte Listen mit den Tieren im beschriebenen Zeitraum. Nach beendeter Probennahme wurden die Proben ebenfalls geschwenkt und, bis zur Abholung durch den LOP, bei 2-8°C gekühlt gelagert.

2.2. Datengewinnung und Untersuchung der Tiere

Am Tag nach der Milchprobennahme fand der Betriebsbesuch durch die Tierärzte statt, bei dem die Tiere untersucht und Blutproben genommen, sowie die Daten über den Betrieb und die Tiere erfasst und dokumentiert wurden. In den AMS-Betrieben wurden die Tiere zwischen dem 5. und 50. Tag nach der Kalbung über das Herdenmanagement-Programm ausgewählt. Die Liste mit den Tieren wurde vor Ort ausgedruckt. Sie enthielt den Namen des Betriebes und kuhspezifische Daten (Ohrmarke, Stallnummer, Laktationstag und -nummer). In den Betrieben mit Melkstand wurden die benötigten Daten zu Betrieb und Tieren den untersuchenden Tierärzten am Tag vor dem Betriebsbesuch per E-Mail durch das LKV Bayern zugesendet.

Nach der Datenerhebung und -speicherung erfolgte die Fixation der zu untersuchenden Tiere entweder im Fressgitter oder in der Liegebox. Folgende Befunde wurden bei der klinischen Untersuchung erhoben:

- Innere Körpertemperatur (IKT)
- Hautturgor
- Bauchdeckenspannung
- Pansenfüllung nach ZAAIJER und NOORDHUIZEN (2003)
- Pansenschichtung
- Plätschern und Klingeln bei Schwing- und Perkussionsauskultation auf beiden Körperseiten
- Kotkonsistenz
- Verdauungsgrad des Kotes
- Rückenfettdicke (RFD), gemessen mittels Ultraschalles
- Pansenmotorik (bei Auftreten mindestens eines abweichenden Befundes, außer bei Abweichungen von RFD und IKT)

Die klinische Untersuchung erfolgte anhand einer genau definierten Vorgehensweise und Befunderhebung. Die Ergebnisse der Untersuchung sowie Datum, Uhrzeit der jeweiligen Blutprobennahme, Umgebungstemperatur und Stallnummer der Kuh wurden in einen Erhebungsbogen eingetragen. Im Anschluss an die klinische Untersuchung fand die Blutprobennahme statt. Danach wurde die Fixation gelöst und das Tier im Stehen und Gehen für die Erhebung des Lahmheitsstatus mittels Locomotion-Scores nach SPRECHER et al. (1997) beobachtet. Wurden bei einem Tier Abweichungen vom physiologischen Befund festgestellt, zum Beispiel eine erhöhte innere Körpertemperatur, so wurde der Betriebsleiter direkt von den Tierärzten informiert.

2.3. Blutprobennahme

Die Probennahme erfolgte an der Schwanzvene (Vena coccygea mediana). Die Schwanzunterseite wurde unmittelbar vor der Probennahme mit in 70 %igem Alkohol getränkten Zellstofftüchern durch den Tierarzt gereinigt. Die Punktion des Gefäßes erfolgte in der Medianen zwischen zwei Wirbelkörpern auf Höhe der auslaufenden Schwanzfalten mittels einer Kanüle [Vacutainer®, PrecisionGlide™, Multiple Sample Needle, 20G x 1,5“, BD (Firma Becton, Dickinson and Company, Plymouth, UK)]. Es erfolgte gegebenenfalls eine Korrektur der Kanüle bis die Füllung des Probenröhrchens [BD-Serum-Gel-Vacutainer®, SST 2 advanced, 8,5 ml (Firma Becton, Dickinson and Company, Plymouth, UK)] mit ca. 8 ml Blut durch Unterdruck erfolgt war. Anschließend wurde die Punktionsstelle einige Sekunden komprimiert, um ein Nachbluten und eine Hämatombildung zu vermeiden.

Die Proben wurden direkt nach der Entnahme geschwenkt und mit einer fortlaufenden Probennummer beschriftet. In der Probenliste wurden die

Probennummern dokumentiert und den entsprechenden Tieren zugeordnet. Anschließend musste die Probe für mindestens 30 Minuten aufrecht gelagert werden. Danach wurden die Blutproben zur Gewinnung des Blutplasmas in der portablen Zentrifuge (Hettich Rotofix 32A, Tuttlich, DE) bei 2300G für zehn Minuten zentrifugiert. Am Abend jedes Bestandsbesuches wurden die bei 2-8°C gekühlten Proben von den Tierärzten in das Labor der Klinik für Wiederkäuer in Oberschleißheim transportiert und dort zur Blutanalyse gebracht. Die Probenliste mit der Zuordnung und Dokumentation der Proben wurde in eine Exceltabelle (Microsoft Excel, Version 2007, Microsoft Corporation, Redmont, USA) eingetragen und per E-Mail an das Labor gesendet. Die Auswertung im Labor und der Versand der Ergebnisse an die Tierärzte erfolgten meist am nächsten Werktag. An diesem Tag wurden auch die Landwirte mittels Exceltabelle per E-Mail über die Blutergebnisse der untersuchten Tiere informiert. In dieser Tabelle wurden von den Tierärzten auch weitere bei der Untersuchung festgestellte, abweichende Befunde eingetragen.

3. Verarbeitung der Milch- und Blutproben

3.1. Milchproben

Nach der Probennahme und Kühlung der Proben durch den Betriebsleiter fand eine Zuordnung und Codierung der Proben durch den LOP des LKV Bayern statt. Die Proben wurden als Sonderproben gekennzeichnet und in Rundmagazine mit gesondert gekennzeichnetem Deckel verpackt, um eine Analyse am standardisierten Infrarot-Spektroskop (MilkoScan 7 RM, FOSS GmbH, Hamburg, DE) sicherzustellen. Anschließend brachte der LOP die Proben analog zur regulären Milchleistungsprüfung zur zuständigen Sammelstelle bzw. Molkerei. Die Proben wurden von dort per Kurier über Nacht zum Milchprüfing Bayern e.V. gebracht. Eine ständige Kühlung der Proben auf ihren Transportwegen war sichergestellt.

Im Labor des Milchprüfings fand die Untersuchung der Milchproben statt. Die IR-Spektroskopie der Sonderproben zur Bestimmung der Milchinhaltsstoffe (Fett, Eiweiß, Harnstoff, Azeton, Laktose), des pH-Wertes, der BHB- und NEFA-Konzentrationen erfolgte ausschließlich am standardisierten Infrarot-Spektroskop MilkoScan 7 RM der Firma FOSS GmbH (Hamburg, DE), die Bestimmung der somatischen Zellzahl mittels Fossomatic 5000 der Firma FOSS GmbH (Hamburg,

DE). Die Ergebnisse wurden durch das LKV per Exceltabelle an die Tierärzte und die Betriebsleiter gesendet.

3.2. Blutproben

Die Blutproben wurden täglich, jeweils nach Beendigung der Bestandsbesuche, von den Tierärzten in das Labor der Klinik für Wiederkäuer der LMU München gebracht. Im Labor wurden die Konzentrationen von BHB, NEFA und Haptoglobin im Blutserum bestimmt.

Die quantitative Bestimmung der BHB- und NEFA-Konzentrationen erfolgte in einem cobas c311-Analyzer der Firma Roche Diagnostic (Rotkreuz, CH) jeweils am folgenden Werktag der Bestandsbesuche. Die Bestimmung von BHB und NEFA wurde bei allen Proben durchgeführt. Danach wurden die Proben im Labor bei -20°C asserviert und nach Versuchsende erfolgte in diesen die Bestimmung von Haptoglobin mittels ELISA (Firma Bio-X Diagnostics, Rochefort, BEL). Die Haptoglobin-Konzentration wurde in 800 Proben von 500 Fleckvieh- sowie 300 Braunvieh-Kühen untersucht, die sich zwischen dem 10. und 30. Tag nach der Kalbung befanden. Die Auswahl der Proben erfolgte zufällig.

4. Aktivität und Wiederkautätigkeit

Auf den Fleckvieh-Betrieben fand zusätzlich die Sicherung der Daten zur Bewegungsaktivität und, wenn vorhanden, der Daten zur Wiederkautätigkeit der untersuchten Tiere statt. Je nach AMS-Hersteller wurden unterschiedliche Daten erfasst (Tab. 1).

Tabelle 1: Übersicht der erhobenen Parameter aus den Herdenmanagement-Programmen der automatischen Melksysteme

AMS-Hersteller	Erhobene Daten	Einheit
Lely	Aktivität pro Tag	Tierindividueller Aktivitätsindex
	Wiederkautätigkeit pro Tag	Minuten pro Tag
Lemmer-Fullwood	Aktivität pro Stunde	Schritte pro Stunde
	Hinlegeereignisse pro Tag	Anzahl Ablegevorgänge pro Tag
	Liegedauer pro Tag	Liegezeit in Stunden pro Tag
	Liegeverhältnis pro Tag	Relativer Anteil der Liegedauer in Bezug auf die Gesamtstunden (%)
	Unruhefaktor pro Tag	Verhältnis tägliche Aktivität und täglichem Liegeverhältnis
De Laval	Aktivität pro Tag	Durchschnittliche Aktivität der letzten 24 Stunden
	Relative Aktivität	Aktivität in %

Die Datenermittlung fand bei Lely und De Laval über ein Halsband statt, bei Lemmer-Fullwood mittels Pedometer. Die Daten wurden automatisch von den Transpondern an das Herdenmanagement-Programm übermittelt, wo sie von den untersuchenden Tierärzten am Computer des Betriebes gespeichert und an eine eigens eingerichtete E-Mail-Adresse zur späteren Aufarbeitung und Auswertung der Daten gesendet wurden.

5. Statistische Methoden

Bei jedem Bestandsbesuch fand eine Eintragung der Untersuchungsergebnisse in die Erhebungsbögen statt, sowie täglich eine Eintragung der Betriebs- und Tierdaten und Daten der Blutprobennummern in eine Exceltabelle (Microsoft Excel, Version 2007, Microsoft Corporation, Redmont, USA). In diese Tabelle

wurden vom jeweiligen Labor die Milch- und Blutprobenergebnisse eingetragen.

Nach Abschluss der Erhebungen fand eine automatische Umwandlung der Daten in Exceltabellen statt. Diese Daten wurden von den untersuchenden Tierärzten auf Richtigkeit und Vollständigkeit überprüft. Anschließend wurden die Blut- und Milchdaten und die Daten der klinischen Untersuchung in eine Exceltabelle pro Betrieb zusammengefügt.

Von 712 Kühen (437 Fleckvieh, 275 Braunvieh) lagen vollständige Datensätze zu Hp-Konzentrationen, zu Blut- und Milchergebnissen und zur klinischen Untersuchung vor. Zur Auswertung der NEFA- und BHB-Daten wurde eine bivariate Analyse durchgeführt. Mit Hilfe der logistischen Regression wurde der Zusammenhang zwischen den Variablen sowie hohen und niedrigen NEFA- bzw. BHB-Konzentrationen im Blut untersucht. Hierfür wurde der aus der Literatur bereits bekannte NEFA-Grenzwert von 0,7 mmol/l verwendet (TREMBLAY et al., 2018). Der Grenzwert der BHB-Konzentrationen lag bei 1,2 mmol/l (SUTHAR et al., 2013). Bei p-Werten $< 0,05$ wurde das Ergebnis als statistisch signifikant angenommen. Die statistischen Methoden zur Auswertung der Haptoglobin-Daten sind in der 2. Publikation (Kapitel IV) aufgeführt.

Von 95 Tieren lagen vollständige Daten zur klinischen Untersuchung, Haptoglobinkonzentration im Blut, Aktivität und Wiederkautätigkeit sowie die Blut- und Milchdaten vor. Mittels linearer Regressionsanalyse sollten die Zusammenhänge zwischen täglicher Aktivität bzw. täglicher Wiederkautätigkeit und den numerischen und Faktorvariablen überprüft werden. Bei einem p-Wert $< 0,05$ wurde das Ergebnis als signifikant angenommen. Ausgehend von einem initialen multiplen Regressionsmodell mit allen signifikanten Vorhersagevariablen aus der bivariaten Analyse, fand eine „backward step elimination“ der Variablen statt. Dies führte zu einem finalen Modell, in dem lediglich die Variablen verblieben, die auch in der multiplen Regressionsanalyse signifikant assoziiert waren.

Die Auswertung erfolgte mit den Statistikprogrammen R (Version 3.6.1, The R Foundation, Wien, AT), Tableau (Version 2.0, Tableau Software, Seattle, USA) und Python (Version 3.6, Python Software Foundation, Delaware, USA). Die Übermittlung der Daten fand via github (Github.com, 2020, San Francisco, USA) und box (Box.com, 2020, London, UK) statt.

IV. ERGEBNISSE HAPTOGLOBIN - ZWEITE VERÖFFENTLICHUNG

Nutzung der Haptoglobinkonzentration im Blutserum als Indikator im
Tiergesundheitsmonitoring bei Milchkühen

Use of serum haptoglobin concentration as an indicator in animal health monitoring
of dairy cows

Franziska Hajek¹, Anne Reus¹, Simone Gruber¹, Stefan Plattner², Martin Kammer³,
Christian Baumgartner², Moniek Smink⁴, Dörte Döpfer⁴, Sabrina Hachenberg⁵,
Rolf Mansfeld¹

¹ Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung, Tierärztliche
Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

² Milchprüfing Bayern e.V., Wolnzach

³ Landeskuratorium der Erzeugerringe für tierische Veredelung in Bayern e.V.,
München

⁴ School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin-Madison, Madison,
WI, USA

⁵ Deutscher Verband für Leistungs- und Qualitätsprüfungen e.V., Bonn

Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere 2020; 48: 228-238

Originalartikel**Nutzung der Haptoglobinkonzentration im Blutserum als Indikator im Tiergesundheitsmonitoring bei Milchkühen****Use of serum haptoglobin concentration as an indicator in animal health monitoring of dairy cows**

Autoren

Franziska Hajek¹, Anne Reus¹, Simone Gruber¹, Stefan Plattner², Martin Kammer³, Christian Baumgartner², Moniek Smink⁴, Dörte Döpfer⁴, Sabrina Hachenberg⁵, Rolf Mansfeld¹

Institute

1 Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung, Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

2 Milchprüfing Bayern e. V., Wolnzach

3 Landeskuratorium der Erzeugerringe für tierische Veredelung in Bayern e. V., München

4 School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin-Madison, Madison, WI, USA

5 Deutscher Verband für Leistungs- und Qualitätsprüfungen e. V., Bonn

Schlüsselwörter

Hyperketonämie, NEFA, BHB, Lahmheit, Herdengesundheit

Key words

Hyperketonaemia, NEFA, BHBA, lameness, herd health

eingereicht 27.04.2020

akzeptiert 17.04.2020

Bibliografie

DOI <http://dx.doi.org/>■

Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere 2020; 48: 228-238

© Georg Thieme Verlag KG Stuttgart New York

ISSN 1434-1220

Korrespondenzadresse

Mag. med. vet. Franziska Hajek

Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung

Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Sonnenstraße 16

85764 Oberschleißheim

Franziska.Hajek@campus.lmu.de

Hajek F et al. Nutzung der Haptoglobinkonzentration... Tierarztl Prax Ausg G
Grosstiere Nutztiere 2020; 48: 1-11

ZUSAMMENFASSUNG

Ziel

Untersuchung von Zusammenhängen zwischen der Haptoglobinkonzentration im Blut und dem Auftreten einer Ketose, ausgewählten klinischen Parametern und Lahmheit bei Milchkühen.

Material und Methoden

Die Datenerhebung fand in 39 bayerischen Milchviehbetrieben über 8 Monate statt. Bei den einbezogenen 712 Fleckvieh- und Braunviehkühen, deren Kalbung 10–30 Tage zurücklag, wurde eine klinische Untersuchung durchgeführt sowie eine Milch- und eine Blutprobe entnommen. Im Blut wurden die Konzentrationen von freien Fettsäuren (non-esterified fatty acids, NEFA), β -Hydroxybutyrat (BHB) und Haptoglobin (Hp) bestimmt, in der Milch die Milchinhaltsstoffe (Fett, Eiweiß, Harnstoff, Laktose, Azeton), BHB, NEFA und die somatische Zellzahl (SCC).

Ergebnisse

Signifikante Korrelationen ergaben sich zwischen erhöhten Hp-Konzentrationen einerseits und erhöhten NEFA-Konzentrationen in Blut und Milch ($p < 0,001$), erhöhter SCC ($p < 0,001$), Lahmheit ($p < 0,001$), vermindertem Laktosegehalt ($p < 0,001$) sowie vermindertem Proteingehalt der Milch ($p = 0,001$) andererseits. In den wärmeren Sommermonaten beprobte Tiere hatten signifikant höhere Hp-Konzentrationen ($p < 0,001$). Erstkalbinnen wiesen signifikant höhere Hp-Werte auf als multipare Tiere ($p < 0,001$). Durch die Einteilung der Tiere in 4 Cluster ließ sich ein Hp-Grenzwert bestimmen, der 0,18 mg/ml betrug. Kombiniert mit einem SCC-Grenzwert von 40500 Zellen/ml Milch konnte der Großteil der subklinisch und klinisch auffälligen Tiere ermittelt werden.

Schlussfolgerung und klinische Relevanz

Die Messung der Hp-Konzentration im Blut stellt einen praktikablen Ansatz zur Unterstützung des Tiergesundheitsmonitorings im postpartalen Zeitraum dar. Zusammen mit der Auswertung der Milchmenge und der Milchinhaltsstoffe können Abweichungen von physiologischen Zuständen erkannt und betroffene Tiere zeitnah behandelt werden. Haptoglobin kann für die Bewertung des Gesundheitsstatus des Einzeltieres wie auch als Indikator für die Herdengesundheit genutzt werden.

ABSTRACT

Objective

To investigate the association between haptoglobin concentration in the blood and the occurrence of ketosis, selected clinical parameters as well as lameness in dairy cows.

Material and methods

The data was collected on 39 dairy farms in Bavaria over a period of 8 months. In 712 Simmental and Brown Swiss cows, clinical examinations as well as milk and blood samplings were performed between 10 and 30 days after calving. In these blood samples, the concentrations of non-esterified fatty acids (NEFA), β -hydroxybutyric acid (BHBA) and haptoglobin (Hp) were determined. Analysis of the milk included milk constituents (fat, protein, urea, lactose and acetone), BHBA, NEFA and the somatic cell count (SCC).

Results

Significant correlations were found between increased Hp-concentration on the one hand and increased NEFA levels in blood and milk ($p < 0.001$), increased somatic cell count ($p < 0.001$), lameness ($p < 0.001$), as well as reduced lactose content ($p < 0.001$) and protein content in the milk ($p = 0.001$) on the other hand. Animals sampled during the warmer summer months showed significantly higher serum Hp-concentrations ($p < 0,001$). Heifers exhibited significantly higher Hp-values than multiparous individuals ($p < 0.001$). By dividing the examined cows into 4 clusters, a Hp-threshold value could be determined at 0.18 mg/ml. Combined with a SCC threshold of 40 500 cells/ml milk, the majority of animals with subclinical and clinical abnormalities could be identified.

Conclusion and clinical relevance

Measurement of the Hp-concentration in blood is a pertinent approach in animal health monitoring during the postpartum period. In combination with evaluations of milk amount and contents, deviations from the physiological status may be recognized and affected individuals treated early on. Haptoglobin may be used to assess the health status of the individual animal as well as an indicator of herd health in the context of animal health monitoring.

Einleitung

Kühe sind nach der Kalbung empfänglicher für Stressoren und haben meist eine negative Energiebilanz [1, 2]. Schwere Entgleisungen des Energiehaushalts post partum (p. p.) führen zu einer gesteigerten Lipomobilisation und erhöhten Konzentration an freien Fettsäuren (non-esterified fatty acids, NEFA). Letztere stellen ähnlich einer Infektion oder einem Trauma einen schädlichen Stimulus für die Leber dar, was eine gesteigerte Produktion von Haptoglobin (Hp) zur Folge hat [1, 3]. In einer Studie von Hiss et al. [4] wiesen Tiere mit NEFA-Konzentrationen $> 0,6$ mmol/l oder BHB-Konzentrationen (BHB = β -Hydroxybutyrat) $> 1,6$ mmol/l erhöhte Hp-Konzentrationen in Milch und Blut auf [4]. Da Lahmheiten mit entzündlichen Veränderungen der Klaue bzw. der Extremität verbunden sind, lässt sich auch bei lahmen Tieren meist ein Anstieg der Hp-Konzentration im Blut messen [1]. Eine Lahmheit führt außerdem zu einer geringeren Futteraufnahme, was die negative Energiebilanz und den Anstieg der NEFA- und BHB-Konzentrationen fördert [5].

Haptoglobin (Hp) zählt bei Rindern zu den Akute-Phase-Proteinen [6-8]. Dieses Peptid bindet freies Hämoglobin im Blut und entfaltet dadurch einen antioxidativen Effekt. Es reguliert als Teil des angeborenen Immunsystems die Leukozyten, da

es eine antiinflammatorische Reaktion auslösen kann, und hat eine direkte bakteriostatische Wirkung [9]. Bei einer gesunden Kuh ist die Hp-Konzentration kaum messbar. Im Fall einer Entzündung findet dagegen eine Bildung von Hp in bovinem Fettgewebe und in der Leber statt [6, 7, 10], sodass es als Entzündungsmarker herangezogen werden kann [6]. Die in der Literatur angegebenen Grenzwerte schwanken beträchtlich: Nach Horadagoda et al. [6] weisen gesunde Rinder eine Hp-Konzentration $< 0,35$ mg/ml auf. Richter [11] und Huzzey et al. [12] bezeichneten Hp-Konzentrationen $< 0,1$ mg/ml als physiologisch [11]. Die Messung von Hp fand in diesen Studien im Blutserum statt. Höhmann und Frank [13] definierten folgende Hp-Grenzwerte, die für die Konzentration im Blutserum und in der Milch gelten: gesunde Milchkühe: $< 0,0004$ mg/ml; subklinische Infektion: $0,0004$ – $0,0016$ mg/ml; bei Werten $> 0,0016$ mg/ml sind meist klinische Symptome sichtbar. Mit der Milch steht ein einfach, nicht invasiv zu gewinnendes Substrat zur Verfügung [13]. Auch Hiss et al. [4] konnten Korrelationen zwischen den Hp-Konzentrationen im Blut und in der Milch darstellen [4]. Mit der Messung von Hp in der Milch ließen sich steril gewonnene Milchproben von Proben differenzieren, die Bakterien enthielten und somit auf eine subklinische Infektion hindeuteten [14].

Die Hp-Messung erfolgt routinemäßig quantitativ mit einem ELISA. Dieses Verfahren ist einfach, schnell, günstig, reproduzierbar und für Feld- und Laborstudien geeignet [8]. Da es sich bei Hp um ein sehr stabiles Peptid handelt, können Messungen auch mit tiefgefroren gelagerten und wieder aufgetauten Proben durchgeführt werden. Außerdem sind Akute-Phase-Proteine ein sensitiverer Indikator für eine Entzündung als die Leukozytenzahl [6]. Bei 68% ($n = 21$) der Kühe mit einer akuten und bei 24% ($n = 12$) mit einer chronischen Entzündung wurden erhöhte Hp-Konzentrationen im Blut gemessen, wobei die Werte bei akuter Entzündung signifikant höher lagen als bei chronischer Entzündung (Mittelwert $1,476$ mg/ml vs. $0,374$ mg/ml; $p < 0,001$) [6]. Die Sensitivität zur Unterscheidung der Entzündungsreaktionen betrug 68%, die Spezifität 76%. Die Effizienz, d. h. die gleichzeitige Betrachtung von Sensitivität und Spezifität, lag bei 73% und war damit höher als die der Leukozytenzählung und der Messung anderer Akute-Phase-Proteine (Serum Amyloid A, α 1-Glykoprotein, C-reaktives Protein) [6, 7].

In der 1. Woche p. p. können bei Erstkalbinnen wie auch bei multiparen Tieren signifikante Anstiege der Hp-Konzentrationen gemessen werden, wobei es individuelle Schwankungen zwischen den Tieren gibt. Es wird angenommen, dass dieser signifikante Anstieg p. p. Ausdruck einer physiologischen Akute-Phase-Reaktion im Zusammenhang mit der Kalbung ist [15]. Kühe mit Torsio uteri wiesen zur Zeit der Kalbung bis 10 Tage p. p. höhere Hp-Konzentrationen im Blut auf als Kühe ohne Torsio uteri [16]. Bei Tieren mit einer akuten Metritis fanden sich vom Tag der Kalbung bis 6 Tage p. p. signifikant erhöhte Hp-Konzentrationen im Blut [17]. Die Werte in der 1. Woche p. p. sind daher mit Vorsicht zu interpretieren, da nicht zwischen einer physiologischen Akute-Phase-Antwort p. p. und einer pathologischen Entzündungsreaktion unterschieden werden kann. Gesunde Erstkalbinnen hatten in der 1. Woche p. p. leicht höhere Hp-Konzentrationen im Blut als multipare Kühe, was auf eine stärkere Akute-Phase-Antwort im Zusammenhang mit der Kalbung bei Erstkalbinnen hindeutet [15]. Entscheidende

Vorteile der Messung von Hp sind die Erkennung einer Gewebeschädigung, selbst wenn das Tier keine klinischen Symptome zeigt, sowie die Möglichkeit zur Überwachung des Heilungsprozesses und des Therapieerfolgs [7].

Die Messung der Hp-Konzentrationen ante und post partum könnte einen wichtigen Ansatz darstellen, um subklinische Erkrankungen zu erkennen und Tiere bereits vor Auftreten klinischer Symptome behandeln zu können [1]. Ziel der Studie war, Zusammenhänge zwischen veränderten Hp-Konzentrationen im Blut und klinischen Parametern, den Milchinhaltsstoffen sowie den NEFA- und BHB-Konzentrationen in Blut und Milch darzustellen. Überprüft werden sollte, ob sich die Messung der Hp-Konzentration als Parameter für das Tiergesundheitsmonitoring eignet.

Tiere, Material und Methoden

Versuchsdurchführung

Die Untersuchungen erfolgten von Juni bis Dezember 2018 in 8 Fleckvieh- und 31 Braunviehbetrieben in Bayern im Rahmen der Projekte „Q-Check – Tierwohl in der Milchviehhaltung mit System – Von der betrieblichen Eigenkontrolle bis zum nationalen Monitoring“ (Arbeitspaket III) und „FSM-IRMi 1.1 – Frühwarnsystem für Stoffwechselerkrankungen von Milchkühen mithilfe von Infrarot-Absorptionsspektren der Milch“. Aufnahme in die Studie fanden Tiere, die zu mindestens 75% der Rasse Fleckvieh oder Braunvieh angehörten und deren Abkalbung 10–30 Tage zurücklag. Bei jedem Betriebsbesuch wurden Listen mit Betriebsname, Ohrmarken- und Stallnummern, Laktationstagen und -zahl der Tiere erstellt. Anschließend wurden die im Fressgitter oder in der Liegebox fixierten Kühe einer klinischen Untersuchung (Tab. 1) sowie einer Blutprobennahme aus der *V. coccygea mediana* (BD-Serum-Gel-Vacutainer®, SST 2 advanced, 8,5 ml [Becton, Dickinson and Company, Plymouth, UK]) unterzogen. Die klinischen Befunde, Datum und Uhrzeit der Blutprobennahme und die Umgebungstemperatur wurden dokumentiert.

Tab. 1 Bei der klinischen Untersuchung erhobene Parameter und ihre Bewertung.

Table 1 Parameters collected during the clinical examination and their interpretation.

Parameter	Bewertung		Quelle
	physiologisch	pathologisch	
Innere Körpertemperatur	38,3–38,8°C	< 38,3°C, > 38,8°C	¹
Hautturgor	Hautelastizität erhalten	Hautelastizität reduziert, aufgehoben	¹
Bauchdeckenspannung	nicht erhöht	erhöht	¹
Pansenscore	3, 4	1, 2, 5	²
Pansenschichtung	3 Schichten	keine Schichtung	^{1,3}
Pansenfrequenz	2–3/2 min	0–1/2 min, > 3/2 min	^{1,3}
Schwingauskultation rechts/links	ohne besonderen Befund	Plätschern	^{1,3}
Perkussionsauskultation rechts/links	ohne besonderen Befund	Klingeln	^{1,3}
Kotkonsistenz	mittelbreiig	dickbreiig, dünnbreiig, suppig, wässrig	^{3,4}
Verdauungsgrad	gut, mäßig	schlecht	³
Rückenfettdicke	abhängig vom Laktationstag		⁵
Locomotion Score	1	2–5	⁶

¹: Baumgartner [18]; ²: Zaaijer und Noordhuizen [19]; ³: Dirksen [20]; ⁴: Klee und Metzner [21]; ⁵: Staufenbiel [22]; ⁶: Sprecher et al. [23]

Die Blutproben wurden 30 Minuten nach Entnahme bei 2300 G für 10 Minuten zentrifugiert und gekühlt (2–8°C) an das Labor der Klinik für Wiederkäuer der LMU München transportiert. Zur quantitativen Bestimmung der BHB- und NEFA-Konzentrationen diente das Gerät Cobas c311-Analyzer (Roche Diagnostic, Rotkreuz, CH). Von jeder Probe wurde eine Rückstellprobe genommen und bei –20°C asserviert. Nach der praktischen Phase fand die Hp-Messung aus 800 zufällig gewählten Rückstellproben mit einem Sandwich-ELISA (Bio-X Diagnostics, Rochefort, BEL) statt. Dessen Mikrotiterplatten waren mit einem monoklonalen Antikörper beschichtet, der bovines Hp bindet. Die vorverdünnten Serumproben wurden auf der Platte bei 21 ± 3°C für 1 Stunde inkubiert. An die Waschung mit einem verdünnten Waschpuffer schloss sich eine 1-stündige Inkubation mit dem Konjugat (peroxidase markierter, spezifischer Anti-Rinderhaptoglobin-Antikörper) an. Anschließend erfolgte eine weitere Waschung und die Zugabe des Chromogens Tetramethylbenzidine. Das Chromogen löste die Farbreaktion aus, die durch Zugabe der Phosphorsäure-Stopplösung beendet wurde. Die optische Dichte in den Vertiefungen wurde mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät bei 450 nm gemessen und die Werte zur Bestimmung der Hp-Konzentration in den Proben über die Referenzkurve (erstellt anhand der mitgelieferten Standards) aufgetragen [24].

Aus arbeitstechnischen Gründen führten die Betriebsleiter die Milchprobennahme jeweils am Tag vor der klinischen Untersuchung durch. Sie erfolgte bei Betrieben mit automatischen Melksystemen über ein Shuttle (Typ Ori Collector Version Light SD, Sans Systeme Doseur, Alcalà de Henales, ESP), bei Betrieben mit Melkstand per LactoCorder (WMB AG, Balgach, CH). Die gekühlten, kodierten Proben wurden im Labor des Milchprüfings Bayern e. V. untersucht. BHB- und NEFA-Konzentrationen und die Milchinhaltsstoffe (Fett, Eiweiß, Laktose, Harnstoff,

Azeton) wurden mittels Infrarot-Spektroskopie am IR-Spektrometer MilkoScan 7 RM (FOSS GmbH, Hamburg, DE) bestimmt, die somatische Zellzahl (SCC) im Fossomatic™ FC (FOSS GmbH, Hamburg, DE). Außerdem fand bei jedem Melkvorgang eine Messung der Milchmenge statt.

Statistische Auswertung

Zur Datenauswertung, durchgeführt mit den Programmen R v3.6.1, Tableau v2.0 und Python 3.6., wurden 52 Variablen (29 numerische Variablen und 23 Faktorvariablen) definiert. Die auf Basis der deskriptiven Statistik erstellten Histogramme zeigten, dass der Großteil der Variablen normalverteilt war. Werte von Variablen ohne Normalverteilung wurden logarithmiert (Blut: Hp, NEFA, BHB; Milch: BHB, somatische Zellzahl, Azeton). Nach der deskriptiven Auswertung fand eine bivariate Analyse statt. Zur Quantifizierung der Zusammenhänge zwischen der Hp-Konzentration im Blut (logarithmiert) und den numerischen und Faktorvariablen diente eine lineare Regressionsanalyse, an die sich eine logistische Regressionsanalyse anschloss. Hierbei wurden die Zusammenhänge der Variablen mit hohen oder niedrigen Hp-Konzentrationen im Blut (Grenzwert 0,35 mg/ml) untersucht. Bei einem p-Wert < 0,05 wurde das Ergebnis als statistisch signifikant angenommen.

Ferner fand ein k-Means-Clustering zur Überprüfung der in der Literatur angegebenen Hp-Grenzwerte bzw. zur Ermittlung eines neuen Hp-Grenzwerts statt. Das k-Means-Clustering zielt darauf ab, n Beobachtungen in k Gruppen einzuteilen. Jede Beobachtung wird dem nächstgelegenen Mittelpunkt zugeteilt, d. h. jedes Cluster ist eine Gruppe mit ähnlichen Datenpunkten (z. B. Tiere mit erhöhten Hp-Konzentrationen im Blut). Mithilfe sog. ssi-Graphen wurde die optimale Anzahl an Clustern bestimmt. Beim Clustering wurden 9 Variablen einbezogen und die Daten in 4 Cluster eingeteilt.

Ergebnisse

Die Auswertung umfasste die Daten von 712 Kühen (437 Fleckvieh, 275 Braunvieh), von denen Werte der Blut- und Milchparameter, Hp-Konzentrationen im Blut sowie die Ergebnisse der klinischen Untersuchung vorlagen.

Bei 264 der 712 beprobten Tiere überschritt die **Hp-Konzentration** im Blut 0,1 mg/ml, bei 183 Kühen war sie > 0,35 mg/ml. Bei 537 von 712 Tieren lagen die Werte unter 0,4 mg/ml, bei 42 Tieren zwischen 0,4 und 1,6 mg/ml und bei 133 Tieren über 1,6 mg/ml. Eine **NEFA-Konzentration** im Blut $\geq 0,7$ mmol/l hatten 140 der 712 Kühe und eine **BHB-Konzentration** im Blut $\geq 1,2$ mmol/l 136 Kühe. Die Ergebnisse der linearen Regressionsanalyse sind in Tab. 2 und Tab. 3 dargestellt, die Resultate der logistischen Regressionsanalyse (Grenzwert = 0,35 mg/ml) in Tab. 4 und Tab. 5.

Tab. 2 Ergebnisse der linearen Regressionsanalyse der numerischen Variablen (↑ = erhöht, ↓ = erniedrigt, → = geht einher mit).

Table 2 Results of linear regression analysis of the numeric variables (↑ = increased, ↓ = decreased, → = comes along with).

Numerische Variable	Zusammenhang	Standardfehler	Signifikanzniveau	Regressionskoeffizient
Blut NEFA	NEFA ↑ → Hp ↑	0,114	p < 0,001	0,766
Blut BHB	–	0,196	p = 0,802	0,049
Tage in Milch (DIM)	DIM ↑ → Hp ↓	0,015	p < 0,001	–0,052
Anzahl Kalbungen	–	0,048	p = 0,495	–0,033
Tagesmilchleistung	Milchleistung ↑ → Hp ↓	0,016	p < 0,001	–0,085
Milch NEFA	NEFA ↑ → Hp ↑	0,039	p = 0,049	0,076
Milch BHB	BHB ↑ → Hp ↑	0,139	p < 0,001	0,612
Milch SCC	SCC ↑ → Hp ↑	0,070	p < 0,001	0,585
Milch Fett	Fett ↑ → Hp ↑	0,085	p < 0,001	0,464
Milch Protein	Protein ↑ → Hp ↓	0,299	p = 0,001	–0,977
Milch Laktose	Laktose ↑ → Hp ↓	0,490	p < 0,001	–1,896
Milch Azeton	Azeton ↑ → Hp ↑	0,121	p < 0,001	0,687
Milch Harnstoff	–	0,012	p = 0,051	0,024
Milch pH-Wert	pH ↑ → Hp ↓	1,120	p < 0,001	–4,721
Rückenfettdicke	–	0,014	p = 0,187	0,018
Innere Körpertemperatur	–	0,056	p = 0,340	0,053
Umgebungstemperatur	Temperatur ↑ → Hp ↑	0,015	p < 0,001	0,076

BHB = β-Hydroxybutyrat, Hp = Haptoglobin, NEFA = freie Fettsäuren, SCC = somatische Zellzahl

Tab. 3 Ergebnisse der linearen Regressionsanalyse der Faktorvariablen (\uparrow = erhöht, \downarrow = erniedrigt, \rightarrow = geht einher mit).

Table 3 Results of the linear regression analysis of the categorical variables (\uparrow = increased, \downarrow = decreased, \rightarrow = comes along with).

Faktorvariable	Zusammenhang	Standardfehler	Signifikanzniveau	Regressionskoeffizient
Rasse	–	0,195	p = 0,105	–0,317
Erstkalbin/Kuh	Erstkalbinnen haben höhere Hp-Werte als multipare Tiere	0,207	p < 0,001	0,876
Monat	Juli, August, September \rightarrow Hp \uparrow	0,188	p < 0,001	1,052
Hautturgor	Turgor $\downarrow \rightarrow$ Hp \uparrow	0,505	p < 0,001	1,692
Bauchdeckenspannung (BDS)	BDS $\uparrow \rightarrow$ Hp \uparrow	0,372	p = 0,018	0,884
Pansenschichtung	–	0,577	p = 0,064	1,070
Schwingauskultation	–	0,508	p = 0,139	–0,754
Perkussionsauskultation	–	1,275	p = 0,249	–1,472
Pansenscore	schlechte Pansenfüllung \rightarrow Hp \uparrow	0,191	p < 0,001	–0,894
Pansenfrequenz	< 2 Pansenzyklen/2 Minuten \rightarrow Hp \uparrow	0,459	p < 0,001	1,579
Kotkonsistenz	dickbreiiger Kot \rightarrow Hp \uparrow	0,238	p = 0,025	0,534
Verdauungsgrad	–	0,226	p = 0,900	0,029
Locomotion Score (LS)	LS > 2 \rightarrow Hp \uparrow	LS 3: 0,336 LS 4: 0,526 LS 5: 1,701	p < 0,001	LS 3: 1,168 LS 4: 3,710 LS 5: 7,024
Lahmheit (LS > 2)	Lahmheit \rightarrow Hp \uparrow	0,289	p < 0,001	1,817
BHB > 1,2 mmol/l im Blut	–	0,242	p = 0,28	0,262
NEFA > 0,7 mmol/l im Blut	NEFA $\uparrow \rightarrow$ Hp \uparrow	0,232	p < 0,001	1,656
BHB = β -Hydroxybutyrat, Hp = Haptoglobin, NEFA = freie Fettsäuren				

Tab. 4 Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse der numerischen Variablen bei einem Haptoglobin-Grenzwert von 0,35 mg/ml (\uparrow = erhöht, \downarrow = erniedrigt, \rightarrow = geht einher mit).

Table 4 Results of the logistic regression analysis of the numeric variables at a haptoglobin cut-off of 0.35 mg/ml (\uparrow = increased, \downarrow = decreased, \rightarrow = comes along with).

Numerische Variable	Zusammenhang	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall	Signifikanzniveau	Regressionskoeffizient
Blut NEFA	NEFA $\uparrow \rightarrow$ Hp > 0,35	1,858	1,486–2,340	p < 0,001	0,619
Blut BHB	–			p = 0,992	–0,002
Tage in Milch (DIM)	DIM $\downarrow \rightarrow$ Hp > 0,35	0,966	0,940–0,993	p = 0,013	–0,034
Anzahl Kalbungen	–			p = 0,638	–0,020
Tagesmilchleistung	Milchleistung $\downarrow \rightarrow$ Hp > 0,35	0,930	0,900–0,960	p < 0,001	–0,072
Milch NEFA	–			p = 0,148	0,051
Milch BHB	BHB $\uparrow \rightarrow$ Hp > 0,35	1,550	1,208–2,006	p < 0,001	0,438
Milch SCC	SCC $\uparrow \rightarrow$ Hp > 0,35	1,560	1,370–1,782	p < 0,001	0,444
Milch Fett	Fett $\uparrow \rightarrow$ Hp > 0,35	1,376	1,183–1,605	p < 0,001	0,319
Milch Protein	Protein $\downarrow \rightarrow$ Hp > 0,35	0,433	0,242–0,759	p = 0,004	–0,838
Milch Laktose	Laktose $\downarrow \rightarrow$ Hp > 0,35	0,202	0,080–0,487	p < 0,001	–1,600
Milch Azeton	Azeton $\uparrow \rightarrow$ Hp > 0,35	1,606	1,299–2,002	p < 0,001	0,473
Milch Harnstoff	–			p = 0,183	0,014
Milch pH-Wert	pH $\downarrow \rightarrow$ Hp > 0,35	0,290	0,004–0,200	p < 0,001	–3,542
Rückenfett dicke	–			p = 0,146	0,018
Innere Körpertemperatur	–			p = 0,424	0,037

BHB = β -Hydroxybutyrat, Hp = Haptoglobin, NEFA = freie Fettsäuren, SCC = somatische Zellzahl

Tab. 5 Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse der Faktorvariablen bei einem Grenzwert für Haptoglobin (Hp) von 0,35 mg/ml (\uparrow = erhöht, \downarrow = erniedrigt, \rightarrow = geht einher mit).

Table 5 Results of the logistic regression analysis of the categorical variables at a haptoglobin (Hp) cut-off of 0.35 mg/ml (\uparrow = increased, \downarrow = decreased, \rightarrow = comes along with).

Faktorvariable	Zusammenhang	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall	Signifikanzniveau	Regressionskoeffizient
Rasse	–			p = 0,061	–0,339
Erstkalbin/Kuh	Erstkalbin \rightarrow Hp > 0,35	1,893	1,325–2,698	p < 0,001	0,638
Monat	Juli, August, September \rightarrow Hp > 0,35	2,243	1,596–3,166	p < 0,001	0,808
Hautturgor	Turgor \downarrow \rightarrow Hp > 0,35	2,541	1,134–5,611	p = 0,021	0,933
Bauchdeckenspannung	–			p = 0,186	0,413
Pansenschichtung	–			p = 0,685	0,201
Schwingauskultation	–			p = 0,421	–0,407
Perkussionsauskultation	–			p = 0,976	–13,528
Pansenscore ¹	Score \leq 2 \rightarrow Hp > 0,35	0,504	0,357–0,709	p < 0,001	–0,685
Pansenfrequenz ²	Frequenz < 2 \rightarrow Hp > 0,35	2,326	1,187–4,544	p = 0,013	0,844
Kotkonsistenz	–			p = 0,174	0,280
Verdauungsgrad	–			p = 0,975	–13,572
Lahmheit ³	Lahmheit \rightarrow Hp > 0,35	3,977	2,487–6,388	p < 0,001	1,381
BHB > 1,2 mmol/l im Blut	–			p = 0,272	0,232
NEFA > 0,7 mmol/l im Blut	NEFA \uparrow \rightarrow Hp > 0,35	3,082	2,087–4,549	p < 0,001	1,126

¹ Pansenscore 1 oder 2 (geringe Füllung des Pansens), ² Pansenfrequenz < 2 Zyklen/Minute (verminderter Pansenzklus), ³ Locomotion Score > 2

Zusammenhang Haptoglobinkonzentration im Blut – Stoffwechselfparameter

Erhöhte NEFA-Werte in Blut (p < 0,001) und Milch (p = 0,049) sowie erhöhte BHB-Werte in der Milch (p < 0,001) gingen mit erhöhten Hp-Werten im Blut einher (Tab. 2). Tiere mit erhöhten NEFA-Werten im Blut hatten signifikant häufiger Hp-Konzentrationen über 0,35 mg/ml als Tiere mit niedrigeren NEFA-Werten (p < 0,001) (Tab. 4).

Zusammenhang Haptoglobinkonzentration im Blut – klinische Parameter

Beprobt wurden 207 Erstkalbinnen und 505 multipare Kühe. Erstkalbinnen hatten signifikant höhere Hp-Werte als multipare Tiere (p < 0,001) (Tab. 3) und wiesen signifikant häufiger Hp-Werte > 0,35 mg/ml auf (p < 0,001) (Tab. 5).

626 Kühe mit einem Locomotion Score von 1 oder 2 wurden als „nicht lahm“ eingestuft, 86 Kühe mit einem Locomotion Score von 3–5 als „lahm“. Lahme Tiere hatten signifikant höhere Hp-Konzentrationen als nicht lahme (p < 0,001) (Tab. 3) und zudem signifikant häufiger Hp-Werte > 0,35 mg/ml (p < 0,001) (Tab. 5). Bei Tieren mit herabgesetztem Hautturgor (n = 38) ergaben sich signifikant höhere Hp-

Konzentrationen als bei Tieren mit physiologischem Hautturgor ($p < 0,001$). Tiere mit erhöhter Bauchdeckenspannung ($n = 50$) wiesen höhere Hp-Konzentrationen auf als Tiere mit physiologischer Bauchdeckenspannung ($p = 0,018$) (Tab. 3). Erhöhte Hp-Konzentrationen waren bei Kühen mit geringer Pansenfüllung (Pansenscore 1 oder 2; $p < 0,001$), Kühen mit verminderter Pansenfrequenz (< 2 Zyklen/2 Minuten; $p < 0,001$) und Kühen mit dickbreiigem Kot ($p = 0,025$) feststellbar (Tab. 3).

Zwischen Rückenfettdicke, innerer Körpertemperatur, Pansenschichtung, Schwing- und Perkussionsauskultation sowie Verdauungsgrad des Kotes und der Hp-Konzentration wurden keine signifikanten Zusammenhänge nachgewiesen. Der Einfluss der Rasse stand ebenfalls in keinem signifikanten Zusammenhang mit erhöhten Hp-Konzentrationen ($p = 0,105$) (Tab. 2, Tab. 3).

Bei der Verwendung des Hp-Grenzwerts von 0,35 mg/ml ergaben sich folgende Zusammenhänge: Tiere mit herabgesetztem Hautturgor ($p = 0,021$), Tiere mit schlechter Pansenfüllung (Pansenscore 1 oder 2; $p < 0,001$) und Tiere mit verminderter Pansenmotorik (< 2 Pansenzyklen/2 Minuten; $p = 0,013$) hatten signifikant häufiger Hp-Konzentrationen $> 0,35$ mg/ml als Tiere mit entsprechenden physiologischen Befunden. Die anderen untersuchten klinischen Parameter standen in keinem signifikanten Zusammenhang mit Hp-Werten $> 0,35$ mg/ml. Auch hier war kein Einfluss der Rasse auf die Hp-Konzentrationen nachweisbar ($p = 0,061$) (Tab. 4, Tab. 5).

Zusammenhang Haptoglobinkonzentration im Blut – Milchparameter

Mit zunehmendem Abstand von der Kalbung sank die Hp-Konzentration signifikant ($p < 0,001$). Kühe mit höherer Milchleistung hatten niedrigere Hp-Werte ($p < 0,001$) als Tiere, die weniger Milch gaben. Hohe Zellgehalte (SCC) gingen mit erhöhten Hp-Konzentrationen einher ($p < 0,001$) (Tab. 2).

Die Hp-Konzentration wies signifikante Zusammenhänge mit einigen Milchinhaltstoffen auf. Steigender Fett- und steigender Azetongehalt der Milch korrelierten mit erhöhten Hp-Werten ($p < 0,001$). Sinkender Protein- ($p = 0,001$) und Laktosegehalt ($p < 0,001$) sowie sinkender pH-Wert der Milch ($p < 0,001$) korrelierten mit höheren Hp-Konzentrationen (Tab. 2).

Tiere, die sich an einem früheren Laktationstag befanden ($p = 0,013$), eine geringere Milchleistung ($p < 0,001$), höhere BHB-Werte in der Milch ($p < 0,001$), höhere SCC-Werte ($p < 0,001$), höhere Milch-Fettgehalte ($p < 0,001$), niedrigere Milch-Proteingehalte ($p = 0,004$), niedrigere Milch-Laktosegehalte ($p < 0,001$), höhere Milch-Azetongehalte ($p < 0,001$) und niedrigere pH-Werte in der Milch ($p < 0,001$) hatten, zeigten signifikant häufiger Hp-Konzentrationen $> 0,35$ mg/ml (Tab. 4).

Zusammenhang Haptoglobinkonzentration im Blut – Zeitpunkt der Probengewinnung

Kühe, die im Juli, August und September ($n = 311$) beprobt wurden, wiesen signifikant höhere Hp-Konzentrationen auf als solche mit Blutprobennahme im Juni, Oktober, November und Dezember ($n = 401$) ($p < 0,001$) (Abb. 1, Tab. 3). Zudem hatten die in den „warmen Monaten“ (Juli, August, September) beprobten

Tiere signifikant häufiger Hp-Konzentrationen $> 0,35$ mg/ml als die Tiere mit Blutentnahme in den „kühleren Monaten“ (Juni, Oktober, November, Dezember) ($p < 0,001$) (Tab. 5).

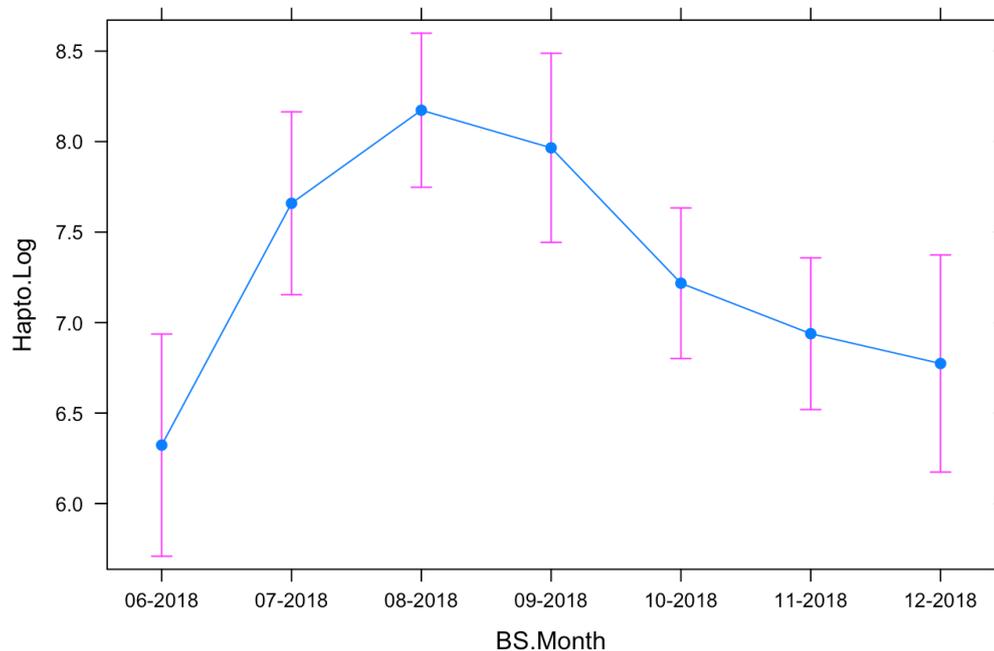


Abb. 1 Verlauf der Haptoglobinkonzentration im Blut (logarithmiert) (BS.Month = Monat der Blutprobengewinnung, z. B. 06-2018 = Juni 2018) in den Zeiträumen Juli–September ($n = 311$) bzw. Juni und Oktober–Dezember ($n = 401$) ($p < 0,001$). Quelle: © F. Hajek, D. Döpfer.

Fig. 1 Course of the haptoglobin concentrations in the blood (logarithmic) (BS.Month = month of blood sampling, e. g. 06-2018 = June 2018) during the periods July–September ($n = 311$) resp. June and October–December ($n = 401$) ($p < 0.001$). Source: © F. Hajek, D. Döpfer.

Ergebnisse der Cluster-Analyse

Die 4 Cluster ergaben sich wie folgt: **Cluster 1** ($n = 234$): Tiere mit erhöhtem Laktosegehalt der Milch; **Cluster 2** ($n = 145$): Tiere mit erhöhter SCC; **Cluster 3** ($n = 231$): Tiere mit erhöhtem Milch-Proteingehalt, Erstkalbinnen; **Cluster 4** ($n = 102$): lahme Tiere, Tiere mit erhöhten BHB- und NEFA-Konzentrationen im Blut, Tiere mit erhöhter Hp-Konzentration (Mittelwert = 4,986 mg/ml, Standardabweichung = 0,0017, Minimum = 0,028, Maximum = 256,123) sowie im Juli, August und September beprobte Tiere (Abb. 2, Abb. 3).

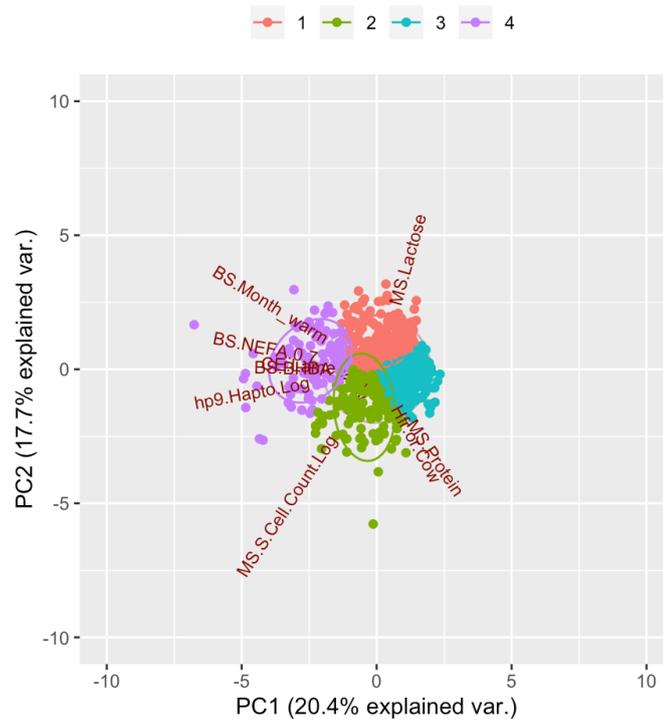


Abb. 2 k-Means-Clustering mit 4 Clustern. Cluster 1: Milch-Laktose (MS.Lactose) erhöht (n = 234); Cluster 2: somatische Zellzahl (MS.S.Cell.Count.Log) erhöht (n = 145); Cluster 3: Milch-Protein (MS.Protein) erhöht, Erstkalbinnen (Hfr.or.Cow) (n = 231); Cluster 4: warme Monate (BS.Month_warm; Juli, August, September), freie Fettsäuren (BS.NEFA 0,7) im Blut erhöht (> 0,7 mmol/l), β -Hydroxybutyrat (BS.BHBA 1,2) im Blut erhöht (> 1,2 mmol/l), lahme Tiere (CE.Lame), Haptoglobin (hp9.Hapto.Log) im Blut erhöht (n = 102). Quelle: © F. Hajek, D. Döpfer.

Fig. 2 k-means-clustering with 4 clusters. Cluster 1: milk lactose (MS.Lactose) increased (n = 234); cluster 2: somatic cell count (MS.S.Cell.Count.Log) increased (n = 145); cluster 3: milk protein (MS.protein) increased, heifers (Hfr.or.Cow) (n = 231); cluster 4: warm months (BS.Month_warm; July, August, September), free fatty acids (BS.NEFA 0.7) in blood increased (> 0.7 mmol/l), β -hydroxybutyric acid (BS.BHBA 1.2) in blood increased (> 1.2 mmol/l), lame cows (CE.Lame), haptoglobin (hp9.Hapto.Log) in blood increased (n = 102). Source: © F. Hajek, D. Döpfer.

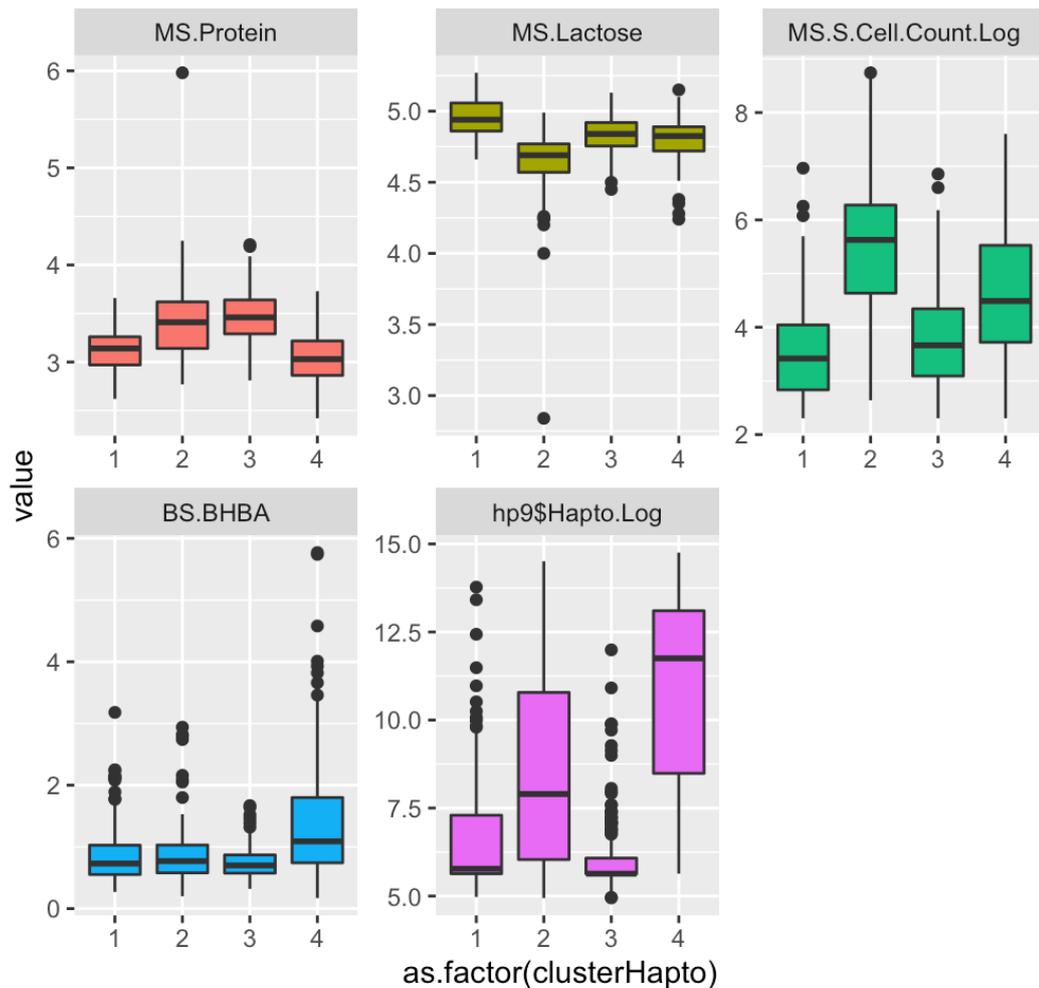


Abb. 3 Darstellung der wichtigsten Clustervariablen. x-Achse: Cluster 1–4; y-Achse: MS.Protein = Milch-Protein (%), MS.Lactose = Milch-Laktose (%), MS.S.Cell Count.Log = somatische Zellzahl in der Milch (1000 Zellen/ml Milch, logarithmiert), BS.BHBA = β -Hydroxybutyrat im Blut (mmol/l), hp9\$Hapto.Log = Haptoglobinkonzentration im Blut (mg/ml, logarithmiert). Quelle: © F. Hajek, D. Döpfer.

Fig. 3 Depiction of the most important cluster variables. x-axis: cluster 1–4; y-axis: MS.Protein = milk protein (%), MS.Lactose = milk lactose (%), MS.S.Cell Count = somatic cell count in the milk (1000 cells/ml milk, logarithmic), BS.BHBA = β -hydroxybutyric acid in the blood (mmol/l), hp9\$Hapto.Log = haptoglobin concentration in the blood (mg/ml, logarithmic). Source: © F. Hajek, D. Döpfer.

Aus den 4 errechneten Clustern ergab sich ein Hp-Grenzwert von 0,1808 mg/ml im Blut. Kühe mit einer Hp-Konzentration > 0,1808 mg/ml fielen in Cluster 2 oder 4. Kombiniert mit einem SCC-Grenzwert von 40447 Zellen/ml Milch befand sich der Großteil der kranken Tiere in Cluster 2 und 4. Kranke Tiere waren diejenigen, die bei der klinischen Untersuchung oder bei der Messung der Milchinhaltsstoffe auffällige Werte aufwiesen. Gesunde Tiere zeichneten sich vor allem durch Hp-Werte < 0,1808 mg/ml und SCC-Werte < 40447 Zellen/ml Milch aus.

Diskussion

Diskussion der Methoden

Die Studie hatte zum Ziel, die Eignung von Hp als Indikator im Tiergesundheitsmonitoring zu überprüfen und mögliche Zusammenhänge mit im Blut und in der Milch gemessenen Stoffwechselfparametern sowie ausgewählten klinischen Befunden darzustellen. Besonders als Indikator für subklinische Erkrankungen stellt die Hp-Messung im Vergleich zur Leukozytenzählung einen entscheidenden Vorteil dar, da Hp ein äußerst sensitiver Marker für Entzündungen ist [6, 7].

Die Hp-Messung wurde bei Tieren mit 10–30 Tage zurückliegender Kalbung durchgeführt, da bei Kühen bis etwa 1 Woche p. p. physiologischerweise erhöhte Hp-Konzentrationen vorliegen [15]. Mit der Messung ab dem 10. Tag p. p. sollte der Einfluss der Kalbung weitestgehend ausgeschlossen werden. Die Beschränkung auf die Frühaktation erfolgte aufgrund des in diesem Zeitraum erhöhten Risikos für das Auftreten von Stoffwechselstörungen [25, 26].

Die Blutprobennahme erfolgte bei allen Tieren aus der *V. coccygea mediana*. Damit wurde ein Einfluss verschiedener Entnahmelokalisationen auf die Ergebnisse vermieden [27]. Die Messung der Hp-Konzentration fand im Blut statt, da der Großteil der verfügbaren Grenzwerte für dieses Substrat definiert wurde [6, 11, 12].

Das Lahmheitsscoring wurde nach Sprecher et al. [23] durchgeführt. Dies stellt eine international anerkannte, einfache und praxistaugliche Methode zur Überwachung der Lahmheitsprävalenz in Milchviehherden dar [23].

Die Betriebsbesuche fanden einmal pro Woche immer am selben Wochentag und planmäßig pro Betrieb zur gleichen Uhrzeit statt, sodass Einflüsse der Tageszeit auf die erhobenen Parameter innerhalb eines Betriebs weitgehend ausgeschlossen werden konnten [28].

Da die erhaltenen Daten überwiegend normalverteilt waren und zunächst jeweils der Zusammenhang zwischen einer unabhängigen und einer abhängigen Variable überprüft werden sollte, wurde eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt. Bei der linearen Regression wurde die Variable „Haptoglobin“ mit den numerischen und den Faktorvariablen in Beziehung gestellt. Zur Feststellung von Zusammenhängen zwischen mehreren unabhängigen und einer abhängigen Variable diente eine logistische Regressionsanalyse. In dieser wurden die einzelnen numerischen und Faktorvariablen mit der Variablen „Hp-Konzentration niedrig oder erhöht“ in Bezug gesetzt. Der verwendete Grenzwert war die in der Literatur angegebene Hp-Konzentration im Blut von 0,35 mg/ml [6]. Das k-Means-Clustering wurde durchgeführt, da es ein effizientes Verfahren ist, um verschiedene Gruppen zu bestimmen und möglichst ähnliche Datenpunkte einer bestimmten Gruppe zuzuordnen.

Die Studie war in 2 Verbundprojekte eingebettet. Aufgrund des vorgegebenen Studiendesigns standen nähere Informationen zum Verlauf der Kalbung und des Puerperiums nicht zur Verfügung. Da Störungen beider Verläufe die Hp-Konzentration beeinflussen können [16, 17], sollten diese in weiteren

Untersuchungen berücksichtigt werden.

Diskussion der Ergebnisse

Bei erhöhten NEFA- und BHB-Konzentrationen in Blut und Milch war auch die Hp-Konzentration im Blut erhöht. Dies entspricht den Ergebnissen anderer Studien und spricht dafür, dass dieses Akute-Phase-Protein als Biomarker für erhöhte Stoffwechselbelastungen bei Milchkühen in der Transitphase herangezogen werden könnte und dass eine Stoffwechselstörung mit einer Entzündungsreaktion einhergeht [29, 30]. Abuajamieh et al. [30] wiesen erhöhte Hp-Konzentrationen im Blut nach, noch bevor die Kühe klinische Symptome einer Ketose zeigten. Aufgrund einer negativen Energiebilanz p. p. steigen die Lipomobilisation und gegebenenfalls die NEFA- und BHB-Konzentrationen im Blut an. Dies übt durch die Bildung von Triglyzeriden und proinflammatorischen Zytokinen einen oxidativen Stress auf die Leber aus, was zu einem Anstieg der Hp-Konzentration führt [1, 29]. Ein weiterer potenzieller Grund für erhöhte Hp-Konzentrationen bei abweichenden Stoffwechselfparametern ist die geringere Futteraufnahme bei Tieren mit Stoffwechselstörungen, aus der eine beeinträchtigte Darmtätigkeit resultieren kann. Dies kann eine erhöhte Durchlässigkeit des Darms für Toxine zur Folge haben („Leaky-gut“-Phänomen) und zu einer systemischen Entzündungsreaktion mit Anstieg der Hp-Konzentration führen [30].

Die geringe Anzahl an Ketosen in der vorliegenden Studie (19,1% der Tiere hatten BHB-Werte im Blut $\geq 1,2$ mmol/l) könnte darauf zurückzuführen sein, dass manche Betriebsleiter Propylenglykol zur Ketoseprophylaxe in der Früh lactation einsetzten [31].

Lahme Tiere hatten höhere Hp-Konzentrationen im Blut als Tiere ohne Lahmheit. Eine regelmäßige Messung der Hp-Konzentration könnte das Lahmheitsscoring unterstützen. Da eine Lahmheit meist mit einem entzündlichen Prozess einhergeht, steigt die Hp-Konzentration an [32, 33]. Wenn sich beim Herdenmonitoring keine erhöhten Hp-Konzentrationen ergeben, ließe sich das Intervall für das Lahmheitsscoring verlängern, da aktuell kein Hinweis auf entzündliche Reaktionen vorliegt [15]. Ein Anstieg der Hp-Konzentration im Blut war schon bei geringgradigen Lahmheiten messbar, sodass durch die Hp-Messung Tiere erkannt werden könnten, die im Lahmheitsscoring als „nicht lahm“ beurteilt worden wären [32, 34]. Nach der Klauenpflege und der Behandlung lahmer Tiere sinkt die Hp-Konzentration im Blut der betreffenden Kühe [33], weshalb die Hp-Messung zur Überprüfung des Therapieerfolgs herangezogen werden könnte [7].

Multipare Tiere hatten signifikant niedrigere Hp-Konzentrationen als Erstkalbinnen. Diese Beobachtung steht im Einklang mit den Ergebnissen von Humblet et al. [15], wonach bei Erstkalbinnen nach der Kalbung eine stärkere Entzündungsreaktion im Körper auftritt als bei multiparen Tieren. In beiden Gruppen fiel die Hp-Konzentration nach der Kalbung signifikant ab, was ebenfalls mit den Ergebnissen von Humblet et al. [15] übereinstimmt.

Bei Tieren mit erhöhter Bauchdeckenspannung, vermindertem Pansenscore, verminderter Pansenfrequenz und dickbreiigem Kot wurden erhöhte Hp-Konzentrationen im Blut festgestellt. Nazifi et al. [35] beschrieben

Zusammenhänge zwischen Verdauungsstörungen wie Labmagenverlagerung, Infektionen des Verdauungstrakts oder traumatischer Retikuloeritonitis und signifikant erhöhten Hp-Konzentrationen im Blut.

Erhöhte Zellzahlen in der Milch gingen mit signifikant erhöhten Hp-Konzentrationen im Blut einher, was mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen im Einklang steht [36-38]. In diesen Studien stiegen die Hp-Konzentrationen in Blut und Milch nach der experimentellen Infektion mit *Escherichia coli* signifikant an. Eine erhöhte Zellzahl in der Milch ist Folge eines entzündlichen Prozesses im Euter, durch den die Hp-Konzentrationen in Blut und Milch ansteigen [4, 38]. Mit der Hp-Messung können bereits subklinische Entzündungen erkannt und eine frühzeitige Therapie eingeleitet werden [13, 14, 38]. In steril gewonnenen Milchproben ließ sich Hp nicht nachweisen, wohl aber in Proben, die Bakterien enthielten [14].

Bei niedrigen Protein- und Laktosegehalten der Milch waren erhöhte Hp-Konzentrationen im Blut nachweisbar. Dies wurde auch in anderen Studien festgestellt [39, 40]. Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass im Euter bei einer Entzündungsreaktion weniger Laktose gebildet wird. Die Entzündungsreaktion ihrerseits könnte zu einer verminderten Futteraufnahme und in deren Folge zu einem niedrigeren Proteingehalt der Milch führen. Da sich der Milchpreis meist auch nach den Milchinhaltsstoffen richtet, sollte nicht nur aufgrund des Tierschutzes, sondern auch aufgrund wirtschaftlicher Aspekte auf eine frühzeitige Erkennung von Entzündungsreaktionen geachtet werden [39, 40].

Die Hp-Konzentrationen im Blut waren bei der Probennahme im Juli, August und September signifikant höher als bei der Beprobung in den Monaten Juni, Oktober, November und Dezember. Dies könnte auf Hitzestress der Kühe bei warmen Temperaturen zurückzuführen sein. Hitzestress kann eine verminderte Futteraufnahme, reduzierte Milchleistung, erhöhte Körperinnentemperatur und erhöhte Atemfrequenz zur Folge haben [41, 42], darüber hinaus eine Erhöhung der somatischen Zellzahl in der Milch [43, 44].

Da in anderen Studien Einflüsse der Rasse auf bestimmte Parameter wie Milchleistung und Konzentration verschiedener Substanzen im Blut (z. B. Kalzium, Prostaglandin, Östrogen, Progesteron) nachweisbar waren [45, 46], wurde in der vorliegenden Studie ein Einfluss der Rasse auf das Ausmaß der Veränderungen der Hp-Konzentration im Blut untersucht. Bei den einbezogenen Rassen Fleckvieh und Braunvieh ergaben sich diesbezüglich keine signifikanten Unterschiede.

Anhand der Einteilung der Tiere in 4 Cluster konnte ein Hp-Grenzwert von 0,18 mg/ml im Blut definiert werden. Die zusätzliche Nutzung des Grenzwerts von 40500 Zellen/ml Milch führte zu einer weiteren Verbesserung der Erkennung subklinisch erkrankter Tiere. Die Zellzahl ist ein einfach zu erhaltender Parameter, da sie bei der routinemäßigen Milchleistungsprüfung ermittelt wird. Der in dieser Studie definierte Hp-Grenzwert im Blut liegt zwischen den bereits definierten Grenzwerten von 0,1 mg/ml [11, 12] und 0,35 mg/ml [6]. Die Differenz zum Grenzwert von Horadagoda et al. [6] (0,35 mg/ml) könnte sich vor allem damit erklären lassen, dass diese Untersucher nicht nur Tiere im peripartalen Zeitraum, sondern gezielt klinisch kranke Tiere, ungeachtet der Laktationstage, in ihre Studie einbezogen haben. Huzzey et al. [12] verwendeten zur Definition des Hp-

Grenzwerts Blutproben von Kühen im Zeitraum 20 ± 5 Tagen ante partum bis 21 Tage p. p.

Mit der Messung der Hp-Konzentration in Blut und Milch steht auf Herdenebene ein weiterer Parameter im Tiergesundheitsmonitoring zur Verfügung. Lediglich die Hp-Messung in der 1. Woche p. p. ist aus den genannten Gründen mit Vorsicht zu beurteilen. Ab der 2. Woche p. p. eignet sich die Hp-Messung als Indikator zur Erfassung des Gesundheitsstatus der Herde. Bei Abweichungen können weitere Untersuchungen und Korrekturen im Herdenmanagement eingeleitet werden. Einzeltiere mit erhöhten Hp-Werten können erkannt und einer tierärztlichen Untersuchung unterzogen werden [15]. Die Bestimmung der tolerierbaren Anzahl an Tieren mit erhöhter Hp-Konzentration pro Herde sollte Teil von Folgestudien sein. Die Messung der Hp-Konzentration in der Milch im Rahmen der Routine-Milchleistungsprüfung könnte ein erfolgversprechender Ansatz für zukünftige Untersuchungen sein [4, 13].

Fazit für die Praxis

Die Messung der Hp-Konzentration im Blut von Milchkühen stellt einen interessanten Indikator für das Gesundheitsmonitoring dar. Als Ergänzung der regelmäßig verfügbaren Informationen aus der Analyse der Milchmenge und der Milchinhaltstoffe ermöglicht die Hp-Bestimmung eine frühzeitige Erkennung subklinischer Gesundheitsstörungen. Bei Auffälligkeiten können Einzeltiere umgehend klinisch untersucht und Therapiemaßnahmen eingeleitet werden bzw. auf Herdenebene Anpassungen im Management erfolgen. Aufgrund bestehender enger Korrelationen zwischen den Hp-Konzentrationen in Blut und Milch könnte die Hp-Bestimmung während der Laktation auch in der Milch vorgenommen und in das Routineverfahren der Milchleistungsprüfung integriert werden.

Interessenkonflikt

Die Autoren bestätigen, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Tierschutz/Ethik

Die Autoren bestätigen, dass in der Studie die einschlägigen gesetzlichen Bestimmungen des Tierschutzgesetzes eingehalten wurden (Tierversuchsnummern: ROB-55.2Vet-2532.Vet_03-17-84 [Fleckvieh], 55.2-2-1-54-2532-2-2015 [Braunvieh]).

Danksagung

Wir bedanken uns herzlich bei den Landwirten, die ihre Tiere für diese Studie zur Verfügung gestellt haben. Ohne sie und ihre Unterstützung wäre dieses Projekt nicht möglich gewesen.

Widmung

Wir widmen diesen Artikel Herrn Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Heuwieser zum 65. Geburtstag.

Literatur

- [1] Huzzey JM, Nydam DV, Grant RJ et al. Associations of prepartum plasma cortisol, haptoglobin, fecal cortisol metabolites, and nonesterified fatty acids with postpartum health status in Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 2011; 94: 5878-5889
- [2] Baird GD. Primary ketosis in the high-producing dairy cow: Clinical and subclinical disorders, treatment, prevention, and outlook. *J Dairy Sci* 1982; 65: 1-10
- [3] Katoh N. Relevance of apolipoproteins in the development of fatty liver and fatty liver-related peripartum diseases in dairy cows. *J Vet Med Sci* 2002; 64: 293-307
- [4] Hiss S, Weinkauff C, Hachenberg S et al. Short communication: Relationship between metabolic status and the milk concentrations of haptoglobin and lactoferrin in dairy cows during early lactation. *J Dairy Sci* 2009; 92: 4439-4443
- [5] Reader JD, Green MJ, Kaler J et al. Effect of mobility score on milk yield and activity in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2011; 94: 5045-5052
- [6] Horadagoda NU, Knox KMG, Gibbs HA. Acute phase proteins in cattle: Discrimination between acute and chronic inflammation. *Vet Rec* 1999; 144: 437-441
- [7] Eckersall PD, Conner JG. Bovine and canine acute phase proteins. *Vet Res Commun* 1988; 12: 169-178
- [8] Young CR, Eckersall PD, Saini PK et al. Validation of immunoassays for bovine haptoglobin. *Vet Immunol Immunopathol* 1995; 49: 1-13
- [9] Cecilian F, Ceron JJ, Eckersall PD et al. Acute phase proteins in ruminants. *J Proteomics* 2012; 75: 4207-4231
- [10] Saremi B, Al-Dawood A, Winand S et al. Bovine haptoglobin as an adipokine: serum concentrations and tissue expression in dairy cows receiving a conjugated linoleic acids supplement throughout lactation. *Vet Immunol Immunopathol* 2012; 146: 201-211
- [11] Richter H. Haptoglobin bei Haussäugetieren. III. Der Haptoglobingehalt im Blutplasma und-serum von Wiederkäuern und Schweinen unter verschiedenen physiologischen Bedingungen. *Arch Exp Veterinarmed* 1974; 28: 505-519
- [12] Huzzey JM, Duffield TF, LeBlanc SJ et al. Short communication: Haptoglobin as an early indicator of metritis. *J Dairy Sci* 2009; 92: 621-625
- [13] Höhmann A, Frank F. Erkennen von subklinisch und klinisch erkrankten Milchkühen mit Hilfe des Gesundheitsmonitorings aus der Rohmilch. *Tagungsband AVA Haupttagung 2017*; 17: 76-79
- [14] Hiss S, Mueller U, Neu-Zahren A et al. Haptoglobin and lactate dehydrogenase measurements in milk for the identification of subclinically diseased udder quarters. *Veterinari Medicina* 2007; 52: 245-252
- [15] Humblet M-F, Guyot H, Boudry B et al. Relationship between haptoglobin, serum amyloid A, and clinical status in a survey of dairy herds during a 6-month period. *Vet Clin Pathol* 2006; 35: 188-193
- [16] Schönfelder A, Schrödl W, Krüger M et al. Dynamik des Akute-Phase-Proteins Haptoglobin bei Rindern mit Spontangeburt und solchen mit Schnittentbindungen mit oder ohne Torsio uteri intra partum. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2005; 118: 240-246
- [17] Drillich M, Voigt D, Forderung D et al. Treatment of acute puerperal metritis with flunixin meglumine in addition to antibiotic treatment. *J Dairy Sci* 2007; 90: 3758-3763
- [18] Baumgartner W. Allgemeiner klinischer Untersuchungsgang. In: Baumgartner W, Hrsg. *Klinische Propädeutik der Haus- und Heimtiere*. Stuttgart: Parey; 2009: 1-214

- [19] Zaaier D, Noordhuizen J. A novel scoring system for monitoring the relationship between nutritional efficiency and fertility in dairy cows. *Ir Vet J* 2003; 56: 145-152
- [20] Dirksen G. Verdauungsapparat. In: Rosenberger G, Hrsg. Die klinische Untersuchung des Rindes. Berlin, Hamburg: Parey; 1990: 288-400
- [21] Klee W, Metzner M. Rinderskript. In. München: Klinik für Wiederkäuer, Ludwig-Maximilians-Universität; 2016
- [22] Staufenbiel R. Energie- und Fettstoffwechsel des Rindes Untersuchungskonzept und Messung der Rückenfettdicke. *Monatsh Veterinarmed* 1992; 47: 467-474
- [23] Sprecher DJ, Hostetler DE, Kaneene JB. A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. *Theriogenology* 1997; 14: 1179-1187
- [24] Bio-X Diagnostics SA. Protokoll Monoscreen ELISA bovines Haptoglobin/Sandwich. In: S.A. B-XD ed. 38, Rue de la Calestienne (PAE) - 5580 Rochefort - Belgique: Bio-X Diagnostics, S.A.; 2018: 1-5
- [25] Suthar VS, Canelas-Raposo J, Deniz A et al. Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *J Dairy Sci* 2013; 96: 2925-2938
- [26] Tremblay M, Kammer M, Lange H et al. Identifying poor metabolic adaptation during early lactation in dairy cows using cluster analysis. *J Dairy Sci* 2018; 101: 7311-7321
- [27] Wilhelm K, Wilhelm J, Füll M. Vergleichende Betrachtung ausgewählter Blutparameter von Hochleistungskühen bei unterschiedlichen Entnahmestellen. *Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Großtiere/Nutztiere* 2013; 41: 7-14
- [28] Berge AC, Vertenten G. A field study to determine the prevalence, dairy herd management systems, and fresh cow clinical conditions associated with ketosis in western European dairy herds. *J Dairy Sci* 2014; 97: 2145-2154
- [29] El-Deeb WM, El-Bahr SM. Biomarkers of ketosis in dairy cows at postparturient period: Acute phase proteins and pro-inflammatory cytokines. *Veterinarski arhiv* 2017; 87: 431-440
- [30] Abuajamieh M, Kvidera SK, Fernandez MV et al. Inflammatory biomarkers are associated with ketosis in periparturient Holstein cows. *Res Vet Sci* 2016; 109: 81-85
- [31] McArt JAA, Nydam DV, Ospina PA et al. A field trial on the effect of propylene glycol on milk yield and resolution of ketosis in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. *J Dairy Sci* 2011; 94: 6011-6020
- [32] Bagga A, Randhawa SS, Sharma S et al. Acute phase response in lame crossbred dairy cattle. *Vet World* 2016; 9: 1204-1208
- [33] Smith BI, Kauffold J, Sherman L. Serum haptoglobin concentrations in dairy cattle with lameness due to claw disorders. *The Veterinary Journal* 2010; 186: 162-165
- [34] Whay H. Locomotion scoring and lameness detection in dairy cattle. *Farm Anim Pract* 2002; 24: 444-449
- [35] Nazifi S, Rezakhani A, Koohimoghadam M et al. Evaluation of serum haptoglobin in clinically healthy cattle and cattle with inflammatory diseases in Shiraz, a tropical area in southern Iran. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 2008; 11: 95-101
- [36] Hirvonen J, Eklund K, Teppo AM et al. Acute phase response in dairy cows with experimentally induced *Escherichia coli* mastitis. *Acta Vet Scand* 1999; 40: 35-46
- [37] Salonen M, Hirvonen J, Pyörälä S et al. Quantitative determination of bovine serum haptoglobin in experimentally induced *Escherichia coli* mastitis. *Res Vet Sci* 1996; 60: 88-91

-
- [38] Suojala L, Orro T, Jarvinen H et al. Acute phase response in two consecutive experimentally induced *E. coli* intramammary infections in dairy cows. *Acta Vet Scand* 2008; 50: 18-27
- [39] Åkerstedt M, Waller K, Sternesjö Å. Haptoglobin and serum amyloid A in bulk tank milk in relation to raw milk quality. *J Dairy Res* 2009; 76: 483-489
- [40] Åkerstedt M, Waller K, Larsen L et al. Relationship between haptoglobin and serum amyloid A in milk and milk quality. *Int Dairy J* 2008; 18: 669-674
- [41] Wheelock JB, Rhoads RP, VanBaale MJ et al. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci* 2010; 93: 644-655
- [42] West JW. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2003; 86: 2131-2144
- [43] Smith DL, Smith T, Rude BJ et al. Short communication: Comparison of the effects of heat stress on milk and component yields and somatic cell score in Holstein and Jersey cows. *J Dairy Sci* 2013; 96: 3028-3033
- [44] Hammami H, Bormann J, M'hamdi N et al. Evaluation of heat stress effects on production traits and somatic cell score of Holsteins in a temperate environment. *J Dairy Sci* 2013; 96: 1844-1855
- [45] Guilbault LA, Roy GL, Beckers JF et al. Influence of breed of fetus on periparturient endocrine responses and subsequent milk production of Ayrshire Dams. *J Dairy Sci* 1990; 73: 2766-2773
- [46] Berry CN. Untersuchung von Blutparametern bei Jungrindern der Rassen Deutsche Holsteins und Deutsches Braunvieh: Hannover; 2005

V. WEITERE UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE

1. NEFA

Kühe mit erhöhten BHB-Konzentrationen im Blut und in der Milch hatten signifikant häufiger NEFA-Konzentrationen im Blut über 0,7 mmol/l ($p < 0,001$). Kühe, bei denen die NEFA-Konzentrationen in der Milch erhöht waren, hatten signifikant häufiger NEFA-Konzentrationen $> 0,7$ mmol/l im Blut ($p = 0,002$). Tiere, die sich an einem frühen Laktationstag (= weniger Tage in Milch, „days in milk“, DIM) befanden ($p < 0,001$), einen höheren Milch-Fett-Gehalt ($p < 0,001$), höheren Milch-Azeton-Gehalt ($p < 0,001$), niedrigeren Milch-Protein-Gehalt ($p < 0,001$) und niedrigeren Milch-pH-Wert ($p = 0,012$) aufwiesen, hatten signifikant häufiger NEFA-Konzentrationen im Blut $> 0,7$ mmol/l. NEFA-Konzentrationen über 0,7 mmol/l konnten signifikant häufiger bei Tieren mit erhöhten Rückenfettdicken gefunden werden ($p < 0,001$). Kühe mit erhöhten Haptoglobinkonzentrationen im Blut hatten signifikant häufiger NEFA-Konzentrationen im Blut $> 0,7$ mmol/l (Tabelle 2).

Kühe der Rasse Fleckvieh hatten signifikant häufiger NEFA-Konzentrationen im Blut über 0,7 mmol/l als Braunvieh-Kühe ($p < 0,001$). Tiere, die in den warmen Sommermonaten beprobt wurden (Juli, August, September) hatten signifikant häufiger NEFA-Konzentrationen über 0,7 mmol/l als Tiere, die in den kühleren Monaten (Juni, Oktober, November, Dezember) beprobt wurden ($p = 0,015$). Bei Tieren mit einer normalen Pansenschichtung lagen die NEFA-Konzentrationen im Blut signifikant häufiger über 0,7 mmol/l als bei Tieren mit abnormaler Pansenschichtung ($p = 0,002$). Tiere mit abnormaler Pansenfüllung hatten signifikant häufiger NEFA-Konzentrationen $> 0,7$ mmol/l als Tiere mit normaler Pansenfüllung ($p = 0,019$). Kühe, die eine Pansenfrequenz unter zwei Zyklen in zwei Minuten hatten ($p < 0,001$) und Kühe, die dickbreiigen Kot hatten ($p < 0,001$), hatten signifikant häufiger NEFA-Konzentrationen im Blut über 0,7 mmol/l. Lahme Tiere hatten signifikant häufiger NEFA-Konzentrationen im Blut $> 0,7$ mmol/l ($p < 0,001$) (Tabelle 2).

Die vollständigen Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse der NEFA-Daten sind in den Tabellen 2 und 3 dargestellt.

Tabelle 2: Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse der numerischen Variablen bei einem NEFA-Grenzwert im Blutserum von 0,7 mmol/l

(NEFA = freie Fettsäuren, BHB = β -Hydroxybutyrat, \uparrow = erhöht, \downarrow = erniedrigt, \rightarrow = geht einher mit)

Numerische Variable	Zusammenhang	Odds Ratio	95%- Konfidenzintervall	Signifikanzniveau	Regressionskoeffizient
Blut BHB	BHB $\uparrow \rightarrow$ NEFA $>0,7$	3,766	2,577-5,582	p<0,001	1,326
Tage in Milch (DIM)	DIM $\downarrow \rightarrow$ NEFA $>0,7$	0,942	0,914-0,971	p<0,001	-0,060
Anzahl Kalbungen	-			p=0,568	-0,027
Tagesmilchleistung	-			p=0,119	0,024
Milch NEFA	Milch NEFA $\uparrow \rightarrow$ NEFA $>0,7$	1,123	1,044-1,210	p=0,002	0,116
Milch BHB	BHB $\uparrow \rightarrow$ NEFA $>0,7$	3,974	2,857-5,661	p<0,001	1,380
Somatische Zellzahl	-			p=0,508	0,047
Milch Fett	Fett $\uparrow \rightarrow$ NEFA $>0,7$	1,750	1,478-2,089	p<0,001	0,560
Milch Protein	Protein $\downarrow \rightarrow$ NEFA $>0,7$	0,179	0,090-0,347	p<0,001	-1,721
Milch Laktose	-			p=0,163	-0,647
Milch Azeton	Azeton $\uparrow \rightarrow$ NEFA $>0,7$	3,068	2,336-4,122	p<0,001	1,121
Milch Harnstoff	-			p=0,593	0,006
Milch pH	pH $\downarrow \rightarrow$ NEFA $>0,7$	0,074	0,010-0,578	p=0,012	-2,606
Rückenfettdicke (RFD)	RFD $\uparrow \rightarrow$ NEFA $>0,7$	1,104	1,074-1,135	p<0,001	0,096
Innere Körpertemperatur	-			p=0,364	0,028
Blut Haptoglobin (Hp)	Hp $\uparrow \rightarrow$ NEFA $>0,7$	1,249	1,169-1,335	p<0,001	0,223

Tabelle 3: Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse der Faktorvariablen bei einem NEFA-Grenzwert im Blutserum von 0,7 mmol/l

(NEFA = freie Fettsäuren, BHB = β -Hydroxybutyrat, \uparrow = erhöht, \downarrow = erniedrigt, \rightarrow = geht einher mit)

Faktorvariable	Zusammenhang	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall	Signifikanzniveau	Regressionskoeffizient
Rasse	Braunvieh \rightarrow NEFA <0,7	0,207	1,122-0,335	p<0,001	-1,574
Erstkalbin/Kuh	-			p=0,192	0,263
Monat	Juli, August, September \rightarrow NEFA >0,7	1,585	1,094-2,301	p=0,015	0,461
Hautturgor	-			p=0,675	0,199
Bauchdeckenspannung	-			p=0,153	-0,637
Pansenschichtung	abnormal \rightarrow NEFA <0,7	0,235	0,095-0,584	p=0,002	-1,448
Schwingauskultation	-			p=0,929	-0,045
Perkussionsauskultation	-			p=0,976	-13,178
Pansenscore	Score 3/4 \rightarrow NEFA <0,7	0,446	0,231-0,897	p=0,019	-0,808
Pansenfrequenz	<2 Zyklen/2 Minuten \rightarrow NEFA >0,7	3,385	1,689-6,812	p<0,001	1,219
Kotkonsistenz	dick \rightarrow NEFA >0,7	2,715	1,486-4,877	p<0,001	0,999
Verdauungsgrad	-			p=0,976	-13,187
Lahmheit (Locomotion Score \geq 2)	Lahmheit \rightarrow NEFA >0,7	2,350	1,412-3,843	p<0,001	0,854

2. BHB

Kühe mit erhöhten NEFA-Konzentrationen in Blut und Milch, hatten signifikant häufiger BHB-Konzentrationen im Blut $> 1,2$ mmol/l ($p < 0,001$ bzw. $p = 0,001$). Bei Tieren, die weniger Laktationstage aufwiesen ($p = 0,029$), höhere Milch-Fett-Gehalte ($p < 0,001$), höhere Milch-Azeton-Gehalte ($p < 0,001$), höhere Milch-Harnstoff-Gehalte ($p = 0,001$), niedrigere Milch-Protein-Gehalte ($p < 0,001$), niedrigere Milch-Laktose-Werte ($p = 0,002$) und niedrigere Milch-pH-Werte ($p = 0,029$) hatten, lagen die BHB-Konzentrationen im Blut signifikant häufiger über $1,2$ mmol/l. Tiere mit höheren Rückenfettdicken hatten signifikant häufiger BHB-Konzentrationen im Blut $> 1,2$ mmol/l ($p = 0,002$) (Tabelle 4).

Fleckvieh-Kühe hatten signifikant häufiger BHB-Werte über $1,2$ mmol/l im Vergleich zu den untersuchten Braunvieh-Kühen ($p = 0,001$). Tiere mit einem Locomotion Score von 4 ($p = 0,002$) und Tiere, die weniger als zwei Pansenzyklen in zwei Minuten hatten ($p = 0,005$), hatten signifikant häufiger BHB-Konzentrationen $> 1,2$ mmol/l im Blut (Tabelle 5).

In Tabelle 4 und 5 sind die Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse der BHB-Daten dargestellt.

Tabelle 4: Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse der numerischen Variablen bei einem BHB-Grenzwert im Blutserum von 1,2 mmol/l

(NEFA = freie Fettsäuren, BHB = β -Hydroxybutyrat, \uparrow = erhöht, \downarrow = erniedrigt, \rightarrow = geht einher mit)

Numerische Variable	Zusammenhang	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall	Signifikanzniveau	Regressionskoeffizient
Blut NEFA	NEFA \uparrow \rightarrow BHB >1,2	2,759	2,102-3,675	p<0,001	1,015
Tage in Milch (DIM)	DIM \downarrow \rightarrow BHB >1,2	0,967	0,938-0,997	p=0,029	-0,033
Anzahl Kalbungen	-			p=0,846	0,009
Tagesmilchleistung	-			p=0,779	0,005
Milch NEFA	NEFA \uparrow \rightarrow BHB >1,2	1,135	1,052-1,227	p=0,001	0,127
Somatische Zellzahl (SCC)	-			p=0,41	0,059
Milch Fett	Fett \uparrow \rightarrow BHB >1,2	1,534	1,302-1,817	p<0,001	0,428
Milch Protein	Protein \downarrow \rightarrow BHB >1,2	0,141	0,069-0,280	p<0,001	-1,956
Milch Laktose	Laktose \downarrow \rightarrow BHB >1,2	0,229	0,086-0,582	p=0,002	-1,473
Milch Azeton	Azeton \uparrow \rightarrow BHB >1,2	3,010	2,289-4,048	p<0,001	1,102
Milch Harnstoff	Harnstoff \uparrow \rightarrow BHB >1,2	1,039	1,016-1,063	p=0,001	0,038
Milch pH	pH \downarrow \rightarrow BHB >1,2	0,102	0,013-0,824	p=0,029	-2,285
Rückenfettdicke (RFD)	RFD \uparrow \rightarrow BHB >1,2	1,041	1,014-1,069	p=0,002	0,040
Innere Körpertemperatur	-			p=0,707	0,018

Tabelle 5: Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse der Faktorvariablen bei einem BHB-Grenzwert im Blutserum von 1,2 mmol/l

(NEFA = freie Fettsäuren, BHB = β -Hydroxybutyrat, \uparrow = erhöht, \downarrow = erniedrigt, \rightarrow = geht einher mit)

Faktorvariable	Zusammenhang	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall	Signifikanzniveau	Regressionskoeffizient
Rasse	Braunvieh \rightarrow BHB < 1,2	0,508	0,332-0,763	p=0,001	-0,678
Erstkalbin/Kuh	-			p=0,759	-0,064
Monat	-			p=0,145	0,279
Hautturgor	-			p=0,338	-0,596
Bauchdeckenspannung	-			p=0,210	-0,559
Pansenschichtung	-			p=0,886	0,081
Schwingauskultation	-			p=0,335	-0,600
Perkussionsauskultation	-			p=0,754	0,363
Pansenscore	-			p=0,454	0,361
Pansenfrequenz	<2 Zyklen/2 Minuten \rightarrow BHB > 1,2	2,831	1,365-5,850	p=0,005	1,041
Kotkonsistenz	-			p=0,474	0,183
Verdauungsgrad	-			p=0,976	-13,063
Locomotion Score (LS)	LS=4 \rightarrow BHB > 1,2	3,902	1,586-9,424	p=0,002	1,361

3. Aktivität

Tiere mit NEFA-Konzentrationen im Blut $> 0,7$ mmol/l waren weniger aktiv im Vergleich zu Tieren mit niedrigeren NEFA-Konzentrationen ($p = 0,014$). Kühe mit höherer Milchleistung pro Tag ($p = 0,029$) und mit höherer Milchleistung pro Melkung ($p = 0,026$) zeigten erhöhte Aktivität verglichen mit Tieren mit niedrigeren Milchleistungen. Außerdem waren Kühe mit erhöhten Laktose-Konzentrationen in der Milch aktiver im Vergleich zu Tieren mit niedrigeren Milch-Laktose-Werten ($p = 0,030$).

Bei der multiplen Regressionsanalyse ergaben sich signifikante Zusammenhänge zwischen der täglichen Aktivität und der NEFA-Konzentration im Blut sowie tendenzielle Zusammenhänge zwischen der täglichen Aktivität und dem Laktose-Gehalt der Milch (Tab. 6). Bei steigenden NEFA-Konzentrationen sank die tägliche Aktivität um 0,173 Aktivitätseinheiten ($p = 0,017$). Bei steigenden Laktose-Konzentrationen in der Milch stieg die tägliche Aktivität um 0,233 Aktivitätseinheiten ($p = 0,052$).

Tabelle 6: Zusammenhänge zwischen der täglichen Aktivität und der NEFA-Konzentration im Blut sowie dem Laktose-Gehalt der Milch, Ergebnisse der multiplen Regressionsanalyse

(NEFA = freie Fettsäuren, \uparrow = erhöht, \downarrow = erniedrigt, \rightarrow = geht einher mit)

Variable	Zusammenhang	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall	Signifikanzniveau	Regressionskoeffizient
Blut NEFA	NEFA $\uparrow \rightarrow$ tägl. Aktivität \downarrow	0,845	0,737-0,968	$p=0,017$	-0,169
Milch Laktose	Laktose $\uparrow \rightarrow$ tägl. Aktivität \uparrow	1,236	1,001-1,526	$p=0,052$	0,212

4. Wiederkautätigkeit

Bei Haptoglobinkonzentrationen im Blut $< 0,35$ mg/ml zeigten die Tiere vermehrte Wiederkautätigkeit im Vergleich zu Tieren, bei denen die Hp-Konzentrationen $\geq 0,35$ mg/ml lagen ($p = 0,023$). Eine verminderte Wiederkautätigkeit zeigten Tiere mit dickbreiigem Kot ($p = 0,029$) im Vergleich zu Tieren mit mittelbreiigem Kot. Bei Tieren, die eine normale Pansenschichtung hatten, war die tägliche Wiederkautätigkeit höher als bei Tieren mit abnormaler Pansenschichtung ($p = 0,048$). Eine erhöhte Wiederkautätigkeit ging mit erhöhten Harnstoff-Werten in der Milch einher ($p = 0,004$).

Im finalen multiplen Regressionsmodell konnten signifikante Zusammenhänge der täglichen Wiederkautätigkeit mit den Hp-Konzentrationen im Blut und den Harnstoff-Gehalten in der Milch dargestellt werden (Tab. 7). Erhöhte Hp-Konzentrationen im Blut gingen mit einer um 32,958 Minuten pro Tag reduzierten täglichen Wiederkautätigkeit einher ($p = 0,025$). Stiegen die Harnstoff-Werte in der Milch an, so stieg auch die tägliche Wiederkautätigkeit um 1,996 Minuten pro Tag an ($p = 0,007$).

Tabelle 7: Zusammenhänge zwischen der täglichen Wiederkauaktivität und der Haptoglobin-Konzentration im Blut sowie dem Harnstoff-Gehalt der Milch, Ergebnisse der multiplen Regressionsanalyse

(\uparrow = erhöht, \downarrow = erniedrigt, \rightarrow = geht einher mit)

Variable	Zusammenhang	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall	Signifikanzniveau	Regressionskoeffizient
Blut Haptoglobin (Hp)	Hp $\uparrow \rightarrow$ Wiederkauaktivität \downarrow	1,867 x 10^{-13}	2,216 x 10^{-24} -0,016	p=0,025	-29,309
Milch Harnstoff	Harnstoff $\uparrow \rightarrow$ Wiederkauaktivität \uparrow	5,834	1,654-20,578	p=0,007	1,764

VI. DISKUSSION

1. Diskussion der Methoden

Die Untersuchungen und Probennahmen fanden bei Tieren zwischen dem 5. und 50. Laktationstag statt. Dieser Zeitraum wurde gewählt, um die Tiere im kritischen postpartalen Zeitraum optimal überwachen zu können. Mit zunehmendem Abstand von der Kalbung treten weniger Fälle von Stoffwechselstörungen auf (DOHOO & MARTIN, 1984; MCART et al., 2012a; SUTHAR et al., 2013). Die Auswertung der Hp-Daten fand bei Tieren im Zeitraum 10 bis 30 Tage p.p. statt, da vermieden werden sollte, dass erhöhte Hp-Konzentrationen im Blut, die bis etwa eine Woche p.p. bei allen Tieren auftreten, Einfluss auf die Ergebnisse haben (HUMBLET et al., 2006). Eine Auswertung der Hp-Konzentrationen über den 30. Tag p.p. hinaus konnte aufgrund begrenzter finanzieller Mittel nicht durchgeführt werden.

Im Rahmen des Versuches fand pro Betrieb einmal wöchentlich ein Bestandsbesuch statt. Die Reihenfolge der Betriebe pro Tag wurde jede Woche beibehalten. So wurden die Untersuchungen und Probennahmen im jeweiligen Bestand möglichst zur selben Uhrzeit durchgeführt. Dies sollte tageszeitliche Einflüsse innerhalb eines Betriebes vermeiden (EDWARDS & TOZER, 2004; BERGE & VERTENTEN, 2014; ITLE et al., 2015). Die Blutprobennahme erfolgte bei allen Tieren an der Vena coccygea mediana, um einen Einfluss der Entnahmestelle auf die Blutwerte zu vermeiden (WILHELM et al., 2013; MAHRT et al., 2014).

Die Milchprobennahme fand in den Betrieben mit einem AMS mittels Shuttle entweder über 24 Stunden oder alternierend 12 Stunden tagsüber oder nachts statt. Bei den Betrieben mit Melkstand wurde die Probennahme wöchentlich wechselnd bei der Melkung morgens oder abends durchgeführt. Mit diesem Vorgehen sollte ein Einfluss der Melkzeit auf die Milchmenge und die Inhaltsstoffe vermieden werden (FRIGGENS & RASMUSSEN, 2001; LOVENDAHL & CHAGUNDA, 2011; EASTRIDGE, 2012).

Durch die Inkludierung einiger AMS-Betriebe in die Studie konnten die Aktivitäts- und Wiederkaudaten gesichert und ausgewertet werden. Die automatisierte Erhebung dieser Daten mittels Transponder stellt den Landwirten und den

betreuenden Tierärzten ein wichtiges Hilfsmittel und einen größeren Datensatz zur Bestandsbetreuung zur Verfügung (VAN DE GUCHT et al., 2018; ALSAOD et al., 2019).

Die geringe Prävalenz an Tieren mit erhöhten BHB- (19,1%) oder NEFA-Werten (19,7%) lässt sich durch mehrere Faktoren erklären. Die Teilnahme an der Studie war freiwillig, weshalb davon auszugehen ist, dass Betriebe mit fortschrittlich orientierten Betriebsleitern teilgenommen haben. In manchen Betrieben wurden die Tiere prophylaktisch mit Propylenglykol oder anderen glukoplastischen Substanzen versorgt. Ein weiterer Aspekt könnte sein, dass die Betriebsleiter die Ergebnisse der Untersuchungen ihrer Tiere über den gesamten Versuchszeitraum zur Verfügung gestellt bekommen haben. Die Übermittlung der Daten seitens der Tierärzte fand meist am nächsten Werktag nach der Untersuchung und Probennahme statt. So konnte der Betriebsleiter Tiere mit erhöhten BHB- oder NEFA-Werten zeitnah mit glukoplastischen Substanzen versorgen oder den betreuenden Tierarzt hinzuziehen (LOMANDER et al., 2012; MCART et al., 2012b).

Ein Kritikpunkt bei der vorliegenden Untersuchung ist, dass die Tiere aufgrund des vorgegebenen Studiendesigns nicht bereits ante partum (a.p.) beprobt und untersucht werden konnten. Aus diversen Studien ist jedoch bekannt, dass die Konstitution der Tiere a.p. einen Einfluss auf den postpartalen Zeitraum hat (CHAMBERLIN et al., 2013; VICKERS et al., 2013; KRAUSE et al., 2014; BJERRE-HARPOTH et al., 2015). Beispielsweise hatten Kühe, die eine Ovulation in den ersten 40 Tagen post partum hatten, sowohl ante als auch post partum niedrigere Hp-Konzentrationen im Blut (KRAUSE et al., 2014) und Tiere mit einer höheren Rückenfettdicke a.p. hatten ein höheres Risiko für Stoffwechselstörungen post partum (AKTAS et al., 2011; YAMAKAWA et al., 2012). Des Weiteren waren der Kalbeverlauf sowie der Verlauf des Puerperiums nicht Teil der vorliegenden Studie. Dies sollte in weiteren Studien berücksichtigt werden, da Kalbung und Puerperium einen Einfluss auf die postpartale Gesundheit und Milchleistung der Kuh haben (SCHÖNFELDER et al., 2005; DRILLICH et al., 2007; ALBANAT et al., 2013).

Für die statistische Auswertung wurde eine bivariate Analyse durchgeführt. Mit Hilfe der linearen und logistischen Regressionsanalyse konnten die Zusammenhänge zwischen numerischen und Faktorvariablen und den zu

untersuchenden Variablen „Hp-Konzentration im Blut“, „BHB“, „NEFA“, „Aktivität“ und „Wiederkautätigkeit“ dargestellt werden.

2. Diskussion der Ergebnisse

Erhöhte NEFA-Konzentrationen im Blut standen im Zusammenhang mit einer abnormalen Pansenfüllung, einer verminderten Pansenmotorik und dickbreiigem Kot. Diese klinischen Befunde könnten in der verminderten Bewegungsaktivität und somit reduzierten Futteraufnahme von Kühen begründet sein, die eine Stoffwechselstörung haben (CALDERON & COOK, 2011; READER et al., 2011). BLOCK (2010) beschreibt, dass Tiere mit einer reduzierten Futteraufnahme eine verminderte Pansenmotorik aufweisen. In der Studie von TREMBLAY et al. (2018) wurden bereits Zusammenhänge der NEFA-Konzentrationen mit klinischen Symptomen nachgewiesen. BERGE und VERTENTEN (2014) beschreiben eine verminderte Pansenfüllung und festen Kot als mögliche Symptome einer klinischen Ketose.

Tiere mit erhöhten Milch-Fett-Konzentrationen, erhöhten Milch-Azeton-Konzentrationen und verminderten Milch-Protein-Gehalten hatten erhöhte NEFA- und BHB-Konzentrationen im Blut. MELENDEZ et al. (2016) haben in ihrer Studie ebenfalls Zusammenhänge zwischen Stoffwechselstörungen und erhöhten Milch-Fett-Gehalten festgestellt. BHB wird als Vorstufe für die Milch-Fett-Synthese im Euter genutzt. Bei erhöhten BHB-Konzentrationen kann also vermehrt Milch-Fett gebildet werden (MELENDEZ et al., 2016). In einer Studie von HANUŠ et al. (2011) hatten Tiere, die wenige Tage p.p. untersucht wurden, erhöhte Azeton-Konzentrationen in der Milch im Vergleich zu Tieren, bei denen die Kalbung schon länger zurück lag. Erhöhte Azeton-Gehalte in der Milch sind ein Hinweis auf einen Abbau der Körper-Fett-Reserven und auf den Beginn einer Ketose (HANUŠ et al., 2011). REIST et al. (2003) konnten in ihrer Studie Zusammenhänge zwischen erhöhten BHB-Konzentrationen im Blut und erhöhten Azeton-Gehalten in der Milch darstellen. In einer Studie von DUFFIELD et al. (1997) konnten Korrelationen zwischen erhöhten Milch-Fett-Gehalten und erniedrigten Milch-Protein-Gehalten mit einer subklinischen Ketose nachgewiesen werden. Erhöhte Fett/Protein-Verhältnisse in der Milch liefern einen Hinweis auf Stoffwechselstörungen (HANUŠ et al., 2011). Tiere mit erhöhtem Milch-Fett-Gehalt sind stärker gefährdet Stoffwechselstörungen wie PMAS zu entwickeln, da

sie über die Milch wichtige Fett- und Energiereserven verlieren (TREMBLAY et al., 2018).

In diversen Studien konnten bereits Zusammenhänge zwischen erhöhter Rückenfettdicke und Stoffwechselstörungen dargestellt werden (STAUFENBIEL, 1992; AKTAS et al., 2011; YAMAKAWA et al., 2012; TREMBLAY et al., 2018). Diese Aussage konnte in der vorliegenden Studie bestätigt werden. Kühe mit erhöhten Rückenfettdicken hatten erhöhte NEFA- und BHB-Konzentrationen im Blut. Kühe mit einer negativen Energiebilanz und vor allem überkonditionierte Tiere bauen verstärkt ihre Körperfettreserven ab, weshalb die BHB-Konzentrationen im Blut ansteigen (KLEIN et al., 2012; BJERRE-HARPOTH et al., 2015). Ein erhöhter Körperfettgehalt, die verstärkte Lipomobilisation und die daraus folgende Erhöhung der BHB- und NEFA-Konzentrationen üben ein negatives Feedback auf die Trockenmasseaufnahme aus. Tiere mit einer verminderten Futteraufnahme müssen verstärkt ihre körpereigenen Fettreserven mobilisieren, um ausreichend Energie für die Laktation zur Verfügung zu haben (AKTAS et al., 2011).

Lahmheiten gingen einher mit erhöhten NEFA-Konzentrationen und erhöhten BHB-Konzentrationen im Blut. Die genaue Pathogenese ist noch nicht geklärt. In einigen Studien wurden bereits Übereinstimmungen mit dieser Aussage beschrieben. Eine mögliche Erklärung ist, dass die Tiere aufgrund einer Lahmheit eine verminderte Futteraufnahme und somit ein erhöhtes Risiko einer negativen Energiebilanz haben (GONZÁLEZ et al., 2008; CALDERON & COOK, 2011; READER et al., 2011). CALDERON und COOK (2011) beschrieben die höchsten BHB-Konzentrationen bei einem Locomotion Score ≥ 3 .

Fleckvieh-Kühe hatten im Vergleich zu Braunvieh-Kühen höhere NEFA- und BHB-Konzentrationen im Blut. Rasseunterschiede konnten von ERB und MARTIN (1978) bereits im Hinblick auf das Vorkommen zystisch veränderter Follikel, Labmagenverlagerungen, Hyperkalzämien und Nachgeburtverhalten nachgewiesen werden. Auch die Zusammensetzung der Milchsäuren kann je nach Rasse unterschiedlich sein (SOYEURT et al., 2011; VALENTI et al., 2013). BERGE und VERTENTEN (2014) beschrieben in ihrer Studie, dass Hochleistungsrassen, wie vor allem Holstein-Friesian Kühe, anfälliger für Stoffwechselstörungen sind.

Weniger aktive Tiere hatten erhöhte NEFA-Konzentrationen im Blut. Dies wurde in dieser Studie und auch in einigen vorangegangenen Studien bestätigt (EDWARDS & TOZER, 2004; LIBOREIRO et al., 2015; KING et al., 2018). Mit der Messung der Aktivität konnten die Tiere, die eine klinische Ketose entwickeln, schon vor Auftreten klinischer Symptome erkannt werden (EDWARDS & TOZER, 2004). In einer Studie von ADEWUYI et al. (2006) konnten ebenfalls negative Korrelationen zwischen erhöhten NEFA-Konzentrationen im Blut und der Aktivität dargestellt werden. Die Autoren gaben allerdings zu bedenken, dass eine verminderte Aktivität nicht direkt auf eine Stoffwechselstörung schließen lässt. Die Messung der Aktivität stellt ein Hilfsmittel dar, um auffällige Tiere zu erkennen, ersetzt aber nicht die klinische Untersuchung durch den betreuenden Tierarzt.

Tiere mit einer geringeren Milchleistung waren weniger aktiv als Tiere mit höheren Milchleistungen. Durch die gleichzeitige Messung der Aktivität und der Milchleistung lassen sich bereits frühzeitig Aussagen zum Gesundheitszustand der Tiere machen (EDWARDS & TOZER, 2004). Gesundheitlich beeinträchtigte Tiere weisen häufig eine verminderte Futteraufnahme auf, was zu einer verminderten Milchleistung und einer niedrigeren Aktivität führt (GONZÁLEZ et al., 2008; CALDERON & COOK, 2011; READER et al., 2011; TREMBLAY et al., 2018). Eine Erklärung für eine verminderte Aktivität bei verminderter Milchleistung und erniedrigten Laktosewerten könnte sein, dass bei Tieren mit erhöhten Zellzahlen der Laktosegehalt und meist auch die Milchleistung sinken (ÅKERSTEDT et al., 2009). Außerdem sind Tiere mit erhöhten Zellzahlen weniger aktiv als Tiere mit normalen Zellzahlen (STANGAFERRO et al., 2016b).

Erhöhte Hp-Konzentrationen im Blut gingen mit einer verminderten Wiederkautätigkeit einher. Dies könnte darin begründet sein, dass die Hp-Konzentrationen im Blut bei Tieren mit einer Infektion ansteigen (HORADAGODA et al., 1999; HÖHMANN & FRANK, 2017) und kranke Tiere weniger fressen und wiederkauen als Tiere ohne eine Infektion (LIBOREIRO et al., 2015; STANGAFERRO et al., 2016a, 2016b, 2016c).

Die Messung der Haptoglobinkonzentrationen im Blut sowie der Aktivitätsdaten sind wichtige Hilfsmittel zur frühzeitigen Krankheitserkennung. Mit diesen Daten ist bereits eine Erkennung subklinisch erkrankter Tiere möglich (ECKERSALL & CONNER, 1988; BEER et al., 2016; STANGAFERRO et al., 2016a; HÖHMANN & FRANK, 2017; ALSAOD et al., 2019). Die gemeinsame Messung der

Wiederkautätigkeit und der Aktivität liefern Daten zum Gesundheitsstatus des Einzeltieres aber auch der Herde (RUTTEN et al., 2013; LIBOREIRO et al., 2015; BEER et al., 2016).

Die regelmäßige Überwachung der Tiere in der kritischen Transitphase und die Erfassung der Tierdaten wie Bewegungsaktivität und Wiederkautätigkeit (TOMASZEWSKI, 1993; RUTTEN et al., 2013; LIBOREIRO et al., 2015) sowie die Einbeziehung der Hp-Messung in der Milch (HISS et al., 2009; HÖHMANN & FRANK, 2017) in die routinemäßig durchgeführte Milchleistungsprüfung könnten vielversprechende und zukunftsweisende Möglichkeiten sein. Die Gewinnung der Milchproben wäre einfach, nicht invasiv und direkt durch den Landwirt möglich. Diese könnte sowohl beim Einzeltier wie auch auf Herdenebene ohne großen Aufwand, gegebenenfalls, mittels Shuttle, automatisiert, durchgeführt werden. Blutproben hingegen stellen aufgrund der Probengewinnung durch den Tierarzt mehr Aufwand und Kosten für den Betrieb dar und würden daher vermutlich nicht routinemäßig veranlasst werden. HISS et al. (2009) haben in ihrer Studie eine Hp-Messung in Blut und Milch durchgeführt. Ihre Auswertungen zeigten, dass beide Medien zur Hp-Messung geeignet sind und die Hp-Konzentrationen in Blut und Milch signifikant korrelieren (Korrelationskoeffizient $r = 0,6$, $p < 0,001$) (HISS et al., 2009).

VII. SCHLUSSBETRACHTUNG

Der peripartale Zeitraum stellt eine kritische Phase im Leben der Milchkühe dar. In diesem Zeitraum sollte eine besonders genaue Überwachung der Tiere erfolgen, um Abweichungen frühzeitig erkennen zu können. Von Seiten des Tierschutzes aber auch aus wirtschaftlicher Sicht, sollte an der Erweiterung der geeigneten Parameter zur Überwachung der Milchkuh in der Transitphase gearbeitet werden.

Aus diversen Studien ist bereits bekannt, dass mit Hilfe der Messung der täglichen Aktivität sowie des Wiederkauverhaltens eine frühzeitige Krankheitserkennung möglich ist. Verdächtige Tiere können schon erkannt werden, bevor sie klinische Symptome zeigen.

Mit der Messung der Haptoglobinkonzentrationen im Blut steht neben der Messung der NEFA- und BHB-Konzentrationen sowie der Auswertung der Milchmenge und Milchinhaltsstoffe ein weiterer Parameter zur Überwachung der Milchkuh im peripartalen Zeitraum zur Verfügung. Die Veränderungen der Haptoglobinkonzentrationen im Blut sind bereits sichtbar, noch bevor das Tier klinische Symptome einer Erkrankung zeigt. So kann bereits frühzeitig eine Untersuchung des Tieres veranlasst und gegebenenfalls eine Therapie eingeleitet werden. Nicht nur auf Einzeltierebene, sondern auch im Herdenmonitoring kann Haptoglobin als Entzündungsmarker wichtige Erkenntnisse liefern. Bei Erhöhungen der Haptoglobinkonzentrationen bei mehreren Tieren sollten weitere Untersuchungen durchgeführt und gegebenenfalls Korrekturen im Management eingeleitet werden. Die Anzahl der Tiere mit erhöhten Haptoglobinkonzentrationen, die in einer Herde toleriert werden kann, sollte in weiteren Studien bestimmt werden.

Durch die Möglichkeit Haptoglobin auch in der Milch zu messen, wäre eine einfache, nicht-invasive Probennahme durch den Landwirt möglich. Mit der Implementierung der Messung der Haptoglobinkonzentrationen in der Milchleistungsprüfung stünden dem Landwirt, aber vor allem auch dem betreuenden Tierarzt zum selben Zeitpunkt die Milch- und Haptoglobindaten zur Verfügung. Die Überprüfung der Verwendbarkeit des neuen Grenzwertes von 0,18 mg/ml Blut im Medium Milch sollte ebenfalls Teil einer Folgestudie sein.

VIII. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Arbeit war die Betrachtung möglicher Zusammenhänge zwischen Haptoglobinkonzentrationen im Blut, bestimmten klinischen Parametern, der täglichen Aktivität, der täglichen Wiederkautätigkeit und einer Stoffwechselstörung bei Milchkühen.

Die Probennahme fand von Juni bis Dezember 2018 in 39 Milchviehbetrieben in Bayern statt. In die Studie wurden alle Fleckvieh- und Braunvieh-Tiere einbezogen, die am Probennahmetag zwischen dem 5. und 50. Tag post partum waren. Bei diesen Tieren wurden beim wöchentlichen Bestandsbesuch Blut- und Milchproben genommen. Ferner fand eine abgekürzte klinische Untersuchung statt. Die Aktivitäts- und Wiederkaudaten wurden in den Fleckvieh-Betrieben aus dem Herdenmanagement-Programm des automatischen Melksystems gewonnen. Im Blutserum wurden die Konzentrationen von freien Fettsäuren (Non-esterified fatty acids, NEFA), β -Hydroxybutyrat (BHB) und Haptoglobin (Hp) bestimmt, in der Milch die Milchinhaltsstoffe (Fett, Eiweiß, Harnstoff, Azeton, Laktose), der pH-Wert, die BHB- und NEFA-Konzentrationen und die Zellzahl („Somatic cell count“, SCC).

Eine Ketose wurde als BHB-Konzentration $> 1,2$ mmol/l bzw. NEFA-Konzentration $> 0,7$ mmol/l im Blutserum definiert. Eine Lahmheit wurde ab einem Locomotion Score ≥ 2 festgelegt.

Tiere mit weniger Laktationstagen, Tiere mit höheren Milch-Fett-Gehalten, höheren Milch-Azeton-Gehalten, niedrigeren Milch-Protein-Gehalten und niedrigeren Milch-pH-Werten, hatten signifikant häufiger NEFA-Konzentrationen im Blut $> 0,7$ mmol/l. Diese Tiere hatten außerdem auch signifikant häufiger BHB-Konzentrationen im Blut über 1,2 mmol/l. Tiere, die in den warmen Sommermonaten (Juli/August/September) beprobt wurden, Tiere mit geringer Pansenfüllung und verminderter Pansenmotorik und lahme Tiere, hatten signifikant häufiger NEFA-Konzentrationen im Blut $> 0,7$ mmol/l. Tiere mit höheren Rückenfettdicken, mit höheren Milch-Harnstoff-Konzentrationen und niedrigeren Milch-Laktose-Werten hatten signifikant häufiger BHB-Konzentrationen im Blut $> 1,2$ mmol/l. Fleckvieh-Kühe hatten signifikant häufiger NEFA-Konzentrationen im Blut $> 0,7$ mmol/l und BHB-Konzentrationen $> 1,2$ mmol/l als Braunvieh-Kühe.

Bei steigenden NEFA-Konzentrationen im Blut sank die tägliche Aktivität der Tiere. Stiegen die Laktose-Gehalte in der Milch, so stieg auch die tägliche Aktivität. Tiere mit erhöhten Hp-Konzentrationen im Blut kauten signifikant weniger wieder als Tiere mit niedrigeren Hp-Konzentrationen. Bei steigenden Harnstoff-Gehalten in der Milch stieg auch die Wiederkautätigkeit an.

Bei der Auswertung der Haptoglobindaten wurden signifikante Zusammenhänge zwischen erhöhten Hp-Konzentrationen im Blut und erhöhten NEFA-Werten in Blut und Milch, erhöhter somatischer Zellzahl, erhöhter Umgebungstemperatur in den warmen Sommermonaten, Lahmheit, vermindertem Milch-Laktose-Gehalt sowie vermindertem Proteingehalt in der Milch festgestellt. Erstkalbinnen hatten höhere Hp-Werte im Blut als multipare Tiere. Mit den gewonnenen Daten wurde ein k-Means-Clustering durchgeführt und 4 Cluster ermittelt. Mit einem Hp-Grenzwert von 0,18 mg/ml und einem SCC-Grenzwert von 40.500 Zellen/ml Milch konnte in dieser Studie der Großteil der subklinisch und klinisch erkrankten Tiere ermittelt werden.

Mit der Messung der Hp-Konzentrationen im Blut könnte eine praktikable Möglichkeit zur Überwachung des Gesundheitsstatus der Milchkuh im postpartalen Zeitraum zur Verfügung stehen. Kombiniert mit einer klinischen Untersuchung und der Auswertung der Milchmenge und -inhaltsstoffe können bereits subklinische Erkrankungen erkannt und eine frühzeitige Therapie durchgeführt werden. Inwiefern sich auch die Messung der Hp-Konzentrationen in der Milch eignet, muss in Folgestudien überprüft werden. Entscheidender Vorteil der Messung in der Milch wäre die einfache, nicht-invasive Probennahme. Möglicherweise könnte die Bestimmung der Hp-Konzentrationen in der Milch in das Routinemonitoring der Milchleistungsprüfung aufgenommen werden.

Die Messung der Aktivität und der Wiederkautätigkeit ist ebenfalls ein hilfreiches Mittel zur Überwachung des Gesundheitszustandes des Einzeltieres, aber auch der Herde und eignet sich zur frühzeitigen Erkennung einer Erkrankung.

Mit der regelmäßigen Auswertung der genannten Daten lässt sich der Gesundheitsstatus der einzelnen Milchkuh, aber auch der Herde überwachen. Diese Parameter könnten einen nützlichen Beitrag zur Bestandsbetreuung liefern. Die frühzeitige Erkennung oder gar Prophylaxe einer Erkrankung ist aus tierschutzrechtlichen sowie wirtschaftlichen Gründen anzustreben.

IX. SUMMARY

Title: Investigations on metabolic monitoring in dairy cows with special consideration of haptoglobin and selected clinical parameters

The aim of this study was to consider possible correlations between haptoglobin concentrations in blood, selected clinical parameters, daily activity, daily rumination time and metabolic disorders in dairy cows.

Samples were taken from June to December 2018 in 39 Bavarian dairy farms. All Simmental and Brown Swiss cows between 5 and 50 days post partum on the day of sampling were included in the study. Blood and milk samples were taken from these cows during the weekly visit on the farm. Cows also underwent an abbreviated clinical examination. In the Simmental farms activity and rumination data were additionally obtained from the herd management program of the automatic milking system. Concentrations of free fatty acids (non-esterified fatty acids, NEFA), β -hydroxybutyric acid (BHBA) and haptoglobin (Hp) were determined in blood serum. Milk components (fat, protein, urea, acetone, lactose), pH-value, NEFA and BHBA concentrations and somatic cell count (SCC) were measured in the milk.

Ketosis was defined as BHBA concentration > 1.2 mmol/L or NEFA concentration > 0.7 mmol/L. Lameness was defined as Locomotion Score ≥ 2 .

Animals with fewer days in milk, higher milk fat contents, higher milk acetone contents, lower milk protein contents and lower milk pH values had a significantly higher number of NEFA concentrations in their blood above 0.7 mmol/L. These animals also had a significantly higher number of BHBA concentrations > 1.2 mmol/L in blood. Animals that were sampled in the warmer summer months (July/August/September), animals with low rumen filling and reduced rumen contraction frequency and lame animals had a significantly higher number of NEFA concentrations in blood > 0.7 mmol/L. Animals with greater back fat thickness, higher milk urea concentrations and lower milk lactose values had a significantly higher number of BHBA concentrations in blood > 1.2 mmol/L. Simmental cows had significantly more often blood NEFA concentrations > 0.7 mmol/L and BHBA concentrations > 1.2 mmol/L than Brown Swiss cows.

With increasing NEFA concentrations in the blood, the daily activity of the animals

decreased. If the lactose content in the milk increased, so did the daily activity. Animals with increased Hp concentrations in the blood ruminated less than animals with lower Hp concentrations. With increasing urea content in milk rumination also increased.

When evaluating the haptoglobin data, significant correlations were found between increased Hp concentrations in blood and increased NEFA values in blood and milk, increased somatic cell count, increased outside temperature in the warmer summer months, lameness, decreased milk lactose and decreased milk protein contents. Heifers had higher blood Hp concentrations than multiparous animals. A k-Means-Clustering was conducted on the data and obtained 4 clusters. With a Hp threshold value of 0.18 mg/mL and an SCC limit of 40,500 cells/mL milk, the majority of the subclinical and clinically diseased animals could be identified in this study.

The determination of Hp concentrations in blood could provide a practical way of monitoring the health status of the dairy cow in the postpartum period. Combined with an abbreviated clinical examination and the evaluation of the amount and contents of milk, subclinical diseases can be identified and treated early. The extent to which measuring Hp concentrations in milk is also suitable needs to be investigated in further studies. The main advantage of measurement in milk would be the simple, non-invasive sampling. The determination of the Hp concentrations could possibly be included in the routine milk monitoring.

The measurement of activity and rumination are also helpful means for monitoring the health state of the individual animal as well as the herd health and are suitable for the early detection of a disease.

With the regular evaluation of the data mentioned, the health status of the individual dairy cow as well as the herd health can be monitored. The parameters could make a useful contribution to herd health management. The early detection or even prophylaxis of a disease is to be aimed for animal welfare as well as for economic reasons.

X. LITERATUR

Adeyemi AA, Roelofs JB, Gruys E, Toussaint MJM, van Eerdenburg FJCM. Relationship of plasma nonesterified fatty acids and walking activity in postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2006; 89: 2977-9.

Åkerstedt M, Waller K, Sternesjö Å. Haptoglobin and serum amyloid A in bulk tank milk in relation to raw milk quality. *Journal of Dairy Research* 2009; 76: 483-9.

Aktas MS, Ozkanlar S, Ucar O, Ozkanlar Y, Kaynar O, Aytakin I. Relationships between Body Condition Score and some metabolic blood parameters in early lactating dairy cows. *Revue de Médecine Vétérinaire* 2011; 162: 586-92.

Albanat WA, Hüller A, Köller G, Füll M, Einspanier A, Gottschalk J. Zusammenhang zwischen Geburtsverlauf und stoffwechselrelevanten Parametern im peripartalen Zeitraum beim Rind. *Tierärztliche Praxis Großtiere* 2013; 41: 353-60.

Alsaad M, Fadul M, Steiner A. Automatic lameness detection in cattle. *The Veterinary Journal* 2019; 246: 35-44.

Bagga A, Randhawa SS, Sharma S, Bansal BK. Acute phase response in lame crossbred dairy cattle. *Vet World* 2016; 9: 1204-8.

Baird GD. Primary ketosis in the high-producing dairy cow: Clinical and subclinical disorders, treatment, prevention, and outlook. *Journal of Dairy Science* 1982; 65: 1-10.

Beer G, Alsaad M, Starke A, Schuepbach-Regula G, Müller H, Kohler P, Steiner A. Use of extended characteristics of locomotion and feeding behavior for automated identification of lame dairy cows. *PLoS One* 2016; 11: 1-18.

Bell AW. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science* 1995; 73: 2804-19.

Berge AC, Vertenten G. A field study to determine the prevalence, dairy herd management systems, and fresh cow clinical conditions associated with ketosis in western European dairy herds. *Journal of Dairy Science* 2014; 97: 2145-54.

Bjerre-Harpoth V, Storm AC, Eslamizad M, Kuhla B, Larsen M. Effect of propylene glycol on adipose tissue mobilization in postpartum over-conditioned Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 2015; 98: 8581-96.

Block E (2010) Transition cow research – What makes sense today? In: High Plains Dairy Conference, Amarillo, Texas. 75-98

Calderon DF, Cook NB. The effect of lameness on the resting behavior and metabolic status of dairy cattle during the transition period in a freestall-housed dairy herd. *Journal of Dairy Science* 2011; 94: 2883-94.

Chamberlin WG, Middleton JR, Spain JN, Johnson GC, Ellersieck MR, Pithua P. Subclinical hypocalcemia, plasma biochemical parameters, lipid metabolism, postpartum disease, and fertility in postparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2013; 96: 7001-13.

Dohoo IR, Martin SW. Subclinical ketosis: Prevalence and associations with production and disease. *Canadian Journal of Comparative Medicine* 1984; 48: 1-5.

Drillich M, Voigt D, Forderung D, Heuwieser W. Treatment of acute puerperal metritis with flunixin meglumine in addition to antibiotic treatment. *Journal of Dairy Science* 2007; 90: 3758-63.

Duffield TF, Kelton DF, Leslie KE, Lissemore KD, Lumsden JH. Use of test day milk fat and milk protein to detect subclinical ketosis in dairy cattle in Ontario. *The Canadian Veterinary Journal* 1997; 38: 713-8.

Eastridge ML (2012) Variation in milk fat of fresh cows. In: Tri-State Dairy Nutrition Conference, Fort Wayne, Indiana. 59-65

Eckersall PD, Conner JG. Bovine and canine acute phase proteins. *Veterinary Research Communications* 1988; 12: 169-78.

Edwards JL, Tozer PR. Using activity and milk yield as predictors of fresh cow disorders. *Journal of Dairy Science* 2004; 87: 524-31.

El-Deeb WM, El-Bahr SM. Biomarkers of ketosis in dairy cows at postparturient period: Acute phase proteins and pro-inflammatory cytokines. *Veterinarski arhiv* 2017; 87: 431-40.

Erb HN, Martin SW. Age, breed and seasonal patterns in the occurrence of ten dairy cow diseases: A case control study. *Canadian Journal of Comparative Medicine* 1978; 42: 1-9.

Friggens NC, Rasmussen MD. Milk quality assessment in automatic milking systems: Accounting for the effects of variable intervals between milkings on milk composition. *Livestock Production Science* 2001; 73: 45-54.

González L, Tolkamp B, Coffey M, Ferret A, Kyriazakis I. Changes in feeding behavior as possible indicators for the automatic monitoring of health disorders in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2008; 91: 1017-28.

Hanuš O, Roubal P, Vyletělová M, Yong T, Bjelka M, Dufek A. The relations of some milk indicators of energy metabolism in cow, goat and sheep milk. *Scientia Agriculturae Bohemica* 2011; 42: 102-11.

Hiss S, Weinkauff C, Hachenberg S, Sauerwein H. Short communication: Relationship between metabolic status and the milk concentrations of haptoglobin and lactoferrin in dairy cows during early lactation. *Journal of Dairy Science* 2009; 92: 4439-43.

Höhmann A, Frank F. Erkennen von subklinisch und klinisch erkrankten Milchkühen mit Hilfe des Gesundheitsmonitorings aus der Rohmilch. Tagungsband AVA Haupttagung 2017; 17: 76-9.

Horadagoda NU, Knox KMG, Gibbs HA. Acute phase proteins in cattle: Discrimination between acute and chronic inflammation. *Veterinary Record* 1999; 144: 437-41.

Humblet M-F, Guyot H, Boudry B, Mbayahi F, Hanzen C, Rollin F, Godeau J-M. Relationship between haptoglobin, serum amyloid A, and clinical status in a survey of dairy herds during a 6-month period. *Veterinary Clinical Pathology* 2006; 35: 188-93.

Itle AJ, Huzzey JM, Weary DM, von Keyserlingk MAG. Clinical ketosis and standing behavior in transition cows. *Journal of Dairy Science* 2015; 98: 128-34.

Kaufman EI, LeBlanc SJ, McBride BW, Duffield TF, DeVries TJ. Short communication: Association of lying behavior and subclinical ketosis in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2016; 99: 7473-80.

King MTM, LeBlanc SJ, Pajor EA, Wright TC, DeVries TJ. Behavior and productivity of cows milked in automated systems before diagnosis of health disorders in early lactation. *Journal of Dairy Science* 2018; 101: 4343-56.

Klein MS, Buttchereit N, Miemczyk SP, Immervoll A-K, Louis C, Wiedemann S, Junge W, Thaller G, Oefner PJ, Gronwald W. NMR metabolomic analysis of dairy cows reveals milk glycerophosphocholine to phosphocholine ratio as prognostic biomarker for risk of ketosis. *Journal of Proteome Research* 2012; 11: 1373-81.

Krause AR, Pfeifer LF, Montagner P, Weschenfelder MM, Schwegler E, Lima ME, Xavier EG, Brauner CC, Schmitt E, Del Pino FA, Martins CF, Correa MN, Schneider A. Associations between resumption of postpartum ovarian activity, uterine health and concentrations of metabolites and acute phase proteins during the transition period in Holstein cows. *Animal Reproduction Science* 2014; 145: 8-14.

Liboreiro DN, Machado KS, Silva PR, Maturana MM, Nishimura TK, Brandao AP, Endres MI, Chebel RC. Characterization of peripartum rumination and activity of cows diagnosed with metabolic and uterine diseases. *Journal of Dairy Science* 2015; 98: 6812-27.

Lomander H, Frossling J, Ingvarsten KL, Gustafsson H, Svensson C. Supplemental feeding with glycerol or propylene glycol of dairy cows in early lactation-Effects on metabolic status, body condition, and milk yield. *Journal of Dairy Science* 2012; 95: 2397-408.

Lovendahl P, Chagunda MG. Covariance among milking frequency, milk yield, and milk composition from automatically milked cows. *Journal of Dairy Science* 2011; 94: 5381-92.

Mahrt A, Burfeind O, Heuwieser W. Effects of time and sampling location on concentrations of β -hydroxybutyric acid in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2014; 97: 291-8.

McArt JAA, Nydam DV, Oetzel GR. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 2012a; 95: 5056-66.

McArt JAA, Nydam DV, Oetzel GR. A field trial on the effect of propylene glycol on displaced abomasum, removal from herd, and reproduction in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. *Journal of Dairy Science* 2012b; 95: 2505-12.

Melendez P, Pinedo P, Bastias J, Marin MP, Rios C, Bustamante C, Adaro N, Duchens M. The association between serum ss-hydroxybutyrate and milk fatty acid profile with special emphasis on conjugated linoleic acid in postpartum Holstein cows. *BMC Veterinary Research* 2016; 12: 50.

Nielsen C, Stengårde L, Bergsten C, Emanuelson U. Relationship between herd-level incidence rate of energy-related postpartum diseases, general risk factors and claw lesions in individual dairy cows recorded at maintenance claw trimming. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2013; 55: 1-10.

Reader JD, Green MJ, Kaler J, Mason SA, Green LE. Effect of mobility score on milk yield and activity in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 2011; 94: 5045-52.

Reist M, Erdin DK, von Euw D, Tschuemperlin KM, Leuenberger H, Hammon HM, Kuenzi N, Blum JW. Use of threshold serum and milk ketone concentrations to identify risk for ketosis and endometritis in high-yielding dairy cows. *American Journal of Veterinary Research* 2003; 64: 188-94.

Richter H. Haptoglobin bei Haussäugetieren. III. Der Haptoglobingehalt im Blutplasma und-serum von Wiederkäuern und Schweinen unter verschiedenen physiologischen Bedingungen. *Archiv für Experimentelle Veterinärmedizin* 1974; 28: 505-19.

Rutten CJ, Velthuis AGJ, Steeneveld W, Hogeveen H. Invited review: Sensors to support health management on dairy farms. *Journal of Dairy Science* 2013; 96: 1928-52.

Schönfelder A, Schrödl W, Krüger M, Richter A, Sobiraj A. Dynamik des Akute-Phase-Proteins Haptoglobin bei Rindern mit Spontangeburt und solchen mit Schnittentbindungen mit oder ohne Torsio uteri intra partum. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 2005; 118: 240-6.

Sepulveda-Varas P, Weary DM, von Keyserlingk MA. Lying behavior and postpartum health status in grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2014; 97: 6334-43.

Soyeurt H, Dehareng F, Gengler N, McParland S, Wall E, Berry DP, Coffey M, Dardenne P. Mid-infrared prediction of bovine milk fatty acids across multiple breeds, production systems, and countries. *Journal of Dairy Science* 2011; 94: 1657-67.

Sprecher DJ, Hostetler DE, Kaneene JB. A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. *Theriogenology* 1997; 14: 1179-87.

Stangaferro ML, Wijma R, Caixeta LS, Al-Abri MA, Giordano JO. Use of rumination and activity monitoring for the identification of dairy cows with health disorders: Part I. Metabolic and digestive disorders. *Journal of Dairy Science* 2016a; 99: 7395-410.

Stangaferro ML, Wijma R, Caixeta LS, Al-Abri MA, Giordano JO. Use of rumination and activity monitoring for the identification of dairy cows with health disorders: Part II. Mastitis. *Journal of Dairy Science* 2016b; 99: 7411-21.

Stangaferro ML, Wijma R, Caixeta LS, Al-Abri MA, Giordano JO. Use of rumination and activity monitoring for the identification of dairy cows with health disorders: Part III. Metritis. *Journal of Dairy Science* 2016c; 99: 7422-33.

Staufenbiel R. Energie- und Fettstoffwechsel des Rindes Untersuchungskonzept und Messung der Rückenfettdicke. *Monatshefte für Veterinärmedizin* 1992; 47: 467-74.

Suojala L, Orro T, Jarvinen H, Saatsi J, Pyorala S. Acute phase response in two consecutive experimentally induced *E. coli* intramammary infections in dairy cows. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2008; 50: 18-27.

Suthar VS, Canelas-Raposo J, Deniz A, Heuwieser W. Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2013; 96: 2925-38.

Tomaszewski MA. Record-Keeping systems and control of data flow and information retrieval to manage large high producing herds. *Journal of Dairy Science* 1993; 76: 3188-94.

Tremblay M, Kammer M, Lange H, Plattner S, Baumgartner C, Stegeman JA, Duda J, Mansfeld R, Dopfer D. Identifying poor metabolic adaptation during early lactation in dairy cows using cluster analysis. *Journal of Dairy Science* 2018; 101: 7311-21.

Valenti B, Martin B, Andueza D, Leroux C, Labonne C, Lahalle F, Larroque H, Brunschwig P, Lecomte C, Brochard M, Ferlay A. Infrared spectroscopic methods for the discrimination of cows' milk according to the feeding system, cow breed and altitude of the dairy farm. *International Dairy Journal* 2013; 32: 26-32.

Van De Gucht T, Saeys W, Van Meensel J, Van Nuffel A, Vangeyte J, Lauwers L. Farm-specific economic value of automatic lameness detection systems in dairy cattle: From concepts to operational simulations. *Journal of Dairy Science* 2018; 101: 637-48.

Vickers LA, Weary DM, Veira DM, von Keyserlingk MAG. Feeding a higher forage diet prepartum decreases incidences of subclinical ketosis in transition dairy cows. *Journal of Animal Science* 2013; 91: 886-94.

Wilhelm K, Wilhelm J, Fürll M. Vergleichende Betrachtung ausgewählter Blutparameter von Hochleistungskühen bei unterschiedlichen Entnahmestellen. *Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Großtiere/Nutztiere* 2013; 41: 7-14.

Yamakawa K, Aoki T, Matsui M, Yamada K, Ishii M. Peripartum back fat thickness of multiparous Holstein-Friesian cows with displacement of the abomasum or ketosis. *Journal of Veterinary Medical Science* 2012; 74: 641-4.

Zaaijer D, Noordhuizen J. A novel scoring system for monitoring the relationship between nutritional efficiency and fertility in dairy cows. *Irish Veterinary Journal* 2003; 56: 145-52.

XI. DANKSAGUNG

Mein erster, herzlicher Dank geht an Herrn Prof. Mansfeld für die Überlassung des Themas und die Unterstützung und Betreuung während meiner Dissertation. Ich bin stolz und dankbar, dass ich Teil eines so großen, zukunftsweisenden Projektes sein durfte!

Ein weiterer Dank geht an das Labor der Klinik für Wiederkäuer in Oberschleißheim, den Milchprüfing Bayern e.V. und das LKV Bayern für die Untersuchung der Proben, die Überlassung der Daten und die Unterstützung bei sämtlichen Fragen. Danke auch an Rita und Susanne für die Unterstützung bei allen auftretenden Problemchen!

Vielen vielen Dank an alle teilnehmenden Betriebe, ohne die die Datenerhebung und somit dieses gesamte Projekt nicht möglich gewesen wäre!

Danke an mein Team, Anne, Simone und Stefan. Die Unternehmungen zum Teambuilding, die gegenseitige Unterstützung und Motivation haben diese Zeit unvergesslich gemacht! „Wenn aus Kollegen Freunde werden“ – danke, dass ihr mich auch dann zum Lachen gebracht habt, wenn mir nicht mal zum Lächeln zumute war!

Der letzte, aber nicht weniger große, Dank geht an meine Familie und meine Freunde – einfach an alle, die immer an mich geglaubt haben, mich unterstützt haben, Korrektur gelesen haben, meine Hochs und Tiefs mit mir durchgestanden haben und die mir Zeit frei geschaufelt haben, um das alles zu einem guten Ende zu bringen. Nennen möchte ich hier meine Mama Erika (danke für einfach ALLES!), Sebastian (vor allem du hast mir mit deiner Geduld und bedingungslosen Unterstützung diese Arbeit und den Titel ermöglicht) und Claudia (danke für die unzähligen Übernachtungen in deiner Wohnung)!

DANKE! Ihr habt immer an mich geglaubt, auch wenn ich selbst so manchen Zweifel hatte! Ihr habt mir ermöglicht meinen Traum wahr werden zu lassen! Euch allen widme ich diese Arbeit!