

Aus der Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung der
Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstände: Prof. Dr. W. Klee, Prof. Dr. H. Zerbe

Unter der Leitung von Prof. Dr. R. Mansfeld

**Beziehungen zwischen Stoffwechselfparametern und Parametern
der unspezifischen Abwehr des Rindereuters im peripartalen
Zeitraum unter Berücksichtigung zweier Melksysteme**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde

der Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Yvonne Kersch

aus Siegen

München 2008

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun
Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Mansfeld
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Dr. h. c. Märtlbauer

Tag der Promotion: 08. Februar 2008

***Meiner großen und
meiner kleinen Familie***

(und allen Rindern dieser Welt)

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I	
Abkürzungsverzeichnis	VI	
Abbildungsverzeichnis	VIII	
Tabellenverzeichnis	X	
1	Einleitung	1
2	Literatur	2
2.1	Anatomie und Physiologie der laktierenden Milchdrüse	2
2.1.1	Morphologie	2
2.1.1.1	Anatomie	2
2.1.1.2	Histologie	3
2.1.2	Somatische Zellen in der Milch	4
2.1.2.1	Zellgehalt	4
2.1.2.2	Zellarten, Differentialzellbild	4
2.1.3	Infektionsabwehr der Milchdrüse	6
2.1.3.1	Anatomische Abwehrmechanismen	6
2.1.3.1.1	Zitzenbarriere	6
2.1.3.1.2	Milchdrüsenepithel	7
2.1.3.2	Zelluläre Abwehrmechanismen	8
2.1.3.2.1	Polymorphkernige Neutrophile Granulozyten (PMN)	8
2.1.3.2.1.1	Allgemeines	8
2.1.3.2.1.2	Migration	9
2.1.3.2.1.3	Phagozytose	10
2.1.3.2.2	Makrophagen	11
2.1.3.2.3	Lymphozyten	12
2.1.3.2.4	Epithelzellen	13
2.1.3.2.5	Natürliche Killer Zellen (NK)	14
2.1.3.3	Humorale Abwehrmechanismen	14
2.1.3.3.1	Lysozym	14
2.1.3.3.2	Laktoferrin (Lf)	16

2.1.3.3.3	Komplement	17
2.1.3.3.4	Zytokine	18
2.1.3.3.5	Immunglobuline	19
2.1.3.3.6	Respiratory Burst	20
2.2	Energiestoffwechsel der Milchkuh	22
2.2.1	Beurteilung der Stoffwechsellage	22
2.2.1.1	Stoffwechselformparameter im Blut	22
2.2.1.1.1	Bilirubin	22
2.2.1.1.2	Aspartat-Amino-Transferase (AST)	23
2.2.1.1.3	Creatinkinase (CK)	23
2.2.1.1.4	Glutamat-Dehydrogenase (GLDH)	23
2.2.1.1.5	γ -Glutamyl-Transferase (GGT)	24
2.2.1.1.6	Alkalische Phosphatase (AP)	24
2.2.1.1.7	Freie Fettsäuren (NEFA)	24
2.2.1.1.8	β -Hydroxybutyrat (BHB)	25
2.2.1.1.9	Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I)	25
2.2.1.2	Stoffwechselformparameter in der Milch	26
2.2.1.2.1	Milchmenge	26
2.2.1.2.2	Laktose	27
2.2.1.2.3	Harnstoff	28
2.2.1.2.4	Fett	28
2.2.1.2.5	Eiweiß	28
2.2.1.2.6	Fett-Eiweiß-Quotient (FEQ)	29
2.2.1.2.7	Fett-Laktose-Quotient (FLQ)	29
2.2.1.2.8	Ketonkörper	30
2.2.1.3	Konditionsbeurteilung	30
2.2.1.3.1	Körperkondition und Stoffwechselstatus	30
2.2.1.3.1	Verfahren zur Konditionsbeurteilung	30
2.2.1.3.1.1	Lebendmassewägung	30
2.2.1.3.1.2	Body Condition Scoring	31
2.2.1.3.1.3	Messung der Rückenfettdicke und der Muskeldicke	32
2.2.1.4	Vergleich der Methoden BCS und RFD	33

2.2.2	Der Stoffwechsel der Hochleistungskuh in der peripartalen Phase	34
2.2.2.1	Fettmobilisationssyndrom (FMS)	35
2.2.2.2	Ketose	36
2.2.2.3	Beziehungen zwischen peripartalen Stoffwechselstörungen und Abwehrmechanismen des Euters	37
2.3	Einflüsse verschiedener Melksysteme auf die Eutergesundheit und -immunität	38
3	Eigene Untersuchungen	40
3.1	Material und Methoden	40
3.1.1	Tiergut und Material	40
3.1.1.1	Tiergut	40
3.1.1.2	Melksysteme	40
3.1.2	Methoden	40
3.1.2.1	Untersuchungs- und Probenplan	40
3.1.2.2	Klinische Untersuchung des Euters	41
3.1.2.3	Beurteilung des Vorgemelks	42
3.1.2.3.1	Grobsinnliche Untersuchung	42
3.1.2.3.2	California-Mastitis-Test	42
3.1.2.4	Bestimmung der Zellzahl und der Milchinhaltstoffe	42
3.1.2.5	Phagozytasetest	43
3.1.2.5.1	Vorversuche	43
3.1.2.5.1.1	Negativkontrolle mit Cytochalasin B	43
3.1.2.5.2	Durchführung des Tests	44
3.1.2.5.2.1	Gewinnung von Milchzellen und Milchserum	44
3.1.2.5.2.2	Bestimmung der Leukozytenkonzentration der Zellsuspension und der Vitalität der Zellen	45
3.1.2.5.2.3	Herstellung der Bakteriensuspension	46
3.1.2.5.2.4	Bestimmung der Phagozytoseaktivität	47
3.1.2.6	Bestimmung der Lysozymkonzentration des Milchserums	50
3.1.2.6.1	Herstellung der Agarplatten	50
3.1.2.6.2	Verarbeitung der Proben, Herstellung des Lysozymstandards und Auswertung	50

3.1.2.7	Differentialzellbild	52
3.1.2.7.1	Probengewinnung und Fixierung der Milchzellen	53
3.1.2.7.2	Zellgewinnung	53
3.1.2.7.3	Indirekter Immunfluoreszenznachweis von Zytokeratin	53
3.1.2.7.4	Propidiumjodidfärbung	54
3.1.2.7.5	Auswertung	55
3.1.2.8	Bestimmung klinisch-chemischer und hormoneller Blutparameter	56
3.1.2.8.1	Gewinnung der Blutproben	56
3.1.2.8.2	Bestimmung der Parameter Gesamtbilirubin, AP, AST, GLDH, GGT und CK	57
3.1.2.8.3	Insulin-like-Growth-Factor-I (IGF-I)	57
3.1.2.8.4	β -Hydroxybuttersäure (BHB)	58
3.1.2.9	Körperkonditionsbeurteilung	58
3.1.2.9.1	Messung der Rückenfettdicke und der Muskeldicke	58
3.1.2.9.2	Body Condition Scoring	59
3.1.2.10	Statistische Auswertung	59
3.2	Ergebnisse	61
3.2.1	Verlauf und Gruppenvergleiche der Parameter Phagozytose- aktivität und Lysozymkonzentration	61
3.2.1.1	Phagozytoseaktivität der Milchzellen	61
3.2.1.2	Lysozymkonzentration im Milchserum	67
3.2.1.3	Gemischtes Regressionsmodell	72
3.2.2	Beziehungen zwischen Stoffwechselfparametern und Parametern der unspezifischen Abwehr des Euters	72
3.2.2.1	Korrelationsanalysen zwischen Stoffwechselfparametern und Phagozytoseaktivität	72
3.2.2.2	Korrelationsanalysen zwischen Stoffwechselfparametern und der Lysozymkonzentration im Milchserum	73
3.2.2.3	Korrelationsanalysen zwischen Stoffwechselfparametern und Parametern des Differentialzellbildes	74
3.2.2.3.1	PMN	74
3.2.2.3.2	Makrophagen	76
3.2.2.3.3	Lymphozyten	78

3.2.2.3.4	Epithelzellen	80
3.2.3	Beziehungen zwischen Differentialzellbild und der Phagozytoseaktivität sowie der Lysozymkonzentration	82
3.2.3.1	Korrelationsanalysen zwischen Differentialzellbild und Phagozytoseaktivität	82
3.2.3.2	Korrelationsanalysen zwischen Differentialzellbild und Lysozymkonzentration	83
4	Diskussion	85
4.1	Diskussion der Methoden	85
4.2	Diskussion der Ergebnisse	89
4.2.1	Phagozytoseaktivität der Milchzellen	89
4.2.2	Lysozymkonzentration im Milchserum	91
4.2.3	Korrelationsanalysen	92
4.2.3.1	Stoffwechsel und Phagozytoseaktivität	92
4.2.3.2	Stoffwechsel und Lysozymkonzentration	92
4.2.3.3	Stoffwechsel und Differentialzellbild	93
4.2.3.4	Differentialzellbild und Phagozytoseaktivität/Lysozymkonzentration	97
4.3	Schlussfolgerungen	98
5	Zusammenfassung	99
6	Summary	101
7	Literaturverzeichnis	103
8	Anhang	126
9	Danksagung	142

Abkürzungsverzeichnis

a. p.	ante partum	g	Erdbeschleunigung
Abb.	Abbildung	ggf.	gegebenenfalls
AK	Antikörper	GGT	γ -Glutamyl-Transferase
AMS	Automatisches Melksystem	GH	Growth Hormone
AP	Alkalische Phosphatase	GLDH	Glutamat-Dehydrogenase
AST	Aspartat-Amino-Transferase	GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
		GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
BCS	Body Condition Scoring		
BCR	B-Zell-Rezeptor	h	Stunde(n)
BHB	β -Hydroxybutyrat	HCl	Chlorwasserstoff
BSA	Bovines Serumalbumin	hgr.	hochgradig
		H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
ca.	Circa		
C	Celcius	IDF	International Dairy Federation
CB	Cytochalasin B	i. d. R.	in der Regel
CD	Cluster of Differentiation	IFN	Interferon
CK	Creatinkinase	Ig	Immunglobulin
CL	Chemilumineszenz	IGF-I	Insulin-like Growth Factor-I
cm	Zentimeter	IL	Interleukin
CSF	Colony-Stimulating Factor		
		k. A.	keine Angabe
DMSO	Dimethylsulfoxid	kg	Kilogramm
DVG	Deutsche Veterinär- medizinische Gesellschaft	KK	Keimkonzentration
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure	l	Liter
et al.	et alii	Lf	Laktoferrin
e.V.	eingetragener Verein	LH	luteinisierendes Hormon
		LM	Lebendmasse(-wägung)
Fa.	Firma	LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
Fc	kristallines Fragment der Immunglobuline	LPO	Laktoperoxidase
FEQ	Fett-Eiweiß-Quotient	LPS	Lipopolysaccharide
FFS	Freie Fettsäuren	Lsg.	Lösung
FLQ	Fett-Laktose-Quotient	lt.	laut
FMS	Fettmobilisationssyndrom		
FSH	Follikel-stimulierendes Hormon	MD	Muskeldicke
		mg	Milligramm

MG	Molekulargewicht		
MHC	Major histocompatibility complex	r	Korrelationskoeffizient nach Pearson
MHz	Megahertz	r^{Sp}	Korrelationskoeffizient nach Spearman
min	Minute	s.	siehe
ml	Milliliter	SCC	somatic cell count
ML	Milchleistung	SCN⁻	Thiozyanat
M. l.	Micrococcus lysodeicticus	SH	Sulfhydrylgruppe
mm	Millimeter	SKK	Strichkanalkeratin
mm²	Quadratmillimeter		
mmol	Millimol	SPSS	Statistical Package Social Sciences
MPO	Myeloperoxidase		
		Tab.	Tabelle
n	Stichprobe	TCR	T-Zell-Rezeptor
N	normal	TNF	Tumor Nekrose Faktor
NaCl	Natriumchlorid	TU	Technische Universität
NaOH	Natriumhydroxid		
NEB	Negative Energiebilanz	u.	und
NEFA	non-esterified fatty acids	U	Umdrehungen
ng	Nanogramm	U	Units
NK	Natürliche Killerzellen	u. a.	unter anderem
nm	Nanometer		
		VLDL	Very Low Density Lipoprotein
o. g.	oben genannt	VQ	Vitalitätsquotient
OT	Objektträger		
		Wdh.	Wiederholung
p	Wahrscheinlichkeit	ZK	Zellkonzentration
p. p.	post partum		
PBS⁽⁻⁾	Phosphate Buffered Saline (ohne Zusätze von Calcium und Magnesium)	®	registriertes Warenzeichen
pH	potenzierte Wasserstoffionenkonzentration	µl	Mikroliter
PJ	Propidiumjodid	µm	Mikrometer
PMN	Polymorph Mononuclear Neutrophil	µmol	Mikromol
PQ	Phagozytosequotient		
RFD	Rückenfettdicke		
RIA	Radio Immuno Assay		

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	BCS-Indextafel nach EDMONSON et al. (1989), modifiziert von R. MANSFELD (in MARTIN et al., 2007)	32
Abb. 2:	Lebend-Tot-Färbung der Zellen mit Trypanblau	45
Abb. 3:	Phagozytose unter dem Fluoreszenzmikroskop	48
Abb. 4:	Agarplatte mit Lysozymstandard	52
Abb. 5:	Beispiel für die Berechnung der Lysozymkonzentration	52
Abb. 6:	Differentialzellbild in der Milch.	56
Abb. 7:	Messung der Rückenfettdicke/Muskeldicke per Ultraschall	59
Abb. 8:	Schema eines Boxplot-Diagramms	61
Abb. 9:	Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.; $P > 0,05$), 2. (5.–8. Woche p. p.; $P > 0,05$) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.; $P > 0,05$)	62
Abb. 10:	Vergleich der Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) von im Melkstand und im AMS gemolkene Kühen – insgesamt; $P > 0,05$	63
Abb. 11:	Vergleich der Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) von im Melkstand und im AMS gemolkene Kühen bei der 1. (0.–4. Woche p. p.; $P > 0,05$), 2. (5.–8. Woche p. p.; $P > 0,05$) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.; $P > 0,05$)	64
Abb. 12:	Vergleich zwischen der Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) von Kühen ohne Mastitis und mit Mastitis – insgesamt; $P > 0,05$	65
Abb. 13:	Vergleich der Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) von Kühen ohne Mastitis bei der 1. (0.–4. Woche p. p.; $P > 0,05$), 2. (5.–8. Woche p. p.; $P > 0,05$) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.; $P < 0,05$)	66
Abb. 14:	Lysozymkonzentration im Milchserum ($\mu\text{g/ml}$) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.; $P > 0,05$), 2. (5.–8. Woche p. p.; $P > 0,05$) 2. und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.; $P > 0,05$)	67
Abb. 15:	Vergleich der Lysozymkonzentration im Milchserum ($\mu\text{g/ml}$) von im Melkstand und im AMS gemolkene Kühen – insgesamt; $P > 0,05$	68
Abb. 16:	Vergleich der Lysozymkonzentration im Milchserum ($\mu\text{g/ml}$) von im Melkstand und im AMS gemolkene Kühen bei der 1. (0.–4. Woche p. p.; $P > 0,05$), 2. (5.–8. Woche p. p.; $P > 0,05$) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.; $P > 0,05$)	69

Abb. 17:	Vergleich der Lysozymkonzentration im Milchserum ($\mu\text{g/ml}$) von Kühen ohne und mit Mastitis – insgesamt; $P > 0,05$	70
Abb. 18:	Vergleich der Lysozymkonzentration im Milchserum von Kühen ohne und mit Mastitis bei der 1. (0.–4. Woche p. p.; $P > 0,05$), 2. (5.–8. Woche p. p.; $P > 0,05$) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.; $P > 0,05$)	71

Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Differentialzellbild der Milch (%)	5
Tab. 2:	Lysozymgehalt der Milch beim Rind	15
Tab. 3:	Zytokin-Effekte auf Immunzellen der Milchdrüse (zit. nach SORDILLO et al., 1997, übersetzt)	19
Tab. 4:	Übersicht des Probenplans	41
Tab. 5:	Tabellarische Zusammenfassung der Schritte des Phagozytostests	49
Tab. 6:	Zusammenfassung der Arbeitsschritte zur Erstellung des Differentialzellbildes in der Milch	54
Tab. 7:	Absorptionsspektren der Stoffwechselfparameter	57
Tab. 8:	Gruppeneinteilung der Versuchskühe	60
Tab. 9:	Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	62
Tab. 10:	Vergleich der Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) von im Melkstand und im AMS gemolkenen Kühen – insgesamt	63
Tab. 11:	Vergleich der Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) von im Melkstand und im AMS gemolkenen Kühen bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	64
Tab. 12:	Vergleich der Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) von Kühen ohne Mastitis und Kühen mit Mastitis – insgesamt	65
Tab. 13:	Vergleich zwischen der Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) von Kühen ohne Mastitis und mit Mastitis bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	66
Tab. 14:	Lysozymkonzentration im Milchserum (µg/ml) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	67
Tab. 15:	Vergleich der Lysozymkonzentration im Milchserum (µg/ml) von im Melkstand und im AMS gemolkenen Kühen – insgesamt	68
Tab. 16:	Vergleich der Lysozymkonzentration im Milchserum (µg/ml) von im Melkstand und im AMS gemolkenen Kühen bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	69
Tab. 17:	Vergleich der Lysozymkonzentration im Milchserum (µg/ml) von Kühen ohne und mit Mastitis – insgesamt	70

Tab. 18:	Vergleich der Lysozymkonzentration im Milchserum von Kühen ohne und mit Mastitis bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	71
Tab. 19:	Signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und der Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	73
Tab. 20:	Signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und der Lysozymkonzentration des Milchserums ($\mu\text{mol/l}$) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	74
Tab. 21:	Signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und dem relativen PMN-Anteil der Milchzellen (%) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	75
Tab. 22:	Signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und dem absoluten PMN-Gehalt der Milch ($\times 1000/\text{ml}$) ⁿ bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	76
Tab. 23:	Signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und dem relativen Makrophagen-Anteil der Milchzellen (%) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	77
Tab. 24:	Signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und dem absoluten Makrophagen-Gehalt der Milch ($\times 1000/\text{ml}$) ⁿ bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	78
Tab. 25:	Signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und dem relativen Lymphozyten-Anteil der Milchzellen (%) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	79
Tab. 26:	Signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und dem absoluten Lymphozyten-Gehalt der Milch ($\times 1000/\text{ml}$) ⁿ bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	80
Tab. 27:	Signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und dem relativen Epithelzellen-Anteil der Milchzellen (%) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	81
Tab. 28:	Signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und dem absoluten Epithelzellen-Gehalt der Milch ($\times 1000/\text{ml}$) ⁿ bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	82

Tab. 29:	Signifikante Korrelationen zwischen Parametern des Differentialzellbildes und der Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	83
Tab. 30:	Signifikante Korrelationen zwischen Parametern des Differentialzellbildes und der Lysozymkonzentration des Milchserums ($\mu\text{mol/l}$) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	84
Tab. 31:	Korrelationsanalysen zwischen der Phagozytoseaktivität der Milchzellen sowie der Lysozymkonzentration der Milch und Stoffwechselfparametern in Blut und Milch und Körperkonditionswerten bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	126
Tab. 32:	Korrelationsanalysen zwischen PMN in der Milch und Stoffwechselfparametern in Blut und Milch sowie Körperkonditionswerten bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	129
Tab. 33:	Korrelationsanalysen zwischen Makrophagen in der Milch und Stoffwechselfparametern in Blut und Milch sowie Körperkonditionswerten bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	132
Tab. 34:	Korrelationsanalysen zwischen Lymphozyten in der Milch und Stoffwechselfparametern in Blut und Milch sowie Körperkonditionswerten bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	135
Tab. 35:	Korrelationsanalysen zwischen Epithelzellen in der Milch und Stoffwechselfparametern in Blut und Milch sowie Körperkonditionswerten bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	138
Tab. 36:	Korrelationsanalysen zwischen der Phagozytoseaktivität sowie der Lysozymkonzentration und den Parametern des Differentialzellbildes bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.)	141

1 Einleitung

Euterentzündungen verursachen hohe wirtschaftliche Verluste in der Milcherzeugung. Die durch klinische Mastitiden verursachten Kosten veranschlagen HOEDEMAKER et al. (2007) mit durchschnittlich 75–150,- Euro pro Kuh und Jahr. Spät erkannte subklinische Erkrankungen führen zu hohen Leistungseinbußen und damit zu weiteren wirtschaftlichen Verlusten. Von der Einführung der Automatischen Melksysteme (AMS) Anfang der 90er Jahre wurde eine verbesserte Eutergesundheit auf Herdenbasis und somit eine Steigerung der Milchqualität erwartet. Diese Erwartungen wurden bisher nicht erfüllt.

Die Eutergesundheit wird u. a. durch eine adäquate Immunität des Euters sichergestellt. Steigerungen der Euterimmunität führen zu einer Verbesserung der Eutergesundheit (SMITH et al., 1997). Die unspezifischen Abwehrmechanismen, besonders die Phagozytose von eindringenden Keimen durch Polymorphkernige Neutrophile (PMN), spielen hierbei eine zentrale Rolle (PAAPE et al., 2002, 2003). Durch Stoffwechselstörungen der Hochleistungsmilchkuh in der Früh-laktation kann es zur Beeinträchtigung der Abwehrvorgänge des Euters kommen (LESLIE et al., 2000; SURIYASATHAPORN et al., 2000; BURVENICH et al., 2007).

Trotz zahlreicher Studien, die sich mit Zusammenhängen zwischen Stoffwechselerkrankungen von Hochleistungsmilchkühen im peripartalen Zeitraum einerseits und Sekundärerkrankungen, wie u. a. Mastitis, andererseits befasst haben, sind nach wie vor viele Fragen ungeklärt.

In der vorliegenden Arbeit sollen die Zusammenhänge zwischen verschiedenen Stoffwechselfparametern sowie dem Auftreten einer Mastitis im peripartalen Zeitraum und unspezifischen Abwehrmechanismen des Euters genauer untersucht werden. Für die Charakterisierung der unspezifischen Abwehrvorgänge des Euters werden die Parameter „Phagozytose der Milchzellen“, „Lysozymkonzentration des Milchserums“ und „Differentialzellbild der Milch“ herangezogen.

Mögliche Einflüsse des verwendeten Melksystems (Melkstand vs. AMS) werden berücksichtigt.

2 Literatur

2.1 Anatomie und Physiologie der laktierenden Milchdrüse

2.1.1 Morphologie

2.1.1.1 Anatomie

Bei der Milchdrüse (Mamma) handelt es sich um eine modifizierte Schweißdrüse, die embryonal beim weiblichen und männlichen Geschlecht gleichermaßen angelegt wird. Nur beim weiblichen Geschlecht kommt es in der Pubertät und Gravidität aufgrund Hormoneinwirkung zur vollständigen Entwicklung (SMOLLICH u. MICHEL, 1992). Eine Drüseneinheit mit Zitze wird zusammen als Mammarkomplex bezeichnet. Das Rindereuter besteht aus vier Mammarkomplexen, je zwei vollständig voneinander getrennten Vorder- bzw. Bauchvierteln und Hinter- bzw. Schenkelvierteln (KOCH u. BERG, 1993; GEYER, 2005).

Die Haut des Euters ist dünn, meistens unpigmentiert und nur fein behaart. Die Zitzenhaut ist unbehaart und runzlig. Die rechten Viertel sind von den beiden linken durch einen Sulcus intermammarius getrennt. Das Euter ist durch einen eigenen Aufhängeapparat (Apparatus suspensorius mammarius) befestigt, der von der tiefen Rumpffaszie (Fascia trunci profunda) ausgeht. Diese entsendet mehrere Platten (Laminae mediales und laterales), die sich wiederum in mehrere Blätter (Laminae suspensoriae) aufspalten und in den Drüsenkörper einstrahlen (DYCE et al., 1991; BRAGULLA und KÖNIG, 2004).

Die Zitzen (Papillae mammae) befinden sich jeweils in der Mitte eines Drüsenkomplexes und haben eine Länge von 5–10 cm und eine zylindrische Form. Die Zitzen des Rindes besitzen nur je eine Öffnung (Zitzenöffnung, Strichkanalöffnung, Ostium papillare) mit einem Durchmesser von 2–3 mm. Diese Öffnung mündet in den ca. 1 cm langen und 1–4 mm weiten Strichkanal (Ductus papillaris), der sich weiter proximal zu einem Hohlraum, der sog. Zitzenzisterne (Pars papillaris), erweitert. Zitzenzisterne und Strichkanal sind durch eine sternförmige Ansammlung von Schleimhautlängsfalten (Fürstenbergsche Rosette) voneinander getrennt (DYCE et al., 1991; KOCH u. BERG, 1993; HABERMEHL, 1996). An der Zitzenbasis befindet sich wiederum eine Schleimhautringfalte, die von einer ringförmigen Vene durchzogen ist (Fürstenbergscher Venenring). Proximal dieses Venenrings befindet sich der Drüsenteil der Zisterne (Sinus lactiferus), ein vom

Drüsengewebe umgebener Hohlraum, in den die ca. 8–12 milchführenden Milchgänge (Ductus lactiferi) münden. Diese spalten sich in der Tiefe des Drüsengewebes wiederum in zahlreiche kleinere Milchgänge auf (KOCH u. BERG, 1993).

2.1.1.2 Histologie

Die Milchdrüse wird als sog. Stapeldrüse bezeichnet, die als eine zusammengesetzte tubulöse Drüse mit verzweigten, alveolären Endstücken aufgebaut ist (LIEBICH et al., 2004). Eine Drüseneinheit setzt sich aus drei Untereinheiten zusammen: den Alveolen, den Milchgängen (Ductus lactiferi) und der Zisterne (Sinus lactifer) (MOSIMANN u. KOHLER, 1990; MICHEL, 1994; LIEBICH et al., 2004).

Die Alveolen sind der eigentliche Ort der Milchproduktion. Sie sind mit einem einschichtigen Epithel ausgekleidet, dessen Höhe je nach Füllungszustand variiert. In entleerten Alveolen ist das Epithel zylindrisch bis hochprismatisch, im gefüllten Zustand mehr oder weniger niedrig bis abgeplattet. Auch die Bildung und Sekretion der Milch Inhaltsstoffe sorgt für eine Formveränderung der Zellen (SMOLLICH u. MICHEL, 1992; MICHEL, 1994; LIEBICH et al., 2004; GEYER, 2005). Zwischen Drüsenzellen und Basalmembran sind Myoepithelzellen (Korbzellen) netzartig eingeschoben, welche die Funktion glatter Muskelzellen erfüllen und durch ihre Kontraktion die Alveolen verengen und so ihre Entleerung bewirken. Sie besitzen Oxytocin-Rezeptoren auf ihrer Oberfläche, auf deren Reizung hin sie sich kontrahieren (MOSIMANN u. KOHLER, 1990; SMOLLICH u. MICHEL, 1992; LIEBICH et al., 2004; GEYER, 2005).

Die Alveolen entleeren das Sekret in die kleineren intralobulären Milchgänge. Diese werden wiederum zu kleinen interlobulären, jeweils mit einschichtigem Epithel ausgekleideten Milchgängen, um sich dann zu großen interlobulären Milchgängen (Ductus lactiferi) zu vereinigen. Je Mammarkomplex münden jeweils 8–12 solcher Milchgänge in den Drüsenteil der Zisterne. Die großen interlobulären Milchgänge und die Zisterne sind mit einem zweischichtigen Epithel ausgekleidet. Weiterhin besitzen sie ebenfalls Myoepithelzellen und zusätzlich glatte Muskulatur. Der Strichkanal, beim Rind ca. 10 mm lang, ist mit einer verhornten kutanen Schleimhaut ausgekleidet. Sie stellt eine wichtige Barriere gegen das Eindringen von

Infektionserregern dar (MICHEL u. SCHULZ, 1987; SMOLLICH u. MICHEL, 1992; LIEBICH et al., 2004; GEYER, 2005).

Das interstitielle Bindegewebe der Milchdrüse ist v. a. bei trockenstehenden Tieren oder bei Tieren mit geringer Milchleistung kräftig ausgebildet. Solche Euter fühlen sich grobknotig und derb an und werden als Fleischeuter bezeichnet. Bei gesunden Eutern mit hoher Milchleistung ist das Bindegewebe sehr fein. Es ist zellarm und besteht in der Hauptsache aus kollagenen, lt. MOSIMANN und KOHLER (1990) auch aus elastischen Fasern und beinhaltet wenige glatte Muskelzellen. Bei jungen und trockenstehenden Rindern sind außerdem große Fettzellen im Interstitium vorhanden. Das Bindegewebe unterteilt das Drüsengewebe in mehrere Läppchen (interlobuläres Bindegewebe) und führt Gefäße und Nerven. Es spaltet sich in das sog. intralobuläre Bindegewebe auf, welches sehr fein ist und die Endalveolen korbartig umfasst (MICHEL, 1994; LIEBICH et al., 2004).

2.1.2 Somatische Zellen in der Milch

2.1.2.1 Zellgehalt

Die Zellzahl der Milch eines gesunden Euters befindet sich bei unter 100.000/ml (DVG, 2002). Während einer bakteriellen Mastitis kann der SCC (Somatic cell count) dagegen innerhalb weniger Stunden bis auf über 1.000.000 Zellen/ml ansteigen (HOEDEMAKER et al., 2007). Nicht nur Infektionen tragen zu einer Erhöhung der Zellzahl bei: durch verschiedene Stressfaktoren, unterschiedlich langes Melkintervall und individuellen Schwankungen (Rasse, Alter, Laktationsstadium) kann es zu erhöhten Zellzahlen in der Milch kommen. Bei kürzeren Zwischenmelkzeiten kommt es z. B. zu höheren Zellzahlen als bei einem Melkintervall von 12 Stunden (HAMANN u. GYODI, 2000).

2.1.2.2 Zellarten, Differentialzellbild

In der „normalen“ Laktationsmilch eines gesunden Euters kommen hauptsächlich vier verschiedene Zellarten vor: Makrophagen, polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PMN), Lymphozyten und in geringer Anzahl Epithelzellen. Je nach Laktationsstadium, Melkfraktion und Gesundheits- bzw. Immunstatus kann es zu beträchtlichen Schwankungen der Zusammensetzung kommen, auch individuelle

Unterschiede kommen vor (KEHRLI u. SHUSTER, 1994; ZECCONI u. SMITH, 2000; SARIKAYA et al., 2006). MIELKE (1994) beschreibt außerdem das Vorkommen von „speziellen Zellen“ bei Eutererkrankungen, den Riesenzellen, Plasmazellen, Monozyten, Epitheloidzellen, Lymphoblasten, Mastzellen, eosinophilen und basophilen Granulozyten und Epithelzellen. Die Ergebnisse vergangener Studien, die sich mit dem Differentialzellbild in der Milch beschäftigen, sind sehr unterschiedlich (Tab. 1). Für ausführliche Literatur zum Differentialzellbild in der Milch wird auf die Dissertationen von SCHRÖDER (2003) und RANKL (2004) verwiesen.

Tab. 1: Differentialzellbild der Milch (%)

Autor	Laktationszeitpunkt	Makrophagen (%)	Lymphozyten (%)	PMN (%)	Epithelzellen (%)
LEE et al. (1980)	umittelbar p.p. Hochlaktation	31,0 79,2	4,0 16,0	65,0 3,0	0* 1,8*
PAAPE et al. (1981)	k. A.	60,0	28,0	10,0	2,0
KURZHALS et al. (1985)	k. A.	63,0	2,0	34,0	2,0
MILLER et al. (1991)	2 8 Wo p. p. 11	33,0 36,9 34,0	16,5 22,0 23,9	39,4 21,5 26,2	10,8 19,6 16,2
LEITNER et al. (2000)	Hochlaktation	13,0	11,0	29,0	45,0
PILLAI et al. (2001)	Spätlaktation	k. A.	k. A.	17,0– 25,0	k. A.
DOSOGNE et al. (2003)	k. A.	10,0	58,0	28,0	k. A.
SCHRÖDER (2003)	k. A.	39,0	25,0	34,0	k. A.
RANKL (2004)	20.–90. Laktationstag	37,0	20,3	41,2	1,5
* Epithelzellen ductalen Ursprungs ; k. A. = keine Angabe					

2.1.3 Infektionsabwehr der Milchdrüse

Das Rindereuter besitzt eine Vielzahl von Abwehrmechanismen gegen Infektionserreger. Man unterscheidet hierbei die:

- unspezifische Abwehr
 - anatomische Abwehrmechanismen
 - zelluläre Abwehrmechanismen
 - humorale Abwehrmechanismen
- spezifische Abwehr.

Bei einer Euterinfektion kommen als erstes unspezifische Abwehrmechanismen zum Einsatz, um im Verlauf der Infektion teilweise von der spezifischen Abwehr abgelöst zu werden, beide Arten laufen aber auch parallel ab. Die unspezifischen Abwehrmechanismen werden innerhalb weniger Stunden aktiviert. Aus diesem Grund spielen sie die größte und wichtigste Rolle in der Infektionsabwehr des Rindereuters (SORDILLO et al., 1997).

2.1.3.1 Anatomische Abwehrmechanismen

Die anatomischen Abwehrmechanismen zählen zur unspezifischen Abwehr der Milchdrüse.

2.1.3.1.1 Zitzenbarriere

Die Haupteintrittspforte für Infektionserreger in das Euter ist die Strichkanalöffnung am Zitzenende. Aus diesem Grund spielt der Strichkanal als erste Barriere eine wichtige Rolle in der Abwehr der Milchdrüse.

In der Wand des Strichkanals befindet sich ein Schließmuskel (M. sphincter papillaris), der einen festen Verschluss der Zitze garantiert, (MICHEL u. SEFFNER, 1975; WENDT et al., 1994; KEHRLI u. HARP, 2001; SORDILLO u. STREICHER, 2002). Doch mit Selektion auf gute Melkbarkeit nimmt die Festigkeit des Schließmuskels der Zitze ab, wodurch der Verlust dieser wichtigen Barriere durch bessere Melkhygiene sowie weitere Abwehrmechanismen ausgeglichen werden

muss (SENFT u. NEUDECKER, 1991). Auch die Weite des Strichkanals korreliert mit der Mastitisanfälligkeit (WENDT et al., 1994). Nach MCDONALD et al. (1970) betrug der Durchmesser des Strichkanallumens mastitisanfälliger Kühe durchschnittlich 1,0–1,25 mm, während er bei Kühen ohne Mastitis lediglich 0,4–0,55 mm maß.

Des Weiteren kommt auch dem Spüleffekt der Milch durch das Melken oder durch das Saugen des Kalbes eine nicht unerhebliche Schutzfunktion zu. Durch den nach außen gerichteten Milchstrom werden Erreger, die sich im Strichkanal befinden, herausgespült (NICKERSON, 1985; WENDT et al., 1994).

Das Stratum corneum des Strichkanalepithels sondert Keratin (Strichkanalkeratin, SKK) ab, welches durch wachsartige Konsistenz (Bakterien bleiben hängen) eine mechanische Behinderung für den Eintritt möglicher Infektionserreger darstellt (SENFT u. NEUDECKER, 1991). Das SKK beinhaltet verschiedene gesättigte und ungesättigte Fettsäuren und Proteine, die aufgrund bakteriostatischer bzw. bakterizider Eigenschaften zur Barrierefunktion beitragen.

In den Studien von SENFT et al. (1990a,b) wurde gezeigt, dass den Proteinen des SKK's eine deutliche Schutzfunktion zukommt, wogegen die Lipide nur begrenzt bakteriostatisch wirksam sind.

2.1.3.1.2 Milchdrüsenepithel

Dem Milchdrüsenepithel kommt ebenfalls eine gewisse Schutzfunktion zu. Da das Epithel der Zisterne und der großen Milchgänge zweischichtig ist und einen geschlossenen Zellverband darstellt, besitzt es eine hohe Stabilität. Auch das Alveolarepithel stellt einen geschlossenen Zellverband dar, da die Zellen über Schlußleisten und Desmosomen innig miteinander verbunden sind. Durch die geringe Anzahl Mitosen kommt es hier zu einer hohen Gewebestabilität. Erst durch intensive Irritation wird das Epithel geschädigt. Dabei kommt es zu einer vermehrten Durchlässigkeit der Blut-Milch-Schranke und einer verstärkten Migration von Blutzellen, dem ersten Anzeichen einer entzündlichen Reaktion des Milchdrüsenorgans (WENDT et al., 1994).

2.1.3.2 Zelluläre Abwehrmechanismen

2.1.3.2.1 Polymorphkernige Neutrophile Granulozyten (PMN)

2.1.3.2.1.1 Allgemeines

Die Polymorphkernigen Neutrophilen Granulozyten (Polymorph Mononuclear Neutrophil – PMN) der Milch spielen in der Abwehr des laktierenden Euters eine bedeutende Rolle. Als potente Phagozyten sind sie eine der ersten immunologischen Faktoren der Milchdrüse, die bei einer intramammären Infektion eingreifen, um eindringende Krankheitserreger zu eliminieren (PAAPE et al., 2002). Sie entstammen ursprünglich dem Knochenmark und gelangen auf dem Blutweg oder durch Migration durch Gewebe in das Euterparenchym (PAAPE et al., 1979). Bei einer Infektion kommt es durch Freisetzung von Entzündungsmediatoren und durch Lockerung des Epithelzellverbands zu einem massenhaften Einstrom von PMN ins Euter, der ihren Anteil an der Gesamtleukozytenfraktion bis auf > 90 % ansteigen lassen kann (PAAPE et al., 1979; NICKERSON, 1985; WENDT et al., 1994; RIOLLET et al., 2001; SORDILLO u. STREICHER, 2002).

Der Gehalt an PMN in verschiedenen Milchfraktionen wurde ebenfalls untersucht: VANGROENWHEGE et al. (2002) und SARIKAYA et al. (2005) fanden einen erhöhten Gehalt an PMN im Restgemelk, woraus geschlossen wurde, dass sich die meisten aktiven PMN in den Alveolen befinden.

Die PMN verdanken ihren Namen ihrem Kern, der mehrere Lobuli besitzt und seine Form verändern kann. Um z.B. eine schnelle Migration auch durch enge Zellverbände wie Endothelien zu gewährleisten, kann sich der Zellkern zu einem dünnen, länglichen Gebilde umwandeln (PAAPE et al. 2002). Sie sind 4–9 µm groß und können sich amöboidartig fortbewegen (WENDT et al., 1994).

Die PMN besitzen drei verschiedene Arten Granula:

- azurophile (primäre) Granula
- spezifische (sekundäre) Granula
- „neuartige“ (tertiäre) Granula.

Diese dritte Art der Granula kommt nur in bovinen PMN vor und macht den Großteil der Granula aus. Sie sind dichter und größer als die anderen beiden Granula-Arten und beinhalten kationische Proteine, sauerstoffunabhängige bakterizide

Komponenten und Laktoferrin (GENNARO et al., 1983). Die primären Granula beinhalten u. a. Myeloperoxidase und weitere hydrolytische Enzyme wie saure Phosphatase und Lysozym. In den sekundären Granula kommen hauptsächlich Lysozym und Laktoferrin vor (GENNARO et al., 1983; ZECCONI et al., 1994).

Die PMN sind von einer Plasmamembran umgeben, die mehrere Rezeptoren besitzt, die für die Fortbewegung und Funktion der PMN wichtig sind (PAAPE et al. 1996; PAAPE et al., 2002). Adhäsionsmoleküle unterstützen die Adhäsion an Epithelzellen und somit die Migration der Zellen (KISHIMOTO et al., 1989; ZIMMERMANN, 1992; PAAPE et al., 2003). Weitere Rezeptoren binden an das Fc-Komponent einiger Immunglobulinklassen und den Komplementfaktor C3b, um die Phagozytose von Keimen zu stimulieren (PAAPE et al., 1979).

2.1.3.2.1.2 Migration

Bei den bei einer Mastitis vorkommenden PMN in der Milch handelt es sich um meist reife Leukozyten, die ursprünglich dem Knochenmark entstammen und nach kurzer Zirkulation im Blut (marginaler und zentraler Pool) entlang eines chemotaktischen Gradienten in das entzündete Gewebe auswandern, um dort für 1–2 Tage als Phagozyten zu agieren (CRAVEN u. WILLIAMS, 1985; PAAPE et al., 2002; RAINARD u. RIOLETT, 2003). Nur bei hgr. Entzündungen kann es vorkommen, dass der Organismus auf den Speicher im Knochenmark zurückgreifen muss, woraufhin sich dann zusätzlich unreife PMN-Stadien in der Milch befinden (PAAPE et al., 1974). Je stärker die Entzündung und die Intensität der chemotaktischen Agenzien, desto mehr PMN werden mobilisiert (PAAPE et al., 2003).

Wichtige Entzündungsmediatoren sind Interleukine (IL-1, IL-2, IL-8), die Komplementkomponenten C3 und C5a, Tumornekrosefaktor (TNF) und Lipopolysaccharide (LPS). Sie werden von Makrophagen und Epithelzellen des Milchdrüsengewebes, welche zuvor durch eindringende Erreger aktiviert wurden, produziert und sezerniert (RAINARD u. RIOLETT, 2003). Auf der Plasmamembran der PMN befinden sich bestimmte Rezeptoren, an die die Entzündungsmediatoren binden. Aktivierte PMN verlassen das Blutgefäßsystem, indem sie an die Oberfläche von Endothelzellen binden (PAAPE et al., 2002). Dafür sind bestimmte Adhäsionsmoleküle (CD11/CD18) auf der Oberfläche der PMN verantwortlich (KISHIMOTO et al., 1989; SMITS et al., 2000). Nach Austritt aus dem Blutkreislauf

wandern die PMN entlang des chemotaktischen Gradienten in die entzündeten Gewebe aus. Der verformbare Zellkern der PMN macht es ihnen möglich, auch zwischen engen Zellverbänden hindurch zu treten (PAAPE et al., 2002).

2.1.3.2.1.3 Phagozytose

Die Phagozytose stellt einen Teil der unspezifischen zellulären Abwehr der Milchdrüse dar und ist einer der effektivsten Abwehrmechanismen der Milchdrüse gegen eingedrungene Infektionserreger (SENFT u. NEUDECKER, 1991; PAAPE et al., 2002). Bestimmte Leukozytenarten (Polymorphkernige Neutrophile Granulozyten (PMN), Makrophagen) sind in der Lage, Mikroorganismen und fremde Partikel aufzunehmen und anschließend auf verschiedene Art und Weisen abzutöten. Es ist umstritten, ob die sekretorischen Epithelzellen des Milchdrüsenepithels ebenfalls in der Lage sind, zu phagozytieren (CRAVEN u. WILLIAMS, 1985). Während der Laktation sind die PMN die wichtigsten und effektivsten Phagozyten in der Milchdrüse (GROMMERS et al., 1989; ZECCONI et al., 1994), in der Trockenstehphase dagegen stellen die Makrophagen den potenteren Teil der Phagozyten dar (FOX et al., 1988).

Die Phagozytose besteht in der Erkennung, Anlagerung, Ingestion und Abtötung von Keimen (PAAPE et al., 1979). Auch andere Partikel wie Fett, Casein, Zellreste usw. werden aufgenommen. Für eine Phagozytose ist bei den meisten Keimarten eine vorhergehende Opsonierung Voraussetzung. Nicht opsonierte Keime werden zwar auch, aber schlechter phagozytiert (TARGOWSKI, 1983; HALLEN-SANDGREN et al., 1991). Besonders bei der Elimination von gramnegativen Keimen soll eine Phagozytose ohne Opsonierung laut PAAPE et al. (1996, 2002) eine Rolle spielen. Unter einer Opsonierung versteht man das Vorhandensein von Opsoninen (Immunglobuline IgG₂ und IgM, Komplementfaktoren, v. a. C3b), auf der Oberfläche der Erreger (PAAPE et al., 1979; CRAVEN u. WILLIAMS, 1985; BURVENICH et al., 1995). Diese werden von entsprechenden Rezeptoren auf der Plasmamembran der PMN gebunden. Die Keime werden anschließend von den Pseudopodien der PMN umflossen und in deren Zytoplasma aufgenommen. Dabei entsteht das so genannte Phagosom, welches mit den Lysosomen der PMN zum Phagolysosom fusioniert (PAAPE et al., 1979; LÖSCH et al., 2000). Innerhalb des Phagolysosoms werden die Keime auf verschiedene Art und Weise abgetötet.

PMN verfügen über mehrere Tötungsmechanismen, die in sauerstoffabhängige und –unabhängige unterteilt werden können (SORDILLO et al., 1997). Die sauerstoffabhängigen Mechanismen werden unter dem Begriff „Respiratory Burst“ (siehe Punkt 2.1.3.3.6) zusammengefasst. Bei den sauerstoffunabhängigen Faktoren handelt es sich um verschiedene Proteine, die auf unterschiedliche Art und Weise mikrobizid wirken. Zu ihnen gehören u. a. Lysozym, Laktoferrin und Laktoperoxidase. Es gibt aber noch weitere antimikrobielle Substanzen innerhalb der Granula, die bisher noch nicht komplett identifiziert worden sind (PAAPE et al., 2003).

2.1.3.2.2 Makrophagen

Makrophagen sind die vorherrschenden Zellen im Milchsekret eines gesunden Euters (LEE et al., 1980; SORDILLO u. STREICHER, 2002). Sie sind an der spezifischen und unspezifischen Abwehr des Euters beteiligt (LÖSCH et al., 2000; SORDILLO u. STREICHER, 2002). Bei den Makrophagen handelt es sich um besonders große Zellen (ca. 8–30 µm), die im Trockenstehersekret sogar bis zu 55 µm messen (Riesenzellen). Sie besitzen einen großen, zentral gelegenen Kern und zahlreiche Vakuolen und Lysosomen im Zytoplasma (MIELKE u. KOBLENZ, 1980). Sie entstammen dem Knochenmark, welches sie als Monozyten verlassen. Sie zirkulieren anschließend einige Tage im Blutkreislauf, um dann in die verschiedenen Gewebe auszuwandern und sich zu Makrophagen zu differenzieren (LÖSCH et al., 2000). Wie die PMN sind auch Makrophagen zur Phagozytose von Mikroorganismen und Zell- und Milchbestandteilen befähigt (MIELKE u. KOBLENZ, 1980). Verglichen mit den PMN weisen sie jedoch eine etwas geringere Phagozytoseaktivität in der Milch von laktierenden Kühen auf (HALLÉN SANDGREN et al., 1991). Nach FOX et al. (1988) spielen sie zumindest im Trockenstehersekret eine größere Rolle für die Phagozytose von Krankheitserregern als PMN. Bei Anwesenheit von opsonierten Antigenen durch Immunglobuline oder Komplement (v. a. C3b) kann die Phagozytoserate der Makrophagen erheblich gesteigert werden (MIELKE u. KOBLENZ, 1980; WENDT et al., 1994).

Ob Makrophagen ebenfalls über sauerstoffabhängige Tötungsmechanismen (Respiratory Burst) verfügen, ist bisher unklar. HALLÉN SANDGREN et al. (1991) stellten fest, dass Makrophagen keine Myeloperoxidase besitzen, auch MEHRZAD et al. (2001) fanden weder Myeloperoxidaseaktivität noch Bildung von reaktiven

Sauerstoffverbindungen bei Makrophagen in der Milch. OUTERIDGE u. LEE (1981) und LÖSCH et al. (2000) dagegen konnten ein solches System bei Makrophagen feststellen. Eine wichtige Aufgabe der Makrophagen ist es, Lockstoffe (Prostaglandine, Leukotriene und Zytokine) zu sezernieren, die die Migration von PMN in das Euter und deren bakterizide Aktivität stimulieren. Diese Eigenschaft spielt wahrscheinlich eine größere Rolle als die Phagozytose selbst (CRAVEN u. WILLIAMS, 1985; SORDILLO u. STREICHER, 2002; RAINARD u. RIOLETT, 2003). Makrophagen spielen zudem eine Schlüsselrolle in der Regulation der Spezifischen Abwehr: Im Zusammenhang mit MHC-Klasse II-Molekülen werden Antigene der phagozytierten Keime an der Membran präsentiert. Dort erfolgt die Antigenerkennung der T-Helferzellen und somit die Stimulation der spezifischen Abwehr (LÖSCH et al., 2000).

2.1.3.2.3 Lymphozyten

Lymphozyten in der Milch sind Träger der spezifischen Immunantwort der Milchdrüse. Es handelt sich hierbei um kleine, runde Zellen mit einem Durchmesser von 7–15 μm und einem großen Kern. Es kommen zwei Hauptarten dieser Zellen vor: T- und B-Lymphozyten. B-Lymphozyten, benannt nach ihren Reifungsort, der Bursa fabricii der Vögel bzw. dem Bursa-Äquivalent der Säugetiere (Knochenmark und Peyersche Platten) sind für die humoralen Immunreaktionen des Organismus zuständig. Durch Antigenerkennung an zellmembranständigen Rezeptoren (BCR, B-Zell-Rezeptor) differenzieren sich die B-Lymphozyten zu Plasmazellen und können so spezifische Antikörper gegen das gebundene Antigen produzieren und sezernieren (LÖSCH et al., 2000). Der Anteil der B-Lymphozyten an der Gesamtlymphozytenfraktion der Milch beträgt nur ca. 20 % (CONCHA et al., 1978), er steigt aber bei chronischen Infektionen des Euters an (RIOLETT et al., 2001).

Die T-Lymphozyten reifen im Thymus und haben einen höheren Anteil an der Lymphozytenfraktion. Sie sind für die zellvermittelte Immunität des Körpers verantwortlich. Sie bestehen aus mehreren Subpopulationen, den $\alpha\beta$ -T-Lymphozyten und $\gamma\delta$ -T-Lymphozyten, benannt nach Bestandteilen der T-Zell-Rezeptoren (TCR). Die $\alpha\beta$ -T-Zellen machen den Großteil der T-Lymphozyten aus. Die Funktion der $\gamma\delta$ -T-Zellen ist nicht eindeutig geklärt. Sie befinden sich hauptsächlich im Epithel und Parenchym des Euters, wo sie durch Zerstörung und Beseitigung alter und

beschädigter Zellen eine schützende Wirkung haben könnten. SORDILLO et al. (1997) sprechen von einer möglichen wichtigen Rolle der $\gamma\delta$ -Lymphozyten in der Euterabwehr, für RIOLETT et al. (2001) haben sie eine eher untergeordnete Bedeutung.

Die $\alpha\beta$ -T-Zellen lassen sich weiterhin in CD4+ Lymphozyten (T-Helferzellen) und CD8+ Lymphozyten (zytotoxische oder T-Suppressorzellen) unterteilen. Je nach Laktationsstadium und Gewebelokalisation kann der prozentuale Anteil dieser Zellen signifikant variieren (SORDILLO et al., 1997).

Die Aufgabe der T-Helferzellen besteht in einer Zytokinproduktion als Antwort auf Antigen-MHC-Komplex-Erkennung. Die Zytokinproduktion bewirkt eine Aktivierung von B-Lymphozyten, Makrophagen, T-Lymphozyten und zahlreichen anderen Zellen, die an einer Immunantwort beteiligt sind (NICKERSON, 1985; SORDILLO et al., 1997).

Zytotoxische CD8+ T-Zellen erkennen und vernichten veränderte bzw. infizierte Zellen. Zusammen mit MHC-Klasse-I-Molekülen werden Antigene auf der Oberfläche infizierter Zellen erkannt und gebunden, um anschließend die infizierte Zelle abzutöten. T-Suppressorzellen dienen der Kontrolle und Modulation der Immunantwort. Bei überschießenden Immunreaktionen sind sie in der Lage, die meisten Reaktionen zu unterdrücken. Laut einer Studie von SHAFER-WEAVER u. SORDILLO (1997) soll die immunoregulatorische Rolle der CD8+ Zellen vom Laktationsstadium abhängen: unmittelbar p. p. wurden in der Milch mehr CD8+ Suppressor-Zellen gefunden, im weiteren Verlauf der Laktation überwiegen Zellen vom zytotoxischen Typ.

2.1.3.2.4 Epithelzellen

Der Gehalt der Milch an Epithelzellen ist verhältnismäßig gering. Sie lassen sich von Makrophagen mikroskopisch schlecht unterscheiden, da beide Zellarten sich in Größe (15–30 μm) und Form ähneln. RANKL (2004) entwickelte in Anlehnung an DELVES (1995) und CHEETHAM (1998) eine indirekte immunhistochemische Färbemethode, die eine eindeutige Erkennung von Epithelzellen zulässt. Sie besitzen einen oder seltener zwei runde, zentral gelegene Zellkerne und kommen zeitweise als Zellverband im Milchsekret vor.

Die Rolle der Epithelzellen in der Abwehr des Euters ist noch nicht eindeutig geklärt. Abgesehen von der Formation eines dichten Zellverbands (s. Punkt 2.1.3.1.2) sollen

die sekretorischen Epithelzellen außerdem in der Lage sein, zu phagozytieren (BROOKER, 1983). Die Sekretion von Entzündungsmediatoren, proinflammatorischen Zytokinen und Akute-Phase-Proteinen wurde bewiesen (OKADA et al., 1999; WELLNITZ u. KERR, 2004) und spielt sicherlich die größere Rolle als die Phagozytose (RAINARD u. RIOLETT, 2006).

2.1.3.2.5 Natürliche Killer-Zellen (NK)

Natürliche Killer-Zellen (NK) sind große, lymphoide Zellen, die weder zu den B- noch zu den T-Lymphozyten gezählt werden und eine unspezifische zytotoxische Aktivität besitzen. Die NK können virusinfizierte bzw. Tumorzellen erkennen und abtöten. Sie binden dabei an die Zielzelle und sezernieren durch Degranulation Perforine und TNF, welche die Zellmembran zerstören und die Zelle somit abtöten. Über die Funktion dieser Zellen im Milchsekret wurde bisher wenig beschrieben (LÖSCH et al., 2000; SORDILLO u. STREICHER, 2002; RAINARD u. RIOLETT, 2006).

2.1.3.3 Humorale Abwehrmechanismen

2.1.3.3.1 Lysozym

Lysozym ist Teil der unspezifischen, sauerstoffunabhängigen Abwehr des Rindereuters (SORDILLO et al., 1997). Auch als N-Acetylmuramidase bezeichnet, handelt es sich bei Lysozym um ein Peptid mit einem MG von ca. 15.000 Mol (GÖTZE, 1977). Es besitzt eine hohe Säure- und Hitzestabilität, ist aber in alkalischem Milieu thermolabil (GROSSGEBAUER u. LANGEMAACK, 1968; WENDT et al., 1994). Das Enzym wird in den Zellen des Milchdrüsengewebes und in den Granula der PMN gebildet (WENDT, 1992). Ein Teil des Enzyms diffundiert auch auf direktem Wege, besonders bei erhöhter Durchlässigkeit der Blut-Milch-Schranke, aus dem Blut in die Milchdrüse (NICKERSON, 1985; LUNAU, 1989). Der Gehalt an Lysozym in boviner Milch ist im Gegensatz zum Menschen und anderen Spezies sehr gering (CHANDAN et al., 1968; GÖTZE, 1977; WENDT et al., 1994; SCHLECHT, 2004; PICCININI et al., 2005) (Tab. 2). Schon länger ist bekannt, dass es Rasseunterschiede hinsichtlich des Lysozymgehaltes in der Milch gibt (MEYER et al., 1981, LIE et al., 1986).

Tab. 2: Lysozymgehalt der Milch beim Rind

Autor	Lysozymgehalt der Milch ($\mu\text{g/ml}$)		
	normale Milch	Kolostrum	bei Mastitis
CHANDAN et al., 1968	0,13	k. A.	k. A.
GÖTZE, 1977	0,73	k. A.	2,37
MEYER et al., 1981	0,15–0,30	k. A.	k. A.
WENDT et al., 1994	0,1–1	6 – 40	k. A.
SCHLECHT, 2004	0,02–0,06	k. A.	k. A.
PICCININI et al., 2005	0,05–0,22	k. A.	k. A.
k. A.: keine Angabe			

Die antibakterielle Wirkung des Lysozyms beruht auf seiner Fähigkeit, die 1,4-glykosidischen Bindungen zwischen N-Acetylglucosamin und N-Acetylmuraminsäure des Peptinoglykans enzymatisch zu spalten (GROSSGEBAUER u. LANGEMAACK, 1968; WENDT et al., 1994; PYÖRÄLÄ, 2002). Dadurch wird das zu ca. 90% aus Peptinoglykan bestehende Murein der Bakterienzellwand grampositiver Keime depolymerisiert, was zu Lysis und Tod dieser Bakterien führt (GÖTZE, 1977; WENDT et al., 1994). *Staphylococcus aureus* nimmt eine Sonderstellung unter den grampositiven Keimen ein, da diese Bakterienart in der Lage ist, selbst Lysozym zu bilden und somit eine verminderte Empfindlichkeit gegen das Enzym vorweist (GÖTZE, 1977; PELLEGRINI et al., 1991). Lysozym besitzt in hohen Konzentrationen aber eine hemmende Wirkung auf die Vermehrung dieser Keime (ERHARDT et al., 1981). PICCININI et al. (1999) fanden in ihrer Studie erniedrigte Lysozymaktivitäten in mit *S. aureus* infizierten Vierteln.

Zur Vernichtung gramnegativer Bakterien, deren Zellwand nur zu < 10 % aus Murein besteht, kommt es erst nach Entfernung der Lipopolysaccharidschicht (LPS), wozu in vivo ein Zusammenwirken mit spezifischen Antikörpern (IgA) und Komplement erforderlich ist. Erst dadurch kommt es zur Zerstörung der äußeren Zellwandschicht und anschließendem Abbau der inneren Mucopolysaccharidschicht durch Lysozym (WENDT et al., 1994). Laktoferrin soll für die Abtötung gramnegativer Keime durch Lysozym wichtig sein. Es soll durch Bindung an die Bakterienzellwand zu einer Abspaltung der LPS führen, so dass Lysozym in die Bakterienzelle eindringen kann (ELLISON u. GIEHL, 1991).

Neben der direkten antibakteriellen Wirkung des Lysozyms kommt es noch zu einigen indirekten Effekten, die eine Rolle in der Abwehr spielen. Durch die bei der Depolymerisation der Bakterienwand entstehenden Spaltprodukte werden Immunzellen aktiviert. Lysozym stellt somit einen so genannten Immunomodulator dar (JOLLES, 1976; WENDT et al., 1994). Durch seine positive Ladung werden außerdem negativ geladene Anteile der Zellmembranen von verschiedenen Zellarten neutralisiert. Dadurch wird die Phagozytose dieser Zellen stimuliert (KLOCKARS u. ROBERTS, 1976). SORDILLO u. STREICHER (2002), PYÖRÄLÄ (2002) und RAINARD u. RIOLETT (2006) sehen die Bedeutung von Lysozym als Abwehrmechanismus der bovinen Milchdrüse aufgrund seiner geringen Konzentration in der Milch als untergeordnet.

2.1.3.3.2 Laktoferrin (Lf)

Laktotferrin (Lf), ein Glykoprotein, ist Teil der humoralen, unspezifischen und sauerstoffunabhängigen Abwehr der Milchdrüse. Es wurde auch in Sekreten wie Bronchial-, Nasal- und Zervikalschleim, Harn, Galle, Speichel etc. vorgefunden (MASSON et al., 1966; LÖSCH et al., 2000). Es wird im sekretorischen Epithel der Milchdrüse und in den sekundären und tertiären Granula der PMN gebildet (MASSON et al., 1969; GENNARO et al., 1983; PERSSON et al., 1992; WENDT et al., 1994). Der Laktoferringehalt der Milch ist relativ gering. Während der Trockenstehphase finden sich die höchsten Gehalte an Laktoferrin im Milchdrüsensekret, bei Einsetzen der Laktation sinkt der Gehalt jedoch innerhalb der ersten zwei Wochen, um gegen Ende der Laktation wieder leicht anzusteigen (SANCHEZ et al., 1988; HURLEY, 1989; WENDT et al., 1994, LÖSCH et al., 2000). Bei Sekretionsstörungen und Mastitis kommt es jedoch zu einem Anstieg der Laktoferrinkonzentration in der Milch, was auf eine Beteiligung in der Abwehr des Euters schließen lässt (SENFTE et al., 1977; HARMON u. NEWBOULD, 1980; HAGIWARA et al., 2003, SCHMEDT AUF DER GÜNNE, 2002).

Lf unterscheidet sich vom Transferrin des Blutes u. a. in der Aminosäurezusammensetzung und bindet wie dieses ebenfalls Eisen (WENDT et al., 1994, SORDILLO et al., 1997). Pro Molekül können zwei Atome Eisen gebunden werden. Dadurch kommt es zu einer Konkurrenzsituation, weil das freie Eisen für die Bakterien nicht mehr verfügbar ist. Für das Wachstum aerober Keime ist Eisen

essentiell (FINKELSTEIN et al., 1983; WENDT et al., 1994). Laktoferrin hat vor allem gegen gramnegative Keime eine bakteriostatische Wirkung (NONNECKE u. SMITH, 1984).

Des Weiteren ist Lf in der Lage, die Zellwand gramnegativer Keime zu schädigen und besitzt somit auch bakterizide Eigenschaften. Dabei bildet das Lf Chelatkomplexe mit Zellwandbestandteilen, wobei es zu einer Freisetzung von LPS und somit zur Zerstörung der Bakterienzellwand kommt (ELLISON et al., 1988). YAMAUCHI et al. (1993) konnten feststellen, dass für diesen Vorgang hauptsächlich das Laktoferricin, ein Peptid aus Lf, verantwortlich ist. Durch die Permeabilitätsveränderung der Bakterienzellwand kann nun auch Lysozym in die gramnegativen Keime eindringen. Lf und Lysozym scheinen auf diese Art und Weise eine synergistische bakterizide Wirkung zu besitzen (ELLISON u. GIEHL, 1991).

Die verminderte Wirkung von Laktoferrin in reifer Laktationsmilch wird u. a. auf die Anwesenheit von Zitrat zurückgeführt. Zitrat kann das freie Eisen ebenfalls binden und macht es damit unzugänglich für Lf, wogegen die Bakterien in der Lage sind, den Zitrat-Eisen-Komplex zu verstoffwechseln. Während der Involution kommt es zu einer Resorption des Zitrats und einem Anstieg von Bicarbonat im Sekret – also optimalen Bedingungen für Lf (NICKERSON, 1985; ELLISON et al., 1988; WENDT et al., 1994).

KUTILA et al. (2001) schlugen Lf als potentiell Medikament bei Euterentzündungen vor. Sie fanden keinen signifikanten Unterschied zwischen der Behandlung von *E. coli* –infizierten Eutervierteln mit Enrofloxazin oder Laktoferrin, auch in vitro hatte Lf in hohen Konzentrationen eine gute Wirkung.

2.1.3.3.3 Komplement

Unter dem Begriff Komplement wird eine Reihe von Proteinen zusammengefasst, die im Serum und teilweise auch in der Milch vorkommen. Sie bilden einen wichtigen Träger der angeborenen bzw. unspezifischen humoralen Abwehr der Milchdrüse (SORDILLO et al., 1997; LÖSCH et al., 2000).

Eine Aktivierung der verschiedenen Komplementfaktoren wird durch eine Kaskade von Reaktionen ausgelöst. Dabei kann eine Aktivierung der Kaskade entweder auf klassischem (d. h. durch Antigen-Antikörper-Komplexe) oder alternativem Wege (Membranbestandteile von Bakterien) geschehen (LÖSCH et al., 2000). Die

Komplementfaktoren werden entweder in den Hepatozyten oder in Monozyten und Gewebsmakrophagen synthetisiert (SORDILLO u. STREICHER, 2002). Der Gehalt ist in der Milch relativ gering, während sich im Kolostrum und Trockenstehersekret erhöhte Komplementaktivität beobachten lässt. Während der Laktation kommt es nur im Falle einer Mastitis zu einem erhöhten Gehalt, welches durch erhöhte Exsudation aus dem Serum zustande kommt (RAINARD, 2003).

Die wesentlichen Aufgaben der Komplementfaktoren bestehen in erster Linie in der Anlockung von PMN und anderen Phagozyten (Entzündungsmediatoren) und einer Opsonierung der zu phagozytierenden Partikel. Dabei lagern sich Komplementfragmente (v. a. C3b) an die Bakterienoberfläche, welche dann von speziellen Rezeptoren der PMN erkannt werden können. Somit kommt es zu einer erheblichen Steigerung der Phagozytose (LÖSCH et al., 2000; SORDILLO u. STREICHER, 2002; RAINARD, 2003). Des Weiteren können einige Faktoren des Komplementsystems eine Vasodilatation und eine erhöhte Permeabilität der Gefäße bewirken. Auch eine Stimulation der Histaminausschüttung durch Mastzellen und Basophile sowie eine Stimulation der Zytokinproduktion wird durch Komplement bewirkt (RAINARD, 2003).

2.1.3.3.4 Zytokine

Unter dem Begriff Zytokine wird eine Reihe von Proteinen zusammengefasst, die die Aktivität von Immunzellen der spezifischen und unspezifischen Abwehr regeln. Die vier Hauptgruppen sind die Interleukine (IL), die Colony-Stimulating Factors (CSF), die Interferone (IFN) und der Tumor-Nekrose-Faktor (TNF) (SORDILLO et al., 1997). Die bis heute > 30 identifizierten Proteine werden von verschiedenen Zellarten gebildet. Ihre Funktionen sind vielfältig und sehr komplex, sie können synergistisch, additiv oder antagonistisch wirken (LAWMAN et al., 1989). Ihre Effekte in der Milch sind in Tabelle 3 nach SORDILLO et al. (1997) aus verschiedenen Literaturquellen zusammengefasst.

Tab. 3: Zytokin-Effekte auf Immunzellen der Milchdrüse (zit. nach SORDILLO et al., 1997, übersetzt)

Zytokin ¹	Beobachtung	Quelle
G-CSF	Erhöhter SCC der Milch. Erhöhte Anzahl der PMN in der Milch.	KEHRLI et al., 1991 NICKERSON et al., 1989
GM-CSF	Erhöhte chemotaktische und bakterizide Aktivität d. PMN. Erhöhte zytotoxische Aktivität, die von neutrophilen Antikörpern abhängig war. Erhöhte neutrophile Aktivität.	SORDILLO et al., 1992 SORDILLO, 1992 REDDY et al., 1990
IFN- γ	Erhöhte Phagozytose und bakterizide Aktivität der PMN. Erhöhte bakterizide Aktivität der PMN. Effektives Adjuvans für Mastitis-Vakzine.	SORDILLO/BABIUK, 1991 FOX et al., 1990 PIGHETTI/SORDILLO, 1995
IL-1	Erhöhte Anzahl von PMN. Keine Veränderung der mononukleären Proliferation.	DALEY et al., 1991 TORRE et al., 1992
IL-2	Verstärkte intramammäre mononukleäre Zellproliferation. Erhöhte zytotoxische und bakterizide Aktivität der Lymphozyten. Erhöhte Zellzahl im Plasma. Effektives Adjuvans für Mastitis-Vakzine.	TORRE et al., 1992 SORDILLO et al., 1991 NICKERSON et al., 1989 PIGHETTI/SORDILLO, 1995
¹ G-CSF = Granulocyte colony-stimulating factor, GM-CSF = granulocyte-monocyte colony-stimulating factor, IFN- γ = Interferon- γ und IL = Interleukin.		

2.1.3.3.5 Immunglobuline

Die Immunglobuline („Antikörper“) sind von Plasmazellen gebildete hochmolekulare Proteine. Vier verschiedene Klassen der Immunglobuline (Ig) spielen nach CRAVEN u. WILLIAMS (1985), NICKERSON (1985), SENFT u. NEUDECKER (1991), WENDT et al. (1994) und SORDILLO et al. (1997) bei der spezifischen Abwehr der Milchdrüse eine Rolle:

- IgG1
- IgG2
- IgA
- IgM.

Die Konzentration der einzelnen Ig-Arten variiert je nach Laktations- und Infektionsstadium. Die Ig-Konzentration der Milch eines gesunden Euters ist während der Laktation niedrig und erhöht sich während der Trockenstehphase langsam. Höchste Konzentrationen sind in der Kolostralmilch und bei Infektionen zu

verzeichnen. Durch die erhöhte Gewebe- und Kapillarpermeabilität während einer Mastitis steigt die Ig-Invasion und somit der Gehalt in der Milch (NICKERSON, 1985; SENFT u. NEUDECKER, 1991). Der Gesamt-Ig-Gehalt der Milch besteht aus 85–90 % IgG, 7 % IgM und ca. 5 % IgA (CRAVEN u. WILLIAMS, 1985), wobei der Großteil der IgG-Fraktion v. a. im Kolostrum aus IgG1 besteht (CRAVEN u. WILLIAMS, 1985; KEHRLI u. HARP, 2001).

IgG1, IgG2 und IgM können als Opsonine agieren und somit die Phagozytose von Bakterien durch PMN und Makrophagen verstärken. Sie binden entweder direkt oder indirekt über die C3b-Komponente des Komplements an die Bakterien. PMN und Makrophagen binden mit ihren Fc-Rezeptoren an die Antikörper-Antigen-Komplexe oder an Antikörper-C3b-Antigen-Komplexe und phagozytieren diese somit noch effektiver (NICKERSON, 1985; SENFT u. NEUDECKER, 1991).

IgA hat eine gute lokale antibakterielle und virusneutralisierende Wirkung. Es bindet kein Komplement, bewirkt aber eine Agglutination der Bakterien und eine Toxinneutralisation und verhindert Bakterienansiedelung an den Epithelien der Milchdrüse (NICKERSON, 1985). Es ist somit wichtig für die lokale Immunität des Euters.

2.1.3.3.6 Respiratory Burst

Der Begriff „Respiratory Burst“ wird auch in der deutschsprachigen Literatur immer häufiger verwendet, um die sauerstoffabhängigen Abwehrmechanismen des Euters zusammenzufassen. Es handelt sich hierbei um das Laktoperoxidase-Thiozyanat-Wasserstoffperoxid-System der Milch und dem vergleichbaren intrazellulären Myeloperoxidase-Halogenid-System der PMN (WENDT, 1992; WENDT et al., 1994; SORDILLO u. STREICHER, 2002).

Das Prinzip der Mechanismen des Respiratory Burst ist jeweils dasselbe: am Ende der Reaktionen entstehen hoch reaktive Sauerstoffradikale, die zur Zerstörung von lebenswichtigen Enzymen und damit zur Wachstumshemmung oder Abtötung der Bakterien führen.

Das Enzym *Laktoperoxidase* (*LPO*) wird in der Milchdrüse synthetisiert und sein Gehalt in der Milch unterliegt jahreszeitlichen, fütterungs- und rassebedingten Schwankungen und ist vom Laktationsstadium abhängig (WENDT, 1992).

Das *Thiozyanat* (*SCN*) entstammt dem Blut, wo es in 10-mal höheren Konzentrationen vorliegt als in der Milch (WENDT et al., 1994). Bei Entzündungen kommt es durch Auflockerung der Blut-Milch-Schranke zu einem erhöhten Übertritt und somit erhöhten Konzentrationen in der Milch. Der Blut- und somit auch der Milchgehalt sind durch die Fütterung beeinflussbar: hohe Konzentrationen finden sich in Grünfütter wie z. B. in Klee (WENDT et al., 1994; SORDILLO u. STREICHER, 2002).

Die *Wasserstoffperoxid*-Konzentration (H_2O_2) normaler Milch ist sehr gering, da das laufend gebildete H_2O_2 dem sofortigen Abbau unterliegt.

Die Laktoperoxidase bildet mit Wasserstoffperoxid einen Komplex, der in der Lage ist, Thiozyanat zu Hypothiozyanat zu oxidieren. Dabei erfolgt unter Beteiligung der NADPH-Oxidase die Bildung von Singulett-Sauerstoff (1O) und Superoxidradikalen (O_2^-). Diese hoch reaktiven Oxidationsmittel können mit den SH-Gruppen der Enzyme der Bakterien reagieren und somit eine Hemmung der Zellatmung bewirken. Die drei Komponenten Laktoperoxidase, Thiozyanat und Wasserstoffperoxid müssen für eine optimale Wirksamkeit nach WENDT (1992) bzw. WENDT et al. (1994) in einem bestimmten Verhältnis zueinander vorliegen.

Das der Laktoperoxidase ähnliche Enzym *Myeloperoxidase* (*MPO*) wird in den primären, azurophilen Granula der PMN gebildet. Es katalysiert die Bildung der unterchlorigen Säure aus Wasserstoffperoxid und Chlorid-Ionen. Die unterchlorige Säure ist ein noch reaktiveres Radikal als Wasserstoffperoxid (WENDT et al., 1994; SORDILLO u. STREICHER, 2002; PAAPE et al., 2003). Bei Fusion der phagozytierte Keime beinhaltenden Phagosomen mit azurophilen Granula kommt es zur Freisetzung von Myeloperoxidase (PAAPE et al., 2003). DULIN et al. (1988) verglichen die Chemilumineszenz-(CL-)Aktivität der Blut- und Milchleukozyten und den MPO-Gehalt. Zwischen beiden Leukozytenarten bestanden hoch signifikante Unterschiede, denn sowohl der MPO-Gehalt als auch die CL-Aktivität waren in Blutleukozyten wesentlich höher. Der MPO-Gehalt der Milch-PMN beträgt nur 30–39 % der PMN aus dem Blut (GRUNER et al., 1982).

2.2 Energiestoffwechsel der Milchkuh

2.2.1 Beurteilung der Stoffwechsellage

Der Übergang von Trächtigkeit zur Laktation bedeutet für die Hochleistungsmilchkuh eine enorme metabolische Adaption. Eine Überwachung der Stoffwechsellage bietet die Möglichkeit, Stoffwechselstörungen bereits im subklinischen Stadium zu erkennen. FÜRLL (2005) schlägt dafür ein stufenweises Vorgehen beginnend bereits einige Tage a. p. vor, wobei besonders der 3. Tag p. p. aussagekräftig sein soll. Der 2. wichtige Kontrollzeitraum wird als der Zeitraum von 2. bis 12. Woche p. p. angegeben. Darüber hinaus dient die Stoffwechsellage zur Diagnose und der Prognose stoffwechselbedingter Erkrankungen, der Therapieüberwachung und der Fütterungskontrolle.

2.2.1.1 Stoffwechsellageparameter im Blut

2.2.1.1.1 Bilirubin

Bilirubin ist ein Bestandteil von Hämoglobin, Myoglobin, Cytochromen und Katalasen. Es wird hauptsächlich beim Abbau von Hämoglobin frei. Der Referenzbereich für Bilirubin liegt beim Rind bei $< 5 \mu\text{mol/l}$ (FÜRLL, 2004). Eine Erhöhung des Bilirubingehaltes im Blut bezeichnet man als Ikterus. Gründe für eine Störung des Bilirubinstoffwechsels sind ein erhöhter Anfall von Hämoglobin beispielsweise bei hämolytischen Anämien, des Weiteren bei Leberschäden, Cholestase und auch bei Nahrungskarenz. Gerade bei Wiederkäuern kommt es bei unzureichender Energieaufnahme schnell zu einem sog. Inanitionsikterus. Dabei kommt es zu einem Anstieg der freien Fettsäuren (FFS), die mit dem Bilirubin um dieselben Transportproteine konkurrieren. Daher kommt es zu einem Anstieg des Bilirubingehaltes im Blut auf Werte bis zu $20 \mu\text{mol/l}$.

Konzentrationen über $20 \mu\text{mol/l}$ können ein Hinweis auf Hämolysen sein, Werte von $> 50 \mu\text{mol/l}$ sind bereits meist die Folge von schwerwiegenden Erkrankungen wie z.B. nekrotisierenden Mastitiden oder schweren Leberschäden (FÜRLL, 2004; KRAFT et al., 2005).

2.2.1.1.2 Aspartat-Amino-Transferase (AST)

Die früher als Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) bezeichnete Aspartat-Amino-Transferase (AST) wird in nahezu allen Geweben in unterschiedlichen Konzentrationen angetroffen und ist deshalb wenig spezifisch. Vor allem im Skelettmuskel findet man vergleichsweise hohe Konzentrationen, weshalb man sie v. a. bei Verdacht auf Erkrankungen myogenen Ursprungs, dann aber gleichzeitig mit CK, bestimmt. VAN WINDEN et al. (2003) fanden bei ihren Untersuchungen erhöhte AST-Werte bei Kühen mit linksseitig verlagertem Labmagen. Auch bei Ketosen wurden erhöhte AST-Aktivitäten ermittelt (KAUPPINEN, 1984). Der Referenzbereich wird beim Rind bei < 80 U/l angegeben (FÜRLL, 2004; KRAFT et al., 2005).

2.2.1.1.3 Creatinkinase (CK)

Bei der Creatinkinase (CK) handelt es sich um ein muskelspezifisches Enzym, das im Rahmen der Stoffwechselfeldiagnostik mitbestimmt wird, um AST-Veränderungen deuten zu können. Eine gleichzeitige Erhöhung beider Parameter weist auf eine Erkrankung der (Skelett-)Muskulatur hin. Des Weiteren steigt die CK-Konzentration auffällig bei Erkrankungen des Uterus wie z. B. Endometritis an (SATTLER und FÜRLL, 2002). Auch bei Labmagenverlagerungen und Colimastitiden wurden veränderte Werte gefunden. Als Referenzwert für CK beim Wiederkäuer wird in der Literatur < 200 U/l (FÜRLL, 2004) bzw. < 250 (KRAFT et al., 1999) angegeben.

2.2.1.1.4 Glutamat-Dehydrogenase (GLDH)

Bei der Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) handelt es sich um ein leberspezifisches Enzym, das den Mitochondrien der Hepatozyten entstammt. Die GLDH ist ein sehr empfindliches Enzym, dessen Aktivität bereits bei geringeren Schädigungen durch z.B. sekundäre Hepatopathien ansteigt. Es wurden jedoch auch hohe Konzentrationen im Nierengewebe gefunden (FÜRLL et al., 2002). Der Referenzbereich für GLDH liegt beim Rind bei < 40 U/l (FÜRLL, 2004) bzw. < 30 U/l (KRAFT et al., 2005).

2.2.1.1.5 γ -Glutamyl-Transferase (GGT)

Die Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) ist ein leberspezifisches Enzym. Der Referenzwert liegt bei < 25 U/l (FÜRLL, 2004) bzw. < 50 U/l (KRAFT et al., 2005). Eine Aktivitätssteigerung der relativ sensiblen GGT spricht hauptsächlich für intra- oder extrahepatische Cholestasen, auch bei intensiver Mobilisation des Körperfetts wurde eine Erhöhung der GGT nachgewiesen (TEICHMANN, et al., 2002). Da Kolostrum sehr GGT-reich ist, kommt es bei neugeborenen Kälbern zu hohen GGT-Aktivitäten, weshalb sich dieser Parameter ebenfalls zur Kontrolle der Kolostrumversorgung eignet.

2.2.1.1.6 Alkalische Phosphatase (AP)

Das Enzym Alkalische Phosphatase (AP) kommt in nahezu allen Geweben und Organen vor und reagiert gerade beim Wiederkäuer erst bei schweren Leberschäden. Einen einheitlichen Referenzbereich gibt es für die AP nicht, da ihre Aktivität stark vom Alter des Tieres abhängt. Er liegt beim erwachsenen Rind über drei Jahren bei < 300 U/l (KRAFT et al., 2005).

2.2.1.1.7 Freie Fettsäuren (FFS, NEFA)

Freie (nicht-veresterte) Fettsäuren (FFS bzw. NEFA) entstehen dann, wenn der Organismus einem erhöhten Energiebedarf ausgesetzt ist, der durch die Futtermittelaufnahme nicht mehr gedeckt werden kann. Es entsteht also eine negative Energiebilanz, in der die Kuh die erforderliche Energie aus körpereigenen Reserven mobilisieren muss. Dies geschieht als erstes in Form einer Lipolyse, bei der das körpereigene Fett, welches in Form von Triglyceriden vorliegt, in Glycerin und freie Fettsäuren gespalten wird. Dabei kommt es zu erhöhten Gehalten von FFS im Blut (SCHOLZ, 1990). RUKKWAMSUK et al. (1999) zeigten, dass es bei Kühen nach übermäßiger Fütterung während der Trockenstehperiode zu stärkerer Lipolyse kommt, als bei unterkonditionierten, restriktiv gefütterten. Das sog. „Fettmobilisationssyndrom“ wird unter Punkt 2.2.2.1 ausführlich beschrieben. Der Referenzwert für FFS liegt bei < 620 μ mol/l (FÜRLL, 2005). Bei erhöhten Konzentrationen kommt es zu negativen Auswirkungen auf die Fertilität

(JORRITSMA et al., 2003) und einem erhöhtem Ketoserisiko. FÜRLL (2004, 2005) spricht von einer schlechten Anpassungsfähigkeit an das Energiedefizit.

2.2.1.1.8 β -Hydroxybutyrat (BHB)

Neben Aceton und Acetoacetat ist die β -Hydroxybuttersäure (β -Hydroxybutyrat, BHB) der dritte Ketonkörper, der bei ungenügender Verfügbarkeit von Glucose und anschließend unvollständigen Abbau von Fettsäuren gebildet wird. Ketonkörper finden sich auch in physiologischen Zuständen in gewissen Konzentrationen im Serum. Sie dienen der schnellen Energieversorgung der Gewebe. Ein Anstieg der Ketonkörper im Blut (Hyperketonämie) gehört zu den häufigsten Stoffwechselstörungen beim Wiederkäuer (KRAFT et al. 1999) und kann verschiedene Ursachen haben. Um eine Ketose (s. Punkt 2.2.2.2) nachzuweisen, wird i. d. R. BHB bestimmt, da dieser Parameter einfacher zu bestimmen und stabiler ist. Der Referenzbereich für BHB liegt bei < 6 mmol/l (FÜRLL, 2004; KRAFT et al. 1999).

2.2.1.1.9 Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I)

Bei dem vorwiegend in der Leber synthetisierten IGF-I (und -II) handelt es sich um ein dem Proinsulin ähnliches Polypeptid (BREIER u. SAUERWEIN, 1995). Die Aminosäuresequenz des IGF-I ist bei Mensch, Rind und Schwein identisch (BAXTER, 1986). Die relativ stabile Plasmakonzentration hängt mit der langen biologischen Halbwertszeit zusammen. In Fütterungsversuchen mit Kälbern konnten BREIER et al. (1988) zeigen, dass die Plasmakonzentration aber deutlich von der Fütterung und dem Alter des Rindes beeinflusst wird. Bei erwachsenen Rindern wurden laktationsbedingte Einflüsse auf den IGF-I-Blutspiegel gefunden: VEGA et al. (1991) stellten fest, dass die Konzentration von der letzten Woche der Trockenstehperiode bis zur Abkalbung um das dreifache sank. Auch in den Untersuchungen von MALLARD et al. (1997) kam es zu einem Anstieg von IGF-I um den Geburtszeitpunkt herum, der dann im Verlauf der Laktation sank. In der Milch wurden die höchsten Konzentrationen im Kolostrum gefunden. Laut SPICER et al. (1990) korreliert die IGF-I-Konzentration im Blut positiv mit der Energibilanz, d.h. bei

negativer Energiebilanz sinkt auch der IGF-I-Gehalt im Blut. Es wurden auch niedrigere IGF-I-Aktivitäten im Blut von Kühen mit hoher Milchleistung als bei Kühen mit niedriger Milchleistung gefunden (FALCONER et al., 1980).

Die Ausschüttung von Wachstumshormon (GH) und IGF unterliegt einem Regelkreis mit negativem Feedback, d.h. GH bewirkt eine verstärkte Bildung von IGF, während eine erhöhte IGF-Konzentration eine vermehrte Somatostatin-Ausschüttung zur Folge hat. Dieses bewirkt wiederum eine Hemmung der GH-Ausschüttung.

Die Funktionen von IGF-I sind unterschiedlich und hängen vom entsprechenden Gewebe ab. Vor allem in Muskel- und Fettgewebe besitzt es eine insulinähnliche Wirkung wie u. a. die Aktivierung des Glucosetransports, der Glykolyse und der Glykogensynthese. Es ist außerdem am Wachstum beteiligt und besitzt eine ausgesprochen mitogene Wirkung und stimuliert somit die Zellproliferation (VEGA et al., 1991; PERI et al., 1992). Bei einer Mastitis erhöht sich die Genexpression für verschiedene Wachstumsfaktoren, u. a. IGF-I, im Eutergewebe. Zellprotektive Funktion und Beteiligung an Reparationsvorgängen von IGF-I wurden deshalb vorgeschlagen (SHEFFIELD, 1997). Auch LIEBE u. SCHAMS (1998) fanden erhöhte Konzentrationen von IGF-I in Sekret von infizierten Eutervierteln. IGF-I soll zusammen mit GH eine stimulierende Wirkung v. a. auf unspezifische Abwehrmechanismen im Euter haben (BURVENICH et al., 1999). Laut MALLARD et al. (1997) korreliert dagegen die IGF-Konzentration im Gegensatz zur GH-Konzentration negativ mit der Antikörperproduktion.

Des Weiteren ist IGF-I in der Lage, das Follikelwachstum zu stimulieren, was auf eine synergistische Wirkung mit FSH und LH zurückzuführen ist (LUCY, 2000; JORRITSMA et al., 2003).

2.2.1.2 Stoffwechselfparameter in der Milch

2.2.1.2.1 Milchmenge

Die durchschnittliche Milchleistung hängt neben dem Gesundheitszustand der Kuh außerdem von der Anzahl der Laktationen, der Rasse und der Fütterung ab. Sie lag 2003 in der Bundesrepublik Deutschland auf das Jahr umgerechnet pro Kuh bei 7355 kg (LKV, 2003). Die tägliche Milchleistung ist unter physiologischen Bedingungen vor allem vom Laktationszeitpunkt abhängig. Die Laktationskurve steigt

in den ersten beiden Wochen der Laktation steil an, hält dieses Niveau mehr oder weniger bis um die 11. Woche, um dann ab der 12. Woche stetig abzufallen. Bei Krankheitszuständen, insbesondere bei Euterentzündungen, kommt es zu einem starken Leistungsabfall.

Der starke Peak der Laktationskurve bedeutet einen immensen Energieaufwand für die Kuh, der für die Stoffwechsellage maßgeblich verantwortlich ist. Je steiler er ansteigt, desto ausgeprägter ist die negative Energiebilanz mit ihren Begleiterscheinungen des Fettmobilisationssyndroms. Deshalb wird eine flache Laktationskurve angestrebt, um der Gefahr von Erkrankungen im peripartalen Zeitraum vorzubeugen.

2.2.1.2.2 Laktose

Bei der Laktose handelt es sich um ein Disaccharid aus Galaktose und Glucose, welche über eine 1,4- β -glykosidische Bindung miteinander verbunden sind. Die Glucose entstammt dem Blut, aus ihr wird im Eutergewebe zunächst die Galaktose synthetisiert. Dann werden beide Zuckermoleküle mithilfe des in den Epithelzellen vorkommenden Enzyms Laktose-Synthetase zur Laktose verbunden (GÜRTLER u. SCHWEIGERT, 2000). Da die Blutglucose der reglementierende Faktor für die Laktosesynthese in der Milch ist, ist die Laktosekonzentration der Milch von der Fütterung abhängig (FÜRLL, 2005). Weitere Einflüsse auf den Laktosegehalt der Milch sind Alter, Laktationsstadium, Eutergesundheit, Jahreszeit, Melkintervall und Milchfraktion. Bei einer Mastitis sinkt die Laktosekonzentration, sogar in benachbarten gesunden Vierteln (HORVATH et al., 1981; MIELKE et al., 1985; GÜRTLER u. SCHWEIGERT, 2000; BANSAL et al., 2005). Da die Laktose bereits im subklinischen Stadium einer Mastitis sinkt, eignet sie sich eventuell zur Detektion von Euterentzündungen (KRÖMKER u. HAMANN, 2001; PYÖRÄLÄ, 2002).

Der Laktosegehalt verändert sich außerdem je nach Melkfraktion. Laut VANGROENWHEGE et al. (2002) und SARIKAYA et al. (2005) ist der Gehalt im Vorgemelk und Anfangs-Hauptgemelk höher als im Restgemelk. Der Referenzbereich liegt bei 46–50 g/l (FÜRLL, 1999; GÜRTLER u. SCHWEIGERT, 2000).

2.2.1.2.3 Harnstoff

Der Milchharnstoff dient in gewisser Weise als Indikator für Energiemangelsituationen. Harnstoff wird in der Leber aus dem Pansen entstammendem Ammoniak synthetisiert. Der überschüssige Ammoniak entsteht im Pansen, wo er aufgrund der unzureichenden Energie nicht wie unter physiologischen Bedingungen für die Synthese von bakteriellem Protein genutzt werden kann. Von dort aus gelangt er in die Leber, wo es zum Abbau des Ammoniaks zu Harnstoff kommt (SCHOLZ, 1990). Der Harnstoffgehalt der Milch korreliert eng mit dem des Blutes (FÜRLL, 2005). Der Referenzbereich in der Milch liegt bei 2,5–5,0 mmol/l. Laut FÜRLL (2005) können aber bei erhöhten Harnstoffwerten nur teilweise Rückschlüsse auf eine Unterversorgung gezogen werden.

2.2.1.2.4 Fett

Der Fettgehalt der Milch ist stark rasse- und fütterungsabhängig. Auch das Laktationsstadium hat Einfluss auf den Milchfettgehalt, in der Spätlaktation kommt es zu erhöhten Fettgehalten in der Milch (GÜRTLER u. SCHWEIGERT, 2000; FÜRLL, 2005). Bei Energiemangel kommt es zu einer Lipolyse des Körperfetts. Die dabei entstehenden FFS gelangen in die Leber, wo sie einerseits in Form von Triglyzeriden gespeichert werden, andererseits mithilfe von Transportproteinen (VLDL) in die Gewebe und somit in das Euter gelangen. Dort kommt es zu einer Zunahme der Milchfettsynthese (DEVRIES u. VEERKAMP, 2000). Nach Beendigung der Lipolysephase sinkt der Milchfettgehalt für eine Zeit, ebenso ist dies bei Mastitiden der Fall. Der Referenzbereich für den Milchfettgehalt liegt unter Berücksichtigung der genannten Einflussfaktoren bei 3,5–4,5 % (FÜRLL, 2005).

2.2.1.2.5 Eiweiß

Auch beim Milcheiweiß handelt es sich um einen von den meisten bereits o. g. Faktoren abhängigen und beeinflussbaren Milchinhaltstoff. Proteine in der Milch setzen sich aus Caseinen, Milchserumproteinen, Enzymen und Bestandteilen der Membran der Fettkügelchen zusammen (GÜRTLER u. SCHWEIGERT, 2000). Bei Mastitiden kann der Eiweißgehalt entweder steigen oder sinken. Hierbei wird v. a. die

qualitative Zusammensetzung der Proteine verändert. Auch im Kolostrum verschiebt sich der Proteingehalt zugunsten der Immunglobuline.

Bei Energiemangel kommt es aufgrund verminderter Proteinsynthese im Pansen zu einer Abnahme des Milcheiweißes (SCHOLZ, 1990). Der Proteingehalt der Milch wird seltener allein, sondern vielmehr in Verbindung mit dem Fettgehalt für die Stoffwechselfeldiagnostik bestimmt (FÜRLL, 1999).

2.2.1.2.6 Fett-Eiweiß-Quotient (FEQ)

Wie oben bereits erwähnt, sinkt der Milcheiweißgehalt bei einem Energiedefizit, während der Milchfettgehalt dazu tendiert, zu steigen. Der gegenläufige Trend der beiden Parameter kann ausgenutzt werden, um eine Energiemangelsituation schnell und sensibel zu erkennen. Dabei wird aus beiden Faktoren der Quotient gebildet:

$$\text{FEQ} = \frac{\text{Milchfett (\%)}}{\text{Milcheiweiß (\%)}}$$

Ein Vorteil der Bestimmung des FEQ ist es, dass die Einflussgröße Milchmenge hierbei entfällt. Nachteilig wirkt sich dagegen die zeitlich unterschiedliche Stabilisierung der beiden Parameter aus: erst ab der 3. bis 5. Laktationswoche hat der FEQ eine ausreichende Aussagekraft. Er sollte zwischen 1 und 1,5 liegen (FÜRLL, 2005).

2.2.1.2.7 Fett-Laktose-Quotient (FLQ)

In jüngerer Zeit wird neben dem FEQ auch der Fett-Laktose-Quotient (FLQ) bestimmt, der nach REIST et al. (2002) ein noch besserer Indikator für die Energiebilanz sein soll. Er korreliert mit dieser negativ, was in Untersuchungen von SEGGEWISS (2004) bestätigt wurde. Laut STEEN et al. (1996) liegt bei Werten > 0,8 eine Ketose vor.

2.2.1.2.8 Ketonkörper

Die Bestimmung der Ketonkörper in der Milch ist sensibler als die des FEQ und hat eine höhere Aussagekraft bezüglich Stoffwechselstörungen. Die Diagnostik ist jedoch so aufwändig, dass sie in der Praxis weniger zum Einsatz kommt (SCHOLZ, 1990; FÜRLL, 2005). Bei einer Ketose steigen die Ketonkörper in der Milch rasch an. Bei 0,1–0,2 mmol BHB pro Liter Milch spricht man von einer geringgradigen Ketolaktie, bei 0,3–0,5 mmol/l von einer mittelgradigen und bei > 0,5 mmol/l von einer hochgradigen Ketolaktie (FÜRLL, 2005).

2.2.1.3 Konditionsbeurteilung

2.2.1.3.1 Körperkondition und Stoffwechselstatus

Die Konditionsbeurteilung ist ein gut geeignetes Verfahren für die Beurteilung der Energiebilanz der Milchkuh über einen m. o. w. längeren Zeitraum hinweg. Bei jeder Verfahrensart werden in verschiedenen Zeitabständen Daten erfasst und anschließend miteinander verglichen, so dass Veränderungen der Körperkondition deutlich werden. Da Kühe das meist zu Beginn der Laktation bestehende Energiedefizit über Mobilisation körpereigener Reserven (meist des Körperfetts) ausgleichen, macht sich dies über Verlust von Fettgewebe bemerkbar. Nach WILDMAN et al. (1982) kann auch in der Spätlaktation eine exzessive Lipolyse erkannt werden und so z.B. Stoffwechselstörungen in der darauf folgenden Frühaktation vorgebeugt werden.

Es sind nach STAUFENBIEL und SCHRÖDER (2004) drei Verfahren möglich:

- Lebendmassewägung
- Body Condition Scoring (BCS)
- Messung der Rückenfettdicke (RFD)

2.2.1.3.1 Verfahren zur Konditionsbeurteilung

2.2.1.3.1.1 Lebendmassewägung

Bei der Lebendmassewägung (LM) handelt es sich um eine einfache, nicht-invasive aber auch relativ ungenaue Methode zur Bestimmung der Körperfettreserven. Das

Körpergewicht hängt u. a. von der Rahmengröße des Tieres, dem Füllungszustand des Verdauungstraktes und bei trächtigen Tieren vom Gewicht des Uterus samt Inhalt ab (STAUFENBIEL u. SCHRÖDER, 2004). Vorteil der Methode ist, dass sowohl Fett- als auch Proteindepots erfasst werden (STAUFENBIEL, 1993). Jüngere Kühe bis zur 3. Laktation befinden sich noch in der Phase des Proteinansatzes und nehmen in der 1. Laktation sogar noch zu. Erst ab der 3. Laktation laufen Fettabbau und Lebendmasseverlust parallel ab. Kühe können dabei in kurzer Zeit eine größere Menge Körpergewicht verlieren. Früher galt ein Lebendmasseverlust von 50 kg in der Früh-laktation als physiologisch (STAUFENBIEL u. SCHRÖDER, 2004). Da sich die Körperzusammensetzung verändert und somit auch der Energiegehalt pro kg Körpergewicht, spiegelt die Lebendmasseveränderung den Energiehaushalt auch bei älteren Kühen zu ungenau wider und wurde deshalb von anderen Verfahren weitgehend abgelöst (STAUFENBIEL, 1993; STAUFENBIEL u. SCHRÖDER, 2004).

2.2.1.3.1.2 Body Condition Scoring

Im Gegensatz zur LM handelt es sich beim Body Condition Scoring (BCS) um eine subjektive Untersuchungsmethode. Dabei werden bestimmte Punkte an der Hüft- und Lendenregion der Kuh betrachtet und/oder palpiert und die subkutane Fettschicht (das metabolisierbare Fett- und Muskeldepot) subjektiv eingeschätzt (WILDMAN et al., 1982; EDMONSON et al., 1989). Laut EDMONSON et al. (1989) reicht die Betrachtung markanter Punkte aus. Eine Palpation ist also nicht nötig, was die Methode noch vereinfacht. Die Bewertung erfolgt anhand von Noten von 1–5 (s. Abb. 1). Dabei werden die Noten je nach Kondition verteilt (1 = extrem mager bis 5 = verfettet). Man geht dabei nach dem Indexsystem von EDMONSON et al. (1989, modifiziert von R. MANSFELD in MARTIN et al., 2007) in 0,25–0,5-Schritten vor (Abb. 1). Zum Zeitpunkt der Kalbung wird eine Konditionsnote zwischen 3,25 und 3,75 angestrebt, ideal ist eine Note von 3,5 (HEUWIESER u. MANSFELD, 1992; METZNER et al., 1993). Die tolerierbare negative Veränderung des BCS im peripartalen Zeitraum wird von den meisten Autoren mit < 1 BCS-Note angegeben (SALTMAN, 1990; FERRY, 1992; HEUWIESER u. MANSFELD, 1992; METZNER et al., 1993), RUEGG et al., (1992) tolerieren sogar weniger ($< 0,75$).













	Score	Dornfortsätze (DF) (individuelle Unterschiede)	Verbindungsline zwischen Quer- und Dornfortsätzen	Querfortsätze (QF)	überstehender Teil der LW-Querfortsätze (Pansenfüllung!)	Hüfthöcker und Sitzbeinhöcker	Bereich zwischen Hüft- und Sitzbeinhöcker	Bereich zwischen den Hüfthöckern	Schwanzwurzel und Sitzbeinhöcker
hochgradig unterkonditioniert (abgemagert)	1,00	einzelne Dornfortsätze treten deutlich hervor, "sägezahnähnlich"	tief eingesenkt	deutlich hervortretende >1/2 sichtbar	deutlicher Sims, hager	extrem scharf, kein Fettgewebe	völliger Fleischverlust	sehr stark eingesunken	Knochen deutlich hervortretend, tiefe V-förmige Beckenausgangsgrube
	1,25								
Knochenvorsprünge gut sichtbar	1,50								
	1,75			1/2 sichtbar					
	2,00	einzelne Fortsätze zu erkennen	deutlich eingesenkt	1/2-1/3 sichtbar	vorstehender Sims	vorstehend	stark eingefallen		Knochen hervortretend, U-förmige Beckenausgangsgrube
ausgeglichene Nährstoffbilanz (Ausbildung von Skelettvorsprüngen und übrigen Gewebe im Gleichgewicht)	2,25			1/2-1/3 sichtbar					
	2,50	deutlich hervorstehende Rückenlinie		1/3-1/4 sichtbar	leicht vorstehend		dünne Fleischauflage	deutlich eingesunken	erste Anzeichen von Fett
	2,75								
	3,00		leicht konkave Linie	<1/4 sichtbar	kaum vorstehend	weich	ingesunken	leicht eingesunken	Knochen weich abgehoben, Fettauflage, Beckenausgangsgrube flach
	3,25	weiche Rückenlinie, DF treten nicht hervor	leicht geneigt	weich QF angedeutet		abgedeckt	leicht eingesunken	wenig eingesunken	
Knochenvorsprünge undeutlich erkennbar	3,50			leichte Konturbildung, keine einzelnen QF erkennbar					
	3,75						wenig eingesunken		
	4,00	flache Rückenlinie, DF nicht erkennbar	fast waagrecht	weiche, runde Enden	nicht vorstehend	mit Fettgewebe bedeckt, abgerundet		flach, eben	Knochen von Fett umgeben, abgerundet, Beckenausgangsgrube ange-deutet
hochgradig überkonditioniert	4,25						flach, eben		
	4,50			Enden kaum erkennbar		im Fett verschwunden			Knochen im Fett verschwunden, Beckenausgangsgrube mit Fett angefüllt, Fettgewebefalten
	4,75								
	5,00	DF von Fettauflage verdeckt	abgerundet konvex	im Fett verschwunden	abgerundet		abgerundet	abgerundet	

Abb. 1: BCS-Indextafel nach EDMONSON et al. (1989), modifiziert von R. MANSFELD (in MARTIN et al., 2007)

2.2.1.3.1.3 Messung der Rückenfettdicke und der Muskeldicke

Als Rückenfett wird die subkutane Fettschicht bezeichnet, die sich zwischen der Haut und der Fascia trunci profunda über dem M. glutaeus medius und dem M. longissimus dorsi befindet. Die Dicke der subkutanen Fettschicht korreliert eng mit dem Gesamtkörperfettgehalt des Rindes (SCHRÖDER u. STAUFENBIEL, 2006).

Die Messung der Rückenfettdicke (RFD) erfolgt meistens per Ultraschall, wobei invasive Methoden mittels penetrierender Nadel ebenfalls beschrieben wurden (STAUFENBIEL, 1992), heute aber als obsolet anzusehen sind (SCHRÖDER u. STAUFENBIEL, 2006). Es wurden zwei mögliche Stellen zur Messung der RFD beschrieben: nach STAUFENBIEL (1992) und KLAUHN (1992) liegt der Untersuchungsbereich sakral, d. h. auf einer Verbindungslinie zwischen dem oberen Tuber coxae und dem dorsalen Tuber ischiadicum, ca. eine Handbreit neben dem

Tuber ischiadicum. Sie wählten diese Stelle für die RFD-Messung aus, weil dort die Korrelation zwischen RFD und Körperfettgehalt am höchsten war ($R^2 = 0,90$), und die Stelle leicht auffindbar und zugänglich ist. BRUCKMAIER et al. (1998) schlagen dagegen einen lumbal gelegenen Bereich vor. Dieser befindet sich auf dem M. longissimus dorsi, im rechten Winkel zu den Dornfortsätzen im Bereich des 5. Lendenwirbels zwischen 12. und 13. Rippe. Der Messbereich wird rasiert und für einen besseren Kontakt des Linearschallkopfs (5,0–7,5 MHz) wird entweder 70-80%iger Alkohol oder Paraffinöl aufgetragen (BRUCKMAIER et al., 1998; SCHRÖDER u. STAUFENBIEL, 2006). Im Ultraschallbild sind die verschiedenen Strukturen aufgrund der unterschiedlichen Schalldichte der Gewebe gut zu erkennen. Die Hautdicke in diesem Bereich beträgt ca. 5–6mm. Die tiefe Körperfazie zeichnet sich auf dem M. gluteus liegend als dünne weiße Linie ab. Zwischen Haut und der Fazie liegt das zu messende Rückenfett (SCHRÖDER u. STAUFENBIEL, 2006). Es werden zwei Bilder pro Tier angefertigt, um die maximale Muskeldicke des M. longissimus dorsi/M. gluteus medius ebenfalls messen zu können.

2.2.1.4 Vergleich der Methoden BCS und RFD

Im Vergleich zum BCS ist die Messung der RFD eine objektive Messmethode. Beide Methoden sind einfach in der Ausführung, nicht-invasiv und relativ schnell in der Durchführung.

Obwohl das BCS eine subjektive Messmethode darstellt, konnten EDMONSON et al. (1989) feststellen, dass nahezu alle Anwender, ob erfahren oder unerfahren, mit den Einschätzungen der Konditionsnoten gut übereinstimmten.

Beide Methoden korrelieren eng miteinander: Die Abnahme von einer Konditionsnote ist rasseabhängig mit durchschnittlich 50kg Körperfettverlust gleichzusetzen (OTTO et al., 1991; BUSKIRK et al., 1992; WALTNER et al., 1994; KOMARAGIRI et al., 1998) und 1mm der RFD entspricht ca. 5kg Körperfett (KLAWUHN u. STAUFENBIEL, 1997). Daraus folgt, dass eine Konditionsnote ca. 10 mm Rückenfett entspricht.

Im Vergleich zum BCS ist die Messung der RFD aufgrund ihrer Objektivität genauer und sensitiver. Je nach Rasse, Alter und Kondition der Kühe kann es beim BCS zu einer Unter- oder Überschätzung der Kondition der Kühe kommen (LÖSCHNER u. STAUFENBIEL, 1996). MÖSENFECHEL et al. (2000) ziehen bei Braunvieh-Kühen

die Messung der RFD vor, auch SCHRÖDER u. STAUFENBIEL (2006) erwähnen als Vorteile der RFD die Sensitivität auch in Bezug auf kleinere Veränderungen, die mit BCS schwierig zu erfassen sind. STAUFENBIEL (1997) schlägt zudem vor, beide Methoden miteinander zu kombinieren.

2.2.2 Der Stoffwechsel der Hochleistungskuh in der peripartalen Phase

Aufgrund ihrer hohen Milchleistung hat die Hochleistungskuh rund um den Geburtszeitpunkt mit zahlreichen Stoffwechselstörungen und daraus resultierenden Sekundärerkrankungen zu kämpfen. Aber auch umgekehrt können Primärleiden Ursache für Stoffwechselprobleme sein. Meistens lassen sich die einzelnen Erkrankungen nicht voneinander trennen und treten gemeinsam oder zeitlich überlappend auf. In ihrer Gesamtheit werden sie als „peripartaler Krankheitskomplex“ zusammengefasst (ROSSOW, 2003a). Dazu zählen:

- Fettmobilisationssyndrom
- Ketose
- Gebärparese
- Metritis/Endometritis
- Retentio secundinarum
- Tot- und Schweregeburten
- Fruchtbarkeitsstörungen
- Pansenazidose
- Labmagenverlagerung
- Klauenrehe
- Mastitis

Anschließend wird lediglich auf die primär den Stoffwechsel betreffenden Erkrankungen wie das Fettmobilisationssyndrom (FMS) und die Ketose eingegangen.

2.2.2.1 Fettmobilisationssyndrom (FMS)

Das FMS setzt bereits kurz vor dem Partus ein und kann bis ca. 3 Wochen p. p. (ROSSOW, 2003b) andauern. In dieser Zeit steigt der Energiebedarf der Milchkuh durch die Hochträchtigkeit und beginnende Laktation um ein Vielfaches. Da die Futteraufnahme zu diesem Zeitpunkt aufgrund erhöhter Östrogenkonzentration im Blut (FORBES, 1986) trotz des höheren Energiebedarfs reduziert wird, kommt es zu einer Entgleisung des Stoffwechsels. Um das Energiedefizit auszugleichen, wechselt der Organismus von einer anabolen in eine katabole Stoffwechsellage (STÖBER, 2002). Der Organismus versucht dann, das Energiedefizit durch die Mobilisierung körpereigener Energiereserven (Fettdepots) auszugleichen. Dabei werden verstärkt langkettige, nicht-veresterte (freie) Fettsäuren (FFS, NEFA) ins Blut abgegeben. Von dort aus gelangen sie zu verschiedenen Geweben, wo sie der Energiegewinnung dienen. Im Euter werden sie zur Milchfettsynthese genutzt. Überschüssige FFS gelangen in die Leber, wo sie zu Triglyzeriden verestert und in dieser Form in den Hepatozyten gespeichert werden. Der Abbau erfolgt entweder durch Oxydation im Zitratzyklus oder durch Bildung von Ketonkörpern, außerdem erfolgt ein Einbau in Lipoproteine (VLDL), welche über das Blutsystem aus der Leber abtransportiert werden. Der Abtransport von Fetten durch VLDL ist aber generell bei Kühen sehr langsam und verlangsamt sich mit fortschreitender Verfettung der Leber immer mehr (GRUMMER, 1993). Ein Mangel an Glucose wirkt zusätzlich prädisponierend für die Entstehung des FMS: da die Gluconeogenese Vorrang vor dem Fettabbau hat, für beides aber Oxalacetat benötigt wird, leidet schließlich der oxidative Fettabbau (STÖBER, 2002). So steigt der Gehalt der FFS im Blut immer weiter an, die Leber lagert das Fett zunehmend ein und die sogenannte „Fettleber“ entsteht. Bei hochgradiger Verfettung der Leberzellen kommt es durch intrazelluläre Hypoxie und Energiemangel zu Schädigungen des Zellkerns und weiterer Zellorganellen (z.B. Mitochondrien).

Über den Gehalt der FFS im Blut können direkte Schlüsse auf ein Energiedefizit gezogen werden. Auch der FEQ in der Milch ist ein Indikator für das FMS: bei erhöhtem Milchfettgehalt und gleich bleibender bzw. niedrigerer Proteinkonzentration (FEQ > 1,5).

2.2.2.2 Ketose

Die Pathophysiologie der Ketose ist eng verknüpft mit der des FMS. Als Ketose bezeichnet man das Vorkommen der drei Ketonkörper β -Hydroxybutyrat (BHB), Acetacetat und Aceton im Blut. Es handelt sich hierbei um eine physiologische Stoffwechselreaktion, die in Energiemangelsituationen eine körpereigene Reserve darstellt, die aber schnell entgleisen kann und dann pathologische Konsequenzen nach sich zieht (LEAN et al. 1994). Ketonkörper können u. a. in der Muskulatur und im Euter zur Energiegewinnung genutzt werden.

Die Ketose lässt sich in verschiedene Formen einteilen:

- primäre Ketose
- sekundäre Ketose
- alimentäre Ketose

Unter *primärer Ketose* versteht man die übermäßige Bildung von Ketonkörpern aus überschüssigen Fetten. HOLTENIUS u. HOLTENIUS (1996) bezeichnen diese Form als hypoglykämische, hypoinsulinämische Ketose. Sie entsteht vorwiegend ca. 3–6 Wochen nach dem Abkalben und ist bedingt durch einen Glucosemangel, der zu einer verstärkten Fettmobilisation führt. Bei der (reduzierten) Gluconeogenese wird das beim Fettabbau benötigte Oxalacetat verbraucht und verhindert somit die oxidative Fettverbrennung. Die überschüssigen Fettsäuren werden zu Ketonkörpern abgebaut.

Als *sekundäre Form*, laut HOLTENIUS u. HOLTENIUS (1996) auch die hyperglykämische, hyperinsulinämische Form, wird der Zustand bezeichnet, wenn es aufgrund einer Primärerkrankung (Mastitis, Nachgeburtsverhalten, Hypokalzämie, Labmagenverlagerung etc.) zu einer verminderten Futteraufnahme und daraus resultierendem Energiedefizit kommt.

Die *alimentäre Ketose* entsteht durch hohen Gehalt an β -Hydroxybutyrat im Pansen. Dazu kann es nach Aufnahme schlechter Silage mit hohen Gehalten an Buttersäure kommen (FÜRLL, 2002).

Die pathophysiologischen Vorgänge der verschiedenen Ketoseformen sind eng miteinander verknüpft und eine akkurate Trennung ist selten möglich, da mehrere Erkrankungen oft nebeneinander persistieren. Es kann zu einer klinischen Symptomatik mit Erhöhung der Ketonkörperkonzentration in Blut, Harn und Milch

sowie einem Rückgang der Futteraufnahme und Milchleistung bis hin zur nervösen Form kommen. Die weit häufiger vorkommende subklinische Ketose kann Folgen wie Milchrückgang, verminderte Fruchtbarkeit und herabgesetzte Immunabwehr nach sich ziehen (FÜRLL, 2002).

2.2.2.3 Beziehungen zwischen peripartalen Stoffwechselstörungen und Abwehrmechanismen des Euters

Es ist bekannt, dass die Anfälligkeit der Milchkuh für Mastitiden in der peripartalen Phase besonders hoch ist (LOTTHAMMER et al., 1988). Die Phase der höchsten Mastitisinzidenz findet zeitgleich mit der Entgleisung des Stoffwechsels statt, von der hauptsächlich pluripare Hochleistungskühe betroffen sind (SURYIASATHAPORN et al., 2000). Aus diesem Grund werden Stoffwechselstörungen und ein gehäuftes Auftreten von Mastitiden in Zusammenhang gebracht. Eine mögliche und sehr wahrscheinliche Ursache hierfür ist eine beeinträchtigte Immunabwehr, die das Entstehen einer Mastitis und anderer Infektionen (z.B. Metritis) begünstigt.

Erhöhte Konzentrationen der Ketonkörper Acetoacetat, β -Hydroxybutyrat (BHB) und Aceton werden in der Literatur oft direkt mit einer Schwächung der Immunabwehr des Euters in Zusammenhang gebracht (TARGOWSKI u. KLUCINSKI, 1983; KEHRLI et al., 1989; KREMER et al., 1993; HOEBEN et al., 1997; SURYIASATHAPORN et al., 1997; SURYIASATHAPORN et al., 2000; WALLER, 2000). KLUCINSKI et al. (1988) untersuchten die Auswirkungen der einzelnen Ketonkörper auf die Phagozytoseaktivität von Makrophagen und PMN aus Milch und Blut in vitro und konnten eine stark inhibierende Wirkung der Ketonkörper feststellen. Dabei wurden die Makrophagen stärker gehemmt als die PMN. Ähnliche Ergebnisse erhielten auch HOEBEN et al. (1997) und SURYIASATHAPORN et al. (1999), die ebenfalls in In-vitro-Versuchen feststellten, dass BHB eine inhibierende Wirkung auf die Chemilumineszenz bzw. die Chemotaxis der PMN hat. In anderen Studien (LOTTHAMMER et al., 1988; KREMER et al., 1993; JANOSI et al., 2003) wurde die Mastitisanfälligkeit und –schwere bei Kühen mit Hyperketonämie untersucht und auch hier jeweils eine signifikant erhöhte Mastitisanfälligkeit festgestellt. JANOSI et al. (2003) zufolge ist die BHB-Konzentration im Serum ein geeigneter Parameter, um eine Mastitis in der postpartalen Phase vorauszusagen. KEHRLI et al. (1989)

wählten unabhängig von einer Ketose einen Untersuchungszeitraum von durchschnittlich 7 Wochen a. p. bis ca. 4 Wochen p. p. und fanden heraus, dass die Funktionalität der PMN vor allem p. p. beeinträchtigt war. Die Ingestion von Bakterien war jedoch p. p. eher erhöht.

Der genaue Mechanismus, der der Hemmung der Abwehrzellen durch Ketonkörper zugrunde liegt, ist noch unbekannt. Eine Blockade der Rezeptoren für die Erkennung von Bakterien und eine Veränderung des Membranpotentials der Zellen und somit Verhinderung der Adhäsion der Bakterien an die Zelloberfläche wurden diskutiert (KLUCINSKI et al., 1988).

Neben den negativen Auswirkungen der Ketose werden auch andere stoffwechselspezifische Umstände für die geschwächte Abwehr in der postpartalen Phase verantwortlich gemacht. LOTTHAMMER et al. (1988) sehen in der durch Energiestoffwechselstörungen bedingten Leberbelastung und -insuffizienz einen Grund für die Immunsuppression. Sie sehen auch in azidotischen Zuständen und einer daraus folgenden pH-Wert-Verschiebung im Euter eine mögliche Ursache für eine Erhöhung der Infektionsgefahr. Nach WEIGT (1983) wirkt sich der während einer Ketose entstehende Glucosemangel negativ auf die Phagozytose der PMN aus.

2.3 Einflüsse verschiedener Melksysteme auf die Eutergesundheit und –immunität

Einflüsse verschiedener Melksysteme auf die Eutergesundheit auf Herdenbasis wurden erst in letzter Zeit intensiver untersucht. Ein Grund hierfür mag sein, dass die ersten Melkroboter (nachfolgend AMS – automatisches Melksystem) erst 1992 in Betrieb genommen wurden. In den verschiedenen Studien wurden vielfach Milchleistung und Zellzahl überprüft und dabei Milch von in konventionellem Melkstand gemolkenen Kühen mit Milch von im AMS gemolkenen Tieren verglichen (SCHWARZER, 2000; KELTON et al., 2001; HAMANN u. REINECKE, 2002; DAVIS u. REINEMANN, 2002; WIRTZ et al., 2003). Die Ergebnisse der verschiedenen Studien sind widersprüchlich. Häufig wird über erhöhte Zellzahlen in der Tankmilch der AMS-Gruppe berichtet (SCHWARZER, 2000; KELTON et al., 2001; DAVIS u. REINEMANN, 2002; WIRTZ et al., 2002). Hinsichtlich der Milchleistung (ML) gab es

widersprüchliche Ergebnisse; DAVIS u. REINEMANN (2002) beobachteten eine signifikant höhere ML in der AMS-Gruppe, WIRTZ et al. (2002) stellten keinen Anstieg der ML fest.

Ob ein Zusammenhang zwischen Melktechnik und Eutergesundheit besteht, scheint von mehreren Faktoren abzuhängen. Die Erwartungen, die in AMS gesteckt wurden, haben sich bisher nur teilweise erfüllt. Nach PALLAS u. WENDT (2001) und HAMANN u. REINECKE (2002) kam es zu einer Verbesserung der Eutergesundheit im AMS, keinen wesentlichen Unterschied in der Eutergesundheit bei den Vergleichsgruppen AMS – Melkstand fanden dagegen DAVIS u. REINEMANN (2002). Nicht selten war der Keimgehalt in der AMS-Gruppe erhöht (SCHWARZER, 2000; RODENBURG u. KELTON, 2001; WIRTZ et al., 2002). Als mögliche Gründe für die unwesentliche Verbesserung der Milchqualität werden eine noch nicht ausgereifte Technik und mangelnde Hygiene der AMS angegeben. Gründliche Hygiene des AMS selbst und der Zitzen sind eine wichtige Voraussetzung für die Produktion von keimarmer Milch und der Erhaltung einer stabilen Eutergesundheit (PALLAS u. WENDT, 2001).

Ob die unspezifische Abwehr der Milchdrüse durch das Melksystem beeinflusst wird, wurde bisher wenig untersucht. Es bleibt abzuklären, ob das häufigere Melken im AMS eine gesteigerte Phagozytoseleistung nach sich zieht, da alte, „verbrauchte“ PMN öfter herausgespült werden und frische, leistungsfähige PMN nachrücken (WENDT, 1992; ZECCONI u. SMITH, 2000). Die meist höhere Melkfrequenz im AMS sorgt durch den Milchfluss außerdem für eine bessere Durchspülung des Zitzenkanals, d. h. den Mastitiserregern bleibt weniger Zeit, sich an die Zitzenkanalschleimhaut anzuheften (RASMUSSEN et al., 2001). Eine erhöhte Melkfrequenz kann sich auch nachteilig auf das Zitzengewebe auswirken, da es zu einer hohen mechanischen Belastung der Zitzen kommt (HOGEVEEN u. WEMMENHOVE, 1999). Einen möglichen indirekten Zusammenhang zwischen dem Melkvorgang im AMS und einer verminderten Abwehr könnte in der höheren Stressbelastung der AMS-Kühe liegen. Nach WENZEL (1999) waren im AMS gemolkene Kühe gestresster als die Vergleichsgruppe im Melkstand und wiesen deutlich erhöhte Milchcortisolwerte auf.

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Tiergut und Material

3.1.1.1 Tiergut

Für die eigenen Untersuchungen standen 29 Milchkühe der Rasse Deutsche Holsteins Farbrichtung Rotbunt aus der Herde eines Versuchsguts zur Verfügung. Die Tiere befanden sich in der ersten bis siebten Laktation (1. Laktation n = 10, 2. Laktation n = 8, 3. Laktation n = 4, 4. Laktation n = 2, 5. Laktation n = 1, 6. Laktation n = 3, und 7. Laktation n = 1). Alle Kühe wurden unter gleichen Bedingungen in einem Liegeboxenlaufstall gehalten.

3.1.1.2 Melksysteme

14 Kühe wurden zweimal täglich in einem Fischgräten-Melkstand (Doppelsechser, Fa. DeLaval, Hamburg) gemolken und 15 Testtiere wurden mit einem Automatischen Melksystem (AMS) der Firma DeLaval, Hamburg gemolken.

3.1.2 Methoden

3.1.2.1 Untersuchungs- und Probenplan

Jede Kuh wurde über einen Zeitraum von 14 Wochen untersucht und beprobt, dabei begann jede Versuchsreihe in der Woche des errechneten Abkalbetermins und endete 14 Wochen post partum.

Die klinische Untersuchung des Euters und die Blutprobenentnahme erfolgten ab dem Kalbezeitpunkt bis zur 10. Woche wöchentlich, dann noch je einmal in der 12. und in der 14. Woche. Die Probennahme für die Untersuchungen des Milchsekrets (Hauptgemelk) auf Milchinhaltstoffe erfolgte wöchentlich, wobei die Proben je zur Hälfte aus Morgen- und Abendgemelk bestanden. Die Körperkondition wurde alle 14 Tage nach Messung der Rückenfett- und Muskeldicke und nach Body Condition Scoring beurteilt.

Die Proben für den Phagozytostest (n = 28) und das Differentialzellbild in der Milch (n = 29) wurden von zufällig ausgewählten Kühen der Herde genommen. Jede Kuh wurde im Versuchsverlauf drei Mal beprobt. Die drei Probenentnahmen erfolgten in den Zeiträumen 0.–4. Woche p. p., 5.–8. Woche p. p. und 10.–14. Woche p. p. (nachfolgend als „1.–3. Messung bezeichnet). Dabei wurde bei jeder Kuh der Abstand zwischen zwei Probenentnahmen gleichmäßig eingehalten. Der Abstand zwischen der 1. und 2. Probenentnahme betrug 4 Wochen, der zwischen 2. und 3. Probenentnahme betrug sechs Wochen. Aus denselben Proben wurde Material für den Lysozymtest (n = 28) verwendet. Dieses wurde bei –18 °C eingefroren und erst nach Abschluss der erstgenannten Untersuchungen weiterverarbeitet.

Tab. 4: Übersicht des Probenplans

	Wöchentlich	alle 14 Tage	Messung		
			1 0.–4. Woche p.p.	2 5.–8. Woche p.p.	3 10.–14. Woche p.p.
Proben-Entnahme	<ul style="list-style-type: none"> - Klinische Untersuchung des Euters - Blutproben f. Stoffwechsel-Parameter - Milchproben f. Stoffwechsel-Parameter u. Milchinhaltstoffe 	<ul style="list-style-type: none"> - Körper-Konditions-Erfassung (BCS, RFD, MD) 	<ul style="list-style-type: none"> - Milchprobenentnahme für Phagozytostest, Differentialzellbild und Lysozymtest 		
BU = Bakteriologische Untersuchung; BCS = Body Condition Scoring, RFD = Rückenfettdickenmessung, MD = Muskeldickenmessung					

3.1.2.2 Klinische Untersuchung des Euters

Bei der Untersuchung des Euters wurde wie bei GRUNERT (1990) beschrieben vorgegangen. Sie erfolgte wöchentlich durch Adspektion und Palpation des Euters. Dabei wurde bei der Adspektion auf Veränderungen der Euter- und Zitzenhaut,

Strichkanalhyperkeratosen, Umfangsvermehrungen des Euters und spontanen Milchfluss geachtet. Zusätzlich wurde das Euter in der ersten und letzten Woche des Untersuchungszeitraums auf Größe, Sitz und Form, Zitzen- und Zitzenkuppenform, Stellung der Zitzen zueinander und Abstand des Euters zum Boden untersucht.

Bei der Palpation wurden Euterhaut, Drüsengewebe und –zisternen und die Zitzen beurteilt. Im Anschluß an die Palpation wurde die Durchgängigkeit des Strichkanals durch Ermelken von etwas Milch überprüft und abschließend die Euterlymphknoten aufgesucht und palpiert.

3.1.2.3 Beurteilung des Vorgemelks

3.1.2.3.1 Grobsinnliche Untersuchung

Die Beurteilung des Vorgemelks erfolgte wöchentlich. Vor dem Melken wurde etwas Milch in eine California-Mastitis-Testschale gemolken und grobsinnlich auf pathologische Veränderungen (farbliche und geruchliche Abweichungen, Beimengungen) untersucht.

3.1.2.3.2 California-Mastitis-Test

Nach grobsinnlicher Untersuchung erfolgte die Zugabe von California-Mastitis-Testflüssigkeit zum Milchsekret. Anhand der Konsistenzänderung des Sekrets (Schlieren- oder Gelbildung) wurde die Zellzahl der Milch der einzelnen Viertel semiquantitativ bestimmt.

3.1.2.4 Bestimmung der Zellzahl und der Milchinhaltsstoffe

Die Bestimmungen der Zellzahl und der Milchinhaltsstoffe wurden durch den Milchprüfing Bayern e.V. durchgeführt. Die Beprobung der Versuchstiere erfolgte wöchentlich.

Je Probe wurden 34 ml Milch (Hauptgemelk) in spezielle, eine Natriumazid-haltige Konservierungsflüssigkeit enthaltende Röhrchen gefüllt. Bis zur Weiterverarbeitung der Proben im Labor des Milchprüfings wurden die Röhrchen durchgehend bei 4 °C gelagert.

3.1.2.5 Phagozytostest

3.1.2.5.1 Vorversuche

3.1.2.5.1.1 Negativkontrolle mit Cytochalasin B

Um adhärenz von ingestierten E.coli unterscheiden zu können, wurde im Vorfeld eine Negativkontrolle angefertigt.

Dazu wurden die Phagozyten vor der Inkubation mit den fluoreszierenden Keimen mit Cytochalasin B (Cytochalasin B, Sigma-Aldrich) vorinkubiert, wodurch die Zellfunktion weitgehend ausgeschaltet und so eine Phagozytose der Keime unterbunden wurde. Bei Cytochalasin B (CB) handelt es sich um ein Pilzgift, das u. a. aus *Helminthosporium dematioides* gewonnen wird. CB verursacht eine reversible Hemmung der kontraktilen Mikrofilamente der Zelle, indem es die Polymerisation des Aktins unterbindet. In Folge dessen kommt es zu einer Hemmung der Phagozytosefähigkeit der Zellen.

Das kristalline CB wurde in einer Konzentration von 1 mg/ml in DMSO gelöst und portioniert bei -18 °C eingefroren und aufbewahrt. Die Milchprobe wurde einer klinikeigenen Kuh mit erhöhter Zellzahl entnommen. Die Herstellung der Zell- und Bakteriensuspension erfolgte wie im Phagozytostest selbst (s. 3.1.2.5.2).

Vor der Inkubation der Zellsuspension mit der Bakteriensuspension wurde den Zellen CB-Lösung in verschiedenen Konzentrationen zugesetzt. Es wurde dabei mit einer Konzentration von 20 µg/ml begonnen, danach wurde die Konzentration um jeweils 20 µg/ml bis zu einer Endkonzentration von 120 µg/ml erhöht. Die Zellsuspensionen mit den verschiedenen CB-Konzentrationen wurden 30 Minuten im Brutschrank bei 37 °C inkubiert und anschließend mit der Bakteriensuspension versetzt. Es folgte eine weitere Inkubation im Brutschrank über 60 Minuten. Anschließend wurde die Phagozytoseaktivität bestimmt. Ab einer Konzentration von 80 µg/ml war keine Phagozytose mehr erkennbar.

3.1.2.5.2 Durchführung des Tests

Für den Phagozytostest wurde Milch von insgesamt 28 Kühen verwendet. Im Rahmen des Melkvorgangs wurde ein Viertelgemelk mit einem Viertelmelker entnommen. Die Milchproben wurden in 1000 ml Transportgefäße umgefüllt und bis zur Verarbeitung bei 4 °C aufbewahrt. Innerhalb sechs Stunden wurde der Phagozytostest durchgeführt (Tab. 5).

3.1.2.5.2.1 Gewinnung von Milchzellen und Milchserum

Begonnen wurde mit der Herstellung einer Zellsuspension. Dazu wurden je 120 ml Milch in zwei 250 ml Zentrifugenbecher abgefüllt. Das Waschen der Milchzellen erfolgte in einer Hochleistungszentrifuge. Die Zellen wurden 30 Minuten bei 3000 U/min (1700 g) und 4 °C zentrifugiert. Der dabei entstandene Fettilayer wurde mit einem Löffel abgehebert. Von jeder Probe wurden 40 ml Milchserum abpipettiert und bei -18 °C für die Weiterverarbeitung im Lysozymtest aufbewahrt.

Das restliche Milchserum wurde abgesaugt. Das sich am Boden der Zentrifugenbecher abgesetzte Zellpellet wurde mit 2 ml PBS (PBS⁻, ohne Ca⁺⁺/Mg⁺⁺, Stocklösung 9,6 g/l, Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) und 0,5 % BSA (Albumin, Bovines, Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) resuspendiert und in ein 16 ml Zentrifugenröhrchen überführt. Die Becher wurden anschließend nochmals mit 2 ml PBS-Lösung (+ 0,5 % BSA, pH 6,9) ausgewaschen. Der zweite Zentrifugationsschritt erfolgte über 15 Minuten bei 2200 U/min (1000 g) und 4 °C. Der Überstand wurde wiederum abgesaugt und das Zellpellet mit je 2 ml PBS (+ 0,5 % BSA; pH 6,9) resuspendiert. Die nächste Zentrifugation erfolgte 10 Minuten bei 1100 U/min (200 g) und 4 °C. Dieser Schritt wurde wiederholt, bis der Überstand klar war.

Zum Abschluss wurde der Überstand abgesaugt und die verbliebenen Zellpellets je nach Größe mit 40 – 120 µl PBS (+ 0,5 % BSA; pH 6,9) resuspendiert, beide Suspensionen in eine 1,5 ml Eppendorf-Tube (Reaktionsgefäß 3810, Fa. Eppendorf AG, Hamburg) überführt und bei 4 °C bis zur weiteren Verwendung aufbewahrt.

3.1.2.5.2 Bestimmung der Leukozytenkonzentration der Zellsuspension und der Vitalität der Zellen

Um eine Aussage über das Verhältnis von lebenden zu toten Zellen zu erhalten, wurde eine Lebend-Tot-Färbung der Zellen mit Trypanblau (C.I. 23850, direct blue 14, Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) vorgenommen. Der Farbstoff dringt durch die beschädigte Membran abgestorbener Zellen ein und färbt diese blau. Vitale Zellen erscheinen aufgrund intakter Zellmembran weiß (Abb. 2). Für die Färbung wurde zuvor eine 0,5%ige Stocklösung hergestellt. 10 μ l Zellsuspension wurden mit 20 μ l Trypanblau-Stocklösung vermischt. Für die Auszählung lebender und toter Zellen wurde eine Neubauer-Zählkammer verwendet. Es wurden 40 Leukozytenfelder mit einer Größe von je 0,04 mm² und einer Höhe von 0,1 mm unter einem Lichtmikroskop ausgezählt. Falls die Suspension so zellreich war, dass die Zellen nicht auszählbar waren, wurde mit PBS-Lösung (+ 0,5 % BSA; pH 6,9) weiter verdünnt, bis die Zellen in der Zählkammer nebeneinander zu liegen kamen.

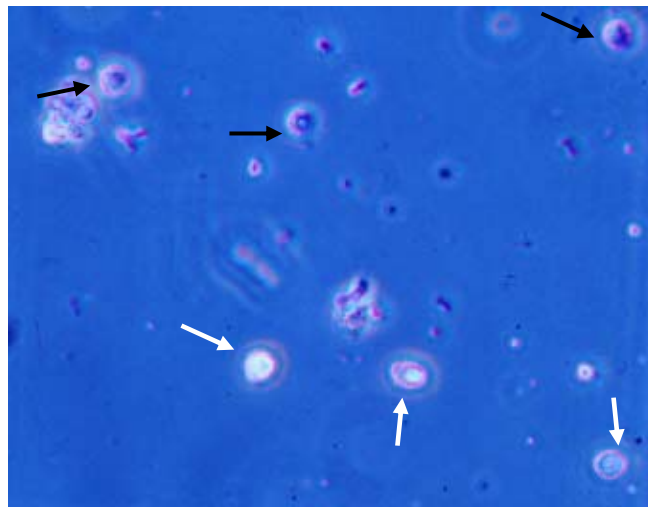


Abb. 2: Lebend-Tot-Färbung der Zellen mit Trypanblau. Blaue Zellen (schwarzer Pfeil) sind tot, weiße Zellen (weißer Pfeil) lebend.

Nach erfolgter Zählung wurden die Zellkonzentration der Zellsuspension (ZK/ μ l) und der Vitalitätsquotient (VQ) nach folgenden Formeln berechnet:

$$\text{ZK}/\mu\text{l} = X / 40 * 25 * 10 * \text{VF}$$

X = gezählte Zellen gesamt

40 = Zahl der ausgezählten Felder

25 = Kehrwert der Fläche eines Feldes

10 = Kehrwert der Höhe der Kammer

VF = Verdünnungsfaktor

$$\text{VQ (\%)} = \text{VZ} * 100 / \text{ZK}$$

VZ = Vitale Zellen

3.1.2.5.2.3 Herstellung der Bakteriensuspension

Zur Sichtbarmachung der Phagozytose unter dem Mikroskop wurden Bakterien verwendet, die mit einem fluoreszierenden Farbstoff angefärbt waren (Escherichia coli K12 Strain BioParticles®, BODIPY® FL conjugate, Fa. MoBiTec, Göttingen) und dessen Absorptionsmaximum bei 505 nm und Fluoreszenzemissionsmaximum bei 513 nm liegt. Die Keime wurden nach Lieferung zunächst in 500 μ l gefilterter 2 mmol Natriumazidlösung gelöst und konnten in dieser Form bei Kühlschranktemperatur aufbewahrt werden. Um die Phagozytose der Bakterien durch die Leukozyten zu verstärken, wurden die Keime zuvor opsoniert. Dies erfolgte mit Hilfe eines Opsonierungsreagenz (Escherichia coli BioParticles® opsonizing reagent, Fa. MoBiTec, Göttingen), welches in 500 μ l filtrierter PBS-Lösung gelöst wurde und ebenfalls bei 4 °C aufbewahrt wurde.

Für die Herstellung der Bakteriensuspension wurden ca. 10 ml PBS-Lösung auf einen pH von 6,9 eingestellt und filtriert.

Jeweils 10 μ l *E.coli*-Suspension und Opsonierungsreagenz-Lösung wurden mit 100 μ l filtrierter PBS-Lösung vermischt und eine Stunde bei 37 °C unter ständigem Mischen im Brutschrank inkubiert. Im Anschluss erfolgte das Waschen der Keime

durch zweimalige 15-minütige Zentrifugation in einer Tischzentrifuge bei Raumtemperatur und 1100 g. Nach jedem Zentrifugationsschritt wurde der Überstand abgesaugt, das Keimpellet nach der ersten Zentrifugation mit 120 µl PBS-Lösung und nach der zweiten mit 250 µl PBS-Lösung resuspendiert.

Zur Bestimmung der Keimzahl/µl Bakteriensuspension (KK/µl) wurde eine Zählung der Bakterien in der Neubauer-Zählkammer unter einem Fluoreszenzmikroskop vorgenommen. Dabei wurden insgesamt 64 Erythrozytenfelder mit einer Größe von je 0,0025 mm² und einer Höhe von 0,1 mm ausgezählt. 10 µl der Bakteriensuspension wurden zunächst mit 500 µl PBS-Lösung verdünnt. Dieser Faktor wurde in der Formel zur Berechnung der KK/µl berücksichtigt.

$$\text{KK}/\mu\text{l} = X / 64 * 400 * 10 * 51$$

X = gezählte Keime

64 = Anzahl der ausgezählten Felder

400 = Kehrwert d. Fläche eines Feldes (mm⁻²)

10 = Kehrwert d. Höhe der Zählkammer (mm⁻¹)

51 = Verdünnungsfaktor

3.1.2.5.2.4 Bestimmung der Phagozytoseaktivität

Die Zellsuspension wurde in einem Verhältnis von 1 : 25 (1 vitale Zelle : 25 Keime) mit der Keimsuspension gemischt.

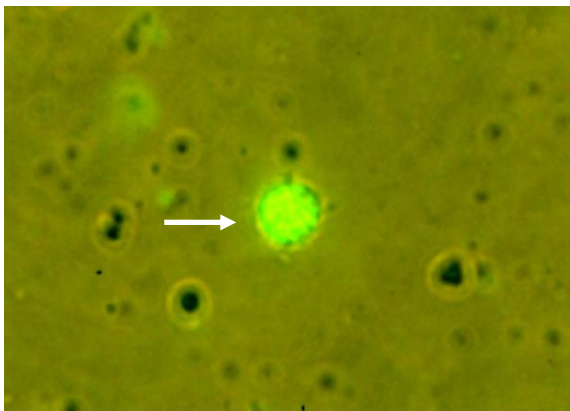
Das Zell-Keim-Gemisch wurde 90 Minuten bei 37 °C im Brutschrank unter ständigem Mischen inkubiert. Anschließend wurden die Proben eine Minute bei - 18 °C gekühlt um den Phagozytosevorgang zu beenden. Anschließend wurden je Probe 2 mal 5 µl auf einen Objektträger pipettiert, mit Deckgläschen abgedeckt und mit Nagellack abgedichtet.

Je Probe wurden 200 Zellen unter dem Fluoreszenzmikroskop ausgezählt (Abb. 3) und der Phagozytosequotient (PQ) mit folgender Formel berechnet:

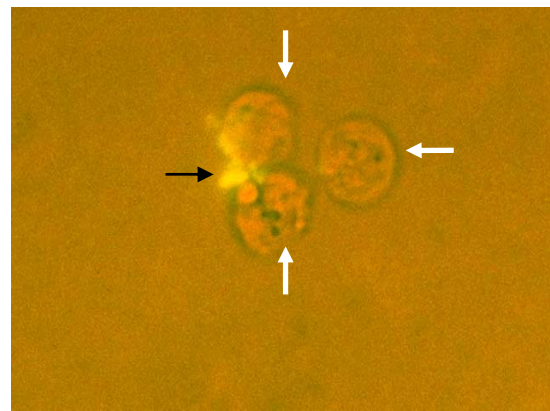
$$\text{PQ (\%)} = 100\% \cdot X / \text{VQ} \cdot 2$$

X = phagozytierende Keime

VQ = Vitalitätsquotient (%)



A



B

Abb. 3: Phagozytose unter dem Fluoreszenzmikroskop. (A) PMN mit ingestierten fluoreszierenden *E. coli* (Pfeil). (B) Drei PMN ohne ingestierte *E. coli* (weiße Pfeile); die Bakterien liegen in diesem Fall außerhalb der Zellen (schwarzer Pfeil).

Tab. 5: Tabellarische Zusammenfassung der Schritte des Phagozytostests

Schritt	Tätigkeit
1. Gewinnung der Milchzellen	<p><i>Zentrifugation der Milch:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - 30 min bei 1700 g und 4 °C - 15 min bei 1000 g und 4 °C - 10 min bei 200 g und 4 °C - ggf. Wdh. d. letzten Schritts bis Überstand klar <p>- zwischen den einzelnen Schritten jeweils Überstand verwerfen und Zellpellet mit PBS re-suspendieren</p>
2. Bestimmung der Leukozytenkonzentration der Zellsuspension und Vitalität der Zellen	<p><i>Färbung:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - 10 µl Zellsuspension + 20 µl Trypanblau-Stocklg. <p><i>Auszählung:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - 40 Leukozytenfelder in Neubauer-Zählkammer (Lichtmikroskop) - Berechnung der Zellkonzentration und des Anteils an lebenden Zellen nach o. g. Formeln
3. Herstellung der Bakteriensuspension	<ul style="list-style-type: none"> - 10 µl <i>E.coli</i>-Konzentrat + 10 µl Opsonierungsreagenz mit 100 µl filtrierter PBS mischen <p><i>Zentrifugation:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - 2 x 15 min bei 1100 g und Raumtemperatur, dazwischen Verwerfen des Überstands und Resuspension des Keimpellets mit PBS
4. Bestimmung der Keimkonzentration der Bakteriensuspension	<ul style="list-style-type: none"> - Verdünnung der Bakteriensuspension mit 500 µl PBS <p><i>Auszählung:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - 64 Erythrozytenfelder in Neubauer-Zählkammer (Fluoreszenzmikroskop)
5. Bestimmung der Phagozytoseaktivität der Leukozyten	<ul style="list-style-type: none"> - Mischen der Zell- mit der Bakteriensuspension (Verhältnis 1 : 25) <p><i>Inkubation:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - 90 min bei 37 °C im Brutschrank <p><i>Auszählung:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - 200 Zellen (Kombination Licht-/Fluoreszenzmikroskop) - Berechnung des Phagozytosequotienten

3.1.2.6 Bestimmung der Lysozymkonzentration des Milchserums

Für die Bestimmung der Lysozymkonzentration im Milchserum kam eine modifizierte Form des Agardiffusionstests nach OSSERMANN & LAWLOR (1966) und LIE et al. (1986) zur Anwendung.

Das zur Durchführung des Lysozymtests benötigte Milchserum wurde bereits im Rahmen der Zentrifugation bei der Zellgewinnung für den Phagozytostest gewonnen (s. Punkt 3.1.2.5.2.1). Das Auftauen der Proben erfolgte im Kühlschrank bei 4 °C.

3.1.2.6.1 Herstellung der Agarplatten

Für die Herstellung des Agars wurden 100 ml PBS auf einen pH von 6,2 eingestellt. Anschließend wurden 0,86 g Agar (Agar Nr.1, neutral, Fa. Oxoid Limited, Hampshire, GB) abgewogen und unter ständigem Rühren auf einem Magnetrührgerät mit 80 ml PBS (pH 6,2) vermischt. Der 1%ige Agar wurde 4 Stunden in einem Glasgefäß autoklaviert. Als Testkeim wurde *Micrococcus lysodeicticus* (*Micrococcus lysodeicticus*, lyophilized, Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) verwendet. 0,043 g des abgetöteten *M. lysodeicticus* wurden in 6 ml PBS gelöst.

Nach dem Autoklavieren wurde der Agar abgekühlt, die *M.l.*-Lösung unter ständigem Rühren zugegeben. Das Agar-Keimgemisch mit einer Konzentration von 50 µg *M.l.*/ml wurde auf eine mit 70%igem Alkohol desinfizierte, waagrecht austarierte, quadratische Agarplatte mit einer Seitenlänge von 24 cm aufgegossen. Nach Erstarren des Agars wurden mit einer handelsüblichen Hautstanze (Ø 8 mm) Vertiefungen im Abstand von 5 cm ausgestanzt.

3.1.2.6.2 Verarbeitung der Proben, Herstellung des Lysozymstandards und Auswertung

Nach vollständigem Auftauen der Milchproben wurden diese in Zentrifugenröhrchen umgefüllt und in der Hochleistungszentrifuge 15 min bei 3000 U/min und 4 °C zentrifugiert. Anschließend wurde der Fettüberstand abgesaugt. Da Casein die Lysis

von *M.I.* behindert, wurde dieses ausgefällt. Dazu wurden die Proben durch tropfenweise Zugabe von 2 N HCl auf einen pH von 3 angesäuert. Die Kontrolle erfolgte mit einem pH-Meter. Danach wurden die Proben nochmals 15 min bei 2200 U/min und 4 °C zentrifugiert. Das Casein setzte sich dabei am Boden der Zentrifugenbecher ab. Der Überstand wurde in ein Glasgefäß umgefüllt und der pH durch Zugabe einer 2 N NaOH-Lösung auf einen Wert von 6,8 eingestellt. Je Probe wurden 6 ml in 16 ml-Zentrifugenröhrchen eingefüllt und eine Stunde bei 5000 U/min und 4 °C zentrifugiert. Der Überstand wurde in Kunststoffreagenzgläser überführt, der pH nochmals kontrolliert und ggf. eingestellt. Abschließend wurden je 50 µl als Doppelansatz in die Vertiefungen des Agars pipettiert.

Lysozymstandards mit bekannter Konzentration wurden zusätzlich auf den Agar aufgetragen. Als Standard wurde ein Hühnereiweißlysozym verwendet (chicken egg white lysozyme, Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim). Aus 24,99 ml filtrierter PBS (+ 1% BSA) und 10 µl Standardlysozymlösung, Konzentration 10 mg/ml, wurde eine Stammlösung mit einer Endkonzentration von 4 µg/ml hergestellt. Anschließend wurde mit der filtrierten PBS-Lösung eine Verdünnungsreihe mit 10 Verdünnungsstufen (Konzentration 2 µg/ml bis 0,0039 µg/ml) erstellt, bei welcher die Konzentration der Stammlösung bei jedem Schritt halbiert wurde. Je Verdünnungsstufe wurden ebenfalls 50 µl in Vertiefungen des Agars eingefüllt.

Die Inkubation erfolgte 17 Stunden bei 37 °C. Je nach Lysozymkonzentration der Standards bzw. der Proben ergaben sich rund um die Ausstanzungen durchsichtige Lysiszonen, welche ausgemessen wurden (Abb. 4). Für das Verhältnis der Lysiszonen der Standards zu ihren Konzentrationen ergab sich eine exponentielle Funktion. Zur Berechnung der Lysozymkonzentration der Proben wurde der Durchmesser der Lysiszonen in die Funktion, die sich für den Standard ergeben hatte, einbezogen (Abb. 5).



Abb. 4: Agarplatte mit Lysozymstandard

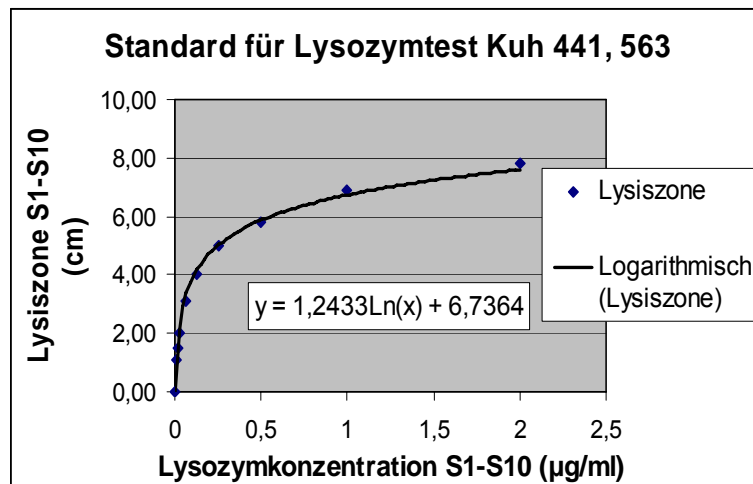


Abb. 5: Beispiel für die Berechnung der Lysozymkonzentration

3.1.2.7 Differentialzellbild

Zur Ermittlung des Differentialzellbildes der Milch wurde eine indirekte Immunfluoreszenzfärbung der Milchzellen nach RANKL (2004) durchgeführt. Diese Methode in Anlehnung an die Protokolle von DELVES (1995) und CHEETHAM (1998) ermöglicht es, Epithelzellen eindeutig von Makrophagen abzugrenzen. Bei ausschließlicher Verwendung anderer Färbungen, wie z.B. der Färbung nach Wright, ist dies aufgrund der ähnlichen Morphologie der beiden Zelltypen schwierig (SANDGREN et al., 1991; RANKL, 2004). Bei der indirekten

Immunfluoreszenzfärbung wird das für diese Zellart typische Zytokeratin der Epithelzellen immunhistochemisch angefärbt, woraufhin sie eindeutig zu erkennen sind.

3.1.2.7.1 Probengewinnung und Fixierung der Milchzellen

Aus denselben Proben für Phagozytose- und Lysozymtest wurden je 5 ml Milch entnommen und unverzüglich mit 100 µl einer 5%igen Formaldehydlösung versetzt. Der Formaldehyd diente der Fixierung der Strukturen der Zellkerne (PETTIPHER u. RODRIGUES, 1981). Die fixierte Milchprobe wurde anschließend 24 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert.

3.1.2.7.2 Zellgewinnung

Die fixierten Proben wurden nach Inkubation kurz geschüttelt, um die Zellen in der Probe gleichmäßig zu verteilen. Die Zellgewinnung erfolgte mittels Zentrifugation. Um den Fettanteil der Proben nach jedem Zentrifugationsschritt besser abtrennen zu können, wurde je 1 ml Probenflüssigkeit mit 1 ml PBS⁽⁻⁾ versetzt. Die Proben wurden mit einer Zytospinzentrifuge 6 min bei 200 g und Raumtemperatur zentrifugiert. Die verwendeten Zytospinkammern hatten einen Durchmesser von 6,2 mm. Durch die Zentrifugation setzten sich die Milchzellen auf dieser Fläche auf dem Objektträger ab. Nach der Zentrifugation wurden der Überstand abgesaugt und die Proben zum Trocknen erneut 1 min bei 1100 g zentrifugiert. Pro Tier wurden vier Zytospinpräparate angefertigt.

3.1.2.7.3 Indirekter Immunfluoreszenznachweis von Zytokeratin

Bei dieser Methode wird das Intermediärfilamentprotein Zytokeratin der Epithelzellen indirekt nachgewiesen. Dazu wird ein primärer spezifischer Antikörper gegen Zytokeratin (Monoklonal Anti-Pan Cytokeratin Clone C-11, C-2931, Mouse Ascites Fluid, Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) und nachfolgend ein mit Fluoreszenzfarbstoff markierter weiterer Antikörper (Alexa Fluor[®] 488 rabbit anti-

mouse IgG conjugate, 2 mg/ml, A-11059 Molecular Probes, Leiden, Niederlande) verwendet. Die einzelnen Schritte der Färbung werden in Tabelle 6 übersichtlich zusammengefasst.

Tab. 6: Zusammenfassung der Arbeitsschritte zur Erstellung des Differentialzellbildes in der Milch

Dauer	Tätigkeit
10 min	Fixieren der Zellen mit 100%igem eisgekühltem Ethanol
5 min	Permeabilisieren der Zelloberfläche mit 99,8%igem Methanol
5 min	Waschen der Objektträger in PBS ⁽⁻⁾ , dabei PBS ⁽⁻⁾ nach ca. 2,5 min erneuern
20 min	Blockieren mit 10%igem Pferdeserum in PBS ⁽⁻⁾ ; Inkubation bei 37 °C in einer feuchten Kammer; anschließend Abklopfen des Pferdeserums
45 min	Aufbringen des primären AK's; Inkubation bei 37 °C in einer feuchten Kammer
10 min	Auswaschen des primären AK's in PBS ⁽⁻⁾ auf dem Rüttler; PBS ⁽⁻⁾ dabei 1x wechseln
30 min	Aufbringen des sekundären AK's; lichtgeschützte Inkubation bei 37 °C in der feuchten Kammer
10 min	Auswaschen des sekundären AK's in PBS ⁽⁻⁾ auf dem Rüttler; PBS ⁽⁻⁾ dabei 1x wechseln
15 min	Aufpipettieren der Propidiumjodid-Stocklösung; lichtgeschützte Inkubation bei Raumtemperatur
10 min	Auswaschen des überflüssigen Farbstoffs in PBS ⁽⁻⁾ auf dem Rüttler; PBS ⁽⁻⁾ dabei 1x wechseln

3.1.2.7.4 Propidiumjodidfärbung

Um auch die übrigen Zellarten im Zellausstrich beurteilen zu können, wurde das Präparat zuletzt mit Propidiumjodid (Stock-Lösung 1mg/ml, Fa. Sigma-Aldrich

Chemie GmbH, Steinheim) gegengefärbt. Durch diese Färbung emittieren die Zellkerne unter dem Fluoreszenzmikroskop rotes Licht.

Das verdünnte Propidiumjodid (1:60 mit PBS⁽⁻⁾) wurde dazu auf die Präparate aufpipettiert und 15 min lichtgeschützt bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurde der überflüssige Farbstoff in PBS⁽⁻⁾ 10 min auf dem Rüttler ausgewaschen. Das PBS⁽⁻⁾ wurde dabei einmal erneuert.

3.1.2.7.5 Auswertung

Von den vier angefertigten Präparaten wurden drei zur Auswertung herangezogen, eines diente als Negativkontrolle, um unspezifische Fluoreszenz von spezifischer unterscheiden zu können. Das Negativ-Präparat wurde nicht mit dem ersten Antikörper inkubiert.

Die Zählung und Differenzierung der Zellen erfolgte unter dem Fluoreszenzmikroskop (Fluoreszenzkanal grün: 515–565 nm; rot: 590 nm). Es wurden insgesamt 600 Zellen – je Objektträger 200 Zellen – ausgezählt.

Epithelzellen: Zellkerne mit rot-oranger deckender Fluoreszenz, gleichmäßig rund bis oval, meist randständig; im Zytoplasma intensiv grün gefärbte Intermediärfilamente (s. Abb. 6)

Makrophagen: Zellkerne unregelmäßig halbmondförmig bis wolkenartig, rötliche Fluoreszenz; keine bis schwache grüne Fluoreszenz

PMN: Zellkerne charakteristisch stabförmig oder segmentiert, intensive rote Fluoreszenz; keine oder schwache grüne Fluoreszenz

Lymphozyten: Zellkerne vergleichsweise klein, rund, gleichmäßige, intensive rote Fluoreszenz; keine grüne Fluoreszenz

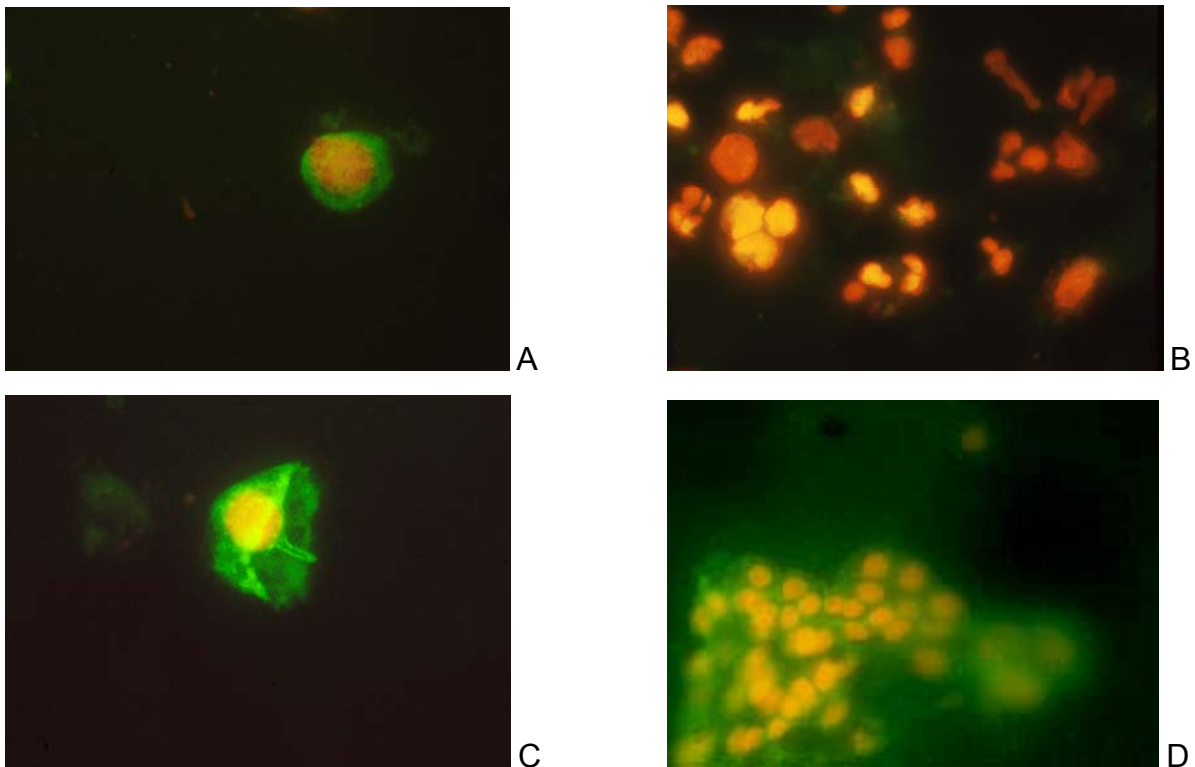


Abb. 6: Differentialzellbild in der Milch. (A) und (C) Einzelne Epithelzellen mit rundem Kern und starker grüner Fluoreszenz. (B) Makrophagen und PMN; links im Bild befinden sich Makrophagen (größere runde, ovale oder nierenförmige Zellen), rechts und unten befinden sich hauptsächlich die kleineren PMN mit charakteristisch geformtem Kern. (D) Sehr selten vorkommender Epithelzellverband.

3.1.2.8 Bestimmung klinisch-chemischer und hormoneller Blutparameter

3.1.2.8.1 Gewinnung der Blutproben

Für die Bestimmung der Blutparameter wurde Blut aus der Vena jugularis entnommen. Die Blutentnahme erfolgte per Vacuetten®-System. Es wurden je zwei Serum- und EDTA-Vollblutproben entnommen.

Die Blutproben wurden mit einer Tischzentrifuge (CR 4.12, Juoan GmbH, Unterhaching) zentrifugiert. Dabei wurde das Plasma 15 Minuten bei 2000–3000 g und das Serum 10 Minuten bei 1500 g zentrifugiert. Anschließend wurden die

Überstände abpipettiert und in Eppendorf-Tuben überführt. Die Proben wurden bis zur weiteren Verwendung bei -20 °C gelagert.

3.2.1.8.2 Bestimmung der Parameter Gesamtbilirubin, AP, AST, GLDH, GGT und CK

Die klinisch-chemischen Parameter Gesamtbilirubin, Alkalische Phosphatase, Aspartat-Amino-Transferase, Glutamat-Dehydrogenase, γ -Glutamyl-Transferase und Creatinkinase wurden mit einem Photometer Laborsystem LP800 (Dr. Bruno Lange GmbH, Berlin) bestimmt (siehe Tab. 7). Dazu wurden die Serum-Proben aufgetaut und bei 37 °C untersucht.

Tab. 7: Absorptionsspektren der Stoffwechselfparameter

Parameter	Absorptionsspektrum (nm)
Gesamtbilirubin	546
Alkalische Phosphatase	405
Aspartat-Amino-Transferase	340
Glutamat-Dehydrogenase	340
γ -Glutamyl-Transferase	405
Kreatinkinase	340
β -Hydroxybuttersäure	340

3.1.2.8.3 Insulin-like-Growth-Factor-I (IGF-I)

Die IGF-I-Konzentration im Plasma wurde mit der Methode nach DAXENBERGER et al. (1998) mittels eines Radio-Immuno-Assay (RIA) bestimmt.

3.1.2.8.4 β -Hydroxybuttersäure (BHB)

Der Ketonkörper β -Hydroxybuttersäure wurde mittels einer enzymatischen Methode bestimmt. Das Serum wurde hierzu bei 37 °C verarbeitet und anschließend mit dem Autoanalyser Hitachi 911E (Fa. Hitachi, Tokio, Japan) gemessen.

3.1.2.9 Körperkonditionsbeurteilung

Die Erfassung der Körperkondition erfolgte durch Bestimmung des Body-Condition-Score (BCS) und durch die Messung der Rückenfett- und Muskeldicke (RFD u. MD) mittels Ultraschall. Für die Beurteilung der Veränderung der Körperkondition wurden zusätzlich zum tatsächlichen Wert zwei weitere Parameter bestimmt: 1. die Differenz von einem Messzeitpunkt zum nächsten und 2. die maximale Differenz zwischen 1. und letztem Messzeitpunkt.

3.1.2.9.1 Messung der Rückenfettdicke und der Muskeldicke

Bei der Messung der Rückenfettdicke wurde die Methode nach BRUCKMAIER et al. (1998) ausgewählt. Bei dieser Methode liegt der Messbereich kranial des Hüfthöckers auf dem rechten M. longissimus dorsi. Es wird im rechten Winkel zur Wirbelsäule zwischen der 12./13. Rippe und dem 5. Lendenwirbel gemessen.

Ein schmales Areal wurde in diesem Bereich frei geschoren, die Stelle mit wenig Paraffinöl benetzt und anschließend der Ultraschallkopf (Linearschallkopf) aufgelegt. Pro Tier wurden zwei Bilder angefertigt, wobei sich das erste näher zur Wirbelsäule befand, das zweite näher zu den Enden der Lendenwirbelquerfortsätze. Auf dem ersten Bild wurde die maximale Dicke des M. longissimus dorsi, auf dem zweiten die maximale Dicke des Rückenfetts gemessen (Abb. 7).

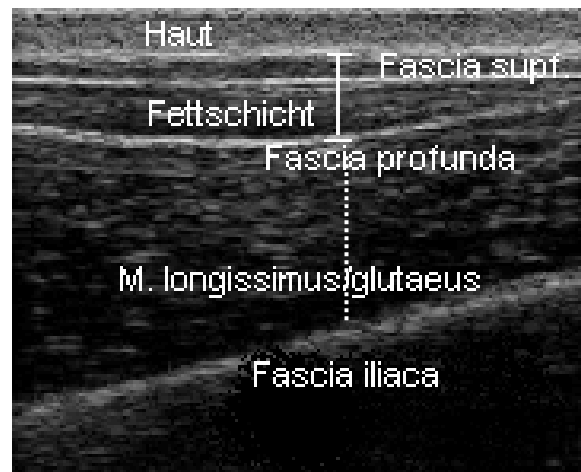


Abb. 7: Messung der Rückenfettdicke/Muskeldicke per Ultraschall (durchgezogene Linie = max. RFD, gestrichelte Linie = max. MD)

3.1.2.9.2 Body Condition Scoring

Das Body Condition Scoring wurde nach dem Schema von EDMONSON et al. (1989), modifiziert nach MANSFELD (in MARTIN et al. (2007), durchgeführt. Die Kondition der Kühe wurde durch Adspektion der Fettpolster an bestimmten Lokalisationen in der Unterhaut bewertet, auf die Palpation wurde verzichtet. Für die Bewertung wurde ein Indexsystem mit Noten von 1 bis 5 zur Hilfe genommen.

3.1.2.10 Statistische Auswertung

Zur Beschreibung der Ergebnisse des Phagozytose- und des Lysozymtests wurden Medianwerte und Quartilen mittels explorativer Datenanalyse berechnet.

Die Versuchstiere wurden in zwei Mal zwei Gruppen eingeteilt: Kühe mit Mastitis/Kühe ohne Mastitis und im Melkstand gemolkene Kühe/im AMS gemolkene Kühe (Tab. 8). Eine Kuh wurde als „Kuh mit Mastitis“ bezeichnet, wenn bei ihr während des Versuchszeitraumes eine klinische Mastitis diagnostiziert wurde. Die Gruppen wurden dann mittels Mann-Whitney-U-Test jeweils verglichen (nicht-parametrisches Verfahren). Die graphische Darstellung erfolgte mit Boxplot-Diagrammen (Abb. 8).

Da die Ergebnisse aus Phagozytose- und Lysozymtest mehrere Extremwerte und Ausreißer beinhalteten und die Daten nicht normalverteilt waren, wurden die Daten aus den genannten Tests logarithmiert und ein gemischtes Regressionsmodell mit

Korrektur für wiederholte Messungen zusätzlich zu den o. g. Gruppenvergleichen durchgeführt.

Um mögliche Beziehungen zwischen Stoffwechselfparametern und Parametern der unspezifischen Abwehr des Euters erkennen zu können, wurden Korrelationsanalysen von Stoffwechselfparametern und Konditionswerten einerseits und den Parametern PQ, Lysozymkonzentration und Differentialzellbild andererseits angefertigt. Bevor die Korrelationsanalysen gerechnet wurden, wurden die Werte auf ihre Verteilung überprüft. Lag laut Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest keine Normalverteilung vor, wurden die Daten logarithmiert und wiederum auf ihre Verteilung überprüft. Lag nun eine Normalverteilung vor, wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson berechnet, bei Nichtvorliegen einer Normalverteilung wurde der Spearman-Rangkorrelationskoeffizient berechnet, der für Korrelationen von nicht normalverteilten Daten geeignet ist.

Für die statistische Auswertung wurde das Programm Statistical Package Social Sciences (SPSS), Version 15.0 für Windows verwendet.

Tab. 8: Gruppeneinteilung der Versuchskühe

Gruppe	Anzahl Kühe Phagozytose-/Lysozymtest bzw. Differentialzellbild (in Klammern)		
	Mastitis	ohne Mastitis	gesamt
Melkstand	6	7 (8)	13 (14)
AMS	7	8	15
gesamt	13	15 (16)	29

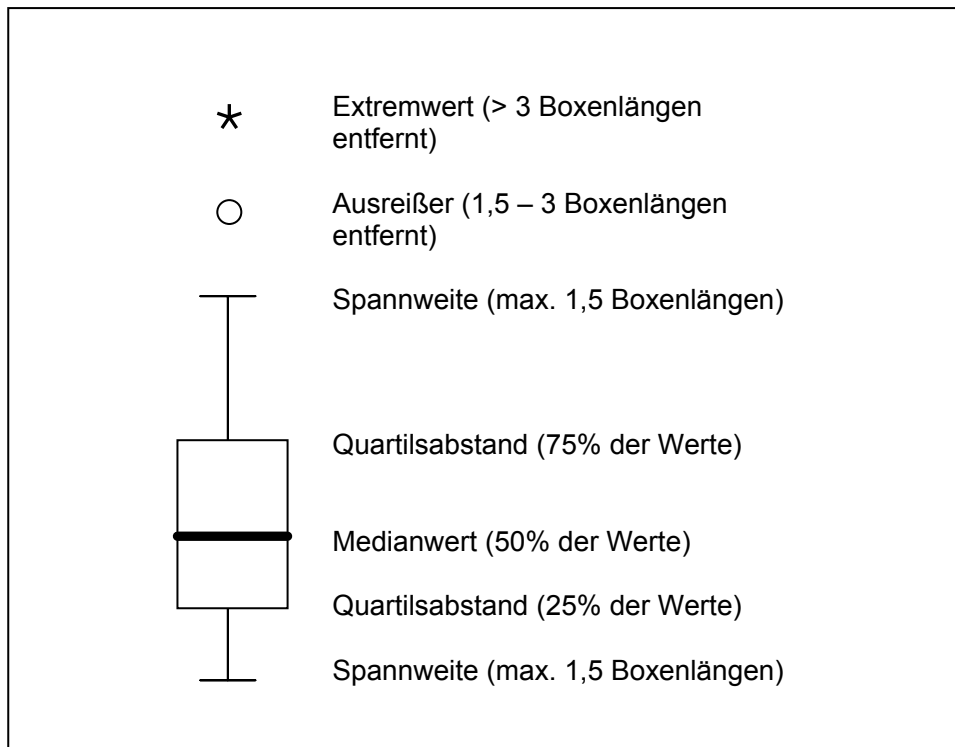


Abb. 8: Schema eines Boxplot-Diagramms

3.2 Ergebnisse

Für die Auswertung des Phagozytose- und des Lysozymtests standen Ergebnisse von insgesamt 28, für die des Differentialzellbildes Ergebnisse von 29 Kühen zur Verfügung. Für alle 28 Kühe, die Proben für Phagozytose- und Lysozymtest lieferten, wurde auch das Differentialzellbild angefertigt.

3.2.1 Verlauf und Gruppenvergleiche der Parameter Phagozytoseaktivität und Lysozymkonzentration

3.2.1.1 Phagozytoseaktivität der Milchzellen

Die Phagozytoseaktivität der Milchzellen veränderte sich im Verlauf der Frühlaktation kaum. Insgesamt zeigte sich ein geringgradiger Anstieg von der 1. bis zur

3. Messung (Abb. 9). Die Unterschiede zwischen den einzelnen Messungen waren nicht signifikant (Tab. 9).

Tab. 9: Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.); n = Anzahl; P = Signifikanz

Messung	n	Median	25. Perzentil	75. Perzentil	P (Vergleich der Messungen)		
					1:2	2:3	1:3
1	28	9,8750	2,2250	22,8475			
2	28	10,5550	3,6675	31,6550	0,611	0,577	0,161
3	28	14,8050	5,2900	29,5075			

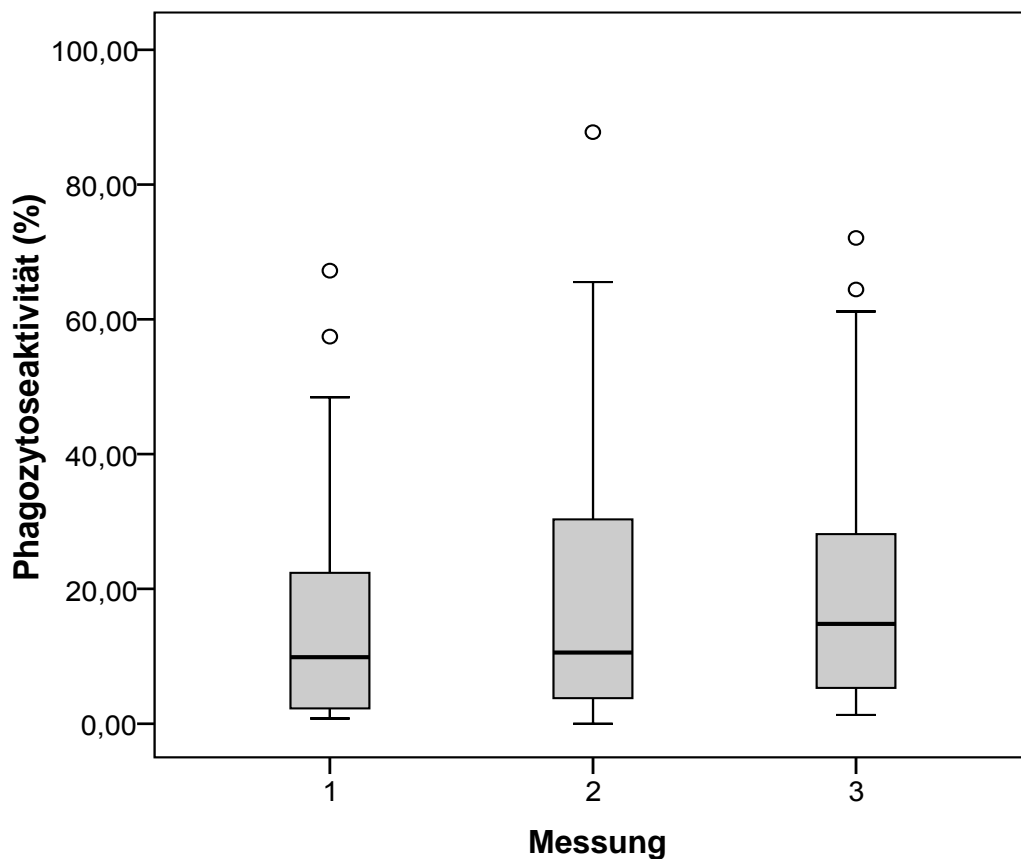


Abb. 9: Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.; $P > 0,05$), 2. (5.–8. Woche p. p.; $P > 0,05$) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.; $P > 0,05$)

Der Unterschied zwischen der Phagozytoseaktivität der Melkstandgruppe und der im AMS gemolkenen Kühe war im Boxplot-Diagramm zu erkennen, er war jedoch nicht statistisch signifikant (Tab. 10): die Phagozytoseaktivität war in der Milch der Melkstandgruppe etwas höher als in der der AMS-Gruppe (Abb. 10).

Tab. 10: Vergleich der Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) von im Melkstand und im AMS gemolkenen Kühen – insgesamt; n = Anzahl; P = Signifikanz

Melksystem	n	Median	25. Perzentil	75. Perzentil	P
Melkstand	39	13,0600	5,0500	35,9000	0,219
AMS	45	8,4600	3,5250	20,8650	

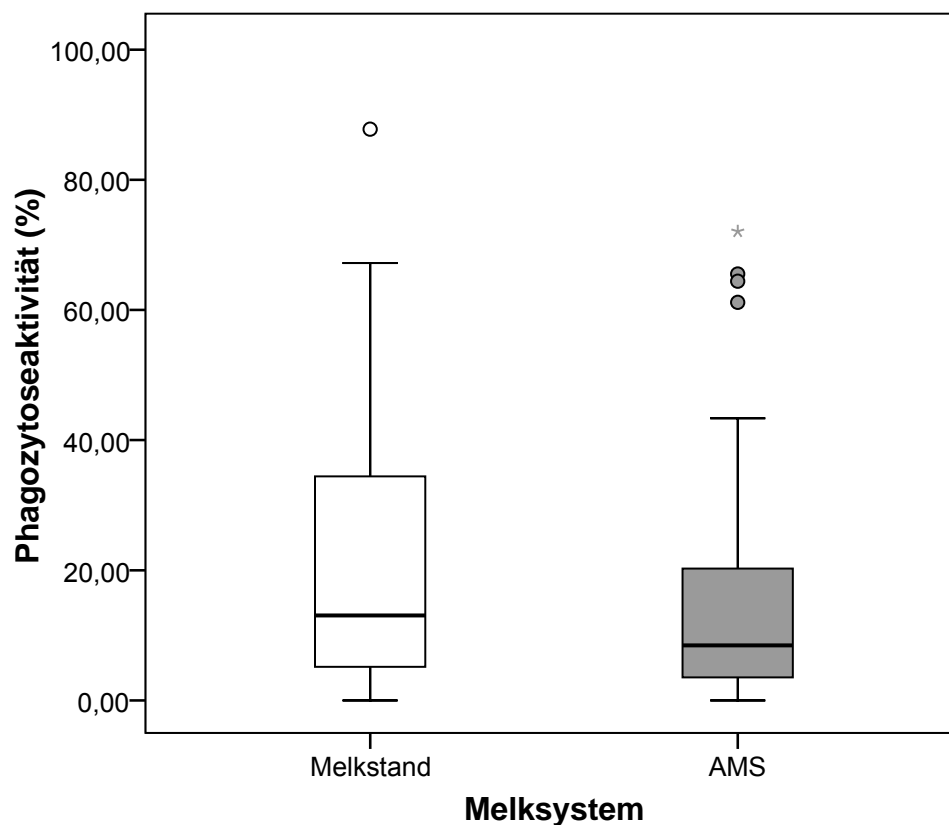


Abb. 10: Vergleich der Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) von im Melkstand und im AMS gemolkenen Kühen – insgesamt; $P > 0,05$

Der Unterschied zwischen den Gruppen Melkstand und AMS wurde besser erkennbar, wenn die drei Messungen getrennt voneinander betrachtet wurden. Bei der 1. Messung war die Phagozytoseaktivität der Melkstand-Gruppe tendenziell

höher als die der AMS-Gruppe, ebenso bei der 2. Messung. Bei der 3. Messung war kaum ein Unterschied zwischen den beiden Gruppen zu erkennen (Abb. 11). Die Unterschiede waren zu keiner der Messungen statistisch signifikant (Tab. 11).

Tab. 11: Vergleich der Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) von im Melkstand und im AMS gemolkenen Kühen bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.); n = Anzahl; P = Signifikanz

Melksystem	Messung	n	Median	25. Perzentil	75. Perzentil	P
Melkstand	1	13	11,7000	6,4350	47,2000	0,076
AMS		15	3,4000	2,1300	20,2700	
Melkstand	2	13	13,0600	2,4500	45,5100	0,549
AMS		15	8,4600	4,0500	16,4100	
Melkstand	3	13	15,1400	5,1600	27,9250	0,765
AMS		15	14,4700	5,5700	30,8800	

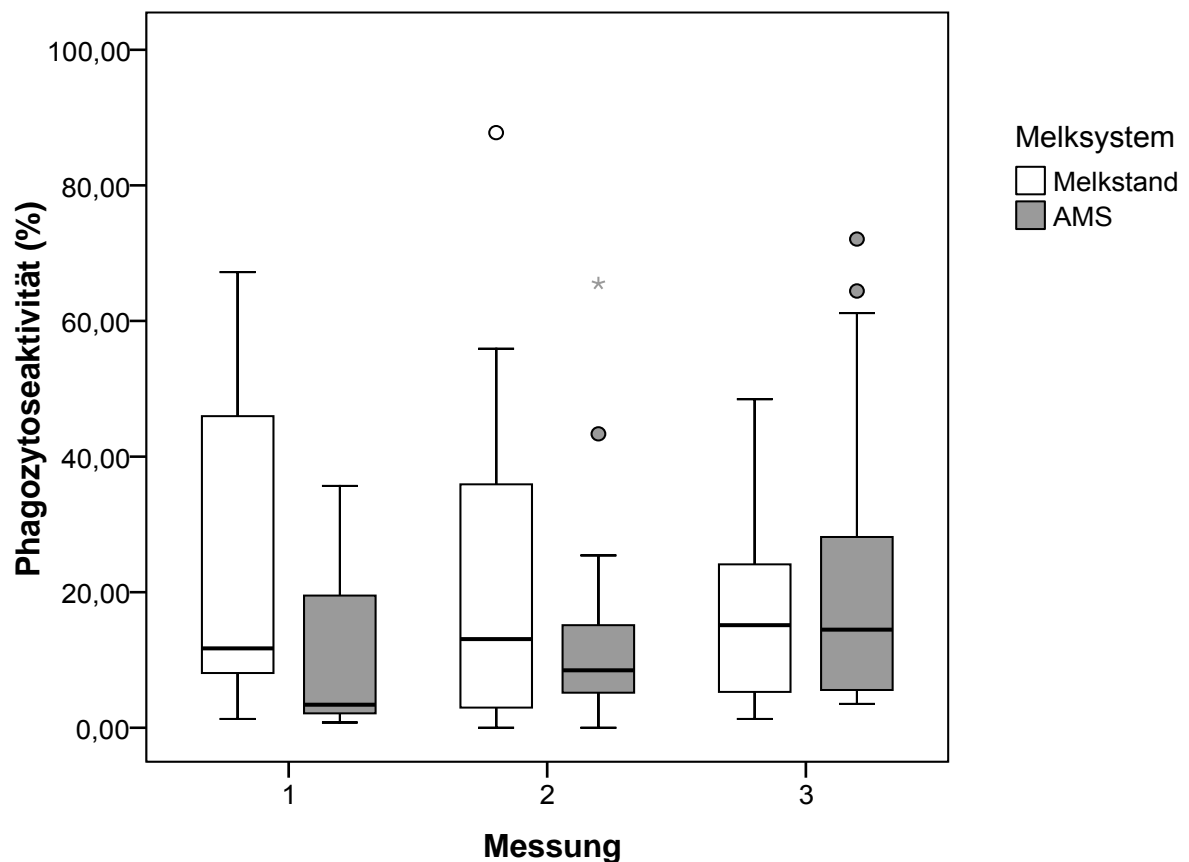


Abb. 11: Vergleich der Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) von im Melkstand und im AMS gemolkenen Kühen bei der 1. (0.–4. Woche p. p.; $P > 0,05$), 2. (5.–8. Woche p. p.; $P > 0,05$) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.; $P > 0,05$)

Beim Vergleich der Phagozytoseaktivität der Milchzellen bei Kühen mit und ohne Mastitis lag kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen vor (Tab. 12; Abb. 12).

Tab. 12: Vergleich der Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) von Kühen ohne Mastitis und Kühen mit Mastitis – insgesamt; n = Anzahl; P = Signifikanz

Euter-Gesundheit	n	Median	25. Perzentil	75. Perzentil	P
keine Mastitis	42	11,4350	3,6000	32,0775	0,788
Mastitis	42	12,0750	4,5150	25,5075	

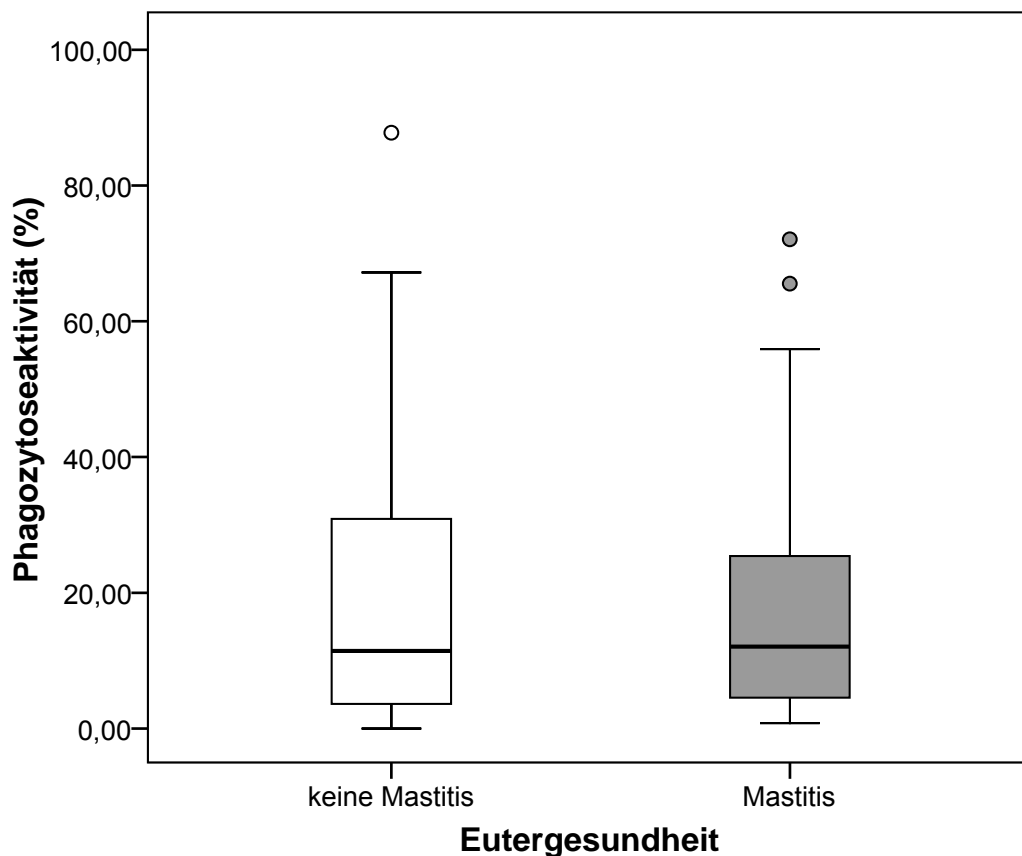


Abb. 12: Vergleich zwischen der Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) von Kühen ohne Mastitis und mit Mastitis – insgesamt; $P > 0,05$

Wenn die Messungen getrennt voneinander betrachtet wurden, wurde der Unterschied zwischen der Mastitis- und Nicht-Mastitis-Gruppe tendenziell etwas größer, die Unterschiede waren zu keinem der Zeitpunkte signifikant (Tab. 13).

Bei der 2. Messung war die Phagozytoseaktivität in der Mastitisgruppe tendenziell höher. Bei der 1. und 3. Messung wurden in der Gruppe ohne Mastitis tendenziell höhere Phagozytoseaktivitäten festgestellt (Abb. 13).

Tab. 13: Vergleich zwischen der Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) von Kühen ohne Mastitis und mit Mastitis bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.); n = Anzahl; P = Signifikanz

Euter-Gesundheit	Messung	n	Median	25. Perzentil	75. Perzentil	P
keine Mastitis	1	14	11,7900	2,0425	38,2450	0,663
Mastitis		14	6,6360	2,3150	21,9225	
keine Mastitis	2	14	7,6450	2,6850	37,7625	0,358
Mastitis		14	13,2350	6,8625	28,9650	
keine Mastitis	3	14	14,8050	5,1600	25,8025	0,783
Mastitis		14	13,4550	5,2750	34,4850	

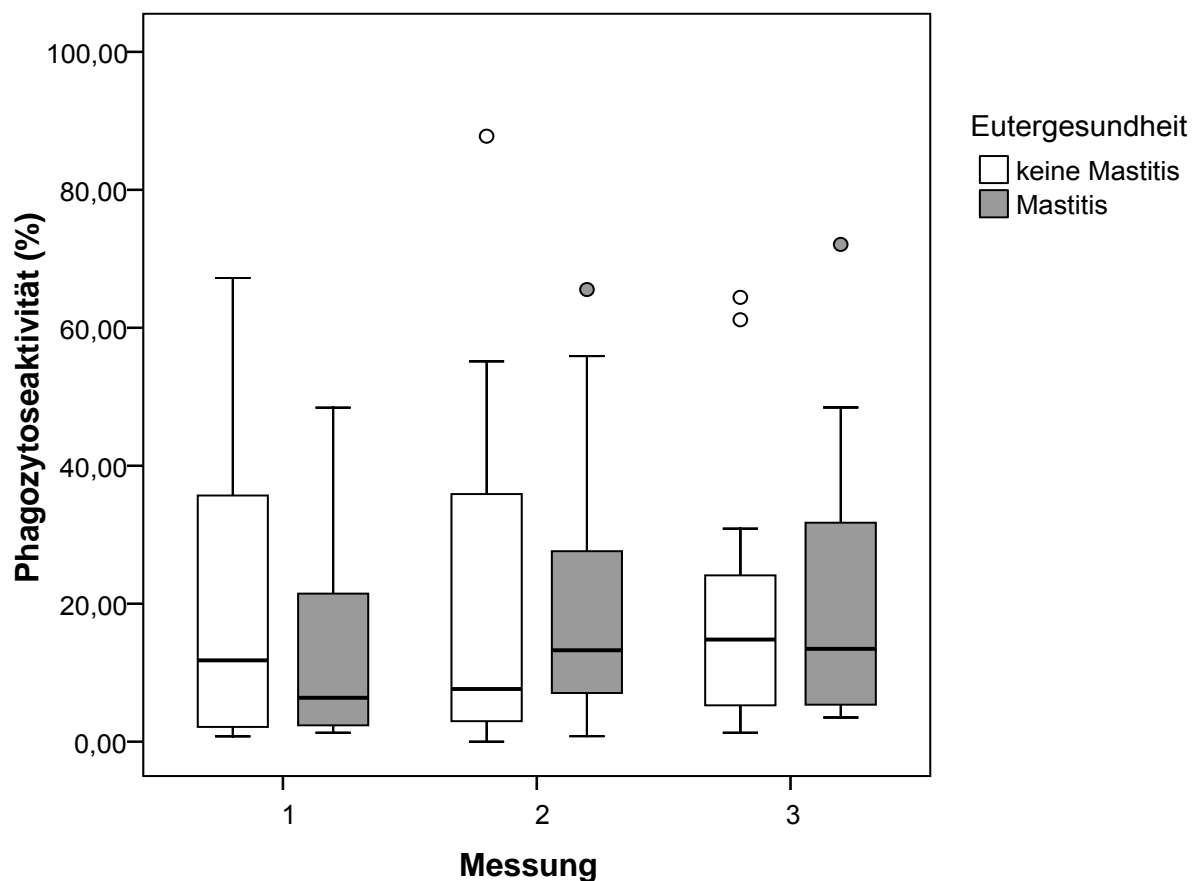


Abb. 13: Vergleich der Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) von Kühen ohne Mastitis und mit Mastitis bei der 1. (0.–4. Woche p. p.; $P > 0,05$), 2. (5.–8. Woche p. p.; $P > 0,05$) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.; $P > 0,05$)

3.2.1.2 Lysozymkonzentration im Milchserum

Die Lysozymkonzentration im Milchserum war insgesamt sehr gering (Abb. 14). Sie variierte kaum zwischen den drei Messungen. In einigen Proben wurde kein Lysozym nachgewiesen. Die Unterschiede zwischen den Messungen waren statistisch nicht signifikant (Tab. 14).

Tab. 14: Lysozymkonzentration im Milchserum ($\mu\text{g/ml}$) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.); n = Anzahl; P = Signifikanz

Messung	n	Median	25. Perzentil	75. Perzentil	P (Vergleich der Messungen)		
					1:2	2:3	1:3
1	28	0,0097	0,0053	0,0126			
2	28	0,0078	0,0034	0,0181	0,403	0,915	0,461
3	28	0,0077	0,0053	0,0147			

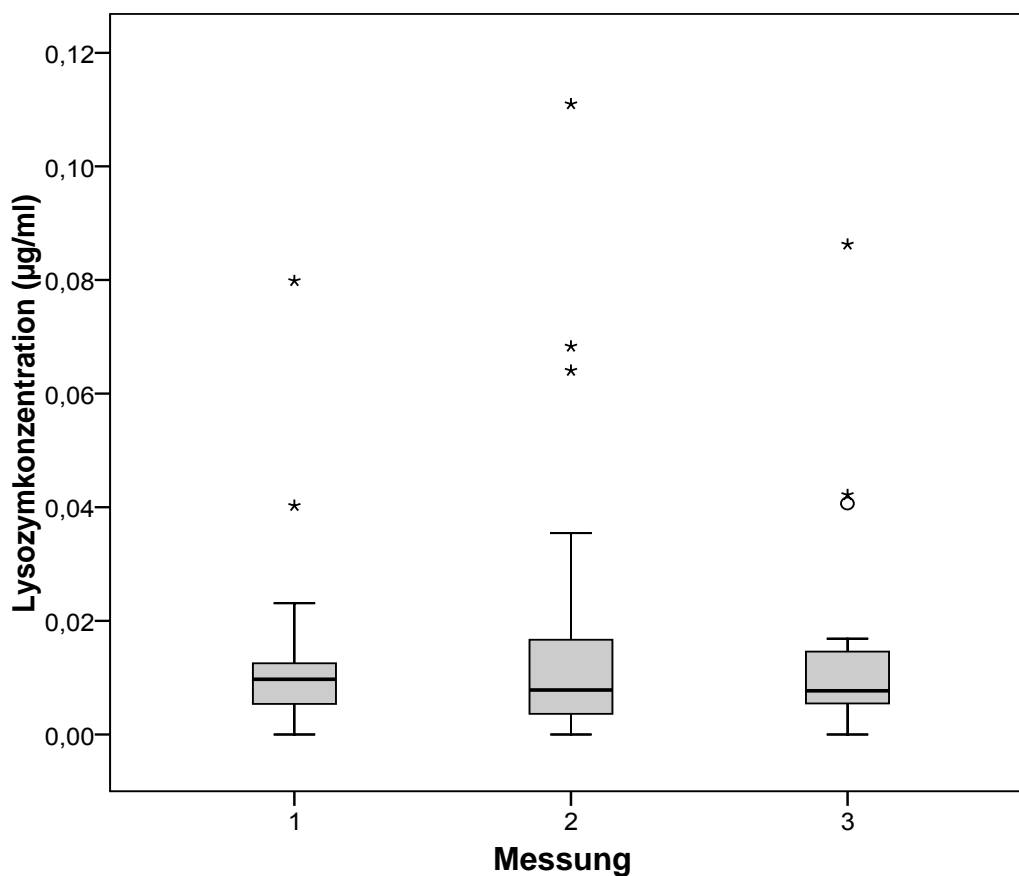


Abb. 14: Lysozymkonzentration im Milchserum ($\mu\text{g/ml}$) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.; $P > 0,05$), 2. (5.–8. Woche p. p.; $P > 0,05$) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.; $P > 0,05$)

Beim Vergleich der Lysozymkonzentration der Melkstand- und der AMS-Gruppe wurde kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt. Die Lysozymkonzentration im Milchserum der Kühe im Melkstand war nur geringgradig höher als bei der AMS-Gruppe (Tab. 15; Abb. 15).

Tab. 15: Vergleich der Lysozymkonzentration im Milchserum ($\mu\text{g/ml}$) von im Melkstand und im AMS gemolkenen Kühen – insgesamt; n = Anzahl; P = Signifikanz

Melksystem	n	Median	25. Perzentil	75. Perzentil	P
Melkstand	39	0,0090	0,0055	0,0143	0,330
AMS	45	0,0077	0,0047	0,0142	

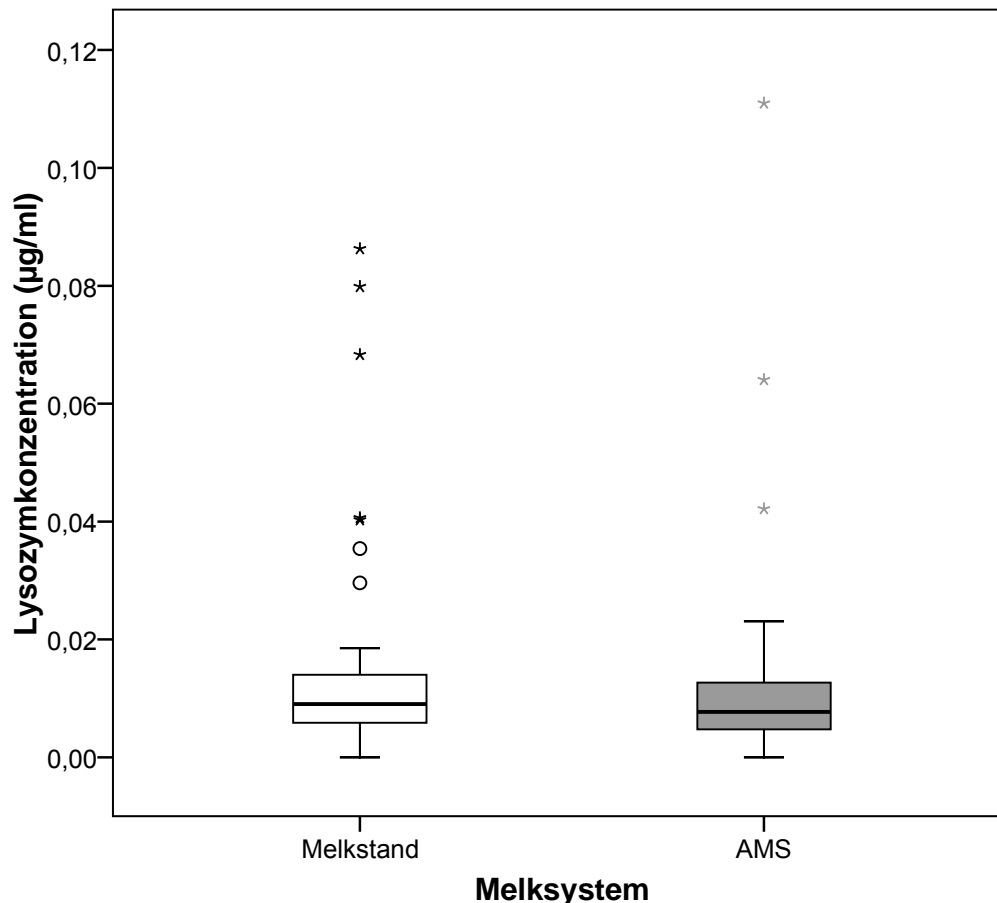


Abb. 15: Vergleich der Lysozymkonzentration im Milchserum ($\mu\text{g/ml}$) von im Melkstand und im AMS gemolkenen Kühen – insgesamt; $P > 0,05$

Auch beim separaten Betrachten der einzelnen Messungen wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen der Melkstand- und der AMS-Gruppe festgestellt (Tab. 16). Bei der 1. und 2. Messung war die Lysozymkonzentration im

Milchserum bei den Melkstandkühen jeweils geringgradig höher als bei den Kühen im AMS, bei der 3. Messung jedoch geringgradig niedriger in dieser Gruppe (Abb. 16).

Tab. 16: Vergleich der Lysozymkonzentration im Milchserum ($\mu\text{g/ml}$) von im Melkstand und im AMS gemolkenen Kühen bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.); n = Anzahl; P = Signifikanz

Melksystem	Messung	n	Median	25. Perzentil	75. Perzentil	P
Melkstand	1	13	0,0099	0,0080	0,0154	0,300
AMS		15	0,0089	0,0048	0,0127	
Melkstand	2	13	0,0080	0,0042	0,0216	0,800
AMS		15	0,0076	0,0029	0,0196	
Melkstand	3	13	0,0075	0,0051	0,0146	0,927
AMS		15	0,0077	0,0057	0,0158	

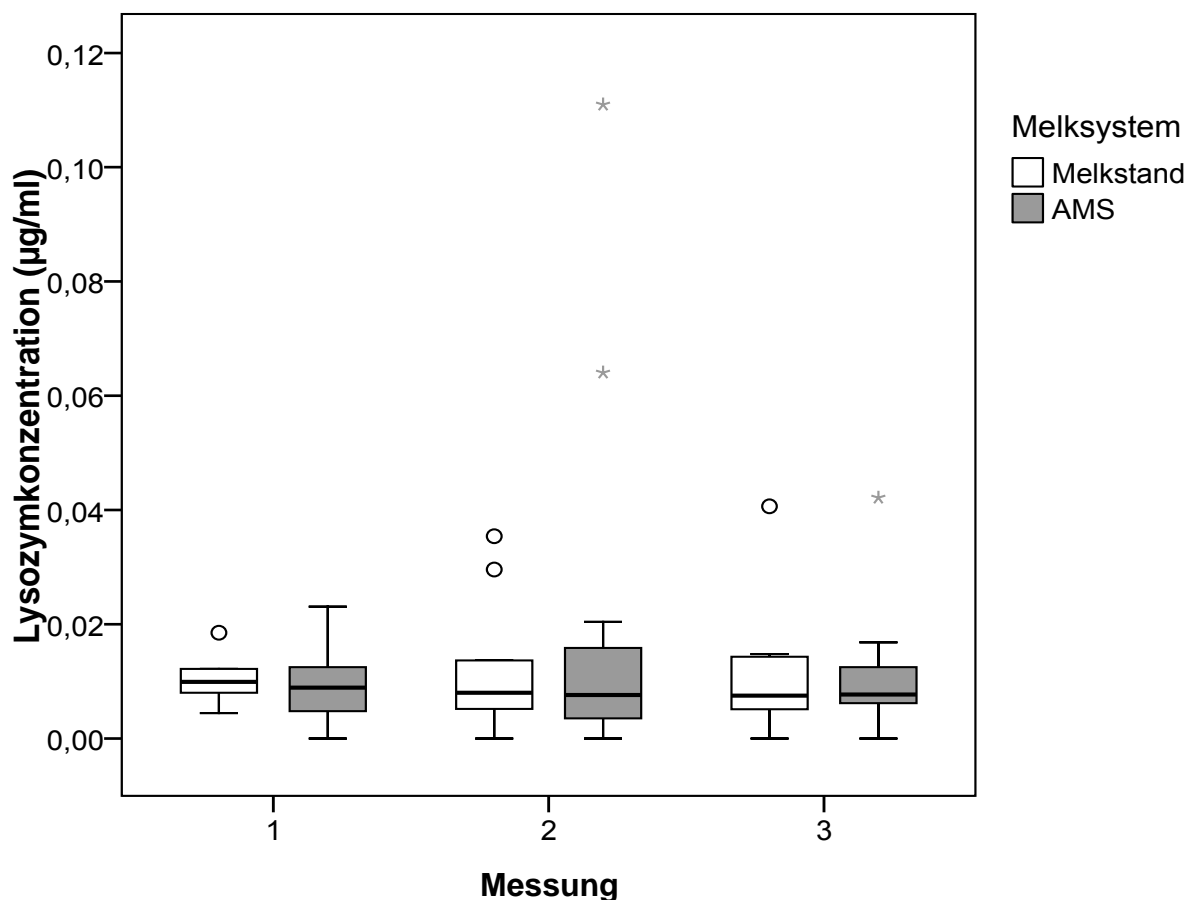


Abb. 16: Vergleich der Lysozymkonzentration im Milchserum ($\mu\text{g/ml}$) von im Melkstand und im AMS gemolkenen Kühen bei der 1. (0.–4. Woche p. p.; $P > 0,05$), 2. (5.–8. Woche p. p.; $P > 0,05$) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.; $P > 0,05$)

Beim Vergleich der Lysozymkonzentration im Milchserum von Kühen ohne Mastitis und Kühen mit Mastitis wurde kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt (Tab. 17; Abb. 17).

Tab. 17: Vergleich der Lysozymkonzentration im Milchserum ($\mu\text{g/ml}$) von Kühen ohne und mit Mastitis – insgesamt; n = Anzahl; P = Signifikanz

Euter-Gesundheit	n	Median	25. Perzentil	75. Perzentil	P
keine Mastitis	42	0,0082	0,0050	0,108	0,395
Mastitis	42	0,0085	0,0050	0,188	

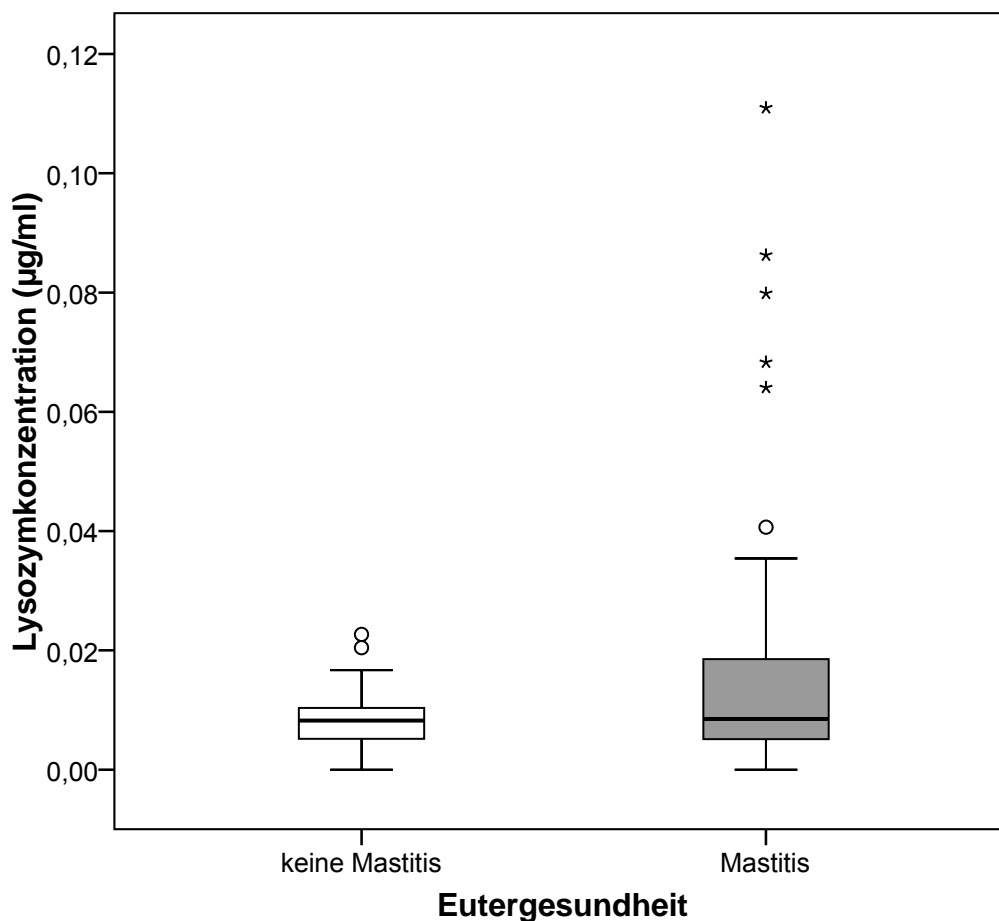


Abb. 17: Vergleich der Lysozymkonzentration im Milchserum ($\mu\text{g/ml}$) von Kühen ohne und mit Mastitis – insgesamt; $P > 0,05$

Die Vergleiche der Lysozymkonzentration im Milchserum von Kühen mit und ohne Mastitis zu den einzelnen Messungen im 1. – 3. Zeitintervall ergaben ebenfalls keine statistisch signifikanten Unterschiede (Tab. 18).

Allenfalls bei der 2. Messung zeigte sich eine geringgradige Tendenz ($P = 0,232$) zu einer höheren Lysozymkonzentration bei Kühen mit Mastitis (Abb. 18).

Tab. 18: Vergleich der Lysozymkonzentration im Milchserum von Kühen ohne und mit Mastitis bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.); n = Anzahl; P = Signifikanz

Euter-Gesundheit	Messung	n	Median	25. Perzentil	75. Perzentil	P
keine Mastitis	1	14	0,0094	0,0052	0,0123	0,646
Mastitis		14	0,0100	0,0051	0,0188	
keine Mastitis	2	14	0,0075	0,0031	0,0094	0,232
Mastitis		14	0,0115	0,0032	0,0426	
keine Mastitis	3	14	0,0084	0,0060	0,0147	0,581
Mastitis		14	0,0075	0,0050	0,0153	

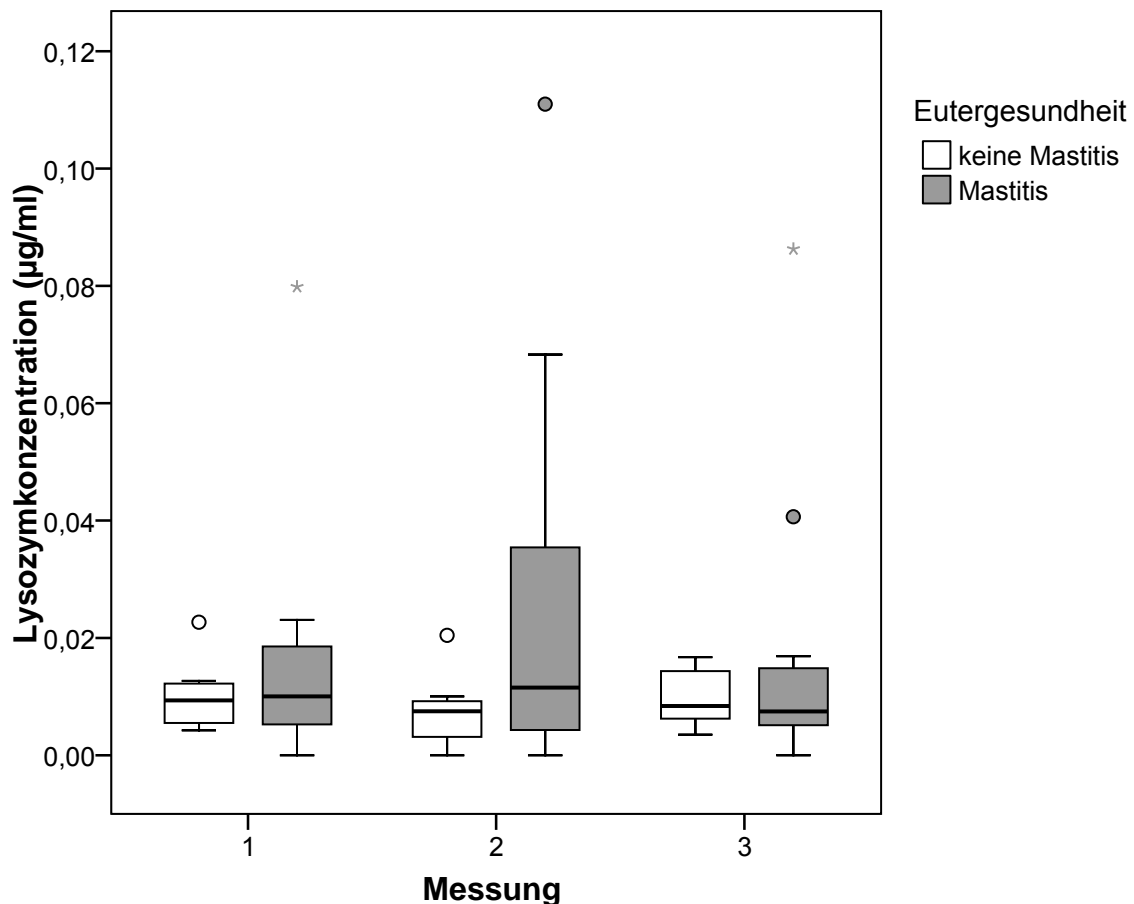


Abb. 18: Vergleich der Lysozymkonzentration im Milchserum von Kühen ohne und mit Mastitis bei der 1. (0.–4. Woche p. p.; $P > 0,05$), 2. (5.–8. Woche p. p.; $P > 0,05$) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.; $P > 0,05$)

3.2.1.3 Gemischtes Regressionsmodell

Da die Ergebnisse des Phagozytostests und des Lysozymtests nicht normalverteilt waren, wurde zusätzlich zum Mann-Whitney-U-Test ein gemischtes Regressionsmodell mit Korrektur für wiederholte Messungen als parametrisches Verfahren durchgeführt. Die Daten wurden zunächst logarithmiert, wodurch es zu einer Normalverteilung kam.

Es wurde kein statistisch signifikanter Effekt der Faktoren Melksystem bzw. Mastitisvorkommen auf die Phagozytoseaktivität der Milchzellen bzw. die Lysozymkonzentration der Milch festgestellt ($P > 0,3$).

3.2.2 Beziehungen zwischen Stoffwechselfparametern und Parametern der unspezifischen Abwehr des Euters

Um Beziehungen zwischen Stoffwechselfparametern und unspezifischen Abwehrmechanismen des Euters feststellen zu können, wurden Korrelationsanalysen zwischen sämtlichen Stoffwechselfparametern einerseits und den Parametern der unspezifischen Abwehr (Phagozytoseaktivität der Milchzellen und Lysozymkonzentration des Milchserums, Differentialzellbild in der Milch) andererseits angefertigt. Jede Zellfraktion des Differentialzellbildes wurde dabei in relativen und absoluten Zahlen wiedergegeben und einzeln betrachtet.

Leber- und nichtspezifische Enzyme, IGF-I, BHB, Stoffwechselfparameter in der Milch sowie die Körperkonditionswerte wurden unter dem Begriff „Stoffwechselfparameter“ zusammengefasst.

3.2.2.1 Korrelationsanalysen zwischen Stoffwechselfparametern und Phagozytoseaktivität

Bei den Korrelationsanalysen von Stoffwechselfparametern und der Phagozytoseaktivität der Milchzellen ergab sich nur eine statistisch signifikante Korrelation (Tab. 19). Die Ergebnisse sämtlicher Korrelationsanalysen finden sich im

Anhang (Tab. 31). Die AP bei Kühen im Alter von > 3 Jahren korrelierte bei der 1. Messung positiv mit der Phagozytoseaktivität ($P = 0,011$).

Keine signifikanten Korrelationen konnten bei Korrelationsanalysen mit folgenden Parametern ermittelt werden: Bilirubin, AST, GLDH, GGT, CK, BHB, IGF-I, Milchmenge, Milchfett, FEQ, Milchnharnstoff, Milcheiweiß, Milch-pH-Wert, Laktose, BCS, BCS-Differenz, BCS max., RFD, RFD-Differenz, RFD max., MD, MD-Differenz und MD max.

Tab. 19: Signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und der Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.); n = Anzahl, r = Korrelationskoeffizient nach Pearson, P = Signifikanz der Korrelation (zweiseitig)

Stoffwechsel-Parameter	Messung	n	r	P
AP (U/l) (Alter > 3 Jahre)	1	15	0,674	0,011

3.2.2.2 Korrelationsanalysen zwischen Stoffwechselfparametern und der Lysozymkonzentration im Milchserum

Bei Korrelationsanalysen zwischen Stoffwechselfparametern und der Lysozymkonzentration im Milchserum konnten nur wenige statistisch signifikante Korrelationen festgestellt werden (Tab. 20). Jeweils bei der 3. Messung korrelierten die Parameter Laktose, BCS und die maximale BCS-Differenz negativ mit der Lysozymkonzentration.

Keine signifikanten Korrelationen wurden bei Korrelationsanalysen zwischen der Lysozymkonzentration im Milchserum und den Parametern Bilirubin, AST, AP, GLDH, GGT, CK, BHB, IGF-I, Milchmenge, Milchnharnstoff, Milchfett, Milcheiweiß, FEQ, Milch-pH-Wert, BCS-Differenz, RFD, RFD-Differenz, RFD max., MD, MD-Differenz und MD max. festgestellt.

Tab. 20: Signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und der Lysozymkonzentration des Milchserums ($\mu\text{mol/l}$) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.); n = Anzahl, r = Korrelationskoeffizient nach Pearson, P = Signifikanz der Korrelation (zweiseitig)

Stoffwechsel-Parameter	Messung	n	r	P
Laktose (%)	3	25	-0,583	0,002
BCS	3	24	-0,437	0,033
BCS max.	3	26	-0,658	0,000

3.2.2.3 Korrelationsanalysen zwischen Stoffwechselfparametern und Parametern des Differentialzellbildes

Die vier Hauptzellfraktionen der Milch PMN, Makropagen, Lymphozyten und Epithelzellen wurden je in relativen und absoluten Zahlen wiedergegeben.

3.2.2.3.1 PMN

Aus den durchgeführten Korrelationsanalysen zwischen Stoffwechselfparametern und dem relativen PMN-Anteil der Milchzellen gingen nur wenige statistisch signifikante Korrelationen hervor. Eine vollständige Auflistung der Korrelationskoeffizienten und der Signifikanzen sämtlicher Korrelationsanalysen findet sich im Anhang (Tab. 32).

In Tabelle 21 sind die signifikanten Korrelationen von Stoffwechselfparametern mit dem relativen PMN-Anteil der Milchzellen zusammengefasst. Der Parameter AP korrelierte bei Kühen im Alter von über 3 Jahren bei der 2. Messung negativ mit dem relativen PMN-Gehalt. Bei Kühen unter 3 Jahren konnte keine signifikante Korrelation von AP mit den PMN festgestellt werden. GGT und relativer PMN-Gehalt korrelierten bei der 2. Messung positiv miteinander. Zwischen Milchmenge und relativem PMN-Gehalt wurde bei der 3. Messung eine positive Korrelation festgestellt. Die Parameter FEQ, Laktose und die maximale BCS-Differenz (BCS

max.) korrelierten jeweils negativ mit dem PMN-Gehalt, dies war bei der 1. und/oder 3. Messung der Fall (Tab. 21).

Korrelationsanalysen zwischen Bilirubin, AST, GLDH, CK, BHB, IGF-I, Milchwahnhstoff, Milchwahnfett, Milcheiweiß, MilchwahnpH-Wert, BCS, BCS-Differenz, RFD, RFD-Differenz, RFD max., MD, MD-Differenz, MD max. und dem relativen PMN-Gehalt der Milch ergaben keine signifikanten Korrelationen.

Tab. 21: Signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und dem relativen PMN-Anteil der Milchwahnzellen (%) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.); n = Anzahl, r = Korrelationskoeffizient nach Pearson, P = Signifikanz der Korrelation (zweiseitig)

Stoffwechsel-Parameter	Messung	n	r	P
AP (U/l) (Kühe > 3 Jahre)	2	15	-0,619	0,014
GGT (U/l)	2	28	0,465	0,013
Milchwahnmenge (l)	3	29	0,410	0,027
FEQ	3	28	-0,460	0,014
Laktose (%)	3	28	-0,409	0,030
BCS max.	1	29	-0,394	0,035
	3	29	-0,386	0,039

Bei den Korrelationsanalysen von Stoffwechselfparametern und dem absoluten PMN-Gehalt der Milch wurden nur wenige statistisch signifikante Korrelationen festgestellt: Die GGT korrelierte bei der 3. Messung positiv mit dem absoluten PMN-Gehalt der Milch. Weiterhin positiv korrelierten die Parameter Milchwahnfett und FEQ jeweils bei der 2. Messung mit dem absoluten PMN-Gehalt der Milch, das Milchwahnfett außerdem auch bei der 1. Messung.

Negative Korrelationen wurden bei Korrelationsanalysen vom absoluten PMN-Gehalt und den Parametern IGF-I, Laktose, MilchwahnpH-Wert und MD festgestellt. Die Laktose

korrelierte zu allen 3 Messungen stark negativ mit dem absoluten PMN-Gehalt der Milch ($P = < 0,01$) (Tab. 22).

Keine signifikanten Korrelationen ergaben sich bei Korrelationsanalysen zwischen absolutem PMN-Gehalt und folgenden Parametern: Bilirubin, AST, AP, GLDH, CK, BHB, Milchmenge, Milchwahstoff, Milcheiweiß, BCS, BCS- Differenz, BCS max., RFD, RFD-Differenz, RFD max., MD-Differenz und MD max. Eine Zusammenfassung aller Ergebnisse findet sich im Anhang (Tab. 32).

Tab. 22: Signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und dem absoluten PMN-Gehalt der Milch ($\times 1000/\text{ml}$)ⁿ bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.); n = Anzahl, r = Korrelationskoeffizient nach Pearson, P = Signifikanz der Korrelation (zweiseitig)

Stoffwechsel-Parameter	Messung	n	r	P
GGT (U/l)	3	28	0,408	0,031
IGF-I (nmol/l)	1	29	-0,442	0,016
Milchfett (%)	1	29	0,384	0,040
	2	28	0,408	0,031
FEQ	2	28	0,385	0,043
Laktose (%)	1	29	-0,611	0,000
	2	28	-0,494	0,007
	3	28	-0,620	0,000
Milch-pH-Wert	1	29	-0,386	0,039
MD (mm)	2	27	-0,420	0,029

3.2.2.3.2 Makrophagen

Bei den Korrelationsanalysen von relativem Makrophagen-Anteil der Milchzellen und Stoffwechselfparametern korrelierte ausschließlich das Enzym AP statistisch signifikant mit dem relativen Makrophagen-Anteil der Milchzellen.

Bei Kühen im Alter von < 3 Jahren korrelierte die AP jeweils bei der 2. und 3. Messung positiv mit dem relativen Makrophagen-Anteil. Bei Kühen > 3 Jahren konnte ebenfalls bei der 2. Messung eine signifikant positive Korrelation zwischen den beiden Parametern festgestellt werden (Tab. 23).

Die Korrelationsanalysen mit den Parametern Bilirubin, AST, GLDH, GGT, CK, BHB, IGF-I, Milchmenge, Milchnharnstoff, Milcheiweiß, Milchfett, FEQ, Laktose, Milch-pH-Wert, BCS, BCS-Differenz, BCS max, RFD, RFD-Differenz, RFD max., MD, MD-Differenz und MD max. ergaben keine statistisch signifikanten Korrelationen (Anhang, Tab. 33).

Tab. 23: Signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und dem relativen Makrophagen-Anteil der Milchzellen (%) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.); n = Anzahl, r = Korrelationskoeffizient nach Pearson, P = Signifikanz der Korrelation (zweiseitig)

Stoffwechsel-Parameter	Messung	n	r	P
AP (U/I) (Alter < 3 Jahre)	2	13	0,632	0,020
	3	13	0,744	0,004
AP (U/I) (Alter > 3 Jahre)	2	15	0,551	0,033

Bei den Korrelationsanalysen von Stoffwechselfparametern und absolutem Makrophagen-Gehalt der Milch konnten einige statistisch signifikante Korrelationen festgestellt werden (Tab. 24). Positive Korrelationen ergaben sich zwischen GGT (3. Messung), Milchfett (1. Messung) und FEQ (1. und 2. Messung) und dem absoluten Makrophagen-Gehalt der Milch.

Negativ dagegen korrelierten die Parameter Milchmenge, Laktose, Milch-pH-Wert, BCS-Differenz und MD zumeist bei der 1. Messung mit dem absoluten Makrophagen-Gehalt der Milch. Die MD korrelierte bei der 2. Messung negativ mit dem absoluten Makrophagen-Gehalt. Die Korrelationen zwischen Laktose und dem absoluten Makrophagen-Gehalt waren zu allen Messungen negativ (P = 0,000-0,030).

Die Korrelationsanalysen zwischen Bilirubin, AST, AP, GLDH, CK, BHB, IGF-I, Milchwahstoff, Milcheiweiß, BCS, BCS max., RFD, RFD-Differenz, RFD max., MD-Differenz, MD max. und dem absoluten Makrophagen-Gehalt ergaben keine statistisch signifikanten Korrelationen (Anhang, Tab. 33).

Tab. 24: Signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und dem absoluten Makrophagen-Gehalt der Milch ($\times 1000/\text{ml}$)^{ln} bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.); n = Anzahl, r = Korrelationskoeffizient nach Pearson, P = Signifikanz der Korrelation (zweiseitig)

Stoffwechsel-Parameter	Messung	n	r	P
GGT (U/l)	3	28	0,551	0,002
Milchmenge (l)	1	27	-0,546	0,003
Milchfett (%)	1	29	0,499	0,006
	2	28	0,466	0,013
FEQ	1	29	0,425	0,022
	2	28	0,441	0,019
Laktose (%)	1	29	-0,644	0,000
	2	28	-0,411	0,030
	3	28	-0,609	0,001
Milch-pH-Wert	1	29	-0,399	0,032
	2	28	-0,399	0,036
BCS Differenz	1	29	-0,456	0,013
MD (mm)	2	28	-0,475	0,012

3.2.2.3.2 Lymphozyten

Korrelationsanalysen von Stoffwechselfparametern und dem relativen Lymphozyten-Anteil der Milchezellen ergaben folgende signifikante Korrelationen (Tab. 25):

FEQ korrelierte positiv (3. Messung) mit den relativen Lymphozyten.

Negative Korrelationen ergaben sich zwischen dem relativen Lymphozyten-Anteil und AP bei Kühen < 3 Jahren, GGT (je 2. Messung) und der Milchmenge (3. Messung).

Bei den Korrelationsanalysen zwischen relativem Lymphozyten-Anteil und Bilirubin, AST, GLDH, CK, IGF-I, BHB, Milchwahstoff, Milchfett, Milcheiweiß, Laktose, Milch-pH-Wert, BCS, BCS-Differenz, BCS max., RFD, RFD-Differenz, RFD max., MD, MD-Differenz, MD max. wurden keine statistisch signifikanten Korrelationen festgestellt (Anhang, Tab. 34).

Tab. 25: Signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und dem relativen Lymphozyten-Anteil der Milchzellen (%) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.); n = Anzahl, r = Korrelationskoeffizient nach Pearson, P = Signifikanz der Korrelation (zweiseitig)

Stoffwechsel-Parameter	Messung	n	r	P
AP (U/l) (Alter < 3 Jahre)	2	13	-0,568	0,043
GGT (U/l)	2	28	-0,522	0,004
Milchmenge (l)	3	29	-0,424	0,022
FEQ	3	28	0,461	0,014

Aus den Korrelationsanalysen zwischen Stoffwechselfparametern und absolutem Lymphozyten-Gehalt der Milch gingen einige positive und negative statistisch signifikante Beziehungen hervor (Tab. 26). Alle signifikanten Korrelationen traten ausschließlich bei der 1. Messung (Woche 0–4 p. p.) auf.

AST, CK, Milchfett und FEQ korrelierten positiv mit dem absoluten Lymphozyten-Gehalt.

Zu den mit dem absoluten Lymphozyten-Gehalt negativ korrelierenden Parametern zählten Milchmenge, Laktose und der Milch-pH-Wert.

Keine statistisch signifikanten Korrelationen wurden bei Korrelationsanalysen zwischen absolutem Lymphozyten-Gehalt und folgenden Parametern ermittelt:

Bilirubin, AP, GLDH, GGT, BHB, IGF-I, Milchwahstoff, Milcheiweiß, BCS, BCS-Differenz, BCS max., RFD, RFD-Differenz, RFD max., MD, MD-Differenz und MD max. (Anhang, Tab. 34).

Tab. 26: Signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und dem absoluten Lymphozyten-Gehalt der Milch ($\times 1000/\text{ml}$)^{ln} bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.); n = Anzahl, r = Korrelationskoeffizient nach Pearson, P = Signifikanz der Korrelation (zweiseitig)

Stoffwechsel-Parameter	Messung	n	r	P
AST (U/l)	1	29	0,376	0,044
CK (U/l)	1	29	0,410	0,027
Milchmenge (l)	1	27	-0,595	0,001
Milchfett (%)	1	29	0,498	0,006
FEQ	1	29	0,401	0,031
Laktose (%)	1	29	-0,628	0,000
Milch-pH-Wert	1	29	-0,475	0,009

3.2.2.3.3 Epithelzellen

Die Korrelationsanalysen zwischen Stoffwechselfparametern und relativen Epithelzellen-Anteil der Milchzellen lieferten folgende signifikante Korrelationen (Tab. 27):

Zwischen dem relativen Epithelzellen-Anteil und AP bei Kühen im Alter > 3 Jahren, IGF-I, Milcheiweiß, Laktose, BCS max. und die RFD-Differenz wurden positive Korrelationen ermittelt. Die Laktose korrelierte zu allen 3 Messungen positiv mit den relativen Epithelzellen. Negative signifikante Korrelationen zwischen relativem Epithelzellen-Anteil und Stoffwechselfparametern wurden nicht festgestellt.

Bei Korrelationsanalysen zwischen relativem Epithelzellen-Anteil der Milchzellen und Bilirubin, AST, CK, GLDH, GGT, BHB, Milchmenge, Milchharnstoff, Milchfett, FEQ, Milch-pH-Wert, BCS, BCS-Differenz, RFD, RFD max., MD, MD-Differenz, MD max. wurden keine signifikanten Beziehungen festgestellt (Anhang, Tab. 35).

Tab. 27: Signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und dem relativen Epithelzellen-Anteil der Milchzellen (%) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.); n = Anzahl, r = Korrelationskoeffizient nach Pearson, P = Signifikanz der Korrelation (zweiseitig)

Stoffwechsel-Parameter	Messung	n	r	P
AP (U/l) (Alter >3 Jahre)	2	15	0,594	0,020
IGF-I (nmol/l)	1	29	0,500	0,006
Milcheiweiß (%)	3	28	0,385	0,043
Laktose (%)	1	29	0,384	0,040
	2	28	0,406	0,032
	3	28	0,439	0,020
BCS max.	2	28	0,434	0,021
RFD Differenz (mm)	3	27	0,520	0,005

Statistisch signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und absolutem Epithelzellen-Gehalt in der Milch wurden ausschließlich bei der 1. Messung ermittelt (Tab. 28). Das Enzym AP (bei Kühen < 3 Jahren) korrelierte positiv mit dem absoluten Epithelzellen-Gehalt. Der Parameter „Milchmenge“ korrelierte dagegen signifikant negativ mit dem absoluten Epithelzellen-Gehalt der Milch.

Keine signifikanten Korrelationen wurden bei Korrelationsanalysen zwischen absolutem Epithelzellen-Gehalt und Bilirubin, AST, GLDH, GGT, CK, IGF-I, BHB, Milchfett, Milcheiweiß, FEQ, Laktose, Milchharnstoff, Milch-pH-Wert, BCS, BCS-

Differenz, BCS max., RFD, RFD-Differenz, RFD max., MD, MD-Differenz, MD max. festgestellt (Anhang, Tab. 35).

Tab. 28: Signifikante Korrelationen zwischen Stoffwechselfparametern und dem absoluten Epithelzellen-Gehalt der Milch ($\times 1000/\text{ml}$)^{ln} bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.); n = Anzahl, r = Korrelationskoeffizient nach Pearson, P = Signifikanz der Korrelation (zweiseitig)

Stoffwechsel-Parameter	Messung	n	r	P
AP (U/l) (Alter < 3 Jahre)	1	11	0,614	0,044
Milchmenge (l)	1	23	-0,442	0,035

3.2.3 Beziehungen zwischen Differentialzellbild und der Phagozytoseaktivität sowie der Lysozymkonzentration

Um zusätzliche Informationen über den Abwehrstatus des Rindereuters in der Hochlaktation zu erhalten, wurden die Ergebnisse des Differentialzellbildes und die Parameter Phagozytoseaktivität und Lysozymkonzentration ebenfalls einer Korrelationsanalyse unterzogen.

3.2.3.1 Korrelationsanalysen zwischen Differentialzellbild und Phagozytoseaktivität

Bei den Korrelationsanalysen von Parametern des Differentialzellbildes und der Phagozytoseaktivität der Milchzellen konnten einige statistisch signifikante Korrelationen ermittelt werden (Tab. 29). Der relative PMN-Anteil der Milchzellen sowie der absolute PMN-Gehalt der Milch korrelierten jeweils positiv mit der

Phagozytoseaktivität. Besonders der relative PMN-Anteil korrelierte bei der 2. und 3. Messung stark positiv mit der Phagozytoseaktivität ($P = < 0,01$).

Der jeweils relative Lymphozyten-/Makrophagen-Anteil der Milchzellen korrelierte je bei der 3. Messung negativ mit der Phagozytoseaktivität. Zwischen der Epithelzellenfraktion der Milchzellen sowie den absoluten Makrophagen und der Phagozytoseaktivität der Milchzellen wurden keine signifikanten Korrelationen festgestellt. Eine Auflistung sämtlicher Ergebnisse der Korrelationsanalysen findet sich im Anhang (Tab. 36).

Tab. 29: Signifikante Korrelationen zwischen Parametern des Differentialzellbildes und der Phagozytoseaktivität der Milchzellen (%) bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.); n = Anzahl, r = Korrelationskoeffizient nach Pearson, P = Signifikanz der Korrelation (zweiseitig)

Differentialzellbild-Parameter	Messung	n	r	P
PMN relativ (%)	1	28	0,480	0,010
	2	27	0,525	0,005
	3	28	0,626	0,000
PMN absolut (x 1000/ml) ^{ln}	1	28	0,402	0,034
	3	27	0,534	0,004
Lymphozyten relativ (%)	3	28	-0,391	0,040
Makrophagen relativ (%)	3	28	-0,390	0,040

3.2.3.2 Korrelationsanalysen zwischen Differentialzellbild und Lysozymkonzentration

Korrelationsanalysen von Parametern des Differentialzellbildes und der Lysozymkonzentration im Milchserum ergaben folgende signifikante Ergebnisse:

Die PMN in der Milch korrelierten stark positiv mit der Lysozymkonzentration (Tab. 30). Der relative PMN-Anteil der Milchzellen korrelierte bei der 1. und 3. Messung positiv mit der Lysozymkonzentration, der absolute PMN-Gehalt bei der 3. Messung. Der relative Makrophagen-Anteil der Milchzellen korrelierte negativ mit der Lysozymkonzentration (3. Messung), der absolute Makrophagen-Gehalt dagegen positiv (3. Messung). Der relative Lymphozyten- und Epithelzellen-Anteil der Milchzellen korrelierten bei der 3. bzw. 1. Messung jeweils negativ mit der Lysozymkonzentration.

Keine signifikanten Korrelationen wurden bei Korrelationsanalysen mit den Parametern absoluter Lymphozyten- sowie Epithelzellen-Gehalt ermittelt. Sämtliche Ergebnisse der Korrelationsanalysen finden sich im Anhang (Tab. 36).

Tab. 30: Signifikante Korrelationen zwischen Parametern des Differentialzellbildes und der Lysozymkonzentration des Milchserums ($\mu\text{mol/l}$) bei der 1. (0.-4. Woche p. p.), 2. (5.-8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.-14. Woche p. p.); n = Anzahl, r = Korrelationskoeffizient nach Pearson, P = Signifikanz der Korrelation (zweiseitig)

Differentialzellbild-Parameter	Messung	n	r	P
PMN relativ (%)	1	27	0,591	0,001
	3	26	0,617	0,001
PMN absolut (x 1000/ml)^{ln}	3	25	0,689	0,000
Lymphozyten relativ (%)	3	25	-0,455	0,020
Makrophagen relativ (%)	3	26	-0,461	0,018
Makrophagen absolut (x 1000/ml)^{ln}	3	25	0,522	0,007
Epithelzellen relativ (%)	1	27	-0,413	0,032

4 Diskussion

Die Problematik der Stoffwechsellage der Hochleistungsmilchkuh im peripartalen Zeitraum und ihre negative Auswirkung auf die Gesundheit der Kuh sind schon lange bekannt und wurden bereits mehrfach untersucht (GOFF u. HORST, 1997; KANEENE et al., 1997; WENTINK et al., 1997).

In vielen Studien zu dieser Thematik nimmt die Eutergesundheit eine zentrale Stellung ein. In der Früh-laktation auftretende Mastitiden werden vielen Autoren zufolge mit vorausgehenden Stoffwechselerkrankungen und einer dadurch herabgesetzten Immunabwehr des Euters in Zusammenhang gebracht. In den meisten Studien wurde die negative Auswirkung einer Hyperketonämie auf zelluläre Abwehrmechanismen bestätigt (KEHRLI et al., 1996; HOEBEN et al., 1997; LESLIE et al., 2000; SURIYASATHAPORN et al., 2000; BURVENICH et al., 2007).

Ziel der vorliegenden Studie war es, den Verlauf der unspezifischen Abwehrfaktoren Phagozytoseaktivität der Milchzellen, Lysozymkonzentration des Milchserums und das Differentialzellbild in der Milch im peripartalen Zeitraum und Wechselwirkungen verschiedener Stoffwechsellparameter mit diesen Parametern zu untersuchen.

Die Einführung der Automatischen Melksysteme (AMS) vor gut einem Jahrzehnt brachte wider Erwarten keine herausragenden Verbesserungen hinsichtlich der Eutergesundheit mit sich. Es wurden oft erhöhte Zellzahlen in der Tankmilch des AMS festgestellt (KELTON et al., 2001; DAVIS u. REINEMANN, 2002; WIRTZ et al., 2002). In der vorliegenden Studie wurden die Phagozytoseaktivität der Milchzellen und die Lysozymkonzentration des Milchserums bei im konventionellen Melkstand und bei im AMS gemolkenen Kühen verglichen, um zu überprüfen, ob die Art des Melksystems eine Auswirkung auf die unspezifischen Abwehrmechanismen des Euters hat. Der Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer Mastitis im Untersuchungszeitraum und Veränderungen der genannten Abwehrparameter wurde ebenfalls berücksichtigt.

4.1 Diskussion der Methoden

Für die Untersuchungen standen Ergebnisse von 28 (29) Kühen der Rasse Deutsche Holsteins Farbrichtung Rotbunt eines Betriebes zur Verfügung. Die Tiere wurden

unter gleichen Bedingungen (Liegeboxenlaufstall) gehalten. Die Stichprobengröße war aus betrieblichen Gründen limitiert.

Um Informationen über Stoffwechselstatus und Eutergesundheit im peripartalen Zeitraum zu erhalten, wurden die Proben im Zeitraum von 2 Wochen a. p. bis 14 Wochen p. p. entnommen. In diesem Zeitraum kommt es am häufigsten zu Störungen des Stoffwechsels und daraus folgenden Sekundärerkrankungen wie Pansenazidose und –alkalose, Labmagenverlagerung, Störungen der Eutergesundheit usw. (KANEENE et al., 1997; COLLARD et al., 2000; ROSSOW, 2003a).

Die Eutergesundheit wurde anhand der Ergebnisse der klinischen Untersuchung in Anlehnung an GRUNERT (1990) einschließlich grobsinnlicher Beurteilung der Milch, der Durchführung des California-Mastitis-Tests sowie des pH-Wertes der Milch beurteilt. Die Kombination der Ergebnisse der genannten Untersuchungen lieferte genaue Informationen über den Gesundheitsstatus des Euters. Durch die regelmäßige wöchentliche Untersuchung der Kühe konnten Abweichungen der Eutergesundheit zuverlässig erfasst werden.

Einen Teil des Stoffwechsel-Screenings lieferten die Ergebnisse der wöchentlichen Untersuchungen von bestimmten Stoffwechselfparametern im Blut:

Für Hinweise über eine eventuelle Leberbelastung wurden die Enzyme *AP*, *GLDH*, *AST*, *CK* und *GGT* und *Bilirubin* untersucht.

IGF-I korreliert bei Rindern positiv mit der Energiebilanz (SPICER et al., 1990) und sinkt bei Negativer Energiebilanz (NEB) ab.

Der Ketonkörper *BHB* wird bei Energie- bzw. Glucosemangel vermehrt aus freien Fettsäuren synthetisiert und steigt somit im Blut an (FÜRLL, 2005).

Auch in der Milch wurden Parameter für die Beurteilung des Stoffwechselstatus herangezogen:

Die *Milchmenge* wurde als allgemeine Aussage über die Milchleistung der einzelnen Kühe herangezogen. Bei hohen Milchleistungen und einem steilen Laktationspeak kann es zu ausgeprägter negativer Energiebilanz kommen.

Der *Harnstoffgehalt* der Milch korreliert eng mit dem Harnstoffgehalt im Blut und steigt bei einem relativen Energiemangel und relativem Eiweißüberschuss an (FÜRLL, 2005).

Der *Milchfettgehalt* und der *Milcheiweißgehalt* eignen sich ebenfalls gut zur Stoffwechselbeurteilung. Der erstgenannte Parameter steigt, der zweite sinkt bei

Energiemangelsituationen. Durch Bildung eines Quotienten aus beiden Werten, dem *Fett-Eiweiß-Quotienten (FEQ)* ergibt sich ein sensibler Parameter (FÜRLL, 2005; MARTIN et al., 2007).

Der *Laktosegehalt* der Milch wird u. a. durch den Blutglucosespiegel und somit durch die Futterraufnahme beeinflusst (FÜRLL, 2005).

Ergänzend zu den o. g. Stoffwechsel-Screenings wurde die *Körperkondition* jeder Versuchskuh beurteilt. Die Körperkondition korreliert eng mit dem Energiestatus, da zum Ausgleich des Energiedefizits Körperfette abgebaut werden (STAUFENBIEL et al., 1991). Ein großer Teil der Körperfette befindet sich subkutan an markanten Stellen des Tierkörpers. Die Kondition der Tiere wurde alle 2 Woche subjektiv (Body Condition Scoring) und objektiv (Messung von Rückenfett- und Muskeldicke) beurteilt.

Für die Beurteilung der Immunität des Euters wurden die unspezifischen Abwehrfaktoren „Phagozytoseaktivität der Milchzellen“, „Lysozymkonzentration des Milchserums“ und „Differentialzellbild der Milch“ herangezogen.

Die *Phagozytoseaktivität* spielt als Bestandteil der zellulären Abwehr eine wichtige Rolle bei der Abwehr des Euters und zählt zu den wichtigsten Abwehrmechanismen in der ersten Phase einer Infektion des Euters (PAAPE et al., 2002).

Es gibt verschiedene Möglichkeiten, einen Phagozytostest durchzuführen, der die Phagozytoserate von PMN und anderen Phagozyten der Milch nachweist. In der vorliegenden Studie wurde eine mikroskopische Methode nach dem Protokoll von SCHLECHT (2004) gewählt. Bei dieser Methode werden die Milchzellen nach einer modifizierten Methode in Anlehnung an PAAPE et al. (1996) durch mehrmalige Zentrifugation gewonnen. Für die Phagozytose werden die Zellen mit fluoreszierenden *E.coli* inkubiert. *E.coli* werden im Vergleich mit anderen phagozytierbaren Keimen/Substanzen besser phagozytiert (ZECCONI et al., 1994). Die Proben werden anschließend unter dem Fluoreszenzmikroskop betrachtet und die Zellen mit phagozytierten *E.coli* ausgezählt. Auch in Arbeiten von FOX et al. (1987, 1988) wurde eine ähnliche Methode unter Verwendung eines Fluoreszenzmikroskops erfolgreich angewendet.

Lysozym gehört ebenfalls zu den unspezifischen Abwehrmechanismen des Euters, und wird dort zu den humoralen oder löslichen Faktoren gezählt (SORDILLO u. STREICHER, 2002; RAINARD u. RIOLETT, 2006). Es wirkt durch bestimmte Tötungsmechanismen v. a. auf grampositive Keime direkt antibakteriell

(GROSSGEBAUER u. LANGEMAACK, 1968), spielt aber auch eine indirekte Rolle indem es als Immunmodulator fungiert (JOLLES, 1976; WENDT et al., 1994). In der Literatur gibt es widersprüchliche Angaben über die Relevanz des Lysozyms als Teil der Euterimmunität (SORDILLO u. STREICHER, 2002; PYÖRÄLÄ, 2002, RAINARD u. RIOLETT, 2006). Um die Lysozymkonzentration des Milchserums nachweisen zu können, wurde ein von SCHLECHT (2004) modifizierter AGAR-Diffusionstest nach OSSERMAN u. LAWLOR (1966) und LIE et al. (1986) angewendet. Als Nachweiskeim wurde *Micrococcus lysodeicticus* verwendet, der durch Lysozym fast komplett zerstört wird (SALTON, 1952). Anhand des Vergleichs der Proben mit einem Standard konnte die Lysozymkonzentration einfach bestimmt werden.

Das *Differentialzellbild in der Milch* lieferte ergänzende Ergebnisse zum (unspezifischen) Abwehrstatus des Euters, da u. a. Polymorphkernige Neutrophile Granulozyten (PMN) wichtig für die Elimination von Krankheitserregern sind. Die Angaben einiger Autoren früherer Studien bezüglich des Differentialzellbildes in der Milch variieren stark (s. 2.1.2.2), besonders in Bezug auf den relativen Anteil von PMN und Makrophagen. Ein möglicher Grund hierfür dürfte die Schwierigkeit sein, Milchzellen anzufärben. Für die Beurteilung des Differentialzellbildes wurde daher die von RANKL (2004) weiterentwickelte Methode in Anlehnung an DELVES (1995) und CHEETHAM (1998) verwendet. Diese Methode erlaubt eine sichere Unterscheidung der sich morphologisch ähnlichen Makrophagen und Epithelzellen, welche bei Färbungen wie z.B. der Wright-Färbung bis jetzt problematisch war (SANDGREN et al., 1991). Bei der hier angewendeten Methode wird das Zytokeratin der Epithelzellen indirekt immunhistochemisch angefärbt, was eine eindeutige Identifizierung dieser Zellen zulässt. In Kombination mit einer Propidiumjodidfärbung, die die für jede Zellart typischen Zellkerne unter dem Fluoreszenzmikroskop rot erscheinen lässt, können die Zellen sicher differenziert werden.

Automatische Melksysteme (AMS) sind erst seit Anfang der 90er Jahre im Betrieb und in sie wurden hohe Erwartungen bezüglich verbesserter Eutergesundheit und Milchqualität gesetzt. Diese Erwartungen wurden – wissenschaftlich untermauert durch mehrere Studien – bereits mehrfach nicht oder nur teilweise bestätigt. Es wurden oft erhöhte Keim- und Zellzahlen in der Tankmilch von im AMS gemolkenen Kühen ermittelt (RODENBURG u. KELTON, 2001; WIRTZ et al., 2003).

Ob die Art des Melksystems Einfluss auf Abwehrmechanismen des Euters hat, wurde bisher nicht untersucht. In der vorliegenden Studie wurden die Versuchskühe

in eine Melkstandgruppe und eine AMS-Gruppe unterteilt, um den Verlauf der unspezifischen Abwehrfaktoren Phagozytoseaktivität der Milchzellen und Lysozymkonzentration des Milchserums innerhalb der beiden Gruppen vergleichen zu können.

Für die statistische Auswertung wurde das System SPSS, Version 15.0 für Windows verwendet. Der Verlauf der Parameter Phagozytoseaktivität und Lysozymkonzentration wurde mittels beschreibender Statistik berechnet. Die Kühe wurden in je zweimal zwei Gruppen unterteilt. Für den Vergleich dieser Gruppen (Mastitisfrei : Mastitis; AMS : Melkstand) wurde der nicht-parametrische Mann-Whitney-U-Test gewählt, der zwei unabhängige Stichproben vergleicht.

Um die möglichen Beziehungen zwischen Stoffwechselfparametern einerseits und Abwehrfaktoren und Zellfraktionen der Milchzellen andererseits zu charakterisieren wurden Korrelationsanalysen angefertigt. Da der Korrelationskoeffizient nach Pearson (r) stark von Ausreißern beeinflusst wird, wurden die einzelnen Parameter vor den eigentlichen Korrelationsanalysen mittels Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest auf ihre Verteilung überprüft. Lag eine Normalverteilung vor, wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson berechnet. Falls die Daten nicht normalverteilt waren, wurden sie logarithmiert und wiederum auf ihre Verteilung überprüft. Lag jetzt immer noch keine Normalverteilung vor, wurde bei diesen Parametern der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman (r^{Sp}) berechnet, der auch für nicht normalverteilte Daten geeignet ist.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Phagozytoseaktivität der Milchzellen

Die Phagozytoseaktivität veränderte sich im Verlauf des Untersuchungszeitraums kaum. Von der 1. Messung im Zeitraum von 0.–4. Woche p. p. bis zur 3. Messung (10.–14. Woche p. p) zeigten die Medianwerte der Phagozytoseaktivität zwar eine geringe Tendenz, anzusteigen, die Unterschiede zwischen den Messungen waren aber statistisch nicht signifikant. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen anderer Studien, die eine signifikante Beeinträchtigung der Funktionalität (Phagozytose und Respiratory Burst) der PMN in der Zeit unmittelbar p. p.

beschreiben (GUIDRY et al., 1976; NAGAHATA et al., 1988; MEHRZAD et al., 2001, PICCININI et al., 2004).

Beim Vergleich der Melkstandgruppe (MS) mit den im Automatischen Melksystem (AMS) gemolkenen Kühen wurden hinsichtlich der Phagozytoseaktivität nur geringgradige Unterschiede festgestellt. Der Medianwert der Phagozytoseaktivität der MS-Gruppe war tendenziell höher, der Unterschied war aber statistisch nicht signifikant. Bei getrennter Betrachtung der einzelnen Messungen war diese Tendenz besonders bei der 1. Messung zu erkennen ($P = 0,076$).

Aufgrund der Ergebnisse wird angenommen, dass die Art des Melksystems in der Früh-laktation keinen Einfluss auf die Phagozytoseaktivität der Milchzellen hat.

Studien, die sich mit der Phagozytoseaktivität der Milchzellen bei in zwei verschiedenen Melksystemen gemolkenen Kühen beschäftigen, liegen in dieser Art bisher nicht vor. Von WENDT (1992) wurde die These aufgestellt, dass sich ein mehrmaliges Melken pro Tag (wie im AMS meist der Fall) positiv auf die Phagozytose der Milchzellen auswirken könnte, da alte „verbrauchte“ PMN öfter ausgespült werden, während neue und leistungsfähigere PMN nachrücken. Die vorliegende Studie kommt zu keinem solchem Ergebnis.

In der vorliegenden Arbeit sollte auch untersucht werden, ob sich die Phagozytoseaktivität bei Kühen mit Mastitis von der bei Kühen ohne Mastitis unterscheidet. Es zeigten sich zu keiner Messung statistisch signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Anhand der Ergebnisse wird deutlich, dass keine Zusammenhänge zwischen dem Vorkommen einer Mastitis im Untersuchungszeitraum und der Phagozytoseaktivität bestanden.

In anderen Studien wurde die Respiratory-Burst-Aktivität (RB) als repräsentativer Parameter für die Funktionalität der Milchleukozyten bei Kühen mit und ohne Mastitis untersucht. MEHRZAD et al. (2004) und PICCININI et al. (2005) kamen dabei jeweils zu dem Ergebnis, dass der RB der Milch-PMN bei Kühen mit Mastitis deutlich erhöht war, was die Untersucher auf eine erhöhte Aktivität der PMN in infizierten Eutervierteln schließen ließ. Als Grund für die gegensätzlichen Ergebnisse der vorliegenden Studie zu den o. g. wird vermutet, dass sich die Art der Proben in den genannten Studien von der vorliegenden unterschied: die Untersucher verwendeten Sekretproben aus infizierten Eutervierteln. Die Proben der vorliegenden Studie stammten dagegen von Kühen, bei denen zum Zeitpunkt der Probenentnahme keine

klinische Mastitis vorlag, sondern bei denen zu irgendeinem anderen Zeitpunkt der Versuchsreihe eine klinische Mastitis diagnostiziert wurde.

4.2.2 Lysozymkonzentration im Milchserum

Die Lysozymkonzentration in den Milchseren der Versuchskühe war in der vorliegenden Studie zumeist sehr gering, bei einigen Kühen wurde kein Lysozym im Milchserum nachgewiesen.

Untersuchungen von CHANDAN et al. (1968), GÖTZE (1977), WENDT et al. (1994) und PICCININI et al. (2005) unterstützen diese Ergebnisse.

Im Verlauf des Untersuchungszeitraums von der 1. bis zur 3. Messung veränderte sich die Lysozymkonzentration kaum.

Der Vergleich der Gruppen nach Melksystem lieferte ebenfalls keine statistisch signifikanten Ergebnisse. Die Lysozymkonzentration war bei im MS gemolkenen Kühen tendenziell höher als bei der AMS-Gruppe. Es wird davon ausgegangen, dass das Melksystem keine Auswirkung auf die Lysozymkonzentration des Milchserums hat. Es liegen bisher keine weiteren Studien vor, die die Lysozymkonzentration bei in verschiedenen Melksystemen gemolkenen Kühen vergleichen.

Beim Vergleich der Gruppen Kühe mit/ohne Mastitis wurden keine Unterschiede bezüglich der Lysozymkonzentration der Milch festgestellt. Allenfalls bei der 2. Messung tendierten die Kühe mit Mastitis schwach zu einer höheren Lysozymkonzentration im Milchserum, der Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant ($P = 0,232$).

Die Höhe der Lysozymkonzentration ist nach den Ergebnissen unabhängig von einer klinischen Mastitis im Untersuchungszeitraum.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen PICCININI et al. (2005), die keine signifikanten Unterschiede zwischen den Lysozymgehalten im Milchsekret gesunder und mit *E.coli* infizierter Euterviertel fanden. In einer früheren Studie (PICCININI et al., 1999) war der Lysozymgehalt in infizierten Vierteln dagegen geringer, wobei es sich beim Testkeim dieser Arbeit um *Staph. aureus* handelte. Es besteht also die Möglichkeit, dass die Ätiologie der Infektion eine Rolle spielt und sich verschiedene Keime unterschiedlich auf die Lysozymkonzentration des Milchserums auswirken. Es ist aber nach wie vor umstritten, ob das Lysozym aufgrund seiner geringen

Konzentration überhaupt eine relevante Rolle in der unspezifischen Abwehr des Euters spielt (PYÖRÄLÄ, 2002; RAINARD u. RIOLETT, 2006).

4.2.3 Korrelationsanalysen

4.2.3.1 Stoffwechsel und Phagozytoseaktivität

Bei den Korrelationsanalysen zwischen dem Parameter Phagozytoseaktivität der Milchzellen und den Stoffwechselfparametern wurde eine signifikante positive Korrelation zwischen der AP (Kühe > 3 Jahre) und der Phagozytoseaktivität festgestellt. Zwischen den übrigen Stoffwechselfparametern und der Phagozytoseaktivität bestanden keine signifikanten Korrelationen.

Der Zusammenhang zwischen der positiven Wechselwirkung des Enzyms AP mit einer vermehrten Phagozytoseaktivität wird aus der Bedeutung der AP für wichtige Stoffwechselprozesse und deren Beeinträchtigung erklärt. Das Ergebnis ist jedoch vorsichtig zu bewerten, da nur bei einer der drei Messungen eine signifikante Korrelation bestand und die Stichprobengröße der Korrelationsanalysen zwischen Abwehrparametern und AP sehr klein war ($n = 15$).

Vergleichbare Ergebnisse finden sich in Arbeiten anderer Autoren nicht. In diesen wird die reduzierte Aktivität der PMN vor allem auf eine Hyperketonämie zurückgeführt (KLUCINSKI et al., 1988; HOEBEN et al., 1997; LESLIE et al., 2000; SURIYASATHAPORN et al., 1999, 2000). Dabei steht der Ketonkörper BHB, der sich in vitro und in vivo negativ auf Migration und Aktivität der Milchleukozyten auswirkt, meist im Vordergrund.

In der vorliegenden Arbeit wurden Zusammenhänge zwischen dem Ketonkörper BHB und einer herabgesetzten Phagozytoseaktivität nicht bestätigt. Die Korrelationen zwischen den genannten Parametern waren nicht signifikant ($P > 0,05$) und die Korrelationskoeffizienten lagen bei Werten von $r = -0,004$ – $0,175$.

4.2.3.2 Stoffwechsel und Lysozymkonzentration

Bei den Korrelationsanalysen zwischen Stoffwechselfparametern und der Lysozymkonzentration ergaben sich einige statistisch signifikante Korrelationen. Der Parameter *Laktose* korrelierte bei der 3. Messung negativ mit der

Lysozymkonzentration ($r = -0,583$; $P = 0,002$). Die Milchlaktosekonzentration steigt bereits bei subklinischen Mastitiden an (PYÖRÄLÄ, 2003), der Lysozymgehalt der Milch ist dagegen nicht wesentlich vom Gesundheitsstatus des Euters abhängig (PICCININI et al., 2005) bzw. tendiert dazu, bei einer Mastitis zu sinken (PICCININI et al., 1999). Es liegen bisher keine Arbeiten mit vergleichbaren Ergebnissen vor.

Des Weiteren korrelierten der *BCS* und die *maximale BCS-Differenz* jeweils bei der 3. Messung negativ mit der Lysozymkonzentration. Es wird angenommen, dass sich hohe Konditionsnoten und erhebliche maximale Differenz der Konditionsnoten aufgrund möglicher Stoffwechselbelastungen im peripartalen Zeitraum negativ auf die Lysozymkonzentration des Milchserums auswirken. PICCININI et al. (2004) stellten in ihrer Studie dagegen keine veränderten Lysozymkonzentrationen in der Milch von Kühen im peripartalen Zeitraum fest und halten diesen Parameter als Marker für physiologische Veränderungen nicht geeignet.

4.2.3.3 Stoffwechsel und Differentialzellbild

Die einzelnen Zellfraktionen des Differentialzellbildes in der Milch wurden in relativen und absoluten Werten ausgedrückt und unabhängig voneinander betrachtet.

Relative Zellzahlen:

Bei den Ergebnissen der Korrelationsanalysen fiel auf, dass wiederholt signifikante Korrelationen zwischen bestimmten Stoffwechselfparametern und verschiedenen Zellfraktionen der Milch bestanden. Zu diesen Stoffwechselfparametern zählen AP, GGT, FEQ, Laktose, die max. BCS-Differenz und die Milchmenge.

Zwischen dem *FEQ*, der *maximalen BCS-Differenz*, der *Laktose*, der *AP* (Kühe > 3 Jahre) und dem relativen PMN-Anteil bestanden jeweils signifikante, negative Korrelationen. Der FEQ, die maximale BCS-Differenz und die AP steigen bei negativer Energiebilanz und pathologischen Stoffwechselprozessen an. Es muss allerdings berücksichtigt werden, dass die o. g. Korrelationen zwar statistisch signifikant waren, die Korrelationskoeffizienten jedoch bis auf die Korrelation zwischen AP und dem relativen PMN-Anteil ($r = -0,619$) unter $-0,50$ lagen. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Erhöhung der genannten Parameter den relativen Anteil der PMN in der Milch negativ beeinflusst. Eine verminderte Migration von PMN in das Euter könnte hier die Ursache sein. Auch SURYIASATHAPORN et

al. (1999, 2000) beschreiben eine reduzierte Migration von PMN bei Stoffwechselstörungen und besonders bei erhöhten BHB-Konzentrationen. Die Korrelationen zwischen dem relativen PMN-Gehalt und dem Parameter BHB waren in der vorliegenden Arbeit jedoch nicht signifikant ($P > 0,05$).

Der Laktosegehalt der Milch sinkt bei Energiemangel (FÜRLL, 2005) und bei subklinischen Mastitiden (BANSAL et al., 2005). Eine Erhöhung des relativen PMN-Anteils in der Milch müsste demzufolge im Gegensatz zu den Ergebnissen der vorliegenden Studie mit einer Erniedrigung des Laktosegehaltes der Milch einhergehen, da es bei Mastitiden bereits im subklinischen Stadium zu einem erhöhten Einstrom von PMN in das Euter kommt (PAAPE et al., 1979, RIOLLET et al., 2001).

Zwischen den Parametern *GGT* bzw. *Milchmenge* und der Zusammensetzung des Differentialzellbildes der Milch bestehen aufgrund der Ergebnisse ebenfalls Wechselwirkungen: Bei der jeweils gleichen Messung (2./3. Messung) korrelierten die *GGT* und die *Milchmenge* signifikant positiv mit dem relativen PMN-Anteil der Milchzellen und negativ mit dem relativen Lymphozyten-Anteil. Demnach geht eine Erhöhung der beiden Stoffwechselfparameter mit der Verschiebung des Differentialzellbildes zugunsten der PMN und einer Erniedrigung des Lymphozyten-Anteils einher.

Bei den Korrelationsanalysen zwischen relativem Makrophagen-Anteil der Milchzellen und Stoffwechselfparametern wurde festgestellt, dass signifikante positive Korrelationen ausschließlich zwischen relativem Makrophagen-Anteil und dem Enzym *AP* (bei Kühen $<$ und $>$ 3 Jahre) bestanden. In normaler Laktationsmilch sind Makrophagen die am stärksten vertretene Zellfraktion (LEE et al., 1980; KURZHALS et al., 1985; SCHRÖDER, 2003, RANKL, 2004). Es wird angenommen, dass eine Erhöhung von *AP* eine Migration von Makrophagen in das Euter begünstigt oder, in Zusammenhang mit den Ergebnissen der Korrelationsanalyse von *AP* und relativem PMN-Anteil, eine verminderte Einwanderung von PMN bewirkt und sich somit das Differentialzellbild zugunsten der Makrophagen verschiebt. Welcher Mechanismus der jeweiligen Verschiebung des Differentialzellbildes bei Aktivitätssteigerung der genannten Enzyme zugrunde liegen könnte, ist nicht bekannt. Vergleichbare Studien liegen bisher nicht vor.

Die signifikanten Korrelationen zwischen Epithelzellen und Stoffwechselfparametern schienen keinem definitiven Trend zu folgen. Es wurde festgestellt, dass die *Laktose*

bei allen Messungen positiv mit dem relativen Epithelzellen-Anteil korrelierte. Eine Erhöhung des Laktosegehalts der Milch ging demzufolge mit einer Erhöhung des relativen Epithelzellen-Anteils einher. Epithelzellen in der Milch entstammen dem Milchdrüsenepithel und gelangen durch physiologische Abschilferung z.B. bei mechanischer Belastung in das Milchsekret (MICHEL u. SCHULZ, 1987). Da die Laktose u. a. in den epithelialen Zellen der Milchdrüse synthetisiert wird, könnte die vermehrte Abschilferung von degenerierten Epithelzellen zu einer erhöhten Freisetzung von Laktose in die Milch geführt haben. PYÖRÄLÄ (2003) weist aber darauf hin, dass es im Falle eines Gewebeunterganges während einer Mastitis zu einer verminderten Biosynthese der Laktose in den Epithelzellen kommt.

Absolute Zellzahlen:

Bei den Ergebnissen der Korrelationsanalysen von absoluten Zellzahlen und Stoffwechselfparametern wurden bei allen drei Messungen stark negative signifikante Korrelationen zwischen *Laktose* einerseits und PMN sowie Makrophagen andererseits festgestellt ($P = 0,000-0,030$). Zwischen Lymphozyten und Laktose konnten ebenfalls eine signifikante, negative Korrelation festgestellt werden, jedoch nur bei der 1. Messung. Zwischen absolutem Epithelzellen-Gehalt und Laktose kam es zu keiner vergleichbaren signifikanten Korrelation. Die statistisch hoch signifikanten Korrelationen von Laktose mit den absoluten Zahlen der o. g. Zellfraktionen können auf 2 Arten gedeutet werden:

1. Die Erniedrigung der Milchlaktose steht in einem direkten Zusammenhang - dessen Mechanismus nicht geklärt ist - mit der Erhöhung besonders der PMN und der Makrophagen.
2. Die absoluten Werte wurden aus den relativen Zahlen unter Einbeziehung des SCC's der Milch berechnet. Die Erhöhung des SCC bei Infektionen wird v. a. durch den massiven Influx von PMN in das Euter verursacht (PAAPE et al., 1979). Bei erhöhten SCC-Werten erhöhten sich durch die Berechnung automatisch auch die absoluten Zahlen der einzelnen Zellfraktionen. Bei einer Infektion kommt es zu einem Rückgang des Laktosegehalts in der Milch (PYÖRÄLÄ, 2003), gleichzeitig nimmt der SCC deutlich zu, worauf auch die stark negativen Korrelationen zwischen dem Laktosegehalt der Milch und vor allem dem absoluten PMN- und Makrophagen-Gehalt der Milch zurückgeführt werden.

Milchfett und *FEQ* korrelierten mit den absoluten Zahlen der PMN, Lymphozyten und Makrophagen signifikant positiv. Das Ansteigen des Milchfettgehalts und des FEQ scheint somit den Einstrom dieser Zellarten zu begünstigen. In Vergleich zu den Korrelationsanalysen von FEQ und relativen PMN fiel auf, dass dort eine negative Korrelation bestand. Der FEQ scheint sich demzufolge zwar positiv auf den absoluten PMN-Gehalt der Milch auszuwirken, die Zusammensetzung der Milchzellen aber zugunsten der anderen Zellfraktionen zu verschieben.

Des Weiteren wurde festgestellt, dass der *pH-Wert* der Milch mit den drei absoluten Zellfraktionen PMN, Makrophagen und Lymphozyten bei der 1 u./o. 2. Messung signifikant negativ korrelierte. Bezugnehmend auf die Berechnung der absoluten Zahlen aus relativen Zellzahlen und dem SCC (s. o.) kann eine Erhöhung der drei Hauptzellarten in der Milch mit einer Erhöhung des SCC gleichgesetzt werden. Zu einer Erhöhung des SCC kommt es bei Infektionen in der Milch. Im Falle einer Infektion müsste der pH-Wert in der Milch ebenso ansteigen (FÜRLL, 2005). In der vorliegenden Studie war das Gegenteil der Fall: die absoluten Zellzahlen und somit der SCC und der Milch-pH-Wert korrelierten signifikant negativ miteinander. Warum es zu einer solchen Korrelation kam, ist unklar. Ähnliche Ergebnisse wurden bisher nicht veröffentlicht.

Bei den Korrelationsanalysen zwischen dem Leberenzym *GGT* und absolutem PMN- sowie Makrophagen-Gehalt der Milch wurden zur jeweils 3. Messung signifikant positive Korrelationen festgestellt. Die *GGT* korrelierte auch mit dem relativen PMN-Anteil der Milchzellen signifikant positiv (2. Messung). Zu einem Anstieg der *GGT* kommt es v. a. bei Cholestasen. Die Frage, ob es einen direkten Zusammenhang zwischen erhöhten *GGT*-Werten und erhöhten PMN- sowie Makrophagen-Gehalten in der Milch gibt, muss offen bleiben. Über Wechselwirkungen zwischen der *GGT* und den genannten Zellarten wurde bisher nicht berichtet.

4.2.3.4 Differentialzellbild und Phagozytoseaktivität/Lysozymkonzentration

Der relative PMN-Anteil der Milchzellen korrelierte zu allen Zeitpunkten signifikant positiv mit der Phagozytoseaktivität. Auch zwischen dem absoluten PMN-Gehalt und der Phagozytoseaktivität wurden signifikante, positive Korrelationen festgestellt. Das Ergebnis unterstreicht die Wichtigkeit der Rolle der PMN als Phagozyten in der Milch (PAAPE et al., 2002, 2003).

Das Ergebnis wird von der signifikanten, negativen Korrelation zwischen dem relativen Lymphozyten-Anteil – nicht phagozytierenden Zellen – und der Phagozytoseaktivität noch unterstrichen. Der relative Makrophagen-Anteil der Milchzellen korrelierte ebenfalls signifikant negativ mit der Phagozytoseaktivität. Phagozytierende Makrophagen sollen zumindest in der Laktationsmilch keine große Rolle spielen, sondern eher im Trockenstehersekret von Bedeutung sein (FOX et al., 1988).

Die Korrelationsanalysen zwischen dem Differentialzellbild in der Milch und der Lysozymkonzentration des Milchserums ergaben ähnliche Ergebnisse. Es wurden auch hier signifikante, positive Korrelationen zwischen relativem PMN-Anteil sowie absolutem PMN-Gehalt und der Lysozymkonzentration ermittelt. Lysozym gelangt zum einen über die Blut-Euter-Schranke in die Milch (NICKERSON, 1985; LUNAU, 1989), wird in den Zellen des Milchdrüsengewebes gebildet und ist ebenso Bestandteil der Granula der PMN in der Milch (WENDT, 1992). Aus diesem Grund wird angenommen, dass es bei erhöhtem Vorkommen von PMN in der Milch zu einer erhöhten Freisetzung von Lysozym kam. PICCININI et al. (2004) schlagen Lysozym aufgrund seines Vorkommens in den zellulären Granula als Marker für eine neutrophile Aktivität in der Milch vor. Relative Zahlen der Lymphozyten, Makrophagen und Epithelzellen korrelieren signifikant negativ mit der Lysozymkonzentration, obwohl Lysozym auch in Makrophagen exprimiert und produziert wird (CHUNG et al., 1988).

4.3 Schlussfolgerungen

Abschließend ist festzustellen, dass die Ergebnisse der vorliegenden Studie einige deutliche Hinweise auf Wechselwirkungen zwischen den Parametern der unspezifischen Abwehrvorgänge des Euters „Phagozytoseaktivität der Milchzellen“, „Lysozymkonzentration im Milchserum“ sowie „Differentialzellbild der Milch“ einerseits und den verschiedenen berücksichtigten Stoffwechselfparametern andererseits geben.

Besonders zwischen den Parametern AP, GGT, Laktose, Milch-pH-Wert und BCS und den verschiedenen Parametern der unspezifischen Abwehrmechanismen des Euters bestehen Wechselwirkungen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie geben keine Hinweise auf Einflüsse der Art des Melksystems auf die Parameter Phagozytoseaktivität der Milchzellen und Lysozymkonzentration im Milchserum. Anhand der Ergebnisse stehen Abweichungen der geprüften Abwehrparameter in keinem Zusammenhang mit dem Auftreten einer klinischen Mastitis im Versuchszeitraum.

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit sollten mögliche Beziehungen zwischen verschiedenen Stoffwechselfparametern einerseits und Lysozymkonzentration des Milchserums, Phagozytoseaktivität der Milchzellen sowie dem Differentialzellbild in der Milch als Parameter der unspezifischen Abwehrvorgänge des Euters andererseits untersucht werden. Ein möglicher Einfluss des verwendeten Melksystems (Melkstand vs. AMS) und dem Auftreten einer Mastitis im Versuchszeitraum wurde berücksichtigt.

Die Versuchskühe ($n = 29$) wurden in einem Betrieb unter identischen Haltungsbedingungen gehalten. Als stoffwechselrelevante Parameter wurden AST, GLDH, Bilirubin, AP, CK und GGT, β -Hydroxybutyrat (BHB), Insulin-like Growth factor-1 (IGF-1) und in der Milch der Laktose-, Harnstoff-, Fett- und Eiweißgehalt, der Fett-Eiweiß-Quotient (FEQ), der somatische Zellgehalt (SCC), der pH-Wert und die Milchmenge herangezogen. Außerdem wurden Beurteilungen der Körperkondition mittels Body Condition Scoring (BCS) und Messung der Rückenfett- und Muskeldicke durchgeführt. Der Untersuchungszeitraum begann jeweils in der Woche des errechneten Abkalbetermins und endete 14 Wochen p. p. Die Entnahme der Blut- und Milchproben erfolgte wöchentlich, die Körperkonditionsbeurteilung erfolgte alle 14 Tage. Für das Differentialzellbild, den Phagozytostest und den Lysozymtest wurde innerhalb von drei Zeitintervallen p. p. (0.–4., 5.–8. und 10.–14. Woche p. p.) je eine Milchprobe entnommen.

Für die Bestimmung des Differentialzellbildes kam eine indirekte Immunfluoreszenzfärbung der Milchzellen in Kombination mit einer Propidiumjodidfärbung zur Anwendung (RANKL, 2004). Die Bestimmung der Phagozytoseaktivität der Milchzellen erfolgte mikroskopisch unter Verwendung von fluoreszierenden *E.coli* (SCHLECHT, 2004). Die Lysozymkonzentration wurde mittels eines modifizierten Agardiffusionstests nach OSSERMANN u. LAWLOR (1966) und LIE et al. (1986) bestimmt (SCHLECHT, 2004). Für die statistische Auswertung wurden Korrelationsanalysen (Korrelationskoeffizient nach Pearson bzw. Spearman), der Mann-Whitney-U-Test sowie ein gemischtes Regressionsmodell mit Korrektur für wiederholte Messungen durchgeführt.

Zwischen AP und Phagozytoseaktivität bestand bei der 3. Messung (10.–14. Woche p. p.) eine positive Korrelation ($r = 0,674$). Zwischen Phagozytoseaktivität und BHB wurden keine signifikanten Korrelationen festgestellt ($P > 0,05$).

Die Lysozymkonzentration korrelierte zum einen signifikant negativ mit dem Laktosegehalt der Milch ($r = -0,583$) und zum anderen signifikant negativ mit dem BCS ($r = -0,437$) bzw. der maximalen BCS-Differenz ($r = -0,658$).

AP, FEQ und die maximale BCS-Differenz korrelierten jeweils signifikant negativ mit dem relativen PMN-Anteil des Differentialzellbildes in der Milch ($r = -0,619$ bzw. $r = -0,460$ bzw. $r = -0,386 - -0,394$).

AP korrelierte zu verschiedenen Messungen signifikant positiv mit den Makrophagen ($r = 0,551-0,744$).

Zwischen GGT und relativem PMN-Anteil sowie zwischen GGT und absoluten PMN-Gehalt der Milch wurden jeweils signifikante, positive Korrelationen festgestellt ($r = 0,465$ bzw. $r = 0,408$).

Der absolute PMN-Gehalt sowie der absolute Makrophagen-Gehalt korrelierten jeweils bei allen 3 Messungen (0.–4., 5.–8. und 10.–14. Woche p. p.) signifikant negativ mit dem Laktosegehalt der Milch ($r = -0,494 - -0,611$ bzw. $-0,411 - -0,644$). Der Lymphozyten-Gehalt korrelierte bei der 1. Messung (0.–4. Woche p. p.) signifikant negativ mit dem Laktosegehalt der Milch ($r = -0,628$).

Der relative Epithelzellen-Anteil korrelierte dagegen signifikant positiv mit dem Laktosegehalt der Milch ($r = 0,384-0,434$).

Zwischen dem Milch-pH-Wert und den absoluten Zahlen der Zellarten PMN, Makrophagen und Lymphozyten wurden zu verschiedenen Messzeitpunkten signifikant negative Korrelationen festgestellt ($r = -0,386- -0,475$).

Einflüsse der Melksysteme (Melkstand vs. AMS) auf die Phagozytoseaktivität oder die Lysozymkonzentration wurden nicht festgestellt. Zwischen Abweichungen der geprüften Abwehrparameter und dem Auftreten einer klinischen Mastitis im Versuchszeitraum wurden keine Zusammenhänge festgestellt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie geben einige Hinweise auf Wechselwirkungen zwischen den Parametern der unspezifischen Abwehr des Euters („Phagozytoseaktivität der Milchzellen“, „Lysozymkonzentration des Milchserums“ sowie „Differentialzellbild der Milch“) einerseits und den verschiedenen berücksichtigten Stoffwechselfparametern andererseits.

6 Summary

Interrelations between metabolic parameters and innate defense mechanisms of the bovine udder during the periparturient period in consideration of two different milking systems.

In this study, possible interrelations between different metabolic parameters and Parameters of the innate defense mechanisms of the bovine udder, i. a. lysozyme content of the milk, phagocytic activity of milk cells and milk differential cell count should be examined. It was also checked if the innate defense mechanisms were influenced by the type of milking system (milking parlour vs. automatic milking system, AMS) or by clinical mastitis incidence during the investigation period.

The examined dairy cows (n = 29) were all housed in one farm under equal conditions. To reflect the metabolic status of the cows, following parameters were evaluated: AST, GLDH, Bilirubin, AP, CK, GGT, β -hydroxy-butyric acid (BHB), Insulin-like growth-factor-I (IGF-I) and in milk the parameters lactose, urea, fat, protein, fat-protein-quotient (FPQ), SCC, pH and milk yield. Additional information about the metabolic status provided the results of the body condition scoring (BCS) and the measurement of back fat and muscle thickness via ultrasound. The period of investigation started in each case during the week of the expected date of calving and was finished by week 14 p. p. Blood- and milk-samples were taken weekly, body condition scoring was performed in a two-week interval. The differential cell count, the phagocytic activity of the milk cells and the lysozyme content in milk were examined at three times within three time-intervals p. p. (week 0.–4., 5.–8. and 10.–14. p. p.).

The differential cell count was examined by using an indirect immune fluorescent staining in combination with a propidium iodide staining (RANKL, 2004). A microscopy method was used for the estimation of phagocytosis by using fluorescent *E.coli* (SCHLECHT, 2004). The lysozyme content of the milk was evaluated by usage of a modified agar diffusion test (SCHLECHT, 2004) according to OSSERMAN and LAWLOR (1966) and LIE et al. (1986). The interrelations between metabolic parameters and innate defense factors were statistically assessed by using correlation analysis (Pearson or Spearman correlation coefficient) and the Mann-Whitney-U-Test and a regression analysis respectively were performed to be able to

compare the groups of cows with or without mastitis and cows milked in the two different milking systems.

The correlation between AP and phagocytic activity was significant positive at the 3rd measurement (week 10.–14. p. p.) ($r = 0,674$). No significant correlations between the phagocytic activity and BHB were assessed ($P > 0,05$).

Between the lysozyme content of the milk and the lactose-content of the milk ($r = -0,583$) respectively BCS ($r = -0,437$) and max. BCS-spread (max. spread of BCS from 1st till last examination) ($r = -0,658$) negative correlations existed.

There were significant negative correlations between AP, FPQ, max. BCS-spread on one hand and the relative PMN-fraction of the milk cells on the other hand ($r = -0,619$; $r = -0,460$; $r = -0,386 - -0,394$).

Between AP and the relative fraction of macrophages significant positive correlations were detected at different measurements ($r = 0,551-0,744$).

Between GGT and relative and absolute PMN-rates existed significant positive correlations, respectively ($r = 0,465$ bzw. $r = 0,408$).

Between the absolute fractions of PMN and macrophages and the lactose content of the milk there were significant positive correlations at all three examinations (examinations intervals at week 0.–4., 5.–8. and 10.–14. p. p.) ($r = -0,494- -0,611$ and $-0,411- -0,644$). Between the absolute fraction of the lymphocytes and the lactose content one significant negative correlation ($r = -0,628$) was detected at the 1st examination (week 0.–4. p. p.). By contrast, correlations between the relative fraction of the epithelial cells and the lactose content of the milk were positive ($r = 0,384 - 0,434$).

The milk-pH negatively correlated repeatedly with the absolute numbers of PMN, macrophages and lymphocytes ($r = -0,386- -0,475$).

An effect on the given defense mechanisms by the different milking systems (milking parlour vs. AMS) was not detected. Variations of the examined defense mechanisms were not related to mastitis incidence during the examination period.

The results of the present study lead to the suggestion, that there indeed exist interrelations between the parameters of the innate defense of the udder “phagocytic activity of the milk cells”, “lysozyme content in milk”, the “differential cell count in milk” on one hand and the different and the considered metabolic parameters on the other hand.

7 Literaturverzeichnis

- Bansal, B. K., J. Hamann, N. T. Grabowski und K. B. Singh (2005):**
Variation in the composition of selected milk fraction samples from healthy and mastitic quarters, and its significance for mastitis diagnosis.
J. Dairy Res. **72**, 144–152
- Baxter, R. C. (1986):**
The somatomedins: insulin-like growth factors.
Adv. Clin. Chem. **25**, 49–115
- Bragulla, H., und H. E. König (2002):**
Milchdrüse (Mamma).
In: H. E. König, und H.-G. Liebich (Hrsg.): Anatomie der Haussäugetiere, Band II, Kreislauf- und Nervensystem.
Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, 2. Auflage, 335–344
- Breier, B. H., und H. Sauerwein (1995):**
Regulation of growth in ruminants by the somatotrophic axis.
In: W. V. Engelhardt, S. Leonhard-Marek, G. Breves, und D. Giesecke (Hrsg.): Ruminant physiology: Digestion, metabolism, growth and reproduction.
Enke Verlag, Stuttgart, 451–474
- Breier, B. H., P. D. Gluckmann und J. J. Bass (1988):**
Plasma concentrations of insulin-like growth factor-I and insulin in the infant calf: ontogeny and influence of altered nutrition.
J. Endocrinol. **119**, 43–50
- Brooker, B. E. (1983):**
Pseudopod formation and phagocytosis of milk components by epithelial cells of the bovine mammary gland.
Cell Tissue Res. **229**, 639–650
- Bruckmaier, R. M., L. Gregoretti, F. Jans, D. Faissler und J. W Blum (1998):**
Longissimus dorsi muscle diameter, backfat thickness, body condition scores and skinfold values related to metabolic and endocrine traits in lactating dairy cows fed crystalline fat or free fatty acids.
Zbl. Vet. Med. Reihe A **45**, 397–410
- Burvenich, C., D. D. Bannerman, J. D. Lippolis, L., Peelman, B. J. Nonnecke, M. E. Kehrli Jr. und M. J. Paape (2007):**
Cumulative physiological events influence the inflammatory response of the bovine udder to *Escherichia coli* infections during the transition period.
J. Dairy Sci. **90 Suppl. 1**, 39–54
- Burvenich, C., A. J. Guidry und M. J. Paape (1995):**
Natural defence mechanisms of the lactating and dry mammary gland.
In: Proc. 3. IDF Int. Mastitis Seminar Tel Aviv, Israel, 3–13

- Burvenich, C., M. J. Paape, D. Hoeben, H. Dosogne, A. M. Massart-Leen und J. Blum** (1999):
Modulation of the inflammatory reaction and neutrophil defense of the bovine lactating mammary gland by growth hormone.
Domest. Anim. Endocrinol. **17**, 149–159
- Buskirk, D. D., R. P. Lemenager und L. A. Horstman** (1992):
Estimation of net energy requirements (NEm and NE delta) of lactating beef cows.
J. Anim. Sci. **70**, 3867–3876
- Chandan, R. C., R. M. Parry, Jr. und K. M. Shahani** (1968):
Lysozyme, lipase and ribonuclease in milk of various species.
J. Dairy Sci. **51**, 606–607
- Cheetham, K. M., N. Shukla und B. J. Fuller** (1998):
Preparation of single cell suspensions.
In: D. Fischer, G. E. Francis und D. Rickwood (Hrsg.): Cell separation – A practical approach.
Oxford University Press, Oxford, New York, 1–40
- Collard, B. L., P. J. Boettcher, J. C. M. Dekkers, D. Petitclerc und L. R. Schaeffer** (2000):
Relationships between energy balance and health traits of dairy cattle in early lactation.
J. Dairy Sci. **82**, 295–304
- Concha, C., O. Holmberg und B. Morein** (1978):
Proportion of B- and T-Lymphocytes in normal bovine milk.
J. Dairy Res. **45**, 287–290
- Craven, N., und M. R. Williams** (1985):
Defenses of the bovine mammary gland against infection and prospects for their enhancement.
Vet. Immunol. Immunopatholog. **10**, 71–127
- Daley, M. J., T. Williams, R. Dougherty, P. Coyle, G. Furda und P. Hayes** (1991):
Staphylococcus aureus mastitis: pathogenesis and treatment with bovine interleukin-1 and interleukin-2.
J. Dairy Sci. **74**, 4413
(zit. nach Sordillo et al., 1997)
- Davis, M. A., und D. J. Reinemann** (2002):
Milking performance and udder health of cows milked robotically and conventionally.
Proceedings of the 2002 ASAE Annual Int. Meeting/CIGR XVth World Congress
Chicago
http://www.uwex.edu/uwmril/pdf/RoboticMilking/023112_ASAE_Davis_Robot_Milking.pdf

- Daxenberger, A., B. H. Breier und H. Sauerwein** (1998):
Increased milk levels of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) for the identification of bovine somatotropin (bST) treated cows.
Analyst. **127**, 1470–1476
- Delves, P. J.** (1995):
Antibody applications.
John Wiley & Sons Ltd., Chichester, New York, 10. Auflage, 151
- De Vries, M. J., und R. F. Veerkamp** (2000):
Energy balance of dairy cattle in relation to milk production variables and fertility.
J. Dairy Sci. **83**, 62–69
- Dosogne, H., F. Vangroenweghe, J. Mehrzad, A. M. Massart-Leen und C. Burvenich** (2003):
Differential leucocyte count method for bovine low somatic cell count milk.
J. Dairy Sci. **86**, 828–834
- Dulin, A. M., M. J. Paape und S. C. Nickerson** (1988):
Comparison of phagocytosis and chemiluminescence by blood and mammary gland neutrophils from multiparous and nulliparous cows.
Am. J. Vet. Res. **49**, 172–177
- Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft (DVG)** (2000):
Leitlinien zur Entnahme von Milchproben unter aseptischen Bedingungen und zur Isolierung und Identifizierung von Mastitiserregern.
In: Sachverständigenausschuss: „Subklinische Mastitis“, DVG, Gießen
- Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft (DVG)** (2002):
Leitlinien zur Bekämpfung der Mastitis des Rindes als Herdenproblem.
In: Sachverständigenausschuss: „Subklinische Mastitis“, DVG, Gießen
- Dyce, K. M., W. O. Sack und C. J. G. Wensing** (1991):
Das Euter der Wiederkäuer.
In: Anatomie der Haustiere.
Enke Verlag, Stuttgart, 746–756
- Edmonson, A. J., I. J. Lean, L. D. Weaver, T. Farver und G. Webster** (1989):
A body condition scoring chart for Holstein Dairy cows.
J. Dairy Sci. **72**, 68–78
- Ellison, R. T. 3rd, und T. J. Giehl** (1991):
Killing of gram-negative bacteria by lactoferrin and lysozyme.
J. Clin. Invest. **88**, 1080–1091
- Ellison, R. T. 3rd, T. J. Giehl und F. M. LaForce** (1988):
Damage of the outer membrane of enteric gram-negative bacteria by lactoferrin and transferrin.
Infect. Immun. **56**, 2774–2781

Erhardt, G., F. Meyer und B. Senft (1981):

Growth inhibition of *Staphylococcus aureus* after experimental infection of the udder by high and low concentration of lactoferrin and lysozyme in milk.

Acta Microbiol. Pol. **30**, 239–246

Falconer J., J. M. Forbes, J. A. Bines, J. H. Roy und I. C. Hart (1980):

Somatomedin-like activity in cattle: the effect of breed, lactation and time of day.

J. Endocrinol. **86**, 183–188

Ferry, J. W. (1992)

Reproductive herd health: Going beyond rectal examinations.

Compend. Cont. Educ. Pract. Vet. **14**, 87–110

Finkelstein, R. A., C. V. Sciortino und M. A. McIntosh (1983):

The role of iron in microbe – host interactions.

Rev. Infect. Dis. **5**, 759–777

Forbes, J. M. (1986):

The effect of sex hormones, pregnancy and lactation digestion, metabolism and voluntary food intake.

In: L. P. Milligan, W. L. Grovum, und A. Dobson (Hrsg.): Control of digestion and metabolism in ruminants.

Reston Publishing, Reston, 420–435

Fox, L. K., H. D. Liggitt, T. Yilma und L. B. Corbeil (1990):

The effects of interferon intramammary administration on mammary phagocyte function.

J. Vet. Med. **37**, 28

(zit. nach Sordillo et al., 1997)

Fox, L. K., J. S. McDonald und L. B. Corbeil (1987):

Milk neutrophil phagocytosis of *Staphylococcus aureus* as determined by fluorescent microscopy.

Zentralbl. Veterinärmed. B **34**, 549–551

Fox, L. K., J. S. McDonald, J. K. Hillers und L. B. Corbeil (1988):

Function of phagocytes obtained from lacteal secretions of lactating and nonlactating COWS.

Am. J. Vet. Res. **49**, 678–681

Fürll, M. (1999)

Spezielle Untersuchung beim Wiederkäuer.

In: W. Kraft, und U. M. Dürr (Hrsg.): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin.

Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, 5. Auflage, 271–287

Fürll, M. (2002):

Damit der Stoffwechsel auch in kritischen Phasen nicht verrückt spielt.

In: M. Fürll (Hrsg.): Stoffwechselstörungen beim Wiederkäuer: Erkennen – Behandeln – Vorbeugen.

Med. Tierklinik Leipzig, ISBN 3-00-009263-3, 2–12

Fürll, M. (2004):

Stoffwechselkontrollen und Stoffwechselüberwachung bei Rindern
Teil 1: Chancen, Regeln und Risiken.

Nutztierpraxis aktuell, Agrar- und Veterinärakademie (AVA) **9**, 1–10

http://www.ava1.de/pdf/artikel/rinder/2004_03_fuerll.pdf

Fürll, M. (2005):

Spezielle Untersuchung beim Wiederkäuer.

In: W. Kraft, und U. M. Dürr (Hrsg.): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin.

Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, 6. Auflage, 444–474

Fürll, M., B. Hiebl und C. Nauruschat (2002):

Wie „leberspezifisch“ ist die GLDH beim Rind?

In: M. Fürll (Hrsg.): Stoffwechselstörungen beim Wiederkäuer: Erkennen –
Behandeln – Vorbeugen.

Med. Tierklinik Leipzig, ISBN 3-00-009263-3, 45–46

Gennaro R., B. Dewald, U. Horisberger, H. U. Gubler und M. Baggiolini (1983):

A novel type of cytoplasmic granule in bovine neutrophils.

J. Cell Biol. **96**, 1651-1661

Geyer, H. (2005):

Milchdrüse, Mamma.

In: Salomon, F. V., H. Geyer und U. Gille (Hrsg.): Anatomie für die Tiermedizin.

Enke Verlag, Stuttgart, 645–654

Götze, P. (1977):

Variation des Lysozymgehaltes in Blut und Milch von gesunden und euterkranken
Kühen.

München, Tierärztl. Fak. LMU, Diss.

Goff, J. P., und R. L. Horst (1997):

Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders.

J. Dairy Sci. **80**, 1260–1268

Grommers, F. J., D. Van de Geer, H. Van der Vliet, P. A. Henricks und F. P.

Nijkamp (1989):

Polymorphonuclear leucocyte function: relationship between induced migration into
the bovine mammary gland and in vitro cell activity.

Vet. Immunol. Immunopathol. **23**, 75–83

Großgebauer, K., und H. Langemaack (1968):

Lysozym. Ergebnisse und Probleme.

Klin. Wschr. **46**, 1121–1127

Grummer, R. R. (1993):

Ethiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows.

J. Dairy Sci. **76**, 3882–3896

- Gruner, E. R., R. J. Harmon und R. W. Hemken (1982):**
A comparison of antibacterial granule components in neutrophil leukocytes from bovine blood and milk after endotoxin infusion.
J. Dairy Sci. **65**, 194–198
- Grunert, E. (1990):**
Weiblicher Geschlechtsapparat.
In: G. Dirksen, H.-D. Gründer und M. Stöber (Hrsg.): Die Klinische Untersuchung des Rindes.
Parey Buchverlag, Berlin, Hamburg, 3. Auflage, 472–548
- Gürtler, H., und F. J. Schweigert (2000):**
Physiologie der Laktation.
In: W. Von Engelhardt, und G. Breves (Hrsg.): Physiologie der Haustiere.
Enke im Hippokrates Verlag, Stuttgart, 572–593
- Guidry, A. J., M. J. Paape und R. E. Pearson (1976):**
Effects of parturition and lactation on blood and milk cell concentrations, corticosteroids, and neutrophil phagocytosis in the cow.
Am. J. Vet. Res. **37**, 1195–1200
- Habermehl, K. H. (1996):**
Haut und Hautorgane.
In: K. H. Habermehl, B. Vollmerhaus, H. Wilkens u. H. Waibl (Hrsg.): Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band III: Kreislaufsystem, Haut und Hautorgane.
Paul Parey Buchverlag im Blackwell Wissenschaftsverlag, Berlin, 3. Auflage: 443–571
- Hagiwara, S., K. Kawai, A. Anri, und H. Naghata (2003):**
Lactoferrin concentrations in milk from normal and subclinical mastitic Cows.
J. Vet Med Sci. **65**, 319–323
- Hallén Sandgren, C., K. Nordling und I. Björk (1991):**
Isolation and phagocytic properties of neutrophils and other phagocytes from non-mastitic bovine milk.
J. Dairy Sci. **74**, 2965–2975
- Hamann, J., und P. Gyodi (2000):**
Somatic cells and electrical conductivity in relation to milking frequency.
Milchwiss. **54**, 487–490
- Hamann, J., und F. Reinecke (2002):**
Machine milking effects on udder health – comparison of a conventional with a robotic milking system.
Proc. 1st North Am. Conf. on Robot Milking, Toronto, Canada, Wageningen Pers. IV: 17–27
- Harmon, R. J., und F. H. S. Newbould (1980):**
Neutrophil Leukocyte as a source of Lactoferrin in bovine milk.
Am. J. Vet. Res. **41**, 1603–1606

- Heuwieser, W., und R. Mansfeld (1992):**
Beurteilung der Körperkondition bei Milchkühen.
Milchprax. **30**, 1–10
- Hoeben, D., R. Heyneman und C. Burvenich (1997):**
Elevated levels of beta-hydroxybutyric acid in periparturient cows and in vitro effect on respiratory burst activity of bovine neutrophils.
Vet. Immunol. Immunopathol. **58**, 165–170
- Hoedemaker, M., R. Mansfeld und A. De Kruif (2007):**
Eutergesundheit und Milchqualität.
In: A. De Kruif, R. Mansfeld und M. Hoedemaker (Hrsg.): Tierärztliche Bestandsbetreuung beim Milchrind.
Enke Verlag Stuttgart, 2. Auflage, 72–104
- Hogeveen, H., und H. Wemmenhove (1999):**
Bessere Eutergesundheit mit dem Melkroboter?
top agrar extra, Landwirtschaftsverl. Münster, 44–45
- Holtenius, P., und K. Holtenius (1996):**
New aspects of ketone bodies in energy metabolism of dairy cows: a review.
J. Vet. Med. A, **43**, 579–587
- Horvath, G., A. I. Mohamed, J. Varga, G. Szemerédi und L. Quarini (1981):**
Effect of subclinical mastitis on milk composition.
Acta Vet. Acad. Sci. Hung. **29**, 271–276
- Hurley, W. L. (1989):**
Mammary gland function during involution.
J. Dairy Sci. **72**, 1637–1646
- Janosi, S., M. Kulscar, P. Korodi, L. Katai, J. Reiczigel, S. J. Dieleman, J. A. Nikolic, G. Salyi, P. Ribiczey-Szabo und G. Huszenicza (2003):**
Energy imbalance related predisposition to mastitis in group-fed high-producing postpartum dairy cows.
Acta Vet. Hung. **51**, 409–424
- Jolles, P. (1976):**
A possible physiological function of lysozyme.
Biomedicine. **25**, 275–276
- Jorritsma, R., T. Wensing, T. A. M. Kruip, P. L. A. M. Vos und J. P. T. M. Noordhuizen (2003):**
Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows.
Vet. Res. **34**, 11–26
- Kaneene, J. B., R. Miller, T. H. Herdt und J. C. Gardiner (1997):**
The association of serum nonesterified fatty acids and cholesterol, management and feeding practices with peripartum disease in dairy cows.
Prev. Vet. Med. **31**, 59–72

Kauppinen, K. (1984).

ALAT, AP, ASAT, GGT, OCT activities and Urea and total Bilirubin concentration in plasma of normal and ketotic dairy cows.

Zbl. Vet. Med., Reihe A **31**, 567–576

Kehrli, M. E., J. P. Goff, M. G. Stevens und T. C. Boone (1991):

Effects of granulocyte stimulating factor administration to periparturient cows on neutrophils and bacterial shedding.

J. Dairy Sci. **74**, 2448

(zit. nach Sordillo et al., 1997)

Kehrli, M. E., Jr., und J. A. Harp (2001):

Immunity in the mammary gland.

Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract. **17**, 495–516

Kehrli, M. E., Jr., B. J. Nonnecke und J. A. Roth (1989):

Alterations in bovine lymphocyte function during the periparturient period.

Am. J. Vet. Res. **50**, 207–220

Kehrli, M. E., Jr., und D. E. Shuster (1994):

Factors affecting milk somatic cells and their role in health of the bovine mammary gland.

J. Dairy Sci. **77**, 619–627

Kelton, D., J. Rodenburg und K. Hand (2001):

Udder health and milk quality on Ontario dairy farms utilizing voluntary milking systems.

Proceedings of the 2nd International Symposium on Mastitis and Milk Quality (2001), National Mastitis Council, Vancouver B. C., Canada, 410–414

<http://www.nmconline.org/articles/vmsudd.pdf>

Kishimoto, T. K., M. A. Jutila, E. L. Berg und E. C. Butcher (1989):

Neutrophil Mac-1 and MEL-14 adhesion proteins inversely regulated by chemotactic factors.

Science **245**, 1238–1241

Klawuhn, D. (1992):

Vergleich der Rückenfettdicke mit dem über die Gesamtkörperwasserbestimmung ermittelten Körperfettgehalt bei Rindern.

Berlin, Veterinärmed. Fak. Humboldt-Univ., Diss.

Klawuhn, D., und B. Staufenbiel (1997):

Aussagekraft der Rückenfettdicke zum Körperfettgehalt beim Rind.

Tierärztl. Prax. **25**, 133–135

Klockars, M., und P. Roberts (1976):

Stimulation of phagocytosis by human lysozyme.

Acta Haematol. **55**, 289–295

Klucinski, W., A. Degórski, E. Miernik-Degórska, S. Targowski u. A. Winnicka (1988):

Effect of ketone bodies on the phagocytic activity of bovine milk macrophages and polymorphonuclear leukocytes.

J. Vet. Med. A, **35**, 632–639

Koch, T., und R. Berg (1993):

Milchdrüse, Glandula lactifera.

In: Koch, T. und R. Berg (Hrsg.): Lehrbuch der Veterinäranatomie, Band III: Die großen Versorgungs- und Steuerungssysteme.

Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, 5. Auflage, 566–577

Komaragiri, M. V. S., D. P. Casper und R. A. Erdman (1998):

Factors affecting body tissue mobilization in early lactation dairy cows. 1. Effect of dietary fat on mobilization of body fat and protein.

J. Dairy Sci. **81**, 169–175

Kraft, W., U. M. Dürr, H. Bostedt und K. Heinritzi (2005):

Leber.

In: W. Kraft, und U. M. Dürr (Hrsg.): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin.

Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, 6. Auflage, 145–169

Kremer, W. D. J., C. Burvenich, E. N. Noordhuizen-Stassen, F. J.

Grommers, Y. H. Schukken, R. Heeringa und A. Brand (1993):

Severity of experimental Escherichia coli mastitis in ketonemic and nonketonemic dairy cows.

J. Dairy Sci. **76**, 3428–3436

Krömker, V., und J. Hamann (2001):

Praxisrelevante Alternativen zu Schalmtest und Zellzahl für die Mastitisfrüherkennung.

In: Arbeitsgruppe zur Förderung von Eutergesundheit und Milchhygiene in den Alpenländern (AFEMA), Bundesanstalt für Milchwirtschaft,

9. AFEMA Tagung, Wolfpassing, Österreich, 04.05.2001, 23–27

Kurzhals, P., H. Klima und D. Manz (1985):

Beziehungen zwischen Zellzahl, Zellbild und bakteriologischen Befunden bei der subklinischen Mastitis des Rindes.

Milchwissensch. **40**, 6–9

Kutila, T., L. Suojala, T. Lehtolainen, H. Saloniemi, L. Kaartinen, M. Tahti, K. Seppala und S. Pyörälä (2004):

The efficiency of bovine lactoferrin in the treatment of cows with experimentally induced Escherichia coli mastitis.

J. Vet. Pharmacol. Ther. **27**, 197–202

Landeskuratorium der Erzeugerringe für tierische Veredelung in Bayern e.V. (LKV) (2003):

Leistungs- und Qualitätsprüfung in der Rinderzucht in Bayern 2003 - Ergebnisse und Auswertungen. Landeskuratorium der Erzeugerringe für tierische Veredelung in Bayern e.V., München, 1–85

- Lawman, M. J. P., M. Campos, H. Bielefeldt Ohmann, P. Greibel und L. A. Babiuk** (1989):
Recombinant cytokines and their potential therapeutic value in veterinary medicine.
In: Comprehensive Biotechnology, Pergamon Press, London, 663
(zit. nach Sordillo et al., 1997)
- Lean, I. J., M. L. Bruss, H. F. Troutt, J. C. Galland, T. B. Farver, J. Rostami, C. A. Holmberg und L. D. Weaver** (1994):
Bovine ketosis and somatotrophin: risk factors for ketosis and effects of ketosis on health and production.
Res. Vet. Sci. **57**, 200–209
- Lee, C. S., F. B. P. Wooding und P. Kemp** (1980):
Identification, properties, and differential counts of cell populations using electron microscopy of dry cow secretions, colostrum and milk from normal cows.
J. Dairy Res. **47**, 39–50
- Leitner, G., E. Shoshani, O., Krifucks, C. M. und A. Saran** (2000):
Milk leucocyte population patterns in bovine udder infection of different aetiology.
J. Vet. Med. B **47**, 581–589
- Leslie, K. E., T. F. Duffield, Y. H. Schukken und S. J. LeBlanc** (2000):
The influence of negative energy balance on udder health.
In: Proceedings of the National Mastitis Council Regional Meeting, Verona, Wisconsin, 25–33
- Lie, O., M. Seyd und H. Solbu** (1986):
Improved agar plate assays of bovine lysozyme and haemolytic complement activity.
Acta Vet. Scand. **27**, 23
- Liebe, A., und D. Schams** (1998):
Growth factors in milk: Interrelationships with somatic cell count.
J. Dairy Res. **65**, 93–100
- Liebich, H.-G., S. Reese und K. D. Budras** (2004):
Allgemeine Körperdecke (Integumentum commune).
In: H.-G. Liebich (Hrsg.): Funktionelle Histologie der Haussäugetiere.
Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, 4. Auflage, 311–330
- Lösch, U., J. Cihak, M. H. Erhard und B. Kaspers** (2000):
Blut und Abwehr.
In: W. v. Engelhardt, und G. Breves (Hrsg.): Physiologie der Haustiere.
Enke im Hippokrates Verlag, Stuttgart, 207–208
- Löschner, U., und R. Staufenbiel** (1996):
Schätzung der Rückenfettdicke als Methode der Körperkonditionsbeurteilung bei Milchrindern.
Prakt. Tierarzt **77**, 816–824

- Lotthammer, K. H., H.-J. Boehnke und M. Morawietz (1988):**
Beziehungen zwischen verschiedenen Blutparametern als Kriterien für Stoffwechselstörungen und dem Milchzellgehalt bei Milchrindern.
Dtsch. Tierärztl. Wschr. **95**, 353–408
- Lucy, M. C. (2000):**
Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle.
J. Dairy Sci. **83**, 1635–1647
- Lucy, M. C., C. R. Staples, F. M. Michel und W. W. Thatcher (1991):**
Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows.
J. Dairy Sci. **74**, 473–482
- Lunau, M. (1989):**
Lysozym, ein wichtiger Bestandteil des natürlichen Abwehrsystems der Milchdrüse des Rindes.
Mh. Vet.-Med. **44**, 777–780
- Mallard, B. A., L. C. Wagter, M. J. Ireland und J. C. Dekkers (1997):**
Effects of growth hormone, insulin-like growth factor-I, and cortisol on periparturient antibody response profiles of dairy cattle.
Vet. Immunol. Immunopathol. **60**, 61–76
- Martin, R., R. Mansfeld, M. Hoedemaker und A. de Kruif (2007):**
Milchleistung und Fütterung.
In: A. De Kruif, R. Mansfeld und M. Hoedemaker (Hrsg.): Tierärztliche Bestandsbetreuung beim Milchrind.
Enke Verlag, Stuttgart, 2. Auflage, 105–140
- Masson, P. L., J. F. Heremans und E. Schonke (1969):**
Lactoferrin, an iron-binding protein in neutrophilic leukocytes.
J. Exp. Med. **130**, 643–658
- McDonald, T. J., J. S. McDonald und D. L. Rose (1970):**
Aerobic gram-negative rods isolated from bovine udder infections.
Am. J. Vet. Res. **31**, 1937–1941
- Mehrzad, J., H. Dosogne, E. Meyer, R. Heyneman und C. Burvenich (2001):**
Respiratory burst activity of blood and milk neutrophils in dairy cows during different stages of lactation.
J. Dairy Res. **68**, 399–415
- Mehrzad, J., L. Duchateau und C. Burvenich (2004):**
Viability of milk neutrophils and severity of bovine coliform mastitis.
J. Dairy Sci. **87**, 4150–4162
- Metzner, M., W. Heuwieser und W. Klee (1993):**
Die Beurteilung der Körperkondition (body condition scoring) im Herdenmanagement.
Prakt. Tierarzt **11**, 991–998

- Meyer, F., G. Erhardt und B. Senft** (1981):
Umweltbedingte und genetische Aspekte des Lysozyms in der Kuhmilch.
Züchtungskunde 3, 43–44
- Michel, G.** (1994):
Anatomie der Milchdrüse.
In: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke u. H.-W. Fuchs (Hrsg.): Euter- und
Gesäugekrankheiten.
Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, 17–60
- Michel, G., und J. Schulz** (1987):
Zur Histologie und Histochemie des Epithels der großen Milchgänge und
Milchzisterne unter besonderer Beachtung ihrer Funktion im System der lokalen
Abwehrmechanismen des Rindereuters.
Schweiz. Arch. Tierheilk. **129**, 319–326
- Michel, G., und W. Seffner** (1975):
Morphologische Grundlagen der Keimabwehr in der Milchdrüse des Rindes.
Mh. Vet.-Med. **30**, 900–903
- Mielke, H.** (1994):
Physiologie der Laktation.
In: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke u. H.-W. Fuchs (Hrsg.): Euter- und
Gesäugekrankheiten.
Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, 64–129
- Mielke, H., und C. Koblenz** (1980):
Struktur und Funktion der Makrophagen der Kuhmilch.
Mh. Vet.-Med. **35**, 367–370
- Mielke, H., K. Pfüller, B. Fürll und H. Bier** (1985):
Untersuchungen über den Laktoseverlust der im Hohlraumssystem gesunder und
subklinisch kranker Euterviertel gespeicherten Milch mit Hilfe von ¹⁴C-Laktose.
Arch. Exp. Veterinarmed. **39**, 457–478
- Miller, R. H., M. J. Paape und L. A. Fulton** (1991):
Variation in milk somatic cells of heifers at first calving.
J. Dairy Sci., **74**, 3782–3790
- Mösenfechtel, S., U. J. Eigenmann, M. Wanner und P. Rüschi** (2000):
Rückenfettdicke und Fruchtbarkeit bei Braunviehkühen.
Schweiz. Arch. Tierheilk. **142**, 679–689
- Mosimann, W., und T. Kohler** (1990):
Milchdrüse.
In: Mosimann, W. und T. Kohler (Hrsg.): Zytologie, Histologie und mikroskopische
Anatomie der Haussäugetiere.
Parey Verlag, Berlin und Hamburg, 288–294

- Nagahata, H., S. Makino, S. Takeda, H. Takahashi und H. Noda (1988):**
Assessment of neutrophil function in the dairy cow during the perinatal period.
Zentralbl. Veterinärmed. B **35**, 747–751
- Nickerson, S. C. (1985):**
Immune mechanisms of the bovine udder: An overview.
J. Am. Vet. Med. Assoc. **187**, 41–45
- Nickerson, S. C., P. A. Baker und P. Trinidad (1989):**
Local immunostimulation of the bovine mammary gland with interleukin-2.
J. Dairy Sci. **72**, 1764
(zit. nach Sordillo et al., 1997)
- Nickerson, S. C., W. E. Owens und J. L. Watts (1989):**
Effects of recombinant granulocyte colony-stimulating factor on *Staphylococcus aureus* mastitis in lactating dairy cows.
J. Dairy Sci., **72**, 3286
(zit. nach Sordillo et al., 1997)
- Nonnecke, B. J., und K. L. Smith (1984):**
Inhibition of mastitic bacteria by bovine milk apo-lactoferrin evaluated by in vitro microassay of bacterial growth.
J. Dairy Sci. **67**, 606–613
- Okada, H., H. Ohtsuka, S. Kon Sai, R. Kirisawa, Y. Yokomizo, T. Yoshino und T. J. Rosol (1999):**
Effects of lipopolysaccharide on production of interleukin-1 and interleukin-6 by bovine mammary epithelial cells in vitro.
J. Vet. Med. Sci. **61**, 33–35
- Osserman E. F., und D. P. Lawlor (1966):**
Serum and urinary Lysozyme (Muramidase) in monocytic and monomyelocytic leukemia.
J. Exp. Med. **124**, 921–952
- Otto, K. L., J. D. Ferguson, D. G. Fox und C. J. Sniffen (1991):**
Relationship between body condition score and composition of ninth to eleventh rib tissue in Holstein dairy cows.
J. Dairy Sci. **74**, 852–859
- Outteridge, P. M., und C. S. Lee (1981):**
Cellular immunity in the mammary gland with particular reference to T- and B-lymphocytes and macrophages.
Adv. Exp. Med. Biol. **137**, 513–534
- Paape, M. J., J. Mehrzad, X. Zhao, J. Detilleux und C. Burvenich (2002):**
Defense of the bovine mammary gland by polymorphonuclear neutrophil leukocytes.
J. Mammary Gland Biol. Neoplasia **7**, 109–121

- Paape, M. J., W. P. Wergin, A. J. Guidry und R. E. Pearson** (1979):
Leukocytes – Second line of defense against invading mastitis pathogens.
J. Dairy Sci. **62**, 135–153
- Paape, M. J., W. P. Wergin, A. J., Guidry und W. D. Schultze** (1981):
Phagocytic defense of the ruminant mammary gland.
Adv. Exp. Med. Biol. **137**, 555–578
- Paape, M. J., E.-M. Lilius, P. A. Wiitanen, M. P. Kontio und R. H. Miller** (1996):
Intramammary defense against infections induced by *Escherichia coli* in cows.
Am. J. Vet. Res. **57**, 477–482
- Paape, M. J., D. D. Bannermann, X. Zhao und J. W. Lee** (2003):
The bovine neutrophil: Structure and function in blood and milk.
Vet. Res. **34**, 597–627
- Paape, M. J., W. D. Schultze, C. Desjardins und R. H. Miller** (1974):
Plasma corticosteroid, circulating leukocyte and milk somatic cell responses to
Escherichia coli endotoxin-induced mastitis.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **145**, 553–559
- Pallas, S., und K. Wendt** (2001):
The development of udder health of a dairy cow herd in automatic milking system.
In: A. Rosati, S. Mihina und C. Mosconi (Hrsg.): Proceedings der International
Conference “Physiological and technical aspects of machine milking”, Nitra, 175-179
- Pellegrini, A., S. Waiblinger und R. Von Fellenberg** (1991):
Purification of equine neutrophil lysozyme and antibacterial activity against gram-
positive and gram-negative bacteria.
Vet. Res. Commun. **15**, 427–435
- Peri, I., A. Shamay, M. F. McGrath, R. J. Collier und A. Gertler** (1992):
Comparative mitogenic and galactopoietic effects of IGF-I, IGF-II and Des-3-IGF-I in
bovine mammary gland in vitro.
Cell Biol. Int. Rep. **16**, 359–368
- Persson, K., A. Carlsson, C. Hambleton und A. J. Guidry** (1992):
Immunoglobulins, lysozyme and lactoferrin in the teat and udder of the dry cow
during endotoxin-induced inflammation.
Zentralbl. Veterinärmed. B **39**, 165–174
- Pettipher, G. L., und U. M. Rodrigues** (1981):
Rapid membrane filtration epifluorescent microscopic technique for the direct
enumeration of somatic cells in fresh and formalin-preserved milk.
J. Dairy Res. **48**, 239–246
- Piccinini, R., E. Binda, M. Belotti, G. Casirani und A. Zecconi** (2004):
The evaluation of non-specific immune status of heifers in field conditions during the
periparturient period.
Vet. Res. **35**, 539–550

- Piccinini, R., E. Binda, M. Belotti, G. Casirani und A. Zecconi (2005):**
Comparison of blood and milk non-specific immune parameters in heifers after calving in relation to udder health.
Vet. Res. **36**, 747–757
- Piccinini, R., V. Bronzo, P. Moroni, C. Luzzago und A. Zecconi (1999):**
Study on the relationship between milk immune factors and Staphylococcus aureus intramammary infections in dairy cows.
J. Dairy Res. **66**, 501–510
- Pighetti, G. M., und L. M. Sordillo (1995):**
Enhanced mammary gland immunity following primary immunization with interferon- γ .
J. Dairy Sci. **78**, 528
(zit. nach Sordillo et al., 1997)
- Pillai, S. R., E. Kunze, L. M. Sordillo und B. M. Jayarao (2001):**
Application of differential inflammatory cell count as a tool to monitor udder health.
J. Dairy Sci. **66**, 1413–1420
- Pyörälä, S. (2002):**
New strategies to prevent mastitis.
Reprod. Domest. Anim. **37**, 211–216
- Pyörälä, S. (2003):**
Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis.
Vet. Res. **34**, 565–578
- Rainard, P. (2003):**
The complement in milk and defense of the bovine mammary gland against infections.
Vet. Res. **34**, 647–670
- Rainard, P., und C. Riollet (2003):**
Mobilisation of neutrophils and defense of the bovine mammary gland.
Reprod. Nutr. Dev. **43**, 439–457
- Rainard, P., und C. Riollet (2006):**
Innate immunity of the bovine mammary gland.
Vet. Res., **37**, 369–400
- Rankl, J. E. (2004):**
Differenzierung somatischer Zellen in der Milch verschiedener Spezies unter besonderer Berücksichtigung epithelialer Zellen.
Diss. Med. Vet., Tierärztl. Fak. LMU München
- Rasmussen, M. D., J. Y. Blom, L. A. H. Nielsen und P. Justesen (2001):**
The impact of automatic milking on udder health.
Proceedings of the 2nd International Symposium on Mastitis and Milk Quality (2001), National Mastitis Council, Vancouver B. C., Canada, 397–400
<http://www.nmconline.org/articles/amsuddhlth.pdf>

Reddy, P. G., D. S. McVey, M. M. Chengappa, F. Blecha, H. C. Minocha und P. E. Baker (1990):

Bovine recombinant granulocyte-colony stimulating factor enhancement of bovine neutrophil functions in vitro.

Am. J. Vet. Res. **51**, 1395

(zit. nach Sordillo et al., 1997)

Reist, M., D. K. Erdin, D. Von Euw, K. M. Tschumperlin, H. Leuenberger, Y. Chilliard, H. M. Hammon, C. Morel, C. Philipona, Y. Zbinden, N. Kuenzi und J. W. Blum (2002):

Estimation of energy balance at the individual and herd level using blood and milk traits in high-yielding dairy cows.

J. Dairy Sci. **85**, 3314–3327

Riollet, C., P. Rainard und B. Poutrel (2001):

Cell subpopulations and cytokine expression in cow milk response to chronic *Staphylococcus aureus* infection.

J. Dairy Sci. **84**, 1077–1084

Rodenburg, J., und D. F. Kelton (2001):

Automatic milking systems in the North America: issues and challenges unique to Ontario.

Proceedings of the 40th National Mastitis Council Annual Meeting, Madison, 163–169

Rossow, N. (2003a):

Der peripartale Krankheitskomplex der Milchkuh

<http://www.portal-rind.de/portal/index.php>

Rossow, N. (2003b):

Fettmobilisationssyndrom der Milchkuh.

http://www.portal-rind.de/portal/data/artikel/45/artikel_45.pdf

Ruegg, P. L., W. J. Goodger, C. A. Holmberg, I.D. Weaver und E. M. Huffman (1992):

Relation among body condition score, serum urea nitrogen and cholesterol concentrations, and reproductive performance in high-producing Holstein dairy cows in early lactation.

Am. J. Vet. Res. **53**, 10–14

Rukwamsuk, T., T. Wensing und M. J. H. Geelen (1998):

Effect of overfeeding during the dry period on regulation of adipose tissue metabolism in dairy cows during the periparturient period.

J. Dairy Sci. **81**, 2904–2911

Rukwamsuk, T., T. A. M. Kruip und T. Wensing (1999):

Relationship between overfeeding and overconditioning in the dry period and the problems of high producing dairy cows during the parturient period.

Vet. Quart. **21**, 71–77

- Saltman, R. L.** (1990):
The use of body condition scoring in dairy production medicine.
Bovine Pract. **25**, 141–142
- Salton, M. R. J.** (1952):
Cell wall of *Micrococcus lysodeicticus* as the substrate of lysozyme.
Nature **170**, 746–747
- Sanchez, L., P. Aranda, M. D. Perez und M. Calvo** (1988):
Concentration of lactoferrin and transferrin throughout lactation in cow's colostrums and milk.
Biol. Chem. Hoppe Seyler. **369**, 1005–1008
- Sandgren, C. H., K. Nordling und I. Björk** (1991):
Isolation and phagocytic properties of neutrophils and other phagocytes from nonmastitic bovine milk.
J. Dairy Sci. **74**, 2965–2975
- Sarikaya, H., C. Werner-Misof, M. Atzkern und R. M. Bruckmaier** (2005):
Distribution of leucocyte populations, and milk composition, in milk fractions of healthy quarters in dairy cows.
J. Dairy Res. **72**, 486–496
- Sattler, T., und M. Fürll** (2002):
Labordiagnostische Bedeutung der Creatinkinase und der Aspartat-Aminotransferase bei Kühen mit Labmagenverlagerung und Endometritis.
In: M. Fürll (Hrsg.): Stoffwechselstörungen beim Wiederkäuer: Erkennen – Behandeln – Vorbeugen.
Med. Tierklinik Leipzig, ISBN 3-00-009263-3, 50–56
- Schlecht, S.** (2004):
Auswirkungen einer prophylaktischen Verabreichung der Präparate Carduus compositum®, Coenzyme compositum®, Lachesis compositum® und Traumeel QP® auf die Eutergesundheit von Milchkühen.
München, Tierärztl. Fak. LMU, Diss.
- Schmedt auf der Günne, H., B.-A. Tenhagen, P. Kutzer, D. Forderung und W. Heuwieser** (2002):
Laktoferrin, Lysozym und das Laktoperoxidase-Thiozyanat-Wasserstoffperoxid-System als Ursache negativer mikrobiologischer Befunde aus Mastitissekreten?
Dtsch. Tierärztl. Wschr. **109**, 300–305
- Scholz, H.** (1990):
Stoffwechselkontrolle der Milchkuhherde anhand von Blut- und Milchparametern.
Prakt. Tierarzt, Colleg. Vet. **XXI**, 32–35
- Schröder, A.** (2003):
Untersuchungen zum Zelldifferentialbild in Milch und Blut unter Berücksichtigung des Gesundheitsstatus der bovinen Milchdrüse.
Hannover, Tierärztl. Hochschule, Diss.

Schröder, U. J., und R. Staufenbiel (2006):

Invited review: Methods to determine body fat reserves in the dairy cow with special regard to ultrasonographic measurement of backfat thickness.

J. Dairy Sci. **89**, 1–14

Schwarzer, K. (2000):

Auswirkungen eines Melkroboters auf die Eutergesundheit und die Milchhygiene. München, Tierärztl. Fak. LMU, Diss.

Seggewiß, S. (2004):

Überprüfung der Bedeutung von Milchinhaltsstoffen für die Beurteilung der Energie-, Protein- und Strukturversorgung von HF-Kühen.

Hannover, Tierärztl. Hochschule, Diss.

Senft, B. (1977):

Genetische Aspekte des natürlichen Abwehrsystems der Milchdrüse im Hinblick auf die Mastitisbekämpfung.

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. **20**, 389–392

Senft, B., F. Meyer und M. L. Hartmann (1990a):

Die Bedeutung der Proteine des Strichkanalkeratins im Abwehrsystem der bovinen Milchdrüse.

Milchwiss. **45**, 295–298

Senft, B., F. Meyer und R. Römer (1990b):

Die Bedeutung der Lipide des Strichkanalkeratins im Abwehrsystem der bovinen Milchdrüse.

Milchwiss. **45**, 18–21

Senft, B., und J. Neudecker (1991):

Abwehrmechanismen der bovinen Milchdrüse.

Tierärztl. Praxis **19**, 357–363

Shafer-Weaver, K. A., und L. M. Sordillo (1997):

Bovine CD8⁺ suppressor lymphocytes alter immune responsiveness during the postpartum period.

Vet. Immunol. Immunopathol. **56**, 53–64

Sheffield, L. G. (1997):

Mastitis increases growth factor messenger ribonucleic acid in bovine mammary glands.

J. Dairy Sci. **80**, 2020–2024

Smith, K. L., J. S. Hogan und W. P. Weiss (1997):

Dietary Vitamin E and Selenium affect mastitis and milk quality.

J. Anim. Sci. **75**, 1659–1665

Smits, E., C. Burvenich, A. J. Guidry und A. Massart-Leen (2000):

Adhesion receptor CD11b/CD18 contributes to neutrophil diapedesis across the bovine blood-milk barrier.

Vet. Immunol. Immunopathol. **73**, 255–265

Smollich, A., und G. Michel (1992):

Milchdrüse.

In: A. Smollich u. G. Michel (Hrsg.): Mikroskopische Anatomie der Haustiere.

Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, 2. Auflage, 336–354

Sordillo, L. M. (1992):

Cytokines at drying off: potential role in mastitis control.

In: Proceedings of the 31st Annual Meeting National Mastitis Council, Arlington, VA, 160

(zit. nach Sordillo et al., 1997)

Sordillo, L. M., G. Afseth, G. Davies und L. A. Babiuk (1992):

Effects of recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on bovine blood and mammary neutrophil function in vitro.

Can. J. Vet. Res. **56**, 16

(zit. nach Sordillo et al., 1997)

Sordillo, L. M., und L. A. Babiuk (1991):

Modulation of mammary neutrophil function during the periparturient period following in vitro exposure to recombinant bovine interferon-gamma.

Vet. Immunol. Immunopathol. **27**, 393

(zit. nach Sordillo et al., 1997)

Sordillo, L. M., K. Shafer-Weaver und D. DeRosa (1997):

Immunobiology of the mammary gland.

J. Dairy Sci. **80**, 1851–1865

Sordillo, L. M., M. Campos und L. A. Babiuk (1991):

Antibacterial activity of bovine mammary gland lymphocytes following treatment with interleukin-2.

J. Dairy Sci. **74**, 3370

(zit. nach Sordillo et al., 1997)

Sordillo, L. M., und K. L. Streicher (2002):

Mammary gland immunity and mastitis susceptibility.

J. Mammary gland Biol. Neoplasia **7**, 135–146

Spicer, L. J., W. B. Tucker und G. D. Adams (1990):

Insulin-like growth Factor-I in dairy cows: Relationships among energy balance, body condition, ovarian activity, and estrous behavior.

J. Dairy Sci. **73**, 929–937

Staufenbiel, B. (1992):

Energie- und Fettstoffwechsel des Rindes - Untersuchungskonzept und Messung der Rückenfettdicke.

Mh. Vet.-Med. **47**, 467–474

Staufenbiel, R. (1993):

Energie- und Fettstoffwechsel des Rindes unter besonderer Berücksichtigung der Messung der Rückenfettdicke und der Untersuchung von Fettgewebe.

Berlin, Fachber. Veterinärmed. Freie Univ., Habil.-schr.

Staufenbiel, R. (1997):

Konditionsbeurteilung von Milchkühen mit Hilfe der sonographischen Rückenfettdickenmessung.

Prakt. Tierarzt, Colleg. Vet. **XXVII**, 87–92

Staufenbiel, R., und U. Schröder (2004):

Körperkonditionsbeurteilung durch Ultraschallmessung der Rückenfettdicke. Methodische Grundlagen.

Veterinärspiegel **2**, 149–155

Staufenbiel, R., B. Staufenbiel, I. Lachmann und H. Lukas (1991):

Fettstoffwechsel und Fruchtbarkeit der Milchkuh.

Prakt. Tierarzt., Colleg. Vet. **XXII**, 18–25

Steen, A., O. Osteras und H. Gronstol (1996):

Evaluation of additional acetone and urea analyses, and of the Fat-Lactose-Quotient in cow milk samples in the herd recording system in norway.

J. Vet. Med., A **43**, 181–191

Stöber, M. (2002):

Fütterungs- und stoffwechselbedingte Krankheiten der Leber.

In: G. Dirksen, H.-D. Gründer, und M. Stöber (Hrsg.): Innere Medizin und Chirurgie des Rindes.

Blackwell Verlag, Berlin, Wien, 4. Auflage, 648–664

Suriyasathaporn, W., A. J. J. M. Daemen, E. N. Noordhuizen-Stassen, S. J. Dieleman, M. Nielen und Y. H. Schukken (1999):

Beta-hydroxybutyrate levels in peripheral blood and ketone bodies supplemented in culture media affect the in vitro chemotaxis of bovine leukocytes.

Vet. Immunol. Immunopathol. **68**, 177–186

Suriyasathaporn, W., C. Heuer, E. N. Noordhuizen-Stassen und Y. H. Schukken (2000):

Hyperketonemia and the impairment of udder defense: A review.

Vet. Res. **31**, 397–412

Targowski, S. P. (1983):

Role of immune factors in protection of mammary gland.

J. Dairy Sci. **66**, 1781–1789

Targowski, S., und W. Klucinski (1983):

Reduction in mitogenic response of bovine lymphocytes by ketone bodies.

Am. J. Vet. Res. **44**, 828–830

Teichmann, S., R. Fahr und M. Fürll (2002):

Beziehungen zwischen Futteraufnahme, Milchmenge und –Inhaltsstoffen, Energieretention sowie klinisch-chemischen Blutparametern bei Mutterkühen.

In: M. Fürll (Hrsg.): Stoffwechselstörungen beim Wiederkäuer: Erkennen – Behandeln – Vorbeugen.

Med. Tierklinik Leipzig, ISBN 3-00-009263-3, 17–18

- Torre, P. M., P. K. Konur und S. P. Oliver (1992):**
Proliferative response of mammary gland mononuclear cells to recombinant bovine interleukin-2.
Vet. Immunol. Immunopathol. **32**, 351
(zit. nach Sordillo et al., 1997)
- Vangroenweghe, F., H. Dosogne und C. Burvenich (2002):**
Composition and milk cell characteristics in quarter milk fractions of dairy cows with low cell count.
Vet. J. **164**, 254–260
- Van Winden, S. C. L., R. Jorritsma, K. E. Müller und J. P. T. M. Noordhuizen (2003):**
Feed intake, milk yield, and metabolic parameters prior to left displaced abomasum in dairy cows.
J. Dairy Sci. **86**, 1465–1471
- Vega, J. R., C. A., Gibson, T. C. Skaar, D. L. Hadsell und C. R. Baumrucker (1991):**
Insulin-like growth factor (IGF-I) and -II and IGF binding proteins in serum and mammary secretions during the dry period and early lactation in dairy cows.
J. Anim. Sci. **69**, 2538–2547
- Waller, K. P. (2000):**
Mammary gland immunology around parturition. Influence of stress, nutrition and genetics.
Adv. Exp. Med. Biol. **480**, 231–245
- Waltner, S. S., J. P. McNamara, J. K. Hillers und D. L. Brown (1994):**
Validation of indirect measures of body fat in lactating cows.
J. Dairy Sci. **77**, 2570–2579
- Weigt, U. (1983):**
Clinical aspects of coliform mastitis in the bovine.
Vet. Res. Commun. **7**, 253–257
- Wellnitz, O., und D. E. Kerr (2004):**
Cryopreserved bovine mammary cells to model epithelial response to infection.
Vet. Immunol. Immunopathol. **101**, 191–202
- Wendt, K. (1992):**
Milchbestandteile als diagnostische Kriterien für die biologische Abwehr der bovinen Milchdrüse.
Prakt. Tierarzt., Colleg. Vet. **XXIII**, 23–26
- Wendt, K., H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs (1994):**
Anatomie der Milchdrüse; Physiologie der Laktation.
In: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke u. H.-W. Fuchs (Hrsg.): Euter- und Gesäugekrankheiten.
Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, 17–137

Wentink, G. H., V. P. M. G. Rutten, T. S. G. A. M. van den Ingh, A. Hoek, K. E. Müller und T. Wensing (1997):

Impaired specific immunoreactivity in cows with hepatic lipodosis.

Vet. Immunol. Immunopathol. **56**, 77–83

Wenzel, C., S. Schönreiter und J. Unselm (1999):

Untersuchungen zum Verhalten und zur Belastung von Kühen beim Melken in einem Automatischen Melksystem (AMS).

KTBL-Schrift 382, Landwirtschaftsverlag Münster-Hiltrup, 113–115

Wildman, E. E., G. M. Jones, P. E. Wagner, R. L. Boman, H. F. Troutt, Jr. und T. N. Lesch (1982):

A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics.

J. Dairy Sci. **65**, 495–501

Wirtz, N., K. Oechtering, E. Pfeffer, E. Tholen und W. Trappmann (2003):

Untersuchungen zum Einsatz des Automatischen Melkverfahrens (AMV).

Landwirtschaftl. Fak. Universität Bonn, Schriftenreihe des Lehr- und Forschungsschwerpunktes USL, 43–45

Yamauchi, K., M. Tomita, T. J. Giehl und R. T. Ellison 3rd (1993):

Antibacterial activity of lactoferrin and a pepsin-derived lactoferrin peptide fragment.

Infect. Immun. **61**, 719–728

Zecconi, A., und K. L. Smith (2000):

Mammary gland immunological components - Factors affecting immunity.

In: A. Zecconi u. K. L. Smith (Hrsg.): IDF position paper on ruminant mammary gland immunity.

Mailand, 7–57

Zecconi, A., V. Bronzo, R. Piccinini, G. Spreafico und G. Ruffo (1994):

Phagocytic activity of bovine polymorphonuclear neutrophil leucocytes.

J. Dairy Res. **61**, 271–279

Zimmerman, G. A., S. M. Prescott u. T. M. McIntyre (1992):

Endothelial cell interactions with granulocytes: Tethering and signalling molecules.

Immunol. Today **13**, 93–100

8 Anhang

Tab. 31: Korrelationsanalysen zwischen der Phagozytoseaktivität der Milchzellen sowie der Lysozymkonzentration der Milch und Stoffwechselfparametern in Blut und Milch und Körperkonditionswerten bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.).

n = Anzahl, r = Korrelationskoeffizient n. Pearson, r^{Sp} = Korrelationskoeffizient nach Spearman, P = Signifikanz der Korrelation; ^{ln} = logarithmierter Wert, */ ** = die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05/0,01 signifikant (zweiseitig)

Stoffwechsel-Parameter	Messung	n	Phagozytoseaktivität (%)		n	Lysozymkonzentration (µg/ml)	
			r	P		r	P
Bilirubin (µmol/l)	1	28	-0,115	0,560	27	0,011	0,957
	2	28	0,131	0,506	24	-0,150	0,483
	3	28	0,152	0,441	26	-0,011	0,956
AST (U/l)	1	28	-0,338	0,079	27	-0,098	0,626
	2	28	0,150	0,445	24	0,223	0,295
	3	28	0,246	0,208	26	0,229	0,261
AP (U/l) (Alter der Kuh < 3 Jahre)	1	13	-0,204	0,487	12	-0,527	0,078
	2	13	-0,110	0,723	9	-0,234	0,544
	3	13	0,012	0,943	11	-0,431	0,186
AP (U/l) (Alter der Kuh > 3 Jahre)	1	15	0,674 *	0,011 *	15	-0,209	0,454
	2	13	-0,012	0,968	15	-0,223	0,424
	3	15	0,032	0,921	15	-0,493	0,062
GLDH (U/l)	1 ^{ln}	28	-0,089	0,653	27	-0,258	0,195
	2 ^{ln}	28	0,036	0,855	24	-0,329	0,116
	3	28	-0,039	0,844	26	0,063	0,760
GGT (U/l)	1 ^{ln}	28	-0,048	0,810	27	-0,296	0,134
	2	28	0,004	0,983	24	-0,078	0,717
	3	28	0,195	0,320	26	0,075	0,717
CK (U/l)	1	28	-0,123	0,534	27	-0,052	0,797
	2	28	0,127	0,519	24	0,082	0,705
	3	28	-0,031	0,874	26	0,144	0,483

Fortsetzung Tab. 31:

Stoffwechselparameter	Messung	n	r	P	n	r	P
BHB (mmol/l)	1 ^{ln}	28	0,175	0,373	27	0,029	0,885
	2	28	-0,004	0,986	24	-0,158	0,460
	3	28	0,110	0,578	26	0,200	0,327
IGF-I (nmol/l)	1	28	0,037	0,852	27	-0,057	0,779
	2	28	-0,284	0,143	24	-0,094	0,662
	3	28	0,156	0,427	26	-0,189	0,354
Milchmenge (l)	1	26	0,071	0,729	25	0,181	0,386
	2	28	0,213	0,277	24	0,178	0,406
	3	28	0,199	0,309	26	0,205	0,315
Milchharnstoff (mmol/l)	1	28	-0,333	0,083	27	0,165	0,410
	2	28	0,260	0,182	24	0,390	0,060
	3	27	0,368	0,059	25	0,057	0,785
Milcheiweiß (%)	1	28	-0,293	0,130	27	0,199	0,321
	2	28	-0,046	0,817	24	0,097	0,654
	3	27	-0,013	0,949	25	-0,043	0,838
Milchfett (%)	1	28	-0,190	0,333	27	-0,049	0,806
	2	28	-0,212	0,279	24	-0,191	0,372
	3	27	-0,090	0,656	25	-0,112	0,594
FEQ	1	28	-0,093	0,638	27	-0,138	0,491
	2	28	-0,194	0,322	24	-0,215	0,313
	3	27	-0,074	0,714	25	-0,092	0,662
Laktose (%)	1	28	-0,017	0,932	27	-0,184	0,358
	2	28	-0,178	0,364	24	-0,157	0,464
	3	27	-0,177	0,376	25	-0,583 **	0,002 **
Milch-pH-Wert	1	28	0,170	0,388	27	-0,052	0,796
	2	28	-0,166	0,398	24	0,153	0,475
	3	27	0,096	0,633	25	-0,207	0,320

Fortsetzung Tab. 31:

Stoffwechselparameter	Messung	n	r	P	n	r	P
BCS	1	28	-0,004	0,985	27	0,146	0,467
	2	28	0,009	0,964	24	-0,144	0,596
	3	26	-0,169	0,410	24	-0,437 *	0,033 *
BCS Differenz	1	28	0,007	0,973	27	-0,163	0,416
	2	28	-0,206 ^{Sp}	0,293	24	0,101 ^{Sp}	0,638
	3	26	-0,191	0,350	24	0,011	0,958
BCS max.	1	28	-0,051	0,797	27	-0,150	0,455
	2	28	-0,222	0,256	24	-0,180	0,401
	3	28	-0,052	0,794	26	-0,658 **	0,000 **
RFD (mm)	1	28	0,081	0,683	27	0,052	0,797
	2	28	0,019	0,924	24	-0,091	0,673
	3	26	-0,106	0,605	24	-0,363	0,081
RFD Differenz (mm)	1	28	-0,117	0,555	27	-0,047	0,814
	2	28	-0,164	0,406	24	0,256	0,226
	3	26	0,033	0,872	24	-0,031	0,886
RFD max. (mm)	1	28	-0,118	0,550	27	-0,076	0,708
	2	28	-0,284	0,143	24	0,070	0,746
	3	28	-0,151	0,444	26	-0,132	0,520
MD (mm)	1	28	-0,058	0,769	27	0,219	0,273
	2	27	-0,004	0,984	23	-0,078	0,723
	3	26	-0,096	0,642	24	-0,271	0,201
MD Differenz (mm)	1	27	-0,132	0,510	26	0,152	0,459
	2	27	-0,052	0,796	23	-0,214	0,327
	3	26	-0,150	0,465	24	0,043	0,843
MD max. (mm)	1	28	-0,182	0,353	27	0,073	0,718
	2	28	-0,255	0,190	24	0,003	0,988
	3	28	-0,080	0,686	26	-0,182	0,374

Tab. 32: Korrelationsanalysen zwischen PMN in der Milch und Stoffwechselfparametern in Blut und Milch sowie Körperkonditionswerten bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.). n = Anzahl, r = Korrelationskoeffizient n. Pearson, P = Signifikanz der Korrelation; ^{ln} = logarithmierter Wert, */ ** = die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05/0,01 signifikant (zweiseitig)

Stoffwechsel-Parameter	Messung	n	PMN relativ (%)		n	PMN absolut ^{ln} (x 1000/ml)	
			r	P		r	P
Bilirubin (µmol/l)	1	29	0,025	0,898	29	0,186	0,335
	2	29	-0,078	0,692	28	-0,196	0,317
	3	28	0,111	0,567	28	0,139	0,481
AST (U/l)	1	29	-0,045	0,816	29	0,201	0,295
	2	28	0,071	0,720	28	-0,079	0,689
	3	29	0,253	0,185	28	0,213	0,277
AP (U/l) (Alter der Kuh < 3 Jahre)	1	13	-0,304	0,312	13	-0,127	0,679
	2	13	0,195	0,522	13	-0,021	0,946
	3	13	-0,329	0,273	13	-0,480	0,097
AP (U/l) (Alter der Kuh > 3 Jahre)	1	16	0,082	0,763	16	0,208	0,440
	2	15	-0,619 *	0,014 *	15	-0,202	0,471
	3	16	-0,252	0,346	15	0,058	0,839
GLDH (U/l)	1 ^{ln}	29	-0,190	0,324	29	-0,063	0,744
	2 ^{ln}	28	0,146	0,457	28	0,021	0,916
	3	29	-0,043	0,825	28	-0,070	0,722
GGT (U/l)	1 ^{ln}	29	-0,100	0,605	29	-0,028	0,885
	2	28	0,465 *	0,013 *	28	0,357	0,063
	3	29	0,172	0,373	28	0,408 *	0,031 *
CK (U/l)	1	29	-0,182	0,344	29	0,201	0,296
	2	28	0,029	0,885	28	0,155	0,431
	3	29	0,015	0,937	28	-0,140	0,477

Fortsetzung Tab. 32:

Stoffwechselparameter	Messung	n	r	P	n	r	P
BHB (mmol/l)	1 ^{ln}	29	0,110	0,569	29	-0,036	0,854
	2	28	0,159	0,418	28	-0,047	0,811
	3	29	0,081	0,676	28	0,063	0,751
IGF-I (nmol/l)	1	29	-0,363	0,053	29	-0,442 *	0,016 *
	2	28	-0,358	0,061	28	-0,371	0,052
	3	29	0,090	0,641	28	-0,033	0,868
Milchmenge (l)	1	27	0,271	0,172	27	-0,283	0,153
	2	28	0,187	0,340	28	0,082	0,678
	3	29	0,410 *	0,027 *	28	0,217	0,267
Milchharnstoff (mmol/l)	1	29	-0,076	0,696	29	0,085	0,663
	2	28	-0,107	0,589	28	-0,145	0,460
	3	28	0,355	0,064	28	0,153	0,4373
Milcheiweiß (%)	1	29	0,056	0,775	29	0,228	0,235
	2	28	0,031	0,875	28	0,078	0,692
	3	28	0,193	0,324	28	0,149	0,449
Milchfett (%)	1	29	-0,039	0,840	29	0,384 *	0,040 *
	2	28	-0,009	0,965	28	0,408 *	0,031 *
	3	28	-0,324	0,092	28	-0,187	0,342
FEQ	1	29	-0,069	0,723	29	0,293	0,123
	2	28	-0,007	0,974	28	0,385 *	0,043 *
	3	28	-0,460 *	0,014 *	28	-0,283	0,144
Laktose (%)	1	29	-0,199	0,301	29	-0,611 **	0,000 **
	2	28	-0,189	0,335	28	-0,494 **	0,007 **
	3	28	-0,409 *	0,030 *	28	-0,620 **	0,000 **
pH	1	29	-0,056	0,774	29	-0,386 *	0,039 *
	2	28	-0,049	0,803	28	-0,345	0,073
	3	28	-0,151	0,442	28	-0,293	0,130

Fortsetzung Tab.32:

Stoffwechselparameter	Messung	n	r	P	n	r	P
BCS	1	29	0,225	0,241	29	0,147	0,447
	2	28	0,003	0,989	28	-0,279	0,150
	3	27	-0,194	0,333	26	-0,307	0,127
BCS Differenz	1	29	-0,096	0,619	29	-0,328	0,082
	2	28	-0,159	0,420	28	-0,211	0,282
	3	27	-0,150	0,455	26	-0,176	0,390
BCS max.	1	29	-0,394 *	0,035 *	29	-0,312	0,100
	2	28	-0,325	0,092	28	-0,188	0,337
	3	29	-0,386 *	0,039 *	28	-0,360	0,060
RFD (mm)	1	29	0,195	0,311	29	0,107	0,582
	2	28	0,232	0,235	28	0,043	0,827
	3	27	-0,012	0,953	26	-0,130	0,528
RFD Differenz (mm)	1	29	-0,304	0,109	29	-0,121	0,532
	2	28	-0,171	0,383	28	-0,015	0,940
	3	27	0,030	0,883	26	0,001	0,996
RFD max. (mm)	1	29	-0,096	0,621	29	-0,002	0,992
	2	28	-0,273	0,160	28	-0,336	0,081
	3	29	-0,208	0,278	28	-0,247	0,204
MD (mm)	1	29	0,129	0,506	29	0,072	0,710
	2	27	-0,052	0,796	27	-0,420 *	0,029 *
	3	27	0,082	0,684	26	-0,099	0,629
MD Differenz (mm)	1	28	-0,007	0,970	28	-0,151	0,443
	2	27	-0,205	0,304	27	-0,038	0,850
	3	27	0,191	0,339	26	0,266	0,189
MD max. (mm)	1	29	-0,048	0,805	29	-0,276	0,148
	2	28	-0,046	0,816	28	-0,184	0,350
	3	29	-0,192	0,318	28	-0,137	0,488

Tab. 33: Korrelationsanalysen zwischen Makrophagen in der Milch und Stoffwechselfparametern in Blut und Milch sowie Körperkonditionswerten bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.). n = Anzahl, r = Korrelationskoeffizient n. Pearson, r^{Sp} = Korrelationskoeffizient nach Spearman, P = Signifikanz der Korrelation; ^{ln} = logarithmierter Wert, */ ** = die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05/0,01 signifikant (zweiseitig)

Stoffwechsel-Parameter	Messung	n	Makrophagen relativ (%)		n	Makrophagen absolut ^{ln}	
			r	P		r	P
Bilirubin (µmol/l)	1	29	-0,227	0,236	29	0,111	0,565
	2	28	0,101	0,609	28	-0,158	0,422
	3	29	-0,170	0,377	28	0,097	0,623
AST (U/l)	1	29	-0,184	0,338	29	0,188	0,330
	2	28	-0,091	0,646	28	-0,186	0,344
	3	29	-0,193	0,317	28	0,088	0,656
AP (U/l) (Alter der Kuh < 3 Jahre)	1	13	0,228	0,454	13	0,014	0,964
	2	13	0,632 *	0,020 *	13	0,100	0,745
	3	13	0,744 **	0,004 **	13	-0,111	0,717
AP (U/l) (Alter der Kuh > 3 Jahre)	1	16	-0,287	0,281	16	0,128	0,636
	2	15	0,551 *	0,033 *	15	0,151	0,591
	3	16	0,244	0,363	15	0,274	0,323
GLDH (U/l)	1 ^{ln}	29	-0,029	0,883	29	-0,020	0,919
	2 ^{ln}	28	-0,214	0,275	28	-0,127	0,521
	3	29	-0,051	0,791	28	0,076	0,702
GGT (U/l)	1 ^{ln}	29	0,065	0,738	29	0,015	0,939
	2	28	0,062	0,761	28	0,154	0,433
	3	29	0,140	0,470	28	0,551 **	0,002 **
CK (U/l)	1	29	-0,013	0,948	29	0,310	0,102
	2	28	-0,067	0,735	28	0,169	0,390
	3	29	-0,002	0,993	28	-0,248	0,203

Fortsetzung Tab. 33:

Stoffwechselparameter	Messung	n	r	P	n	r	P
BHB (mmol/l)	1 ^{ln}	29	-0,056	0,775	29	-0,111	0,565
	2	28	0,180	0,360	28	-0,104	0,597
	3	29	-0,114	0,556	28	-0,047	0,811
IGF-I (nmol/l)	1	29	0,230	0,229	29	-0,291	0,126
	2	28	0,280	0,149	28	-0,167	0,396
	3	29	0,026	0,895	28	-0,071	0,719
Milchmenge (l)	1	27	-0,161	0,422	27	-0,546 **	0,003 **
	2	28	-0,179	0,363	28	-0,071	0,720
	3	29	-0,027	0,891	28	0,068	0,732
Milchharnstoff (mmol/l)	1	29	-0,091	0,639	29	0,065	0,736
	2	28	-0,044	0,823	28	-0,159	0,419
	3	28	-0,115	0,559	28	-0,033	0,868
Milcheiweiß (%)	1	29	-0,110	0,570	29	0,176	0,360
	2	28	-0,099	0,618	28	0,075	0,703
	3	28	-0,001	0,997	28	0,094	0,634
Milchfett (%)	1	29	0,100	0,606	29	0,499 **	0,006 **
	2	28	-0,102	0,605	28	0,466 *	0,013 *
	3	28	0,058	0,768	28	-0,054	0,787
FEQ	1	29	0,132	0,494	29	0,425 *	0,022 *
	2	28	-0,065	0,744	28	0,441 *	0,019 *
	3	28	0,050	0,800	28	-0,111	0,572
Laktose (%)	1	29	0,062	0,751	29	-0,644 **	0,000 **
	2	28	0,200	0,308	28	-0,411 *	0,030 *
	3	28	0,172	0,381	28	-0,609	0,001
pH	1	29	0,088	0,649	29	-0,399 *	0,032 *
	2	28	-0,083	0,675	28	-0,399 *	0,036 *
	3	28	0,086	0,663	28	-0,305	0,114

Fortsetzung Tab. 33:

Stoffwechselparameter	Messung	n	r	P	n	r	P
BCS	1	29	-0,311	0,100	29	-0,028	0,884
	2	28	-0,017	0,933	28	-0,341	0,076
	3	27	0,044	0,829	26	-0,311	0,122
BCS Differenz	1	29	-0,299	0,115	29	-0,456 *	0,013 *
	2	28	0,075 ^{Sp}	0,706	28	-0,216 ^{Sp}	0,270
	3	27	-0,032	0,875	26	-0,155	0,451
BCS max.	1	29	0,195	0,309	29	-0,139	0,472
	2	28	0,183	0,351	28	0,036	0,855
	3	29	0,148	0,443	28	-0,242	0,214
RFD (mm)	1	29	-0,259	0,175	29	-0,061	0,753
	2	28	-0,234	0,231	28	-0,176	0,370
	3	27	0,019	0,925	26	-0,141	0,491
RFD Differenz (mm)	1	29	0,023	0,906	29	-0,021	0,915
	2	28	-0,093	0,636	28	0,025	0,901
	3	27	0,025	0,900	26	-0,035	0,866
RFD max. (mm)	1	29	0,230	0,231	29	0,123	0,526
	2	28	0,119	0,547	28	-0,189	0,335
	3	29	-0,007	0,973	28	-0,274	0,158
MD (mm)	1	29	0,082	0,674	29	0,041	0,831
	2	27	-0,017	0,934	28	-0,475 *	0,012 *
	3	27	-0,078	0,699	26	-0,221	0,277
MD Differenz (mm)	1	28	0,063	0,750	28	-0,175	0,374
	2	27	0,240	0,229	27	0,146	0,466
	3	27	-0,265	0,182	26	0,208	0,308
MD max. (mm)	1	29	0,166	0,390	29	-0,275	0,148
	2	28	0,004	0,982	28	-0,204	0,297
	3	29	0,072	0,710	28	-0,058	0,770

Tab. 34: Korrelationsanalysen zwischen Lymphozyten in der Milch und Stoffwechselfparametern in Blut und Milch sowie Körperkonditionswerten bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.). n = Anzahl, r = Korrelationskoeffizient n. Pearson, r^{Sp} = Korrelationskoeffizient nach Spearman, P = Signifikanz der Korrelation; ^{ln} = logarithmierter Wert, */ ** = die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05/0,01 signifikant (zweiseitig)

Stoffwechsel-Parameter	Messung	n	Lymphozyten relativ (%)		n	Lymphozyten absolut ^{ln}	
			r	P		r	P
Bilirubin (µmol/l)	1	29	0,194	0,314	29	0,063	0,168
	2	28	0,002	0,991	28	-0,036	0,856
	3	29	0,023	0,905	29	0,309	0,109
AST (U/l)	1	29	0,240	0,210	29	0,376 *	0,044 *
	2	28	-0,019	0,925	28	-0,078	0,694
	3	29	-0,117	0,544	28	0,075	0,705
AP (U/l) (Alter der Kuh < 3 Jahre)	1	13	0,095	0,759	13	0,032	0,919
	2	13	-0,568 *	0,043 *	13	-0,371	0,212
	3	13	-0,222	0,466	13	-0,404	0,171
AP (U/l) (Alter der Kuh > 3 Jahre)	1	16	0,175	0,517	16	0,335	0,205
	2	15	0,399	0,141	15	0,382	0,160
	3	16	0,135	0,617	15	0,435	0,105
GLDH (U/l)	1 ^{ln}	29	0,260	0,172	29	0,090	0,642
	2 ^{ln}	28	-0,014	0,944	28	-0,006	0,974
	3	29	0,106	0,585	28	0,312	0,106
GGT (U/l)	1 ^{ln}	29	0,053	0,783	29	0,022	0,908
	2	28	-0,522 **	0,004 **	28	-0,251	0,197
	3	29	-0,266	0,163	28	0,226	0,247
CK (U/l)	1	29	0,247	0,197	29	0,410 *	0,027 *
	2	28	0,021	0,915	28	0,189	0,334
	3	29	-0,004	0,982	28	-0,184	0,347

Fortsetzung Tab. 34:

Stoffwechselparameter	Messung	n	r	P	n	r	P
BHB (mmol/l)	1 ^{ln}	29	-0,119	0,538	29	-0,167	0,386
	2	28	-0,272	0,161	28	-0,263	0,177
	3	29	-0,023	0,906	28	0,054	0,786
IGF-I (nmol/l)	1	29	0,155	0,423	29	-0,291	0,126
	2	28	0,199	0,311	28	-0,017	0,931
	3	29	-0,123	0,526	28	-0,087	0,661
Milchmenge (l)	1	27	-0,205	0,306	27	-0,595 **	0,001 **
	2	28	-0,064	0,746	28	-0,055	0,782
	3	29	-0,424 *	0,022 *	28	-0,277	0,153
Milchharnstoff (mmol/l)	1	29	0,206	0,284	29	0,176	0,360
	2	28	0,131	0,506	28	-0,006	0,974
	3	28	-0,328	0,088	28	-0,226	0,247
Milcheiweiß (%)	1	29	0,058	0,766	29	0,261	0,172
	2	28	0,019	0,924	28	-0,015	0,940
	3	28	-0,241	0,217	28	-0,175	0,372
Milchfett (%)	1	29	-0,009	0,965	29	0,498 **	0,006 **
	2	28	0,087	0,661	28	0,351	0,067
	3	28	0,288	0,137	28	0,188	0,339
FEQ	1	29	-0,110	0,953	29	0,401 *	0,031 *
	2	28	0,063	0,750	28	0,341	0,076
	3	28	0,461 *	0,014 *	28	0,327	0,090
Laktose (%)	1	29	0,126	0,514	29	-0,628 **	0,000 **
	2	28	0,048	0,810	28	-0,272	0,162
	3	28	0,286	0,141	28	-0,162	0,409
pH	1	29	-0,058	0,764	29	-0,475 **	0,009 **
	2	28	0,090	0,648	28	-0,265	0,173
	3	28	0,082	0,679	28	-0,092	0,641

Fortsetzung Tab. 34:

Stoffwechselparameter	Messung	n	r	P	n	r	P
BCS	1	29	0,044	0,822	29	0,085	0,661
	2	28	-0,013	0,949	28	-0,242	0,214
	3	27	0,194	0,333	26	-0,141	0,492
BCS Differenz	1	29	0,365	0,051	29	-0,219	0,253
	2	28	0,185 ^{Sp}	0,347	28	0,003 ^{Sp}	0,989
	3	27	0,208	0,299	26	-0,088	0,667
BCS max.	1	29	0,266	0,162	29	-0,072	0,709
	2	28	0,198	0,312	28	0,129	0,513
	3	29	0,311	0,101	28	0,144	0,466
RFD (mm)	1	29	0,004	0,983	29	0,025	0,899
	2	28	-0,097	0,625	28	-0,130	0,511
	3	27	-0,001	0,995	26	-0,155	0,450
RFD Differenz (mm)	1	29	0,306	0,106	29	0,089	0,645
	2	28	0,244	0,211	28	0,252	0,197
	3	27	-0,092	0,648	26	-0,104	0,614
RFD max. (mm)	1	29	-0,084	0,665	29	0,034	0,859
	2	28	0,205	0,295	28	-0,037	0,854
	3	29	0,232	0,225	28	0,126	0,524
MD (mm)	1	29	-0,176	0,361	29	-0,045	0,818
	2	28	0,044	0,829	27	-0,329	0,094
	3	27	-0,023	0,908	26	-0,302	0,134
MD Differenz (mm)	1	28	-0,032	0,872	28	-0,176	0,370
	2	27	0,058	0,773	27	0,073	0,716
	3	27	-0,008	0,968	26	0,052	0,799
MD max. (mm)	1	29	-0,122	0,529	29	-0,321	0,090
	2	28	0,043	0,829	28	-0,122	0,535
	3	29	0,173	0,369	29	0,096	0,627

Tab. 35: Korrelationsanalysen zwischen Epithelzellen in der Milch und Stoffwechselfparametern in Blut und Milch sowie Körperkonditionswerten bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.). n = Anzahl, r = Korrelationskoeffizient n. Pearson, r^{Sp} = Korrelationskoeffizient nach Spearman, P = Signifikanz der Korrelation; ^{ln} = logarithmierter Wert, */ ** = die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05/0,01 signifikant (zweiseitig)

Stoffwechsel-Parameter	Messung	n	Epithelzellen relativ (%)		n	Epithelzellen absolut ^{ln}	
			r	P		r	P
Bilirubin (µmol/)	1	29	-0,217	0,257	25	0,166	0,428
	2	28	0,243	0,213	25	0,111	0,598
	3	29	-0,242	0,207	27	-0,070	0,727
AST (U/l)	1	29	-0,221	0,249	25	0,022	0,918
	2	28	-0,009	0,966	25	-0,223	0,283
	3	29	-0,235	0,220	27	-0,219	0,272
AP (U/l) (Alter der Kuh < 3 Jahre)	1	13	0,420	0,153	11	0,614 *	0,044 *
	2	13	0,369	0,214	13	0,200	0,513
	3	13	-0,023	0,941	13	0,100	0,746
AP (U/l) (Alter der Kuh > 3 Jahre)	1	16	-0,166	0,540	13	0,046	0,881
	2	15	0,594 *	0,020 *	12	0,421	0,172
	3	16	0,191	0,478	14	-0,275	0,341
GLDH (U/l)	1 ^{ln}	29	-0,126	0,515	25	-0,228	0,272
	2 ^{ln}	28	-0,149	0,450	25	0,156	0,458
	3	29	-0,259	0,175	27	-0,290	0,250
GGT (U/l)	1 ^{ln}	29	0,047	0,807	25	-0,175	0,404
	2	28	-0,132	0,504	25	-0,011	0,959
	3	29	-0,339	0,072	27	0,074	0,715
CK (U/l)	1	29	-0,193	0,317	25	0,104	0,619
	2	28	-0,128	0,516	25	0,009	0,964
	3	29	-0,146	0,450	27	-0,318	0,106

Fortsetzung Tab. 35:

Stoffwechselparameter	Messung	n	r	P	n	r	P
BHB (mmol/l)	1 ^{ln}	29	0,294	0,121	25	0,061	0,771
	2	28	-0,083	0,673	25	-0,247	0,233
	3	29	0,233	0,224	27	0,264	0,183
IGF-I (nmol/l)	1	29	0,500 **	0,006 **	25	-0,054	0,799
	2	28	0,148	0,451	25	-0,011	0,958
	3	29	0,053	0,785	27	0,121	0,547
Milchmenge (l)	1	27	0,209	0,296	23	-0,442 *	0,035 *
	2	28	-0,346	0,072	25	-0,106	0,614
	3	29	-0,111	0,568	27	-0,185	0,356
Milchharnstoff (mmol/l)	1	29	-0,318	0,093	25	-0,047	0,825
	2	28	0,121	0,539	25	-0,055	0,794
	3	28	0,330	0,086	27	0,252	0,205
Milcheiweiß (%)	1	29	-0,216	0,261	25	0,065	0,765
	2	28	0,096	0,627	25	-0,008	0,969
	3	28	0,385 *	0,043 *	27	0,360	0,065
Milchfett (%)	1	29	-0,227	0,237	25	0,103	0,624
	2	28	-0,188	0,339	25	0,246	0,236
	3	28	0,299	0,122	27	0,284	0,152
FEQ	1	29	-0,154	0,426	25	0,068	0,747
	2	28	-0,206	0,293	25	0,239	0,250
	3	28	0,063	0,751	27	0,075	0,711
Laktose (%)	1	29	0,384 *	0,040 *	25	-0,253	0,222
	2	28	0,406 *	0,032 *	25	-0,272	0,188
	3	28	0,439 *	0,020 *	27	-0,070	0,728
pH	1	29	0,358	0,057	25	-0,065	0,757
	2	28	0,164	0,405	25	-0,350	0,086
	3	28	0,256	0,189	27	0,134	0,506

Fortsetzung Tab. 35:

Stoffwechselparameter	Messung	n	r	P	n	r	P
BCS	1	29	-0,287	0,131	25	-0,169	0,420
	2	28	0,247	0,206	25	-0,210	0,313
	3	27	-0,138	0,493	25	-0,290	0,160
BCS Differenz	1	29	0,018	0,926	25	-0,356	0,081
	2	28	0,078 ^{Sp}	0,694	25	-0,222 ^{Sp}	0,286
	3	27	-0,240	0,228	25	-0,312	0,129
BCS max.	1	29	0,152	0,430	25	0,036	0,865
	2	28	0,434 *	0,021 *	25	0,195	0,351
	3	29	0,059	0,762	27	-0,130	0,519
RFD (mm)	1	29	-0,068	0,727	25	0,138	0,512
	2	28	-0,109	0,581	25	-0,145	0,490
	3	27	0,010	0,961	25	0,000	1,000
RFD Differenz (mm)	1	29	0,182	0,345	25	0,248	0,233
	2	28	-0,050	0,800	25	0,095	0,650
	3	27	0,520 **	0,005 **	25	0,299	0,147
RFD max. (mm)	1	29	-0,016	0,935	25	-0,068	0,748
	2	28	0,174	0,375	25	-0,022	0,917
	3	29	0,029	0,882	27	-0,198	0,322
MD (mm)	1	29	-0,342	0,069	25	-0,023	0,912
	2	27	0,261	0,188	24	-0,223	0,296
	3	27	-0,140	0,486	25	-0,276	0,182
MD Differenz (mm)	1	28	-0,114	0,565	24	-0,215	0,312
	2	27	0,132	0,511	24	0,218	0,306
	3	27	-0,152	0,436	25	0,019	0,928
MD max. (mm)	1	29	0,263	0,167	25	-0,315	0,125
	2	28	0,045	0,819	25	-0,063	0,765
	3	29	-0,189	0,327	27	-0,177	0,377

Tab. 36: Korrelationsanalysen zwischen der Phagozytoseaktivität sowie der Lysozymkonzentration und den Parametern des Differentialzellbildes bei der 1. (0.–4. Woche p. p.), 2. (5.–8. Woche p. p.) und 3. Messung (10.–14. Woche p. p.). n = Anzahl, r = Korrelationskoeffizient n. Pearson, r^{Sp} = Korrelationskoeffizient nach Spearman, P = Signifikanz der Korrelation; ^{ln} = logarithmierter Wert, */ ** = die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05/0,01 signifikant (zweiseitig)

Parameter Differentialzellbild	Messung	n	Phagozytoseaktivität (%)		n	Lysozymkonzentration (µg/ml) ^{ln}	
			r	P		r	P
PMN relativ (%)	1	28	0,480 **	0,010 **	27	0,591 **	0,001 **
	2	27	0,525 **	0,005 **	23	0,396	0,061
	3	28	0,626 **	0,000 **	26	0,617 **	0,001 **
PMN absolut (x 1000/ml) ^{ln}	1	28	0,402 *	0,034 *	27	0,286	0,149
	2	27	0,172	0,391	23	0,235	0,179
	3	27	0,534 **	0,004 **	25	0,689 **	0,000 **
Lymphozyten relativ (%)	1	28	-0,317	0,101	27	-0,278	0,160
	2	27	-0,351	0,072	23	-0,184	0,402
	3	28	-0,391 *	0,040 *	26	-0,455 *	0,020 *
Lymphozyten absolut (x 1000/ml) ^{ln}	1	28	0,108	0,585	27	-0,073	0,719
	2	27	-0,359	0,066	23	-0,186	0,395
	3	27	0,016	0,937	25	-0,006	0,978
Makrophagen relativ (%)	1	28	-0,232	0,236	27	-0,375	0,054
	2	27	-0,312	0,113	23	-0,381	0,073
	3	28	-0,390 *	0,040 *	26	-0,461 *	0,018 *
Makrophagen absolut (x 1000/ml) ^{ln}	1	28	0,243	0,214	27	-0,007	0,972
	2	27	-0,210	0,294	23	-0,060	0,787
	3	27	0,265	0,182	25	0,522 **	0,007 **
Epithelzellen relativ (%)	1	28	-0,137	0,486	27	-0,413 *	0,032 *
	2	27	-0,308	0,118	23	-0,402	0,057
	3	28	-0,084	0,672	26	-0,248	0,222
Epithelzellen absolut (x 1000/ml) ^{ln}	1 ^{ln}	24	0,200	0,349	23	-0,299	0,165
	2	25	-0,371	0,068	21	-0,298	0,190
	3	26	0,253	0,211	14	0,232	0,183

9 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Rolf Mansfeld für die Überlassung des Themas, der Durchsicht der Arbeit und für seine immer währende Geduld und Freundlichkeit. Einen besseren Betreuer kann man sich nicht wünschen!

Herrn Dr. Rainer Martin danke ich für die freundlichen Ratschläge, Korrekturen und Hilfe und seine Unterstützung bei der Statistischen Auswertung.

Frau Dr. Carola Sauter-Louis danke ich ganz herzlich für ihre freundliche Unterstützung bei der Fertigstellung der Statistischen Auswertung und ihre aufmunternde Art in vielen Lebenslagen.

Recht herzlich danke ich der Betriebsleitung und dem Team des Versuchsguts für die freundliche Unterstützung beim Beprobieren unserer Testkühe. Mein besonderer Dank gilt dabei Frau Regina Ochsendorf, die mich mit ihrer trockenen Art selbst morgens um 4 Uhr zum Lachen brachte und mich mehr als einmal vor dem Melkroboter „rettete“.

Ohne die Zusammenarbeit mit Doktoranden und Mitarbeitern der Abteilung Physiologie am Zentralinstitut für Ernährung und Lebensmittelforschung und der Arbeitsgruppe Tierernährung des Departments Tierwissenschaften der TU Weihenstephan wäre diese Arbeit nicht das, was sie ist. Deshalb bedanke ich mich ganz herzlich bei Herrn Prof. Bruckmaier, Herrn Prof. Schwarz, Tamara Dickel, Simone Kessel, Michael Stroehl und Stefan Trinkl.

Den „Mitbewohnern“ des Doktorandenzimmers und Mitdoktoranden Andreas Glindemann, Michael Schmaußer und Doreen Zimmermann danke ich für die gemeinsame Arbeit, die Diskussionen und vielen netten und auch schwierigen Situationen.

Ganz herzlich danke ich auch dem IVF-Team der Gynäkologischen Tierklinik, mit dem ich zwar nicht Thematik, dafür aber das Labor teilen durfte! Mein Dank gilt dabei insbesondere Heidi Wondra, Bärbel Schmid, Ellen Schöner und Sandra Wallner. Es war immer sehr lustig mit Euch!

Frau Dr. Julia Rankl und Frau Dr. Sylvia Schlecht danke ich sehr für die Einführung in die Labordiagnostik und ihre Geduld dabei!

Für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und der netten Atmosphäre innerhalb der Klinik danke ich recht herzlich der Klinikleitung und allen Mitarbeitern der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik.

Meinen Kolleginnen bei den Mangfalltaler Jungbullen Steffi Reuther, Marcella Scheicher und Steffi Amtsberg danke ich für ihr kollegiales Verhalten und Spaß bei der Arbeit.

Ulrike Müller danke ich sehr für die etwas stressige Umwandlung dieser Arbeit ins PDF-Format! Rettung im letzten Moment!

Meinen Freundinnen Susanne Gabriel, Sarah Liebhart und Kathrin Odörfer danke ich für seelische Unterstützung während der ganzen Zeit.

Meiner Familie bin ich von Herzen dankbar für die Unterstützung und Ermöglichung meines Studiums und der Erstellung dieser Arbeit. Auch über viele Kilometer hinweg wart ihr immer für mich da. Vielen vielen Dank.

Nicht zuletzt und ganz besonders danke ich meinem Mann Christian für einfach alles, hauptsächlich aber für seine Nachsicht, wenn meine Nase wieder mal hinterm Rechner verschwand, seine moralische Unterstützung und für das größte Geschenk auf Erden: unseren Paul. (Costa und Lotte danke ich natürlich auch).

Lebenslauf

Name: Yvonne Kersch, geb. Nubling
Geburtstag: 09.09.1978
Geburtsort: Siegen
Familienstand: verheiratet
Staatsangehörigkeit: deutsch
Eltern: Klaus-Dieter Nubling
Karola Nubling, geb. Linpinsel

Schulischer und beruflicher Werdegang:

1985 – 1989 Städtische Grundschule Bad Laasphe
1989 – 1998 Gymnasium Schloss Wittgenstein
1998 – 2004 Studium der Tiermedizin an der LMU München
April 2004 Aufnahme der Doktorarbeit an der
Gynäkologischen u. Ambulatorischen Tierklinik der
LMU München
September 2004 – Januar 2005 Wissenschaftliche Mitarbeiterin an der
Gynäkologischen u. Ambulatorischen Tierklinik der
LMU München in Teilzeit
Juli 2004 – April 2005 Anfangsassistentin in der Tierarztpraxis Dr. Wittke,
Donauwörth, in Teilzeit
seit Mai 2005 Tierärztin bei den Mangfalltaler Jungbullen E.G.,
seit Juni 2007 Beschäftigungsverbot (Mutterschutz),
07.01.2008 Geburt von Paul Ferdinand Friedrich,
seitdem in Elternzeit