

**MANUELA IMMLER**

---

Untersuchungen zu Beziehungen zwischen dem metabolischen Status der Kuh ante partum und der Immunglobulinkonzentration des Kolostrums sowie der Immunglobulin- und Gesamtproteinkonzentration im Blutserum des neugeborenen Kalbes



Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines  
**Dr. med. vet.**  
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

**Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.**

**Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei dem Autoren dieses Werkes.**

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung der Autoren oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2022

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publisher.

1<sup>st</sup> Edition 2022

© 2022 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen  
Printed in Germany



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

STAUFENBERGRING 15, 35396 GIESSEN, GERMANY  
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890  
email: [redaktion@doktorverlag.de](mailto:redaktion@doktorverlag.de)

[www.doktorverlag.de](http://www.doktorverlag.de)

Aus der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und  
Kleintiere mit tierärztlicher Ambulanz  
Betreuer: apl. Prof. Dr. Karsten Donat  
Betreuer: Prof. Dr. Axel Wehrend

Angefertigt an der Thüringer Tierseuchenkasse AdöR, Jena

**Untersuchungen zu Beziehungen zwischen dem metabolischen Status der  
Kuh ante partum und der Immunglobulinkonzentration des Kolostrums  
sowie der Immunglobulin- und Gesamtproteinkonzentration  
im Blutserum des neugeborenen Kalbes**

INAUGURAL-DISSERTATION  
zur Erlangung des Grades eines  
Dr. med. vet.  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

**Manuela Immler**  
Tierärztin aus Isny im Allgäu

Gießen 2022

Mit der Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

---

Dekan: Prof. Dr. Dr. Stefan Arnhold

Gutachter: Prof. Dr. Axel Wehrend  
apl. Prof. Dr. Karsten Donat

Prüfer: Prof. Dr. Walter Grünberg

Tag der Disputation: 01.12.2022

*Meiner Familie  
&  
in Gedenken an  
Manfred Immler*

*\* 31.03.1952 † 25.12.2007*

*„Wer aufhört, besser zu werden,  
hat aufgehört, gut zu sein.“  
Philip Rosenthal*

Ergebnisse dieser Dissertation wurden veröffentlicht:

Immler, M., K. Failing, T. Gärtner, A. Wehrend und K. Donat

**Associations between the metabolic status of the cow and the colostrum quality as determined by Brix refractometry.**

Journal of Dairy Science 2021, 104:10131-10142;

DOI: 10.3168/jds.2020-19812.

Immler, M., K. Büttner, T. Gärtner, A. Wehrend und K. Donat

**Maternal Impact on Serum Immunoglobulin and Total Protein Concentration in Dairy Calves.**

Animals 2022, 12, 755;

DOI: 10.3390/ani12060755.

Teilergebnisse dieser Dissertation wurden auf folgendem Fachkongress präsentiert:

Immler, M. St. Söllner-Donat, T. Gärtner, K. Büttner, A. Wehrend und K. Donat

**Der metabolische Status der Kuh a. p. steht in Beziehung zum BRIX-Wert des Kolostrums**

45. Internationale Leipziger Laborfortbildung - Tradition und Zukunft in der Veterinärmedizin, Leipzig 2021

Vortragszusammenfassung S. 50-51.

## **Gender-Erklärung**

Aufgrund der besseren Lesbarkeit wird in dieser Dissertation das generische Maskulinum verwendet. Gemeint sind jedoch immer alle Geschlechter.

## **Inhaltsverzeichnis**

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....   | <b>1</b>  |
| <b>1 Einleitung</b> .....  | <b>2</b>  |
| <b>2 Literaturübersicht</b> .....  | <b>4</b>  |
| 2.1 Bovines Kolostrum.....   | 4         |
| 2.2 Passive Immunität.....   | 4         |
| 2.3 Einflussfaktoren auf die Ig-Konzentration im Kolostrum.....                  | 5         |
| 2.4 Einflussfaktoren auf die Ig- und TP-Konzentration im Serum des Kalbes.....   | 6         |
| 2.5 Nachweisverfahren einer ausreichenden Kolostrumqualität und -versorgung..... | 7         |
| <b>3 Ergebnisse</b> .....  | <b>10</b> |
| 3.1 Publikation 1.....   | 10        |
| 3.1.1 Darstellung des Eigenanteils an Publikation 1.....                         | 10        |
| 3.2 Publikation 2.....   | 23        |
| 3.2.1 Darstellung des Eigenanteils an Publikation 2.....                         | 23        |
| <b>4 Diskussion</b> .....  | <b>38</b> |
| 4.1 Diskussion der Fragestellung.....  | 38        |
| 4.2 Diskussion der Methode.....  | 39        |
| 4.3 Diskussion der Ergebnisse.....   | 44        |
| <b>5 Zusammenfassung</b> .....   | <b>52</b> |
| <b>6 Summary</b> .....   | <b>55</b> |
| <b>7 Literaturverzeichnis</b> .....  | <b>58</b> |
| <b>8 Danksagung</b> .....  | <b>73</b> |
| <b>9 Erklärung</b> .....   | <b>74</b> |



## **Abkürzungsverzeichnis**

|               |                                   |
|---------------|-----------------------------------|
| a. p.         | ante partum                       |
| APT           | adequate passive transfer         |
| AST           | Aspartat Aminotransferase         |
| BCS           | Body Condition Score              |
| bzw           | beziehungsweise                   |
| DNA           | Desoxyribonukleinsäure            |
| ELISA         | Enzyme Linked Immunosorbent Assay |
| FFS           | Freie Fettsäuren                  |
| FPT           | Failure of passive transfer       |
| g             | Gramm                             |
| GLDH          | Glutamat Dehydrogenase            |
| IFN- $\gamma$ | Interferon-gamma                  |
| Ig            | Immunglobulin                     |
| IgA           | Immunglobulin A                   |
| IgG           | Immunglobulin G                   |
| IgM           | Immunglobulin M                   |
| l             | Liter                             |
| mg            | Milligramm                        |
| ml            | Milliliter                        |
| NEB           | Negative Energiebilanz            |
| nm            | Nanometer                         |
| o.g.          | oben genannt                      |
| p. n.         | post natum                        |
| RID           | Radiale Immunodiffusion           |
| TGD           | Tiergesundheitsdienst             |
| TIA           | Turbidometrischer Immunoassay     |
| TP            | Gesamtprotein                     |
| u.a.          | unter anderem                     |
| z.B.          | zum Beispiel                      |
| %             | Prozent                           |

## **1 Einleitung**

Die Versorgung neugeborener Kälber mit qualitativ hochwertigem Kolostrum ist die Basis für eine erfolgreiche Kälberaufzucht. Dabei liefert das Kolostrum die für das Kalb notwendigen Immunglobuline (Ig), sowie weitere essentielle Nährstoffe (Ganz et al., 2018; Godden et al., 2019). Aufgrund der besonderen Struktur der Plazenta des Rindes, der sogenannten Plazenta epitheliochorialis, die einen Austausch von Ig während der Trächtigkeit nicht ermöglicht, kommen Kälber nahezu agammaglobulinämisch zur Welt (Godden et al., 2019). Sie besitzen somit kaum einen spezifischen immunologischen Schutz gegenüber pathogenen Mikroorganismen. Speziell in den ersten Lebenstagen ist das Risiko einer Infektion erhöht. Eine unzureichende Versorgung der neugeborenen Kälber mit Ig kann zu erhöhten Morbiditäts- und Mortalitätsraten führen, was wirtschaftliche Folgen für landwirtschaftliche Betriebe mit sich führt (Vogels et al., 2013; Raboisson et al., 2016; De Souza et al., 2021).

Das Kolostrum wird in den letzten Wochen der Trächtigkeit gebildet und ist durch den Transfer von IgG<sub>1</sub> aus dem Serum der Kuh in das Euter gekennzeichnet (Baumrucker und Bruckmaier, 2014). Es sind bereits Einflussfaktoren bekannt, die sich auf die Konzentration der Ig im Kolostrum auswirken. So spielen u.a. die Laktationszahl, der Zeitabstand zwischen der Geburt und dem ersten Melken, die Kolostrummenge und durchgeführte Impfungen der Kuh während der Hochträchtigkeit eine Rolle (Conneely et al, 2013; Reschke et al., 2017; Phipps et al., 2017). Auch die Länge der Trockenstehperiode, die Fütterung und klimatische Bedingungen können Einfluss nehmen (Baumrucker et al., 2014; Mann et al., 2016; Shivley et al., 2018).

Zur Überprüfung der Kolostrumqualität werden direkte und indirekte Untersuchungsmethoden angewendet (De Souza et al., 2021). Mit Hilfe von Brix-Refraktometern ist eine einfache und schnelle Kontrolle der Kolostrumqualität auf landwirtschaftlichen Betrieben möglich (Buczinski and Vandeweerd, 2016). Somit kann bereits vor der ersten Mahlzeit des neugeborenen Kalbes die Konzentration an Ig im Kolostrum abgeschätzt werden.

Kälber kommen ohne passiven Immunschutz auf die Welt und sind auf die Versorgung mit hochwertigem Kolostrum angewiesen. Sie sind in der Lage, die im Kolostrum enthaltenen Ig bis zu 24 Stunden p. n. über das Dünndarmepithel aufzunehmen (Weaver et al., 2000). Um einen adäquaten passiven Immunschutz zu erlangen, ist es von Bedeutung, die Kälber zeitnah mit einer ausreichenden Menge an qualitativ hochwertigem Kolostrum zu versorgen (Conneely et al., 2014).

Aufgrund der Tatsache, dass Kälber ohne immunologischen Schutz geboren werden und der passive Transfer von Ig für eine gute Gesundheit und Entwicklung der Kälber notwendig ist, sind der Bedarf an qualitativ hochwertigem Kolostrum und das Verständnis der Risikofaktoren für eine schlechte Kolostrumqualität sehr wichtig. Über den Einfluss von Gesundheits- und Stoffwechselfparametern der Kühe auf die Kolostrumqualität, sowie auf die Serum Ig- und Totalprotein (TP)-Konzentration der Kälber ist bislang wenig bekannt.

Im Rahmen eines Tiergesundheitsprojektes des Thüringer TGD wurde im Zeitraum von März 2017 bis März 2018 unter der Teilnahme von 124 landwirtschaftlichen Betrieben, sowohl aus Thüringen als auch aus Südbayern, eine umfangreiche Untersuchung zum Einfluss des präpartalen Stoffwechsels auf die Kolostrumqualität und auf die Konzentration der Ig und des TP im Serum des Kalbes durchgeführt. Dabei wurden pro Betrieb sieben bis zehn Kuh-Kalb-Paare ausgewählt. Die Erfassung von Gesundheitsparametern und die Untersuchung von Stoffwechselfparametern fand zwischen der dritten und ersten Woche vor dem errechneten Geburtstermin statt. Das Kolostrum wurde mittels Brix-Refraktometrie untersucht. Im Serum des Kalbes wurde zwischen dem ersten und neunten Lebenstag die Ig- und TP-Konzentration bestimmt.

Besonders im Hinblick auf das Tierwohl und den Tierschutz, aber auch aus wirtschaftlichen Gründen ist es von besonderem Interesse, die Morbiditäts- und Mortalitätsraten gering zu halten. Für eine erfolgreiche Kälberaufzucht und daraus resultierende leistungsstarke Milchkühe ist es wichtig, das Management rund um das Kalben zu optimieren, um qualitativ hochwertiges Kolostrum zu erhalten.

Durch die vorliegende Studie sollten daher folgende Fragestellungen untersucht werden:

1. Bestehen Beziehungen zwischen Gesundheits- und Stoffwechselfparametern der Kuh ante partum und der Ig-Konzentration des Kolostrums, gemessen mittels Brix-Refraktometrie?
2. Bestehen direkte Zusammenhänge zwischen Gesundheits- und Stoffwechselfparametern der Kuh ante partum und der Konzentration an Ig und TP im Blutserum des neugeborenen Kalbes?

## **2 Literaturübersicht**

### **2.1 Bovines Kolostrum**

Das Kolostrum, auch Kolostralmilch oder Biestmilch genannt, ist das Sekret, welches unmittelbar nach der Geburt von der Milchdrüse abgegeben wird und mit Ig sowie weiteren essentiellen Nährstoffen angereichert ist (Wiesner und Ribbeck, 2000). Die Bildung des Kolostrums, die sogenannte Kolostragenese, und die damit verbundene Anreicherung der Ig im Euterlumen beginnt bereits einige Wochen a. p. und endet mit der Geburt des Kalbes (Barrington et al., 2001; Franklin et al., 2005; Baumrucker und Bruckmaier, 2014). In dieser Zeit kommt es durch die Signalwirkung von Östrogen und Progesteron zur Ausbildung spezifischer Fc-Rezeptoren an der Oberfläche der Milchdrüsenepithelzellen (Larson et al., 1980; Barrington et al., 2001; Baumrucker und Bruckmaier, 2014). Hohe Konzentrationen von IgG<sub>1</sub> (90 mg/ml) im Vergleich zu IgG<sub>2</sub> (2,8 mg/ml), IgA (1,6 mg/ml) und IgM (4,5 mg/ml), gemessen im Kolostrum, lassen die Vermutung zu, dass es sich um einen IgG<sub>1</sub>-spezifischen Transportmechanismus handelt (Elfstrand et al., 2002). Während Serum IgG<sub>1</sub>-Konzentrationen der Kuh bis zur Geburt des Kalbes um bis zu 50% abnehmen, bleiben die Serumkonzentrationen von IgG<sub>2</sub>, IgA und IgM nahezu unverändert (Brandon et al., 1971). Hinzu kommt die Eigensynthese geringer Mengen IgA und IgM lokal im Euter (Larson et al., 1980; Butler et al., 1998; Wiesner und Ribbeck, 2000). Kolostrum beinhaltet neben den Ig auch somatische Zellen (Leukozyten), Wachstumsfaktoren, Fette, Kohlenhydrate, Vitamine, Enzyme, Hormone, sowie Spuren- und Mengenelemente, um das neugeborene Kalb mit allen wichtigen Nährstoffen zu versorgen (Ganz et al., 2018; Godden et al., 2019). Die im Kolostrum enthaltenen maternalen Leukozyten entfalten ihre immunologische Funktion im neonatalen Kalb und bieten somit einen zusätzlichen Schutz (Demattio und Wehrend, 2020). Zum Ende der Trächtigkeit kommt es aufgrund der vermehrten Ausschüttung von Prolaktin zur Reduktion der Fc-Rezeptoren am Milchdrüsenepithel und somit zur Reduktion des Ig-Transfers (Barrington et al., 2001). Die Einstufung der Qualität des Kolostrums wird gemessen an der Konzentration der Ig. Dabei gelten Konzentrationen > 50 g/l als Indikator für qualitativ hochwertiges Kolostrum (Weaver et al., 2000; Baumrucker et al., 2014; Godden et al., 2019).

### **2.2 Passive Immunität**

Die anatomische Struktur der Plazenta epitheliochorialis des Rindes trennt den maternalen und fetalen Blutkreislauf, was einen diaplazentaren Übertritt von Makromolekülen (Ig) verhindert. Dadurch werden Kälber nahezu agammaglobulinämisch geboren und sind auf den passiven

Transfer von Ig über das Kolostrum angewiesen (Godden et al., 2019). Die Ig gelangen aus dem Kolostrum über das Dünndarmepithel in das lymphatische System und ins Blut des Kalbes (Bush und Staley, 1980). Die Permeabilität des Dünndarmepithels ist für Makromoleküle zeitlich begrenzt und innerhalb der ersten vier Stunden p. n. am höchsten (Stott et al., 1979b; Weaver et al., 2000). Der Rückgang der Permeabilität des Dünndarmepithels wird in der englischsprachigen Literatur als „gut closure“ bezeichnet und ist laut Lecce und Morgan (1962) definiert als „cessation of absorption of macromolecules from gut to blood in neonates“. Nach Bush und Staley (1980) nimmt die Permeabilität des Dünndarmepithels nach 12 Stunden p. n. progressiv ab. Der Zeitpunkt der ersten Kolostrumgabe kann die Reduktion der Permeabilität verzögern, jedoch werden ab 24 bis zu 36 Stunden kaum noch Ig resorbiert (Stott et al., 1979a; Weaver, et al., 2000). Als Grenzwert zur Bestimmung des erfolgreichen passiven Transfers (adequate passive transfer = APT) von Ig beim Kalb gelten Serumkonzentrationen  $> 10 \text{ g/l}$  (Wilm et al., 2018). Eine Serumkonzentration  $< 10 \text{ g/l}$  wird als fehlerhafter passiver Transfer (failure of passive Transfer = FPT) bezeichnet und kann zu einer erhöhten Anfälligkeit gegenüber Krankheitserregern führen (Furman-Fratczak et al., 2011; Godden et al., 2019).

### 2.3 Einflussfaktoren auf die Ig-Konzentration im Kolostrum

Die Konzentration der Ig im Kolostrum der Kuh kann durch verschiedene Faktoren beeinflusst werden. So konnte bereits in vielen Studien belegt werden, dass Kühe ab der dritten Laktation signifikant höhere Ig-Konzentrationen im Kolostrum aufweisen, als erst- und zweitlaktierende Kühe (Muller und Ellinger, 1981; Tyler et al., 1999; Morin et al., 2001; Conneely et al., 2013; Reschke et al., 2017). Auch Impfungen der Kuh während der Hochträchtigkeit führen auf Grund der Immunstimulation zur Bildung spezifischer Ig, die sich im Kolostrum anreichern (McGuirk und Collins, 2004; Denholm et al, 2018; Godden et al., 2019). Conneely et al. (2013) zeigten den Einfluss der Menge des Kolostrums beim ersten Melken auf die Ig-Konzentration. Bei der Zunahme um ein Liter Kolostrum sank die Konzentration der Ig um  $1,7 \text{ g/l}$ . Zudem zeigte eine Studie von Chuck et al. (2017), dass Kolostrummengen  $\geq 8,5 \text{ l}$  ein 1,76-fach höheres Risiko besitzen von schlechter Qualität zu sein, als Kolostrummengen von  $< 8,5 \text{ l}$ . Zu einer Reduktion der Ig im Kolostrum kommt es bei Vorhandensein einer Incontinentia lactis (Rovai et al., 2007). Durch das Einsetzen hoher Milchleistungen und dem damit verbundenen erhöhten Euterinnendruck kommt es zum ungehinderten Milchfluss und Verlust des Kolostrums. Durch die Bildung neuer Milch entsteht ein Verdünnungseffekt des Kolostrums, was zur Abnahme der Ig-Konzentration führt (Chuck et al., 2017; Phipps et al., 2017; Reschke et al., 2017). Ebenfalls zu einem Verdünnungseffekt kann eine verlängerte Zeitspanne zwischen der Geburt

des Kalbes und dem ersten Melken führen (Phipps et al., 2017; Reschke et al., 2017). Die Trockenstehperiode kann sich positiv auf die Ig-Konzentration im Kolostrum auswirken. So zeigten Kühe ohne eine Trockenstehperiode niedrigere Konzentrationen von IgG und IgM im Kolostrum im Vergleich zu Kühen, die 30 oder 60 Tage trockenstanden (Baumrucker et al., 2014; Mayasari et al., 2015; Rastani et al., 2005). Laut Karl und Staufenbiel (2017) erhöht die Verlängerung der Trockenstehperiode um einen Tag die Konzentration an Ig um 0,22 g/l.

Der Einfluss der Fütterung wird in der Literatur kontrovers diskutiert. So konnte Nowak et al. (2012) und Dunn et al. (2017) keinen Einfluss auf die Ig-Konzentration im Kolostrum durch verschiedene Futtermittel mit unterschiedlichen Energiegehalten oder durch Zugabe von Kraftfutter nachweisen. Andere Studien zeigten jedoch einen positiven Einfluss der Fütterung höherer Energiegehalte oder der Fütterung von Ölsaaten auf die Konzentration von Ig im Kolostrum (Mann et al., 2016; Salehi et al., 2016).

In den letzten Wochen der Trächtigkeit kann die Einwirkung von Hitzestress die Immunkapazität beeinflussen (Tao und Dahl, 2013). So konnten Nardone et al. (1997) und Cabral et al. (2016) eine Reduzierung der Ig-Konzentration im Kolostrum durch Hitzestress beobachten. Shivley et al. (2018) hingegen beschrieben einen positiven Einfluss von Hitzestress auf die Ig-Konzentration im Kolostrum.

#### 2.4 Einflussfaktoren auf die Ig- und TP-Konzentration im Serum des Kalbes

Das TP im Serum des Kalbes setzt sich überwiegend aus dem Albumin und den Globulinen ( $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Globulin) zusammen, wobei der größte Anteil der Globuline von den  $\gamma$ -Globulinen (Ig) gebildet wird. Während das Albumin vor der ersten Kolostrumaufnahme in höheren Konzentrationen im Serum als die Globuline nachzuweisen ist, verändert sich das Verhältnis von Albumin zu Globulin unmittelbar nach der Kolostrumaufnahme. Innerhalb der ersten 30 Tage p. n. folgt eine kontinuierliche Abnahme der Ig-Konzentration und ein Anstieg des Albumins (Tóthová et al., 2016). Das Zeitintervall von der Geburt bis zur ersten Kolostrumaufnahme und die Menge des aufgenommenen Kolostrums können Einfluss auf die Ig-Konzentration im Serum des Kalbes nehmen. Einer Studie von Conneely et al. (2014) zufolge haben Kälber, die innerhalb der ersten zwei Lebensstunden 8,5% ihres Körpergewichts an Kolostrum erhalten haben, signifikant höhere Ig-Konzentrationen im Serum als Kälber, die entweder 7 oder 10% ihres Körpergewichts aufgenommen haben. Osaka et al. (2014) empfiehlt, Kälber mit mindestens 120g Ig innerhalb der ersten Stunde p. n. bzw. 125g Ig zwischen der ersten und sechsten Stunde p. n. zu versorgen, um Serumkonzentrationen von  $> 10$  g/l zu

erreichen. Die Häufigkeit, mit der Kälber aus der Abkalbebox genommen werden und die Methode der ersten Kolostrumverabreichung können die Versorgung mit Ig beeinflussen. Für Kälber, die weniger als zweimal am Tag aus der Abkalbebox genommen werden, und für Kälber, die am Euter ihrer Mutter trinken, besteht ein höheres Risiko für FPT als bei der Verwendung von Tränkeeimern mit Sauger oder Ösophagussonden (Besser et al., 1991; Vogels et al., 2013). McGuirk und Collins (2004) empfehlen, Kälber innerhalb der ersten 30 Minuten aus der Abkalbebox zu nehmen um einem FPT vorzubeugen.

Grundsätzlich wird eine Versorgung der Kälber mit qualitativ hochwertigem Kolostrum empfohlen, dessen Ig-Konzentration mindestens 50 g/l enthält (Buczinski und Vandeweerd, 2016; Lora et al., 2017). Bei der Gewinnung und Verarbeitung des Kolostrums sollte eine bakterielle Kontamination vermieden werden. Zum einen können im Dünndarlumen befindliche Ig durch die Bindung an Bakterien nicht mehr in das Blut des Kalbes gelangen und zum anderen kann die Aufnahme von Ig über das Dünndarmepithel blockiert werden (Denholm et al., 2018; Abuelo et al., 2019; Godden et al., 2019; Lorenz, 2021).

Um den Einfluss des Muttertieres auf den Stoffwechsel und den Immunstatus der Kälber zu untersuchen, wurden Studien durchgeführt, die Auswirkungen des Energiegehalts in der Trockensteherfütterung und die Substitution von Fetten, sowie den Einfluss von Umwelteinflüssen wie Hitzestress untersuchten. Kälber von Kühen, die mit energiereichem Futter und zusätzlichem Fett gefüttert wurden, zeigten eine bessere Immunreaktion sowie eine bessere Resorption von Ig aus dem Dünndarm und zusätzlich verbesserte Tageszunahmen (Novak et al., 2012; Osorio et al., 2013; Jolazadeh et al., 2019). Tao und Dahl (2013) zeigten eine negative Auswirkung von Hitzestress in der Hochträchtigkeit auf die Entwicklung der Plazenta. Dies kann zu fetaler Hypoxie und Unterernährung führen und reduziert somit auch die Resorption der Ig.

## 2.5 Nachweisverfahren einer ausreichenden Kolostrumqualität und -versorgung

Zur Bestimmung der Ig-Konzentration im Kolostrum sowie im Serum des Kalbes können direkte und indirekte Nachweisverfahren angewendet werden (De Souza et al., 2021). Zu den direkten Verfahren zählt u.a. die RID, der ELISA und die immunoturbidometrische Bestimmung der Ig-Konzentration (Hogan et al., 2015; Schneider und Wehrend, 2019; De Souza et al., 2021). Die RID ist als Referenzmethode etabliert, jedoch kosten- und zeitintensiv und muss in einem Labor durchgeführt werden. Der ELISA liefert ähnlich gute Ergebnisse wie

die RID, ist günstiger und weniger zeitintensiv (Weaver et al., 2000; Hogan et al., 2015). Zur Anwendung im Stall steht ein semiquantitativer ELISA (Fassisi® Bovine IgG Test) zur Verfügung, jedoch konnte in einer Untersuchung von Hampe et al. (2021) zur Sensitivität und Spezifität des Tests festgestellt werden, dass sich dieser im Vergleich zu anderen Methoden weniger gut zur Kontrolle des APT eignet. Für die immunoturbidometrische Bestimmung stehen portable Untersuchungskits zur Verfügung. Sie bieten die Möglichkeit der direkten Ig-Bestimmung im Kolostrum auf den Betrieben. Die Messungen zeigen eine gute Korrelation zur RID (Quigley et al., 2013; Schneider und Wehrend, 2019; De Souza et al., 2021).

Zu den indirekten Bestimmungen der Ig-Konzentration im Blutserum von Kälbern zählen u.a. der Natriumsulfat-Trübungstest, der Zinksulfat-Trübungstest und die Bestimmung der  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Aktivität (Tyler et al., 1996; Hampe und Wehrend, 2019; De Souza et al., 2021). Der Natriumsulfat- und der Zinksulfat-Trübungstest beruhen auf einer Ausfällung von Proteinen mit hohem Molekulargewicht. Aus dem Blutserum werden bei einem pH-Wert von 6-7 durch eine Natriumsulfatlösung nahezu ausschließlich die  $\gamma$ -Globuline, also die Ig, ausgefällt. Die Trübungsreaktion lässt sich im Labor mittels Photometer bei einer Wellenlänge von 530 nm gegen die Natriumsulfatlösung messen. Aus dem Verhältnis der Extinktion von Probe und Standard lässt sich die Konzentration der Ig errechnen. Diese Verfahren liefern zuverlässige Ergebnisse, sind einfach anzuwenden und kostengünstig (Tyler et al., 1996; De Souza et al., 2021). Die Messung der  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Aktivität beruht darauf, dass diese im Blut von Kälbern, die Kolostrum aufgenommen haben, 60 bis 160-fach größer ist als bei gesunden adulten Rindern, wobei eine positive Korrelation zu der mittels RID gemessenen Ig-Konzentration im Blutserum von Kälbern im Alter von einem Tag besteht (Güngör et al., 2004). Dieser Zusammenhang wurde von einer Vielzahl von Studien untersucht, die eine breite Variation aufwiesen und zu unterschiedlichen Ergebnissen kamen (Hampe, 2019). Dabei besteht jedoch kein biologischer Zusammenhang zwischen der  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Aktivität im Kolostrum und der Ig-Konzentration im Kolostrum, sodass eine hohe  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Aktivität im Serum lediglich anzeigt, dass das Kalb Kolostrum aufgenommen hat, aber nicht ob dieses eine hohe Ig-Konzentration hatte, was die Aussagekraft bezüglich APT begrenzt (Weaver et al., 2000; De Souza et al., 2021).

Für die Bestimmung der Konzentration von Ig im Kolostrum stehen indirekte Nachweisverfahren wie Kolostrometer und Brix-Refraktometer zur Verfügung, die kostengünstig und einfach auf Betrieben anzuwenden sind. Die Messung der optischen Dichte des Kolostrums als Äquivalent für die Ig-Konzentration hat sich in der Praxis etabliert. Bartens et al. (2016) verglichen ein Kolostrometer, ein optisches Refraktometer und ein digitales



Refraktometer und kamen zu dem Ergebnis, dass das digitale Refraktometer gute und zuverlässige Ergebnisse bei der Bestimmung der Kolostrumqualität liefert. Dies wird durch die Studie von Sutter et al. (2020) unterstützt, die eine hohe Korrelation zwischen RID und den Brix-Refraktometern ( $r = 0,84$ ) ergab. Die Messwerte werden angegeben in Brix (%). Ein Brixwert  $\geq 22\%$  wird als Kolostrum guter Qualität ( $\geq 50$  g/l Ig) und Brixwerte  $< 18\%$  als Kolostrum schlechter Qualität eingestuft ( $\leq 50$  g/L Ig; Buczinski und Vandeweerd, 2016). Um die Sensitivität und Spezifität der Refraktometrie im Vergleich zu der RID zu optimieren, geben Quigley et al. (2013) einen Schwellenwert von 21% und Bartier et al. (2015) einen Schwellenwert von 23% für Kolostrum guter Qualität an.

Eine Schätzung der Ig-Konzentration im Serum des Kalbes kann durch die Bestimmung der TP-Konzentration erfolgen. Dies ist möglich, da die Ig einen großen Anteil des TP ausmachen und zudem Nicht-Ig-Proteine in ihrer Konzentration nahezu konstant bleiben (Hampe et al., 2019; Lopez und Heinrichs, 2021). Die Anwendung von Refraktometern zur Messung des TP beim Kalb liefert einen angemessenen Schätzwert der Serum Ig-Konzentration und eignet sich zur Überwachung des FPT. Deelen et al. (2014) zeigen in ihrer Studie eine gute Korrelation zwischen dem TP, gemessen mittels eines Refraktometers und der Ig-Konzentration gemessen durch die RID ( $r = 0,93$ ). Für den APT sollte eine Konzentration von 5,0 - 5,5 g/l TP nicht unterschritten werden (Tyler et al., 1996; Hogan et al., 2015).

### **3 Ergebnisse**

#### 3.1 Publikation 1

##### **Associations between the metabolic status of the cow and the colostrum quality as determined by Brix refractometry.**

Manuela Immler, Klaus Failing, Tanja Gärtner, Axel Wehrend und Karsten Donat

Journal of Dairy Science 2021; 104, 10131-10142

##### 3.1.1 Darstellung des Eigenanteils an Publikation 1

Bei der Publikation „Associations between the metabolic status of the cow and the colostrum quality as determined by Brix refractometry“ (Journal of Dairy Science 2021; 104, 10131-10142, doi: 10.3168/jds.2020-19812.) war die Autorin dieser Dissertation die Erstautorin. Das der Publikation zugrunde liegende Projekt wurde von der Thüringer Tierseuchenkasse (AdöR) in Jena, unter der Betreuung von Herrn apl. Prof. Dr. Karsten Donat durchgeführt. Die Konzeption der Studie erfolgte durch Herrn apl. Prof. Dr. Karsten Donat, Herrn Prof. Axel Wehrend und Manuela Immler. Die Literaturrecherche erfolgte durch Manuela Immler. Die Probennahme und Laboranalyse wurde von Manuela Immler, Tanja Gärtner und dem Team des Thüringer Tiergesundheitsdienstes durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte durch Herrn Dr. Klaus Failing, seine Mitarbeiter und im Review-Prozess unter Beteiligung seiner Nachfolgerin Frau Dr. Kathrin Büttner sowie Manuela Immler. Das Manuskript für die Publikation wurde unter der Anleitung von Herrn apl. Prof. Dr. Karsten Donat selbstständig durch Manuela Immler verfasst und in Zusammenarbeit mit den Koautoren fertiggestellt. Es wurden keine weiteren als die angegebenen Quellen verwendet.

Die Anteile der Autoren an der wissenschaftlichen Arbeit sind in der Publikation angegeben und wurden bei der Einreichung des Manuskripts durch alle Autoren bestätigt.



## Associations between the metabolic status of the cow and colostrum quality as determined by Brix refractometry

Manuela Immler,<sup>1</sup> Klaus Failing,<sup>2</sup> Tanja Gärtner,<sup>1</sup> Axel Wehrend,<sup>3</sup> and Karsten Donat<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Animal Health Service, Thuringian Animal Diseases Fund, Victor-Goerttler-Straße 4, 07745 Jena, Germany,

<sup>2</sup>Unit for Biomathematics and Data Processing, Veterinary Faculty, Justus-Liebig-University Giessen, Frankfurter Str. 95, 35392 Giessen, Germany

<sup>3</sup>Clinic for Obstetrics, Gynecology and Andrology with Veterinary Ambulance, Justus-Liebig-University Giessen, Frankfurter Str. 106, 35392 Giessen, Germany

### ABSTRACT

Supplying newborn calves with immunoglobulins is critical for their health and a daily challenge in the dairy industry. Among various factors determining colostrum quality, the prepartum metabolic status of the cow might be of particular importance. The objective of this observational cross-sectional study was to evaluate relationships between cow-level variables and the colostrum quality as determined by Brix refractometry. A total of 873 cows of varying breed and parity from 124 German dairy herds were included in the study, and blood and urine samples were taken 3 to 1 wk before the expected calving date. Effectively, samples were collected on average 8.2 d (geometric mean) before calving, ranging from 2 to 45 d. The final variable set included body condition score, lameness score, breed, parity, vaccination of the cow, the activity of glutamate dehydrogenase and aspartate aminotransferase, the urine concentration of creatinine, net acid-base excretion, the serum concentration of cholesterol and calcium, and the difference in albumin and total protein concentration. Generalized linear mixed effects regression models with hierarchically structured random effects (cow within herd) using the maximum likelihood method were fitted to the data to identify associations between the Brix value as an outcome and cow-level variables as predictors. Cows entering second parity had lower Brix values compared with cows entering third or greater parity, and prepartum vaccination of cows led to higher Brix values compared with nonvaccinated cows. Cows with a moderate to high lameness score had lower Brix values than cows with low-grade lameness. An increase of glutamate dehydrogenase serum activity and serum calcium concentration were associated with lower Brix

values, whereas an increase in the difference of total protein and albumin serum concentration led to higher Brix values. In conclusion, the metabolic health of the cow affects colostrum quality and may cause failure of passive immunoglobulin transfer as well as impaired calf health.

**Key words:** health monitoring, failure of passive transfer, immunoglobulin

### INTRODUCTION

Poor calf health can lead to considerable economic losses (Raboisson et al., 2016). The supply of good quality colostrum to newborn calves has been proven to be an important factor in ensuring calf health (McGuirk and Collins, 2004; Beam et al., 2009; Renaud et al., 2018). Good quality colostrum is defined by a concentration of IgG (cIgG) of >50 mg/mL (Weaver et al., 2000; Baumrucker et al., 2014; Bartens et al., 2016).

There are several ways to measure the cIgG in colostrum. Radial immunodiffusion (RID) is regarded as the reference method for measuring Ig in both colostrum and serum (Bartens et al., 2016). However, this method is relatively complex, time consuming, and expensive. Colostrometers and refractometers are available for quick and easy quality on-farm testing. Bartens et al. (2016) compared colostrometers, an optical refractometer, and a digital refractometer and concluded that the digital refractometer provides a good and reliable result. This is supported by the study of Sutter et al. (2020), which showed a high correlation between RID and the refractometers. The measured values are given in Brix (%). A Brix value >22% is defined as good quality colostrum (cIgG ≥50 mg/mL) and values <18% as poor quality colostrum (cIgG ≤50 mg/mL; Buczinski and Vandeweerd, 2016). To optimize sensitivity and specificity of refractometry in comparison with RID, other studies have suggested different thresholds for good colostrum, for example, 21% (Quigley et al., 2013)

Received October 20, 2020.

Accepted April 28, 2021.

\*Corresponding author: [kdonat@thueringertierseuchenkasse.de](mailto:kdonat@thueringertierseuchenkasse.de)

and 23% (Bartier et al., 2015). Brix refractometry provides the farmer with a cost-effective method to ensure that good quality colostrum is fed to newborn calves.

Colostrum synthesis begins during the dry period in the weeks before calving (Godden et al., 2019). There are many influencing factors that determine the quality of colostrum. Numerous studies prove an influence of the number of lactations on the cIgG in colostrum (Conneely et al., 2013; Mayasari et al., 2015; Phipps et al., 2017; Chuck et al., 2017; Denholm et al., 2018). Older cows produce more IgG due to prolonged contact with farm-specific microbes (Larson et al., 1980). Incontinentia lactis, caused by high udder pressure (Rovai et al., 2007), is considered as another factor that influences colostrum quality because it leads to significant losses of colostrum before calving, which in turn leads to a dilution effect of the cIgG in colostrum due to newly forming milk (Chuck et al., 2017; Phipps et al., 2017; Reschke et al., 2017). Another dilution effect results from the extension of the time between birth to first milking (Conneely et al., 2013; Phipps et al., 2017; Reschke et al., 2017). The colostrum quantity of the first milking is also important. Conneely et al. (2013) showed a decrease in IgG of 1.7 g/L when colostrum quantity increased by 1 kg. First milking  $\geq 8.5$  L is associated with a 1.76-times-higher risk of being poor quality than first milking  $< 8.5$  L (Chuck et al., 2017). Weather, especially temperature–humidity indices, and the seasons may influence the cIgG in colostrum (Conneely et al., 2013; Shivley et al., 2018).

Furthermore, duration of the dry period (Rastani et al., 2005; Baumrucker et al., 2014; Mayasari et al., 2015) and feeding management during the dry period (Mann et al., 2016; Salehi et al., 2016) have an effect on colostrum IgG concentration.

To the best of our knowledge, studies on the effect of the cow's prepartum metabolic situation on colostrum IgG concentration as determined by radial immunodiffusion or Brix refractometry are not available at present. The objective of this observational cross-sectional study was to evaluate relationships between cow-level variables and colostrum quality as determined by Brix refractometry.

## MATERIALS AND METHODS

### *Animals and Study Design*

Study herds were recruited from among the Thuringian Animal Health Service's clientele farms participating in its animal health program, and to the clientele of 2 large animal practices in Southern Bavaria, Germany. The collection of biological specimens and clinical examinations were performed within the framework of cattle

health monitoring of the Thuringian Animal Health Service and both practices. Every effort was made to minimize suffering during the sampling of blood and urine. The Thuringian State Office for Consumer Protection, which is the competent authority for research ethics approval in Thuringia, approved the project and granted a formal waiver of the need for animal-use approval because the study was part of the official Cattle Health Monitoring Program in Thuringian Cattle Herds of ethics approval (2684-04-5-TSK-19-103).

Farmers were invited to take part in the study during December 2016 and January 2017. Participation in the study was voluntary, and a total of 124 dairy farms were recruited. The mean herd size was 447 cows (minimum: 24, maximum: 1,700); cows on all farms were housed in freestalls. Cows in 96 herds were all German Holsteins, and cows in 1 herd were all Simmental breed. The other 27 dairy farms were of mixed breeds and included 39 German Holstein, 65 Simmental, and 94 Brown Swiss cows. Dairy farms in Thuringia were mainly cooperative farms, and all farms in Southern Bavaria were family run. Data and sample collection occurred from March 2017 to March 2018.

Seven to 10 multiparous cows per dairy farm about 3 to 1 wk prepartum were selected based on the expected calving date. If not enough cows with an expected calving date in 3 to 1 wk were found during the first farm visit, the farm was visited repeatedly. Clinically diseased cows (e.g., fever, mastitis, pneumonia), except lameness, and primiparous cows were not considered for the study. A total of 1,053 cows were involved. All cows that calved within 24 h after sampling, cows with twin births, and cows with missing data were excluded from data analysis.

### *Clinical Examination and Sampling Protocol*

The clinical examination was performed by 4 veterinarians of the Thuringian Animal Health Service, who are experienced veterinary specialists in cattle medicine, and the first author. To minimize the interobserver variability, scoring was standardized by a specific training before onset of the project. The examination included rectal temperature, BCS according to Edmonson et al. (1989), lameness score, and degree of rumen fill. Lameness was scored on a scale of 0 to 3 (0 = no lameness, 1 = low-grade, 2 = moderate-grade, 3 = high-grade lameness). Rumen fill was scored using a modified scale according to Zaaier and Noordhuizen (2001) with 3 steps (1 = very empty para lumbar fossa shaped like a rectangle, 2 = para lumbar fossa falling vertically downward from the transversal fossa, 3 = rumen obliterates the para lumbar fossa, which is bulged outside). The use of anionic salts as a low-DCAD diet,

the administration of vitamin E, selenium, or vitamin D, and any kind of vaccination of the cow during the actual dry period was queried. Following the clinical examination, blood and urine samples were taken. Blood was harvested from the coccygeal vessels into a 10-mL sterile BD Vacutainer (Clot Activator Tube, Becton Dickinson) with an 18-gauge needle. Urine samples were collected in tubes using a sterile stainless-steel bladder catheter. Samples were transported to the laboratory within 3 h after collection or were shipped on ice to the laboratory overnight. To ensure preanalytical quality, the blood samples were centrifuged at room temperature within 24 h after collection (30 min,  $4,800 \times g$ ) and serum and urine samples were frozen at  $-20^{\circ}\text{C}$  until further processing. Cows were milked within 1 to 4 h after calving, and colostrum samples were stored at  $4^{\circ}\text{C}$  until analysis.

### Laboratory Analysis

All samples were analyzed in the laboratory of the Thuringian Animal Health Service in Jena, Germany. The laboratory is an accredited veterinary test laboratory under license of the German Accreditation Body according to the quality standards of the German and European Standard DIN EN ISO 17025.

The investigated metabolites in this study were selected based on biological reasoning for prepartum cows based on previous studies and reviews on metabolic profile tests (Brscic et al., 2015; Van Saun, 2016), and results from long-term metabolic profile studies in about 100 Thuringian dairy herds (Donat et al., 2016). Selected metabolites are: serum activity of aspartate aminotransferase (**AST**), glutamate dehydrogenase (**GLDH**) and creatine kinase (**CK**) as well as serum concentration of cholesterol, bilirubin, urea, total protein, albumin, nonesterified fatty acids (**NEFA**), calcium, phosphorus, magnesium, and selenium. In urine, net acid-base excretion was determined, as well as concentration of calcium, sodium, creatinine, and potassium.

After thawing, serum samples were analyzed by automated spectrophotometry (Beckman Coulter Unicel D $\times$ C 600) using bromocresol-green method for albumin (g/L; Doumas et al., 1971), an enzymatic determination method according to the International Federation for Clinical Chemistry for aspartate aminotransferase [nanokatals (nkat)/L, EC 2.6.1.1; Schumann et al., 2002], glutamate-dehydrogenase (nkat/L, EC 1.4.1.2; German Society for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine e.V., 1972), urea (mmol/L; Talke and Schubert, 1965) and creatine kinase ( $\mu\text{kat/L}$ , EC 2.7.3.2; Horder et al., 1991), a timed endpoint method for inorganic phosphorus (mmol/L; Gamst and Try, 1980), chole-

sterol (mmol/L; Allain et al., 1974), total protein (g/L; Weichselbaum, 1946) and Mg (mmol/L; Mann and Yoe, 1956), the diazochloraniline method for bilirubin ( $\mu\text{mol/L}$ ; Rand and di Pasqua, 1962), an indirect ion-selective potentiometry method for Ca (mmol/L; Anker et al., 1981), and an enzymatic colorimetric method for NEFA (mmol/L; Shimizu et al., 1979). Selenium serum concentration was analyzed using inductively coupled mass spectrometry (DIN EN ISO 17294: 2017-01) by an external laboratory (Synlab Analytics & Services Germany GmbH, Jena, Germany).

Urine samples were analyzed for Ca (mmol/L), Na (mmol/L), and K (mmol/L) by indirect ion-selective potentiometry. Creatinine (mmol/L) was analyzed by the modified kinetic Jaffé method (Remer et al., 2002) and net acid-base excretion (**NABE**; mmol/L) was determined by titrimetric method as described by Kutas (1965).

The intra- and interassay coefficients of variation (**CV**) for measured variables in serum were as follows: AST 1.0 and 3.7%, cholesterol 0.5 and 2.1%, bilirubin 1.3 and 1.4%, GLDH 1.8 and 6.9%, Ca 0.6 and 0.9%, CK 0.9 and 1.3%, P 0.6 and 1.0%, Mg 1.0 and 2.2%, urea 1.0 and 3.4%, total protein 0.5 and 1.4%, NEFA 1.3 and 2.0%, and albumin 0.6 and 1.7%, respectively. The intra- and interassay CV for measured variables in urine were: Ca 0.8 and 1.6%, Na 0.5 and 2.1%, creatinine 0.9 and 2.8%, K 0.3 and 1.2%, and NABE 2.1 and 0.9%, respectively.

Colostrum samples were analyzed within 2 d after collection using a digital refractometer (Hannah Instruments HI96811) with a range of 0 to 50% Brix, according to the manufacturer's instructions.

### Statistical Analysis

Data were prepared using Microsoft Office Excel 2016 (Microsoft Corp.). All further computations were made with R version 3.6.2 (R Core Team, 2019) using R-package lme4 and R-Function lmer (<https://www.R-project.org/>). All continuous variables, their medians and quartiles, and the categorical variables with the respective categories from 873 cows are given in Tables 1 and 2. A sample size calculation was not performed. To describe the associations between the Brix values and each continuous variable, Pearson correlation coefficients were calculated. Generalized linear mixed effects regression models with hierarchically structured random effects (cow within herd) using the maximum likelihood method were fitted to the data to identify associations between the Brix value as an outcome, cow-level variables as predictors and "days before calving" (**DBC**) as covariable. For model building, stepwise backward elimination was carried out. In the first

step, all possible independent variables and covariables available were included in the model. In the second step, only those variables were kept in the model with a *P*-value for the regression coefficient  $\leq 0.5$ . In the third step, the reduced model from the second step was further modified as only those variables were kept in the model with a *P*-value for the regression coefficient  $\leq 0.25$ . After these 3 backward elimination steps, we created the final model used in the present study. All variables included in the initial model are shown in Table 2. The covariable DBC and the following cow-level variables were not normally distributed and were therefore log-transformed for analysis purposes: serum activity of AST, GLDH, and CK, serum concentration of bilirubin, cholesterol, urea, and NEFA, and urine concentration of Ca, Na, and creatinine. To improve the fit of the model, “potassium in urine” was rescaled using a *z* transformation. Body condition score, breed, lameness, parity, vaccination, the use of anionic salts as a low-DCAD diet, as well as all metabolic variables, were included as fixed effects and herd and cow within herd as random effects. The log-transformed variable DBC was included as covariable. As “total protein concentration in serum” (*t*) and “albumin concentration in serum” (*a*) are biologically linked, we used the difference of “total protein concentration in serum” and “albumin concentration in serum” ( $\Delta t - a$ ) in the multivariable model to avoid multicollinearity.

The fit of the model was assessed using Schwarz’s Bayesian information criterion (**BIC**). The BIC value of the final model (5,228) was smaller than of the initial model (5,306), suggesting a better model fit of the final model and supporting the decision of the stepwise backward elimination procedure described above.

The final model used was as follows:

$$y = \mu + BCS_i + \text{breed}_j + \text{lameness}_k + \text{parity}_l + \text{vaccination}_m + b_1 \times (\Delta - a) + b_2 \times \lg(\text{AST}) + b_3 \times \text{Ca} + b_4 \times \lg(\text{CHOL}) + b_5 \times \lg(\text{GLDH}) + b_6 \times \lg(\text{CREA}) + b_7 \times \text{NABE} + \text{herd}_n + \text{cow}(\text{herd})_{o(n)},$$

where *y* = Brix value (%) in colostrum;  $\mu$  = constant; BCS = body condition score with *i* = 1 ( $3 \leq \text{BCS} \leq 4$ ), 2 ( $\text{BCS} < 3$ ), or 3 ( $\text{BCS} > 4$ );  $\text{breed}_j$  = breed with *j* = 1 (German Holstein), 2 (Brown Swiss), or 3 (Simmental);  $\text{lameness}_k$  with *k* = 1 (no lameness), 2 (low-grade lameness), or 3 (moderate- and high-grade lameness);  $\text{parity}_l$  with *l* = 1 (second parity) or 2 (third and higher parity);  $\text{vaccination}_m$  with *m* = 1 (yes) or 2 (no); GLDH = serum GLDH activity;  $\Delta t - a$  = difference of total protein concentration in serum and albumin concentration in serum; Ca = serum calcium concentration; AST = serum AST activity; CHOL = serum cholesterol concentration; CREA = creatinine concentration in urine;

**Table 1.** Median, quartiles, minimum, and maximum of Brix value and of metabolic variables of 873 German dairy cows<sup>1</sup>

| Item                                | Median (Q1–Q3)      | Minimum | Maximum |
|-------------------------------------|---------------------|---------|---------|
| Brix, %                             | 23.1 (19.5–26.2)    | 7.2     | 39.9    |
| Days before calving of sampling     | 9 (5–13)            | 2       | 45      |
| Concentration in serum <sup>2</sup> |                     |         |         |
| $\Delta t - a$ , <sup>3</sup> g/L   | 32.7 (28.9–37.2)    | 13.1    | 60.7    |
| Inorganic P, mmol/L                 | 2.01 (1.81–2.21)    | 0.30    | 3.23    |
| AST, nkat/L                         | 1,054 (929–1,233)   | 613     | 3,882   |
| Bilirubin, $\mu\text{mol/L}$        | 2.88 (2.37–3.55)    | 0.76    | 18.85   |
| Ca, mmol/L                          | 2.36 (2.28–2.43)    | 1.55    | 3.02    |
| Cholesterol, mmol/L                 | 2.24 (1.86–2.68)    | 0.56    | 6.14    |
| CK, $\mu\text{kat/L}$               | 1.83 (1.34–2.81)    | 0.33    | 142     |
| NEFA, mmol/L                        | 0.26 (0.23–0.33)    | 0.17    | 1.61    |
| GLDH, nkat/L                        | 179.1 (125.2–283.4) | 51.6    | 11,089  |
| Urea, mmol/L                        | 4.3 (3.5–5.0)       | 0.9     | 16.5    |
| Mg, mmol/L                          | 0.94 (0.86–0.99)    | 0.61    | 1.38    |
| Se, $\mu\text{mol/L}$               | 0.69 (0.60–0.78)    | 0.10    | 1.80    |
| Concentration in urine              |                     |         |         |
| Ca, mmol/L                          | 1.6 (0.5–4.6)       | 0.40    | 23.20   |
| K, mmol/L                           | 246.4 (190.4–287.4) | 26.8    | 506.1   |
| Creatinine, mmol/L                  | 12.0 (8.6–16.1)     | 1.5     | 37.1    |
| Na, mmol/L                          | 34.6 (7.3–78.0)     | 5.0     | 287.4   |
| Net acid-base excretion, mmol/L     | 92 (50–146)         | –92     | 357     |

<sup>1</sup>Brix value measured in colostrum samples between March 2017 and March 2018 by digital refractometry. Metabolic variables measured in blood and urine samples collected during the close-up period.

<sup>2</sup>AST = aspartate-aminotransferase; CK = creatine kinase; NEFA = nonesterified fatty acids; GLDH = glutamate-dehydrogenase.

<sup>3</sup> $\Delta t - a$  = difference of total protein concentration in serum and albumin concentration in serum.

NABE = net acid-base excretion in urine; herd<sub>n</sub> = herd identification with n = herd identification; cow(herd)<sub>o(n)</sub> = with cow identification within herd; and b<sub>1</sub>, ..., b<sub>7</sub> = model coefficient relating to Brix in the regression model.

To account for a presumable effect of the covariable DBC, it was retroactively included in the final model, after it was eliminated in the model building process, without having relevant effect on the results and resulting in an increased BIC (5,235). Therefore, the model without DBC was selected as the final model.

The Wald test was used to estimate the effect of BCS, lameness, and breed on Brix value. Furthermore, multiple comparisons were carried out for BCS, lameness, and breed. Statistical differences in least squares means was adjusted by a Bonferroni correction.

RESULTS

Overall, 873 of the 1,053 originally tested cows were included in the data analysis. Effectively, samples of these cows were collected on average 8.2 d (geomet-

**Table 2.** Coefficients, SE, and 95% CI of variables included in the initial linear regression model regarding the association between Brix value as measured in colostrum samples of 873 German dairy cows between March 2017 and March 2018 by digital refractometry and variables measured 3 to 1 wk before calving

| Item                                    | Coefficient | SE       | Coefficient (backtransformed) <sup>1</sup> | 95% CI      |             | P-value  | Wald test | P-value |
|---|-------------|----------|--|-------------|-------------|----------|-----------|---------|
|   |             |          |  | Lower bound | Upper bound |          |           |         |
| BCS                                     |             |          |  |             |             |          | 3.719     | 0.16    |
| BCS 3-4                                 | Referent    | Referent |  |             |             | Referent |           |         |
| BCS <3                                  | 1.003       | 0.55     |  | -0.07       | 2.07        | 0.07     |           |         |
| BCS >4                                  | 0.317       | 0.47     |  | -0.61       | 1.24        | 0.50     |           |         |
| Lameness score                          |             |          |  |             |             |          | 8.246     | 0.02    |
| None                                    | Referent    | Referent |  |             |             | Referent |           |         |
| Low grade                               | 1.105       | 0.71     |  | -0.29       | 2.50        | 0.12     |           |         |
| Moderate and high grade                 | -1.456      | 0.65     |  | -2.73       | -0.18       | 0.03     |           |         |
| Breed                                   |             |          |  |             |             |          | 2.917     | 0.23    |
| German Holstein                         | Referent    | Referent |  |             |             | Referent |           |         |
| Simmental                               | -1.526      | 0.93     |  | -3.34       | 0.29        | 0.10     |           |         |
| Brown Swiss                             | -0.780      | 0.80     |  | -2.35       | 0.79        | 0.33     |           |         |
| Parity                                  |             |          |  |             |             |          |           |         |
| Second                                  | Referent    | Referent |  |             |             | Referent |           |         |
| ≥Third                                  | 1.270       | 0.35     |  | 0.58        | 1.96        | <0.01    |           |         |
| Vaccination of the cow                  |             |          |  |             |             |          |           |         |
| Yes                                     | Referent    | Referent |  |             |             | Referent |           |         |
| No                                      | -1.565      | 0.52     |  | -2.58       | -0.55       | <0.01    |           |         |
| Use of anionic salts as a low-DCAD diet |             |          |  |             |             |          |           |         |
| No                                      | Referent    | Referent |  |             |             | Referent |           |         |
| Yes                                     | 0.288       | 0.54     |  | -0.78       | 1.35        | 0.60     |           |         |
| Days before calving (log)               | -0.414      | 0.63     | -0.002                                     | -1.64       | 0.81        | 0.51     |           |         |
| Concentration in serum <sup>2</sup>     |             |          |  |             |             |          |           |         |
| Δt-a <sub>3</sub> g/L                   | 0.104       | 0.03     |  | 0.05        | 0.16        | <0.01    |           |         |
| Inorganic phosphorus, mmol/L            | 0.290       | 0.55     |  | -0.78       | 1.36        | 0.60     |           |         |
| AST(log), nkat/L                        | -2.433      | 2.19     | -0.011                                     | -6.72       | 1.86        | 0.27     |           |         |
| Bilirubin(log), μmol/L                  | 0.652       | 1.07     | 0.003                                      | -1.46       | 2.76        | 0.54     |           |         |
| Ca, mmol/L                              | -2.578      | 1.36     |  | -5.25       | -0.10       | 0.06     |           |         |
| Cholesterol(log), mmol/L                | 2.177       | 1.49     | 0.009                                      | -0.74       | 5.10        | 0.14     |           |         |
| CK(log), μkat/L                         | -0.220      | 0.49     | -0.001                                     | -1.18       | 0.74        | 0.65     |           |         |
| NEFA(log), mmol/L                       | -1.145      | 1.56     | -0.005                                     | -4.21       | 1.92        | 0.46     |           |         |
| GLDH(log), nkat/L                       | -2.299      | 0.72     | -0.010                                     | -3.72       | -0.88       | <0.01    |           |         |
| Urea(log), mmol/L                       | -0.059      | 1.55     | -0.0003                                    | -3.10       | 2.98        | 0.97     |           |         |
| Mg, mmol/L                              | -0.946      | 1.82     |  | -4.52       | 2.63        | 0.60     |           |         |
| Se, μmol/L                              | 1.281       | 1.31     |  | -1.29       | 3.85        | 0.33     |           |         |
| Concentration in urine                  |             |          |  |             |             |          |           |         |
| Ca(log), mmol/L                         | -0.129      | 0.44     | -0.001                                     | -1.00       | 0.74        | 0.77     |           |         |
| K, mmol/L                               | -0.244      | 0.30     |  | -0.84       | 0.35        | 0.42     |           |         |
| Creatinine(log), mmol/L                 | 1.601       | 1.15     | 0.007                                      | -0.65       | 3.86        | 0.16     |           |         |
| Na(log), mmol/L                         | -0.299      | 0.40     | -0.001                                     | -1.09       | 0.49        | 0.46     |           |         |
| Net acid-base excretion, mmol/L         | -0.004      | 0.004    |  | -0.01       | 0.003       | 0.28     |           |         |

<sup>1</sup>A 1% increase in the independent variable changes the Brix value according to the illustrated percentage, holding all other coefficients constant.

<sup>2</sup>AST = aspartate-aminotransferase; CK = creatine kinase; NEFA = nonesterified fatty acids; GLDH = glutamate-dehydrogenase.

<sup>3</sup>Δt-a = difference of total protein concentration in serum and albumin concentration in serum.

**Table 3.** Least squares means ( $\pm$ SD), minimum, and maximum of Brix value from the final model as measured in colostrum samples of 873 German dairy cows between March 2017 and March 2018 by digital refractometry classified regarding BCS, breed, lameness, parity, and vaccination during the close-up period

| Item                                       | n   | LSM ( $\pm$ SD)                  | Minimum | Maximum |
|--|-----|----------------------------------|---------|---------|
| BCS  |     |                                  |         |         |
| <3   | 91  | 22.7 ( $\pm$ 0.67) <sup>a</sup>  | 13.6    | 38.9    |
| 3-4  | 650 | 21.6 ( $\pm$ 0.51) <sup>a</sup>  | 7.2     | 39.9    |
| >4   | 132 | 22.0 ( $\pm$ 0.61) <sup>a</sup>  | 10.0    | 39.2    |
| Breed                                      |     |                                  |         |         |
| German Holstein                            | 735 | 23.0 ( $\pm$ 0.42) <sup>a</sup>  | 7.2     | 39.9    |
| Simmental                                  | 64  | 21.3 ( $\pm$ 0.88) <sup>a</sup>  | 10.4    | 29.8    |
| Brown Swiss                                | 74  | 22.0 ( $\pm$ 0.79) <sup>a</sup>  | 11.6    | 30.7    |
| Lameness score                             |     |                                  |         |         |
| None                                       | 770 | 22.2 ( $\pm$ 0.45) <sup>ab</sup> | 10.0    | 39.9    |
| Low grade                                  | 44  | 23.3 ( $\pm$ 0.78) <sup>a</sup>  | 13.2    | 35.6    |
| Moderate to high grade                     | 59  | 20.8 ( $\pm$ 0.73) <sup>b</sup>  | 7.2     | 38.9    |
| Parity                                     |     |                                  |         |         |
| Second                                     | 331 | 21.5 ( $\pm$ 0.56) <sup>a</sup>  | 10.0    | 39.9    |
| $\geq$ Third                               | 542 | 22.7 ( $\pm$ 0.50) <sup>b</sup>  | 7.2     | 39.2    |
| Vaccination <sup>1</sup> during dry period |     |                                  |         |         |
| Yes  | 457 | 23.0 ( $\pm$ 0.59) <sup>a</sup>  | 10.0    | 39.9    |
| No   | 416 | 21.2 ( $\pm$ 0.54) <sup>b</sup>  | 7.2     | 39.2    |

<sup>ab</sup>Values with different letters indicate differences within each category ( $P \leq 0.05$ ).

<sup>1</sup>Vaccine against rotavirus and coronavirus.

ric mean) before calving, ranging from 2 to 45 d. The following numbers of cows were excluded: 21 (2.0%) twin births, 85 (8.1%) parturitions with calving within 24 h, and 12 (1.1%) cows in first parity. Furthermore, 58 (5.5%) cows were excluded due to missing colostrum samples, and 4 (0.4%) cows were excluded due to missing values of urine creatinine concentration.

Mean Brix value of 873 tested colostrum samples was 22.9% and ranged from 7.2 to 39.9%. Median, 25th quartile and 75th quartile, as well as minimum and maximum of all metabolic variables are summarized in Table 1. Table 3 shows least squares means ( $\pm$ SD) of the Brix values out of the final model as well as the minimum and maximum for the categorial variables “BCS”, “breed”, “lameness”, “parity”, and “vaccination of the cow”.

Correlation coefficients calculated for all fixed effects showed correlation coefficients above  $-0.50$  and below  $0.50$  except for: CK and AST ( $r = -0.53$ ), GLDH and AST ( $r = -0.59$ ), creatinine in urine and potassium in urine ( $r = -0.68$ ) and NABE and potassium in urine ( $r = -0.52$ ). These correlations did not affect the final model.

### Associations Between Brix Value and Cow-Level Variables

The final variable set (Table 4) identified associations between Brix value and parity ( $P < 0.01$ ) and vaccination ( $P < 0.01$ ). Cows entering second parity had lower Brix values than cows entering third or greater parity. Prepartum vaccination of cows led to higher Brix val-

ues compared with nonvaccinated cows. With respect to the Wald test, associations between Brix value and lameness were identified, where cows with a moderate to high lameness score showed lower Brix values than cows with a low-grade lameness ( $P = 0.02$ ). All other lameness grades were not different in their Brix values. Furthermore, associations with Brix value were identified for  $\Delta t$ -a,  $P < 0.01$ ; log(GLDH),  $P < 0.01$ ; serum calcium concentration,  $P = 0.05$ ; and NABE in urine,  $P = 0.03$  (Table 4). An increase of serum concentration of  $\Delta t$ -a results in higher Brix values, whereas an increase of the serum activity of GLDH, serum concentration of Ca and NABE in urine result in lower Brix values. The associations between Brix value and BCS ( $P = 0.12$ ), breed ( $P = 0.10$ ), log(cholesterol) ( $P = 0.18$ ), log(AST) ( $P = 0.14$ ), and log(creatinine) ( $P = 0.24$ ) were not significant.

## DISCUSSION

This study was performed to identify relationships between metabolic parameters measured 3 to 1 wk prepartum as well as health condition, parity, and vaccination, and the Brix value of the colostrum in German dairy herds. Measuring bovine colostrum with a digital refractometer allows a quick and easy on-farm assessment of colostrum quality and provides the farmer with reliable results. Brix values  $>22\%$  correspond to cIgG in colostrum of 50 mg/mL measured with RID (Quigley et al., 2013; Buczinski and Vandeweerd, 2016). Given that calves are born without IgG and passive transfer is necessary for good health and development of the



**Table 4.** Coefficients, SE, and 95% CI of variables included in the final linear regression model regarding the association between Brix value as measured in colostrum samples of 873 German dairy cows between March 2017 and March 2018 by digital refractometry and variables measured 3 to 1 wk before calving

| Item                                | Coefficient | SE       | Coefficient<br>(backtransformed) <sup>1</sup> | 95% CI         |                | P-value  | Wald<br>test | P-value |
|-------------------------------------|-------------|----------|---|----------------|----------------|----------|--------------|---------|
|                                     |             |          |   | Lower<br>bound | Upper<br>bound |          |              |         |
| BCS                                 |             |          |   |                |                |          | 4.324        | 0.12    |
| BCS 3–4                             | Referent    | Referent |   |                |                | Referent |              |         |
| BCS <3                              | 1.068       | 0.54     |   | 0.01           | 2.13           | 0.05     |              |         |
| BCS >4                              | 0.350       | 0.46     |   | -0.56          | 1.26           | 0.45     |              |         |
| Lameness score                      |             |          |   |                |                |          | 8.151        | 0.02    |
| None                                | Referent    | Referent |   |                |                | Referent |              |         |
| Low grade                           | 1.085       | 0.70     |   | -0.30          | 2.47           | 0.12     |              |         |
| Moderate and high grade             | -1.440      | 0.64     |   | -2.70          | -0.18          | 0.03     |              |         |
| Breed                               |             |          |   |                |                |          | 4.653        | 0.10    |
| German Holstein                     | Referent    | Referent |   |                |                | Referent |              |         |
| Simmental                           | -1.745      | 0.88     |   | -3.48          | -0.01          | 0.05     |              |         |
| Brown Swiss                         | -1.053      | 0.76     |   | -2.54          | 0.44           | 0.17     |              |         |
| Parity                              |             |          |   |                |                |          |              |         |
| Second                              | Referent    | Referent |   |                |                | Referent |              |         |
| ≥Third                              | 1.236       | 0.35     |   | 0.55           | 1.92           | <0.001   |              |         |
| Vaccination of the cow              |             |          |   |                |                |          |              |         |
| Yes                                 | Referent    | Referent |   |                |                | Referent |              |         |
| No                                  | -1.716      | 0.51     |   | -2.71          | -0.72          | <0.001   |              |         |
| Concentration in serum <sup>2</sup> |             |          |   |                |                |          |              |         |
| Δt-a, g/L                           | 0.109       | 0.03     |   | 0.06           | 0.16           | <0.001   |              |         |
| AST(log), nkat/L                    | -2.658      | 1.80     | -0.012  | -6.18          | -0.87          | 0.14     |              |         |
| Ca, mmol/L                          | -2.344      | 1.19     |   | -4.68          | -0.01          | 0.05     |              |         |
| Cholesterol(log), mmol/L            | 1.822       | 1.36     | 0.008   | -0.85          | 4.49           | 0.18     |              |         |
| GLDH(log), nkat/L                   | -2.182      | 0.68     | -0.009  | -3.52          | -0.84          | 0.002    |              |         |
| Concentration in urine              |             |          |   |                |                |          |              |         |
| Creatinine(log), mmol/L             | 0.919       | 0.78     | 0.004   | -0.61          | 2.45           | 0.24     |              |         |
| Net acid-base excretion, mmol/L     | -0.006      | 0.003    |   | -0.01          | 0.0005         | 0.03     |              |         |

<sup>1</sup>A 1% increase in the independent variable changes the Brix value according to the illustrated percentage, holding all other coefficients constant.

<sup>2</sup>AST = aspartate-aminotransferase; GLDH = glutamate-dehydrogenase.

<sup>3</sup>Δt-a = difference of total protein concentration in serum and albumin concentration in serum.

calves, the need for high quality colostrum and an understanding of risk factors for poor quality colostrum are very important (Vogels et al., 2013).

The most striking finding of our study was that the only metabolic parameter that showed a clear and expected association with the Brix value was the serum activity of GLDH. This specific liver enzyme indicates liver damage due to, for example, fat liver (Stengärde et al., 2010), and is used long term for the metabolic profile test of the Thuringian Animal Health Service to characterize liver function (Donat et al., 2016). To the authors' best knowledge, studies on the effect of GLDH activity as a liver parameter on colostrum quality are not available in scientific literature at present. Our results show a decrease of the Brix value when the GLDH value increases. We assume that, as reported in the literature, cows with high GLDH activity have an enhanced probability for liver cell damage due to hepatic lipidosis, and therefore liver function, to produce proteins for the colostrumogenesis is reduced (Rehage et al., 1996; Stengärde et al., 2010). Other studies on

liver function, especially concerning hepatic lipidosis, consider the serum activity of AST as an important parameter that indicates liver cell damage (Bobe et al., 2004; González et al., 2011; Mostafavi et al., 2013), but AST activity was not associated with Brix value in our study. Similarly, Donat et al. (2014) identified a potential influence of paratuberculosis on serum GLDH but not AST activity.

An association with Brix value was detected for serum Ca concentration. The association was negative with decreasing Brix value if serum Ca concentration increased. This finding is in line with those of other studies. A feeding experiment with different prepartum diets, looking at the effect of anionic salts as a low-DCAD diet and diets differing in Ca concentration on colostrum quality, demonstrated a higher Brix value when a low-Ca diet was fed compared with a high-Ca diet (Diehl et al., 2018). Another German study, showing a negative correlation between the Ca concentration 1 d postpartum and the cIgG in colostrum, discussed a possible explanation of the relationship with a

common route of transport to the mammary gland of both (Klingbeil, 2014). For Ca, a Ca-sensing receptor is involved in the transcytosis of Ca into the mammary epithelial cell (VanHouten et al., 2004; Mamillapalli et al., 2013). The exact transport mechanism into the mammary epithelial cell still needs to be investigated. The Ca-sensing receptor is downregulated during pregnancy and upregulated during lactation, and again downregulated to a low level in the involuting gland. Its expression is reduced if Ca availability in serum is low and functions as a protective mechanism preventing hypocalcemia (VanHouten et al., 2004). Different  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPases are involved in transport of Ca out of the mammary epithelial cell into the milk (Reinhardt et al., 2004; VanHouten et al., 2007; Faddy et al., 2008). Similarly, for IgG, a specific receptor is expressed and regulated by hormonal signals during the dry period (Larson et al., 1980; Butler, 1998; Barrington et al., 2001). From our perspective, both physiological pathways do not fully explain our findings. Further research would be necessary to clarify the physiological background behind this observation.

Total protein and albumin concentration in serum were two of the metabolic parameters that we measured. As they are biologically linked, we decided to use the difference of those 2 variables,  $\Delta t-a$ , in the final model;  $\Delta t-a$  represents the serum protein fraction in addition to albumin and may be interpreted as an estimation of serum globulins, and one fraction of globulins are the immunoglobulins. Immunoglobulins are divided into 3 principal classes: IgG (IgG<sub>1</sub> and IgG<sub>2</sub>), IgA, and IgM, of which IgG<sub>1</sub> represents the major class (Korhonen et al., 2000). In our study, colostrum quality was higher if  $\Delta t-a$  in serum was high 3 to 1 wk antepartum. This study was designed to identify cow-level variables potentially affecting cIgG in colostrum rather than to measure the IgG serum concentration of the dam over time during the dry period.  $\Delta t-a$  was measured once during the dry period and indirectly reflects the concentration in globulins in the serum of the cow. It was positively associated with cIgG in colostrum, suggesting that a higher level of globulins in the serum of the cow allows the transfer of more immunoglobulin from the blood to the colostrum in general. Our finding that DBC had no effect on the Brix value in our final model, supports our hypotheses that the observed effect is a general one and not simply an effect of the variation in days between sampling and parturition. During the dry period, serum cIgG of the cow constantly decreases, usually by over 50% until parturition, whereas cIgG in colostrum increases (Brandon et al., 1971; Larson et al., 1980; Butler, 1998). Hormonal signals of estrogens and prolactin are involved in inducing the replication of a specific surface receptor on the mammary cell with a

strong affinity to IgG, especially to IgG<sub>1</sub> (Larson et al., 1980; Butler, 1998; Barrington et al., 2001). The strong affinity to IgG<sub>1</sub> is explained by high cIgG<sub>1</sub> of 90 mg/mL in colostrum compared with 2.8, 1.6, and 4.5 mg/mL of IgG<sub>2</sub>, IgA, and IgM, respectively (Elfstrand et al., 2002). Brandon et al. (1971) measured unchanged serum concentration of IgG<sub>2</sub>, IgA, and IgM 2 to 3 wk antepartum, whereas the serum concentration of IgG<sub>1</sub> decreased by over 50% at the same time. At the end of the dry period, hormonal signaling changes, and prolactin is supposed to be a factor that reduces the number of specific receptors (Barrington et al., 2001). As a result, less IgG are transferred into the mature milk.

Rising cIgG in colostrum is closely associated with parity and vaccination of the cow. Our study involved cows entering second or third and higher parity, and cows entering third or higher parity showed higher Brix values indicating higher colostrum quality. This finding agrees with earlier studies (Muller and Ellinger, 1981; Tyler et al., 1999; Morin et al., 2001; Puppel et al., 2019). Cows being exposed to many antigens a long time are more likely to have a wide range of antibodies (Larson et al., 1980; Puppel et al., 2019). Different studies come to the same result, that colostrum of cows entering second parity tend to have colostrum of lower quality compared with cows entering third and higher parity (Gulliksen et al., 2008; Reschke et al., 2017; Johnsen et al., 2019). The highest proportion of dams with low IgG concentration in colostrum was observed in cows starting their second lactation, presumably because they produce a larger volume of colostrum compared with primiparous cows combined with an only moderate increase in IgG concentration in colostrum observed with increasing age (Reschke et al., 2017). This may cause a dilution effect, and colostrum seems to be of poorer quality. Another presumption is that the replication of the specific surface receptor of the mammary cells increases with parity, and prolonged contact with antigens during the years increases cIgG in colostrum.

Exposure to antigens by vaccination of the cow induces an increased formation of antibodies. Similar findings have previously been described by Denholm et al. (2018), in which cows showed higher Brix values of the colostrum if cows are vaccinated.

Despite body condition barely missing significance in our study, an unexpected trend was observed: Cows with a BCS <3 showed higher Brix values than the reference group (cows with BCS 3–4). In accordance with another study (Al Ibrahim et al., 2010), it can be speculated that cows with a low BCS at calving have a lower colostrum yield and, therefore, higher concentrated immunoglobulins, which is reflected in a higher Brix value. In contrast, in other studies diseases such

as mastitis, chronic acidosis, and ketosis negatively affected cIgG in colostrum (Dardillat et al., 1978; Puppel et al., 2019), and cows entering the dry period with a good condition had higher IgG concentration in their colostrum (Klingbeil, 2014). Surprisingly, Brix was not associated with NEFA either. When measured before calving, NEFA but not BHB or glucose were associated with the degree of body condition loss during the transition period (Gärtner et al., 2019). Despite serum concentration of BHB being a well-established metabolite to monitor subclinical ketosis when measured during the first weeks postpartum (McArt et al., 2012; Overton et al., 2017; Tatone et al., 2017), most studies have not measured BHB concentrations in prepartum cows (Kaufman et al., 2016; Tremblay et al., 2018; Daros et al., 2020). Therefore, in our field study prepartum serum NEFA concentration was selected as an informative metabolite regarding negative energy balance and the cow's health during the transition period. The fact, that NEFA and BCS were not related to Brix value in our study does not provide evidence that negative energy balance is not relevant for colostrum quality. This question should be evaluated in further studies, preferably in an experimental design using cows suffering from subclinical ketosis during the close-up period.

Furthermore, we identified relationships between lameness and the Brix value, with higher Brix values for cows with a low-grade lameness compared with cows with a moderate to high lameness score. On the contrary, results of another German study, cows showing lameness during the dry period exceeded cows without lameness by 7.8 g of IgG per L without a difference in colostrum yield (Klingbeil, 2014). Due to the paucity of data from this observation, it would be of great interest to identify more precise relationships between the presence of lameness and the Brix value of the colostrum. Generally, health status and the presence of diseases such as mastitis, chronic acidosis, and ketosis negatively affect the cIgG in colostrum (Dardillat et al., 1978; Puppel et al., 2019). With respect to the association between NABE and Brix value, the coefficient of the association was very low, indicating a minor relevance of acid-base disturbances to colostrum quality.

Due to the fact that this study was an observational study including a wide range of parameters in a multivariable approach, a meaningful determination of a discrete sample size was limited and, therefore, not performed. This is a limitation of our study with regard to external validity. Nonetheless, to the best of our knowledge, there are no studies available that have investigated the influence of metabolic parameters of cows on colostrum quality, using such a wide range of parameters and a sample of this size. From the results

of the present study, meaningful hypotheses can be generated for future research.

Although we identified clear associations between metabolic parameters, particularly GLDH serum activity and the difference in total protein and albumin concentration in serum, external validity of these results has to be proven by further studies. The limited knowledge regarding the pathophysiological background of enhanced serum activities in close-up cows hampers an in-depth interpretation of that finding. Similarly, the association between  $\Delta t$ -a and the Brix value indicates an influence of the dam's serum proteins on colostrum compounds, but it would be desirable to have deeper insights into the physiological background behind this finding, which cannot be provided by this epidemiological study. Future research should take up these findings to elucidate the biological background of these associations.

## CONCLUSIONS

We found evidence of an association between the metabolic health of the cow and colostrum quality. Although we cannot confirm a causal relationship, the chronology of our sampling suggests that metabolic disorders of the dam may be relevant to impaired colostrum quality. Metabolic monitoring of close-up cows including serum activities of liver-specific enzymes such as GLDH, serum Ca concentration, and serum protein fractions may contribute to identify possible causes of failure of passive transfer at individual and herd level. Prepartum vaccination of the cow may enhance colostrum quality, and if required, cows of higher parity should be used as colostrum donors. Farmers should be encouraged to focus on a cow's health during the dry period to ensure the production of good quality colostrum.

## ACKNOWLEDGMENTS

We recognize the participating dairy producers for supplying data and assisting sampling. We thank the veterinarians and the laboratory staff of the Animal Health Service department of the Thuringian Animal Diseases Fund (Jena, Germany) and Synlab Analytics & Services Germany GmbH (Jena, Germany) for their technical assistance. Furthermore, we gratefully acknowledge the assistance of Kathrin Böttner, Justus-Liebig-University Giessen (Giessen, Germany) for reviewing the statistical approach. The study was financed by the Thuringian Animal Diseases Fund. The authors thank the board of administration for budgeting this study. There was no external funding for this research.

Mention of trade names or commercial products in this article is solely for the purpose of providing specific information. All authors contributed to the writing of the manuscript, with final editing by Axel Wehrend and Karsten Donat. Karsten Donat and Manuela Immmler designed the study. Sampling and laboratory analysis were done by Manuela Immmler, Tanja Gärtner, and the team of the Animal Health Service. Statistical analysis was performed by Klaus Failing and Manuela Immmler. The authors have not stated any conflicts of interest.

## REFERENCES

- Al Ibrahim, R. M., A. K. Kelly, L. O'Grady, V. P. Gath, C. McCarney, and F. J. Mulligan. 2010. The effect of body condition score at calving and supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* on milk production, metabolic status, and rumen fermentation of dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 93:5318–5328. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3201>.
- Allain, C. C., L. S. Poon, C. S. Chan, W. Richmond, and P. C. Fu. 1974. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.* 20:470–475.
- Anker, P., E. Wieland, D. Ammann, R. E. Dohner, R. Asper, and W. Simon. 1981. Neutral carrier based ion-selective electrode for the determination of total calcium in blood serum. *Anal. Chem.* 53:1970–1974. <https://doi.org/10.1021/ac009236a005>.
- Barrington, G. M., T. B. McFadden, M. T. Huyler, and T. E. Besser. 2001. Regulation of colostrogenesis in cattle. *Livest. Prod. Sci.* 70:95–104. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(01\)00201-9](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00201-9).
- Bartens, M. C., M. Drillich, K. Rychli, M. Iwersen, T. Arnoldt, L. Meyer, and D. Klein-Jöbstl. 2016. Assessment of different methods to estimate bovine colostrum quality on farm. *N. Z. Vet. J.* 64:263–267. <https://doi.org/10.1080/00480169.2016.1184109>.
- Bartier, A. L., M. C. Windmeyer, and L. Doepel. 2015. Evaluation of on-farm tools for colostrum quality measurement. *J. Dairy Sci.* 98:1878–1884. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8415>.
- Baumrucker, C. R., R. S. Zbinden, H. A. van Dorland, G. J. Remmelink, B. Kemp, A. T. van Kneegsel, and R. M. Bruckmaier. 2014. Continuous milking of dairy cows disrupts timing of peak IgG concentration appearance in mammary secretions. *J. Dairy Res.* 81:403–409. <https://doi.org/10.1017/S002202991400034X>.
- Beam, A. L., J. E. Lombard, C. A. Kopral, L. P. Garber, A. L. Winter, J. A. Hicks, and J. L. Schlater. 2009. Prevalence of failure of passive transfer of immunity in newborn heifer calves and associated management practices on US dairy operations. *J. Dairy Sci.* 92:3973–3980. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2225>.
- Bobe, G., J. W. Young, and D. C. Beitz. 2004. Invited review: Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:3105–3124. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73446-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73446-3).
- Brandon, M. R., D. L. Watson, and A. K. Lascelles. 1971. The mechanism of transfer of immunoglobulin into mammary secretion of cows. *Aust. J. Exp. Biol. Med.* 49:613–623. <https://doi.org/10.1038/jcb.1971.67>.
- Brsic, M., G. Cozzi, I. Lora, A. L. Stefani, B. Contiero, L. Ravarotto, and F. Gottardo. 2015. Short communication: Reference limits for blood analyses in Holstein late-pregnant heifers and dry cows: Effects of parity, days relative to calving, and season. *J. Dairy Sci.* 98:7886–7892. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9345>.
- Buczinski, S., and J. M. Vandevaeerd. 2016. Diagnostic accuracy of refractometry for assessing bovine colostrum quality: A systematic review and meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 99:7381–7394. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10955>.
- Butler, J. E. 1998. Immunoglobulin diversity, B-cell and antibody repertoire development in large farm animals. *Rev. Sci. Tech.* 17:43–70. <https://doi.org/10.20506/rst.17.1.1096>.
- Chuck, G. M., P. D. Mansell, M. A. Stevenson, and M. M. Izzo. 2017. Factors affecting colostrum quality in Australian pasture-based dairy herds. *Aust. Vet. J.* 95:421–426. <https://doi.org/10.1111/avj.12643>.
- Conneely, M. D., P. Berry, R. Sayers, J. P. Murphy, I. Lorenz, M. L. Doherty, and E. Kennedy. 2013. Factors associated with the concentration of immunoglobulin G in the colostrum of dairy cows. *Animal* 7:1824–1832. <https://doi.org/10.1017/S1751731113001444>.
- Dardillat, J., G. Trillat, and P. Larvor. 1978. Colostrum immunoglobulin concentration in cows: Relationship with their calf mortality and with the colostrum quality of their female offspring. *Ann. Rech. Vet.* 9:375–384.
- Daros, R. R., H. K. Eriksson, D. M. Weary, and M. A. G. von Keyserlingk. 2020. The relationship between transition period diseases and lameness, feeding time, and body condition during the dry period. *J. Dairy Sci.* 103:649–665. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16975>.
- Denholm, K. S., S. McDougall, G. Chambers, and W. Clough. 2018. Factors associated with colostrum quality in individual cows from dairy herds in the Waikato region of New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 66:115–120. <https://doi.org/10.1080/00480169.2017.1418684>.
- Diehl, A. L., J. K. Bernard, S. Tao, T. N. Smith, T. Marins, D. J. Kirk, D. J. McLean, and J. D. Chapman. 2018. Short communication: Blood mineral and gas concentrations of calves born to cows fed prepartum diets differing in dietary cation-anion difference and calcium concentration. *J. Dairy Sci.* 101:9048–9051. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14829>.
- Donat, K., W. Siebert, E. Menzer, and S. Söllner-Donat. 2016. Long-term trends in the metabolic profile test results in German Holstein dairy herds in Thuringia, Germany. *Tierarztl. Prax. Ausg. G. Grossiere Nutztiere* 44:73–82. <https://doi.org/10.15653/TPG-150948>.
- Donat, K., G. Erhardt, A. Soschinka, and H. R. Brandt. 2014. Decreased serum protein associated with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* shedding in German Holstein cows. *Vet. Rec.* 174:408. <https://doi.org/10.1136/vr.101957>.
- Doumas, B. T., W. A. Watson, and H. G. Biggs. 1971. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. *Clin. Chim. Acta* 31:87–96. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(71\)90365-2](https://doi.org/10.1016/0009-8981(71)90365-2).
- Edmonson, A. J., I. J. Lean, L. D. Weaver, T. Farver, and G. Webster. 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72:68–78. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79081-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79081-0).
- Elfstrand, L., H. Lindmark-Månsson, M. Paulsson, L. Nyberg, and B. Åkesson. 2002. Immunoglobulins, growth factors and growth hormone in bovine colostrum and the effects of processing. *Int. Dairy J.* 12:879–887. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00089-4](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00089-4).
- Faddy, H. M., C. E. Smart, R. Xu, G. Y. Lee, P. A. Kenny, M. Feng, R. Rao, M. A. Brown, M. J. Bissell, S. J. Roberts-Thomson, and G. R. Monteith. 2008. Localization of plasma membrane and secretory calcium pumps in the mammary gland. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 369:977–981. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.03.003>.
- Gamst, O., and K. Try. 1980. Determination of serum-phosphate without deproteinization by ultraviolet spectrophotometry of the phosphomolybdic acid complex. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 40:483–486. <https://doi.org/10.3109/0036518009101872>.
- Gärtner, T., E. Gernand, J. Gottschalk, and K. Donat. 2019. Relationships between body condition, body condition loss, and serum metabolites during the transition period in primiparous and multiparous cows. *J. Dairy Sci.* 102:9187–9199. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15762>.
- German Society for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine e.V. 1972. Recommendations of the German Society for Clinical Chemistry. Standardisation of methods for the estimation of enzyme methods for the optimized standard conditions. *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.* 10:182–192.
- Godden, S. M., J. E. Lombard, and A. R. Woolums. 2019. Colostrum management for dairy calves. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 35:535–556. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.07.005>.

- González, F. D., R. Muñio, V. Pereira, R. Campos, and J. L. Benedito. 2011. Relationship among blood indicators of lipomobilization and hepatic function during early lactation in high-yielding dairy cows. *J. Vet. Sci.* 12:251–255. <https://doi.org/10.4142/jvs.2011.12.3.251>.
- Gulliksen, S. M., K. I. Lie, L. Sølvend, and O. Østerås. 2008. Risk factors associated with colostrum quality in Norwegian dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91:704–712. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0450>.
- Horder, M., R. Elser, W. Gerhardt, M. Mathieu, and E. J. Sampson. 1991. International Federation of Clinical Chemistry, Scientific Division Committee on Enzymes: Approved recommendation of IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 7. IFCC method for creatine kinase (ATP: Creatine N-phosphotransferase, EC 2.7.3.2). *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 29:435–456.
- Johnsen, J. F., J. Sorby, C. M. Mejdell, Å. M. Sogstad, A. Nødtvedt, and I. H. Holmøy. 2019. Indirect quantification of IgG using a digital refractometer, and factors associated with colostrum quality in Norwegian Red Cattle. *Acta Vet. Scand.* 61:59. <https://doi.org/10.1186/s13028-019-0494-9>.
- Karl, M., and R. Staufenbiel. 2017. Factors influencing the quality of the first colostrum in Holstein Friesian cows and their relationship to postpartum calcium concentrations in the blood and colostrum. *Tierärztl. Prax. Ausg. G. Grosstiere Nutztiere* 45:331–341. <https://doi.org/10.15653/TPG-170382>.
- Kaufman, E. I., S. J. LeBlanc, B. W. McBride, T. F. Duffield, and T. J. DeVries. 2016. Association of rumination time with subclinical ketosis in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 99:5604–5618. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10509>.
- Klingbeil, M. 2015. Investigation of influence factors on yield, quality and calcium content of first colostrum in Holstein Friesian cows [In German]. DVM Thesis. Ruminant and Swine Clinic. Faculty of Veterinary Medicine, Freie Universität, Berlin, Germany.
- Korhonen, H., P. Marnila, and H. S. Gill. 2000. Milk immunoglobulins and complement factors. *Br. J. Nutr.* 84(Suppl. 1):S75–80. <https://doi.org/10.1017/S0007114500002282>.
- Kutas, F. 1965. Determination of net acid-base excretion in the urine of cattle. *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.* 15:147–153.
- Larson, B. L., H. L. Heary Jr., and J. E. Devery. 1980. Immunoglobulin production and transport by mammary gland. *J. Dairy Sci.* 63:665–671. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)82988-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82988-2).
- Mamillapalli, R., J. VanHouten, P. Dann, W. Bikle, W. Chang, E. Brown, and J. Wysłomierski. 2013. Mammary-specific ablation of the calcium-sensing receptor during lactation alters maternal calcium metabolism, milk calcium transport, and neonatal calcium accrual. *Endocrinology* 154:3031–3042. <https://doi.org/10.1210/en.2012-2195>.
- Mann, C. K., and J. H. Yoe. 1956. Spectrophotometric determination of magnesium with sodium 1-Azo-2-hydroxy-3-(2,4-dimethylcarboxanilido)-naphthalene-1'-(2'-hydroxybenzene-5-sulfonate). *Anal. Chem.* 28:202–205. <https://doi.org/10.1021/ac60110a016>.
- Mann, S., F. A. Leal Yepes, T. R. Overton, A. L. Lock, S. V. Lamb, J. J. Wakshlag, and D. V. Nisdam. 2016. Effect of dry period dietary energy level in dairy cattle on volume, concentrations of immunoglobulin G, insulin, and fatty acid composition of colostrum. *J. Dairy Sci.* 99:1515–1526. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9926>.
- Mayasari, N., G. de Vries Reilingh, M. G. Nieuwland, G. J. Remmelink, H. K. Parmentier, B. Kemp, and A. T. van Knegsel. 2015. Effect of maternal dry period length on colostrum immunoglobulin content and on natural and specific antibody titers in calves. *J. Dairy Sci.* 98:3969–3979. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8753>.
- McArt, J. A. A., D. V. Nisdam, and G. R. Oetzel. 2012. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 95:5056–5066. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5443>.
- McGuirk, S. M., and M. Collins. 2004. Managing the production, storage, and delivery of colostrum. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 20:593–603. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2004.06.005>.
- Morin, D., E. P. D. Constable, F. P. Maunsell, and G. C. McCoy. 2001. Factors associated with colostrum specific gravity in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:937–943. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74551-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74551-1).
- Mostafavi, M., H. A. Seifi, M. Mohri, and A. Jamshidi. 2013. Optimal thresholds of metabolic indicators of hepatic lipidosis in dairy cows. *Rev. Med. Vet.* 164:564–571.
- Muller, L. D., and D. K. Ellinger. 1981. Colostral immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 64:1727–1730. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(81\)82754-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(81)82754-3).
- Overton, T. R., J. A. A. McArt, and D. V. Nisdam. 2017. A 100-Year Review: Metabolic health indicators and management of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 100:10398–10417. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13054>.
- Phipps, A. J., D. S. Beggs, A. J. Murray, P. D. Mansell, and M. F. Pyman. 2017. Factors associated with colostrum immunoglobulin G concentration in northern-Victorian dairy cows. *Aust. Vet. J.* 95:237–243. <https://doi.org/10.1111/avj.12601>.
- Puppel, K., M. Gołbiewski, G. Grodowski, J. Słószarz, M. Kunowska-Słószarz, P. Solarczyk, M. Łukaszewicz, M. Balcerak, and T. Przy-sucha. 2019. Composition and factors affecting quality of bovine colostrum: A review. *Animals (Basel)* 9:1070. <https://doi.org/10.3390/ani9121070>.
- Quigley, J. D., A. Lago, C. Chapman, P. Erickson, and J. Polo. 2013. Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. *J. Dairy Sci.* 96:1148–1155. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5823>.
- R Core Team. 2019. R: A language and environment for statistical computing, Version 3.6.2. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Raboisson, D., P. Trillat, and C. Cahuzac. 2016. Failure of passive immune transfer in calves: A meta-analysis on the consequences and assessment of the economic impact. *PLoS One* 11:e0150452. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150452>.
- Rand, R. N., and A. di Pasqua. 1962. A new diazo method for the determination of bilirubin. *Clin. Chem.* 6:570–578.
- Rastani, R. R., R. R. Grummer, S. J. Bertics, A. Gimen, M. C. Wiltbank, D. G. Mashek, and M. C. Schwab. 2005. Reducing dry period length to simplify feeding transition cows: Milk production, energy balance, and metabolic profiles. *J. Dairy Sci.* 88:1004–1014. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72768-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72768-5).
- Rehage, J., M. Mertens, N. Stockhofe-Zurwieden, M. Kaske, and H. Scholz. 1996. Post surgical convalescence of dairy cows with left abomasal displacement in relation to fatty liver. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 138:361–368.
- Reinhardt, T. A., J. D. Lippolis, G. E. Shull, and R. L. Horst. 2004. Null mutation in the gene encoding plasma membrane Ca<sup>2+</sup>-ATPase isoform 2 impairs calcium transport into milk. *J. Biol. Chem.* 279:42369–42373. <https://doi.org/10.1074/jbc.M407788200>.
- Remer, T. A. N., and C. Maser-Gluth. 2002. Anthropometry-based reference values for 24-h urinary creatinine excretion during growth and their use in endocrine and nutritional research. *Am. J. Clin. Nutr.* 75:561–599. <https://doi.org/10.1093/ajcn/75.3.561>.
- Renaud, D. L., D. F. Kelton, S. J. LeBlanc, D. B. Haley, and T. F. Duffield. 2018. Calf management risk factors on dairy farms associated with male calf mortality on veal farms. *J. Dairy Sci.* 101:1785–1794. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13578>.
- Reschke, C., E. Schelling, A. Michel, F. Remy-Wohlfender, and M. Meylan. 2017. Factors associated with colostrum quality and effects on serum gamma globulin concentrations of calves in Swiss dairy herds. *J. Vet. Intern. Med.* 31:1563–1571. <https://doi.org/10.1111/jvim.14806>.
- Rovai, M., M. T. Kollmann, and R. M. Bruckmaier. 2007. Incontinencia lactis: Physiology and anatomy conducive to milk leakage in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:682–690. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71551-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71551-5).
- Salehi, R., D. J. Ambrose, and M. Oba. 2016. Short communication: Effects of prepartum diets supplemented with rolled oilseeds on Brix values and fatty acid profile of colostrum. *J. Dairy Sci.* 99:3598–3601. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10189>.
- Schumann, G., R. Bonora, F. Ceriotti, G. Ferrar, C. A. Ferrero, P. F. H. Franck, F.-J. Gella, W. Hoelzel, P. J. Jørgensen, T. Kanno, A. Kessner, R. Klauke, N. Kristiansen, J.-M. Lessinger, T. P. J. Linsinger, H. Misaki, M. Panteghini, J. Pauwels, F. Schiele, H. G. Schimmel, G. Weidemann, and L. Siekmann. 2002. IFCC primary

- reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 5. Reference Procedure for the measurement of catalytic concentration of aspartate aminotransferase. *Clin. Chem. Lab. Med.* 40:725–733. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2002.125>.
- Shimizu, S., K. Inoue, Y. Tani, and H. Yamada. 1979. Enzymatic microdetermination of serum free fatty acids. *Anal. Biochem.* 98:341–345. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90151-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90151-9).
- Shivley, C. B., J. E. Lombard, N. J. Urie, D. M. Haines, R. Sargent, C. A. Koprak, T. J. Earleywine, J. D. Olson, and F. B. Garry. 2018. Preweaned heifer management on US dairy operations: Part II. Factors associated with colostrum quality and passive transfer status of dairy heifer calves. *J. Dairy Sci.* 101:9185–9198. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14008>.
- Stengårde, L., K. Holtenius, M. Trävén, J. Hultgren, R. Niskanen, and U. Emanuelson. 2010. Blood profiles in dairy cows with displaced abomasum. *J. Dairy Sci.* 93:4691–4699. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3295>.
- Suttler, F., E. Rauch, M. Erhard, R. Sargent, C. Weber, W. Heuwieser, and S. Borchardt. 2020. Evaluation of different analytical methods to assess failure of passive transfer in neonatal calves. *J. Dairy Sci.* 103:5387–5397. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17928>.
- Talke, H., and G. E. Schubert. 1965. Enzymatic urea determination in the blood and serum in the Warburg optical test. *Klin. Wochenschr.* 43:174–175. <https://doi.org/10.1007/BF01484513> (in German).
- Tatone, E. H., T. F. Duffield, S. J. LeBlanc, T. J. DeVries, and J. L. Gordon. 2017. Investigating the within-herd prevalence and risk factors for ketosis in dairy cattle in Ontario as diagnosed by the test-day concentration of  $\beta$ -hydroxybutyrate in milk. *J. Dairy Sci.* 100:1308–1318. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11453>.
- Tremblay, M., M. Kammer, H. Lange, S. Plattner, C. Baumgartner, J. A. Stegeman, J. Duda, R. Mansfeld, and D. Döpfer. 2018. Identifying poor metabolic adaptation during early lactation in dairy cows using cluster analysis. *J. Dairy Sci.* 101:7311–7321. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13582>.
- Tyler, J. W., B. J. Stevens, D. E. Hostetler, J. M. Holle, and J. L. Denbigh Jr.. 1999. Colostral immunoglobulin concentrations in Holstein and Guernsey cows. *Am. J. Vet. Res.* 60:1136–1139.
- Van Saun, R. J. 2016. Indicators of dairy cow transition risks: Metabolic profiling revisited. *Tierarztl. Prax. Ausg. G Grosstiere Nutztiere* 44:118–126. <https://doi.org/10.15653/TPG-150947>.
- VanHouten, J., P. Dann, G. McGeoch, E. M. Brown, K. Krapcho, M. Neville, and J. J. Wysolmerski. 2004. The calcium-sensing receptor regulates mammary gland parathyroid hormone-related protein production and calcium transport. *J. Clin. Invest.* 113:598–608. <https://doi.org/10.1172/JCI200418776>.
- VanHouten, J. N., M. C. Neville, and J. J. Wysolmerski. 2007. The calcium-sensing receptor regulated plasma membrane calcium adenosine triphosphatase isoform 2 activity in mammary epithelial cells: a mechanism for calcium-regulating calcium transport into milk. *Endocrinology* 148:5943–5954. <https://doi.org/10.1210/en.2007-0850>.
- Vogels, Z., G. M. Chuck, and J. M. Morton. 2013. Failure of transfer of passive immunity and gammaglobulinaemia in calves in south-west Victorian dairy herds: prevalence and risk factors. *Aust. Vet. J.* 91:150–158. <https://doi.org/10.1111/avj.12025>.
- Weaver, D. M., J. W. Tyler, D. C. VanMetre, D. E. Hostetler, and G. M. Barrington. 2000. Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *J. Vet. Intern. Med.* 14:569–577. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2000.tb02278.x>.
- Weichselbaum, T. E. 1946. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am. J. Clin. Pathol.* 10:40–49.
- Zaaijer, D., and J. P. T. M. Noordhuizen. 2001. Dairy cow monitoring in relation to fertility performance. *Cattle Pract.* 9:205–210.

## ORCIDIS

Mannela Immmler  <https://orcid.org/0000-0002-8367-6238>

Tanja Gärtner  <https://orcid.org/0000-0003-2522-8514>

Axel Wehrend  <https://orcid.org/0000-0002-3313-4852>

Karsten Donat  <https://orcid.org/0000-0001-5376-0116>

### 3.2 Publikation 2

#### **Maternal impact on serum immunoglobulin and total protein concentration in dairy calves**

Manuela Immler, Kathrin Büttner, Tanja Gärtner, Axel Wehrend und Karsten Donat

Animals 2022; 12, 755

##### 3.2.1 Darstellung des Eigenanteils an Publikation 2

Bei der Publikation „Maternal impact on serum immunoglobulin and total protein concentration in dairy calves“ (Animals 2022; 12(6), 755. doi: 10.3390/ani12060755.) war die Autorin dieser Dissertation die Erstautorin. Das der Publikation zugrunde liegende Projekt wurde von der Thüringer Tierseuchenkasse (AdöR) in Jena, unter der Betreuung von Herrn apl. Prof. Dr. Karsten Donat durchgeführt. Die Konzeption der Studie erfolgte durch Herrn apl. Prof. Dr. Karsten Donat, Herrn Prof. Axel Wehrend, Frau Dr. Kathrin Büttner und Manuela Immler. Die Literaturrecherche erfolgte durch Manuela Immler. Die Probennahme und Laboranalyse wurde von Manuela Immler, Tanja Gärtner und dem Team des Thüringer Tiergesundheitsdienstes durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte durch Frau Dr. Kathrin Büttner, ihrer Mitarbeiter sowie Manuela Immler. Das Manuskript für die Publikation wurde unter der Anleitung von Herrn apl. Prof. Dr. Karsten Donat und Herrn Prof. Axel Wehrend selbständig durch Manuela Immler verfasst und in Zusammenarbeit mit den Koautoren fertiggestellt. Es wurden keine weiteren als die angegebenen Quellen verwendet.

Die Anteile der Autoren an der wissenschaftlichen Arbeit sind in der Publikation angegeben und wurden bei der Einreichung des Manuskripts durch alle Autoren bestätigt.



Article

# Maternal Impact on Serum Immunoglobulin and Total Protein Concentration in Dairy Calves

Manuela Immler <sup>1</sup>, Kathrin Büttner <sup>2</sup>, Tanja Gärtner <sup>1</sup>, Axel Wehrend <sup>3</sup> and Karsten Donat <sup>1,3,\*</sup>

<sup>1</sup> Animal Health Service, Thuringian Animal Diseases Fund, Victor-Goerttler-Straße 4, 07745 Jena, Germany; manuela-immler@web.de (M.I.); tgaertner@thtsk.de (T.G.)

<sup>2</sup> Unit for Biomathematics and Data Processing, Veterinary Faculty, Justus-Liebig-University Gießen, Frankfurter Str. 95, 35392 Giessen, Germany; kathrin.buettner@vetmed.uni-giessen.de

<sup>3</sup> Clinic for Obstetrics, Gynecology and Andrology with Veterinary Ambulance, Justus-Liebig-University Giessen, Frankfurter Str. 106, 35392 Giessen, Germany; axel.wehrend@vetmed.uni-giessen.de

\* Correspondence: kdonat@thtsk.de; Tel.: +49-3641-88550

**Simple Summary:** Ensuring adequate passive transfer of immunoglobulins is of particular importance for calf health status and longtime productivity. This observational field study focused on the influence of the prepartum cow's health status on immunoglobulin transfer, with special emphasis on metabolic health, taking relevant management factors into account. Increased serum concentrations of non-esterified fatty acids in dams were positively associated with increased serum immunoglobulin concentrations in their calves. In addition to well-established management practices, such as feeding more than 2 L of colostrum at the first feeding of calves within four hours and with high-quality maternal colostrum, whole-day birth monitoring was positively related to immunoglobulin transfer. Our results provide evidence that, in addition to newborn management, prepartum energy metabolism in cows influences immunoglobulin transfer and also highlight the importance of health monitoring of close-up cows, as well as the importance of whole-day birth monitoring, to ensure calf health by timely colostrum supply and minimizing the risk of dystocia.

**Abstract:** For dairy calves, sufficient supply with high-quality maternal colostrum is crucial to achieve adequate passive transfer of immunoglobulins. This observational cross-sectional study aimed to determine the influence of the prepartum metabolic status of dams on the serum immunoglobulin and total protein concentrations of their dairy calves, taking other relevant management factors into account. A total of 551 cows and their calves from 124 German dairy farms were included. Blood and urine samples of the cows were sampled 1 to 3 weeks before the expected calving date. Two generalized linear mixed effects regression models were fitted to the data. An increase in a dam's prepartum serum non-esterified fatty acids concentration was associated with greater serum immunoglobulin concentration in her calf. Calves of herds with established birth monitoring at night showed greater serum immunoglobulin and total protein concentrations. Calves being fed more than 2 L of colostrum and higher Brix values for colostrum were related to greater serum immunoglobulin and total protein concentrations in calves. In conclusion, there is evidence that, besides timely and sufficient supply of high-quality colostrum to new-born calves, the prepartum metabolic status of cows and birth monitoring impact the passive transfer of immunoglobulins.

**Keywords:** health monitoring; passive transfer of immunoglobulins; non-esterified fatty acids; birth monitoring



**Citation:** Immler, M.; Büttner, K.; Gärtner, T.; Wehrend, A.; Donat, K. Maternal Impact on Serum Immunoglobulin and Total Protein Concentration in Dairy Calves. *Animals* **2022**, *12*, 755. <https://doi.org/10.3390/ani12060755>

Academic Editors: David H. Grove-White and Joanne W.H. Oultram

Received: 6 February 2022

Accepted: 15 March 2022

Published: 17 March 2022

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Calves are born almost agammaglobulinemic due to the placental structure of the cow and depend on the absorption of immunoglobulins (Ig) after birth [1,2]. Providing newborn calves with high-quality maternal colostrum ensures passive transfer of immunity and is



essential for the good health and longtime productivity of a dairy cow. Insufficient intake of Ig within 24 h after birth risks failure of passive transfer of immunity (FPTI) and can cause long-term damage, such as vulnerability to diseases preweaning and postweaning [3,4], lower average daily gain (ADG) [2], higher morbidity and mortality rates [4–6], reduced first and second lactation milk production [4,6,7], early culling [6] and economic losses [5,8].

Calves' intestinal epithelial cells are capable of absorbing macromolecules, including Ig, non-selectively by pinocytosis for only 24 to 30 h after birth, depending on the time of first feeding [8–10]. After that initial time period, up to nine days of age [11], serum Ig or total protein (TP) concentration can be measured in serum either directly or indirectly by several methods to monitor transfer of Ig [12–14]. To achieve adequate passive transfer (APT), serum Ig concentrations  $\geq 10$  mg/mL, sampled between 24 to 48 h after birth, are to be aimed at [15]. Serum TP measurements are also commonly used for monitoring the passive transfer of Ig [4,6,16] and indirect proxy measurements, i.e., using refractometry, are easy-to-use on-farm tools for reliable estimation of serum Ig concentrations to monitor for FPTI [1,14,17]. Serum TP consists of the albumin fraction and the globulin fractions, with the main part being immunoglobulins, in particular IgG, when measured after colostrum intake. During colostrum intake, the albumin–globulin ratio changes in favor of the globulins [18]. Serum TP concentrations  $< 4.0$ – $5.5$  mg/mL are the most common thresholds for FPTI [4,17].

Numerous factors related to feeding and rearing calves ensuring APT have been studied so far. As a priority, maternal colostrum of high quality, containing at least an Ig concentration of  $> 50$  mg/mL, is recommended [2,8]. Besides Ig, colostrum provides calves with proteins, fat, minerals and vitamins, growth factors, growth hormones and immune cells [19,20]. Due to the rapid decrease in the absorption rate of Ig, calves are supposed to be fed within the first 6 h of life at least 4 L or 8.5–10.0% of their body weight of colostrum [8,15,21]. The frequency with which calves are removed from the calving pen and the method of first colostrum administration influence the adequate supply of Ig. Removing calves less than twice a day from the calving pen and allowing calves to be nursed by their dams showed higher risks of FPTI compared with the use of nipple bottles or esophageal tubes [4,22,23].

In order to investigate the maternal impact on the calves' metabolism and immune status, studies were conducted to examine the effect of energy contents in the dry period diet, fat supplementations, and environmental influences, such as heat stress. Calves from cows fed high-energy diets and additional fat showed improved immune response as well as better apparent efficiency of Ig absorption (AEA) from the small intestine and ADG [24–26]. Tao and Dahl [27] showed a negative effect of late-gestation heat stress and other factors on placental development. These factors result in fetal hypoxia and malnutrition and also reduce AEA and circulating Ig. Furthermore, the metabolic status of the dam during late gestation impacts colostrum quality as measured by Brix refractometry [28].

To the best of our knowledge, there are no studies available investigating the influence of the prepartum metabolic situation of the dam on the serum Ig and TP concentrations of the calf. The aim of this observational cross-sectional study was to investigate the association between the metabolic status of a dam and the transfer of Ig to her calf, taking into consideration relevant well-known management factors influencing passive transfer of Ig. We hypothesize that one or more metabolic parameters measured 1 to 3 weeks ante partum are related to serum Ig and TP concentrations in the calf.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Animals and Study Design

This observational cross-sectional study is part of the study whose design was published in Immler et al. [28]. The study was performed within the framework of the cattle health monitoring project of the Thuringian Animal Health Service, Germany. The project was approved by the Thuringian State Office for Consumer Protection, which is a competent authority for research ethics approval in Thuringia. They granted a formal waiver of the need for animal-use approval because the study was part of the official Cattle Health

Monitoring Program in Thuringian Cattle Herds (2684-04-5-TSK-19-103). Every effort was made to minimize suffering during the sampling of blood and urine and during the clinical examination.

During December 2016 and January 2017, farmers from among the Thuringian Animal Health Service's clientele and two large animal practices in Southern Bavaria, Germany were invited to take part in the study. Ultimately, 124 dairy farms voluntarily participated in the study. The mean herd size was 447 cows (min: 24, max: 1700); cows on all farms were housed in freestalls. Calves were housed in separate boxes. Cows of 96 herds were purebred German Holstein, and the other 28 dairy farms reared other breeds, including Simmental and Brown Swiss cows. Data and sample collection occurred from March 2017 to March 2018.

On each farm, 7 to 10 multiparous cows about 1 to 3 weeks prepartum were selected based on the expected calving date. When necessary, the farms were visited repeatedly to achieve the required number of animals. Overall,  $n = 1053$  cows and their calves were involved. Cows clinically diseased (e.g., pneumonia, mastitis, fever) were not included in the study, except for lame and primiparous cows. Out of the 1053 originally tested cows, the following numbers of animals were excluded for data analysis: 85 (8.1%) parturitions with calving within 24 h, 21 (2.0%) cows with twin births and 12 (1.1%) cows with first parity. Fifty-eight (5.5%) cows were excluded due to missing colostrum samples and four (0.4%) cows were excluded due to missing values of urine creatinine concentration. Furthermore, 150 (14.2%) calves were excluded due to sampling within 24 h or after 9 days of age, 173 (16.4%) calves because they were not fed with colostrum from their own dam and 39 (3.7%) animals were excluded due to missing data regarding newborn management. Finally,  $n = 511$  cows and their calves were included in the data analysis. In addition, the following data on newborn calf management was recorded for each farm on the basis of common practice assessment: time and amount of first colostrum feeding, colostrum quality testing, separate primary calf caretaker and birth control (Table 1).

**Table 1.** Categorical variables with the respective categories and associated numbers of observations of 511 dairy cow–calf pairs included in the data analysis.

| Category                              | Numbers of Observations |
|---------------------------------------|-------------------------|
| BCS                                   |                         |
| BCS 3–4                               | 380                     |
| BCS < 3                               | 48                      |
| BCS > 4                               | 83                      |
| Lameness score                        |                         |
| None                                  | 457                     |
| Low grade                             | 22                      |
| Moderate and high grade               | 32                      |
| Breed                                 |                         |
| German Holstein                       | 406                     |
| Simmental                             | 48                      |
| Brown Swiss                           | 57                      |
| Parity                                |                         |
| Second                                | 198                     |
| ≥Third                                | 313                     |
| Vaccination of the cow                |                         |
| Yes                                   | 281                     |
| No                                    | 230                     |
| Timing of first colostrum feeding (h) |                         |
| <2                                    | 180                     |
| 2 bis 4                               | 298                     |
| >4                                    | 33                      |

**Table 1.** *Cont.*

| Category                        | Numbers of Observations |
|---------------------------------|-------------------------|
| Quantity at first feeding (L)   |                         |
| 1 to 2                          | 146                     |
| >2                              | 365                     |
| Colostrum quality testing       |                         |
| Colostrometer                   | 97                      |
| Optical refractometer           | 45                      |
| Digital refractometer           | 22                      |
| None                            | 347                     |
| Separate primary calf caretaker |                         |
| Yes                             | 206                     |
| No                              | 305                     |
| Birth monitoring                |                         |
| Every 2 h                       | 420                     |
| Occasionally                    | 79                      |
| Rarely                          | 12                      |
| Birth monitoring at night       |                         |
| Yes                             | 252                     |
| No                              | 246                     |
| Only heifers                    | 13                      |

BCS: body condition score.

## 2.2. Clinical Examination, Sampling Protocol

The clinical examination of the dam was described in detail by Immler et al. [28] and included rectal temperature, body condition score (BCS), lameness score and rumen fill. Any kind of vaccination of the cow during the actual dry period was queried. Four well-experienced veterinary specialists in cattle medicine performed the clinical examination. Scoring was standardized according to a specific training scheme in order to minimize interobserver variability. Following the clinical examination, blood was harvested from the coccygeal vein into a 10 mL sterile BD Vacutainer® (Clot Activator Tube, Becton Dickinson, Plymouth, UK) with an 18-gauge needle, and urine samples were collected in tubes using a sterile stainless-steel bladder catheter.

Calves were sampled between 1 and 9 days of age. Blood was harvested from the jugular vein into a 10 mL sterile BD Vacutainer® (Clot Activator Tube, Becton Dickinson, Plymouth, UK) with an 18-gauge needle.

Samples were transported to the laboratory within three hours after collection or were shipped on ice to the laboratory overnight. The blood samples were centrifuged at room temperature within 24 h after collection (30 min, 4800 × g) and serum and urine samples were frozen at −20 °C until further processing. Colostrum samples were stored at 4 °C until analysis.

## 2.3. Laboratory Analysis

Samples were analyzed in the laboratory of the Thuringian Animal Health Service in Jena, Germany. The laboratory is an accredited veterinary test laboratory under license of the German Accreditation Body according to the quality standards of the German and European Standard DIN EN ISO 17025. Selected metabolites for cows were serum activities of creatine kinase (CK), glutamate dehydrogenase (GLDH) and aspartate aminotransferase (AST), as well as serum concentrations of TP, albumin, urea, cholesterol, non-esterified fatty acids (NEFA), bilirubin, calcium, magnesium, phosphorus and selenium. For urine samples, net acid base excretion was determined as well as concentrations of calcium, potassium, sodium and creatinine. Selected metabolites for calves were serum concentrations of albumin, TP and Ig.

Serum samples of cows were analyzed by automated spectrophotometry (Beckman Coulter Unicel DxC 600<sup>®</sup>, Beckman Coulter GmbH, Krefeld, Germany) using the bromocresol green method for albumin (g/L), a timed endpoint method for inorganic phosphorus (mmol/L), cholesterol (mmol/L), total protein (g/L) and magnesium (mmol/L), an enzymatic determination method according to the International Federation for Clinical Chemistry for aspartate aminotransferase (nkat/L, enzyme code 2.6.1.1), glutamate dehydrogenase (nkat/L, enzyme code 1.4.1.2), urea (mmol/L) and creatine kinase (μkat/L, enzyme code 2.7.3.2), an indirect ion-selective potentiometry for calcium (mmol/L), the diazochloranilin method for bilirubin (μmol/L) and an enzymatic colorimetric method for non-esterified fatty acids (mmol/L). Serum samples of calves were analyzed for albumin (g/L) and TP (g/L), as described above for cows.

The serum Ig concentration of calves was measured photometrically using an indirect proxy measurement (precipitation with sodium sulfate solution) as follows: after pipetting 30 μL serum into each of two test tubes, 2000 μL of sodium sulfate solution was added into the test tubes and intensively mixed. Samples were incubated for 30 min in warm water (30 °C). Absorbance of samples was measured photometrically (photometer: PerkinElmer Lambda 11UV/VIS) at 530 nm against sodium sulfate solution, together with absorbances of control serum (Assayed Bovine Multi-Sera, Level 2, Randox Laboratories Ltd., Crumlin, UK) and standard solution. Immunoglobulin concentrations of the samples (g/L) were calculated according to the following formula:

$$cs = (As \times cst) / st$$

where  $cs$  = Ig concentration of the sample in g/L,  $As$  = absorbance of sample;  $cst$  = Ig concentration of the standard solution in g/L, and  $Ast$  = absorbance of the standard solution.

Selenium serum concentration in each of the cow samples was analyzed using inductively coupled mass spectrometry (DIN EN ISO 17294: 2017-01) by an external laboratory (SGS Analytics Germany GmbH site Jena, former Synlab Analytics & Services Germany GmbH site Jena, Hamburg, Germany).

The urine samples of the cows were analyzed for sodium (mmol/L), calcium (mmol/L) and potassium (mmol/L) by indirect ion-selective potentiometry. Creatinine (mmol/L) was analyzed by the modified kinetic Jaffé method, and net acid–base excretion (mmol/L) was determined by the titrimetric method described by Kutas [29].

Colostrum samples were analyzed using the digital refractometer HI96811 (Hanna Instruments, Vöhringen, Germany) with a range of 0–50% Brix, according to the manufacturer's instructions.

#### 2.4. Statistical Analysis

Data were prepared using Microsoft<sup>®</sup> Office Excel 2016 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA). All further computations were made with R version 4.0.4 (15 February 2021) (Free Software Foundation's GNU project, 2018) using R-package lme4 and R-Function lmer.

Associations between the serum Ig concentration of calves and the continuous variables and categorical variables, as well as the associations between the serum TP concentrations of calves and the continuous variables and categorical variables, were calculated separately. A sample size calculation was not performed due to the observational character of this study and the wide range of parameters included in a multivariable approach. Pearson's correlation coefficients were calculated to describe the associations between the variables in the respective models. For all fixed effects, correlation coefficients between  $-0.50$  and  $0.50$  were calculated, except for 'GLDH' and 'AST' ( $r = 0.54$ ) and 'NABE' and 'potassium in urine' ( $r = 0.59$ ). It is assumed that correlation coefficients less than  $0.7$  do not point to collinearity among the independent variables. In addition, we checked this assumption by calculation variance inflation factors which ranged between  $1.13$  and  $3.17$ . According to Hair et al. [30], only variance inflation values above  $10$  indicate multicollinearity. This was not the case in the present study. Generalized linear mixed effects

regression models with hierarchically structured random effects (cow within herd) using the maximum likelihood method were fitted to the data to identify associations between the respective outcomes, Ig and TP concentration, cow level variables as predictors and ‘days before calving’ (DBC) as covariable.

For model building, stepwise backward elimination was carried out. In the first step, all possible independent variables and covariables available were included in the model. In the second step, only those variables were kept in the model with a *p*-value for the regression coefficient  $\leq 0.5$ . In the third step, the reduced model from the second step was further modified as only those variables were kept in the model with a *p*-value for the regression coefficient  $\leq 0.25$ . After these three backward elimination steps, the final model was created. Variables included in the initial model, with their medians, quartiles, minimums, and maximums (continuous variables) or frequencies (categorical variables), are given in Tables 1 and 2. The covariable DBC and the following variables were not normally distributed and therefore log-transformed for analysis purposes: serum activities of CK, AST and GLDH, serum concentrations of cholesterol, bilirubin and NEFA, and urine concentrations of calcium and sodium. Breed, BCS, lameness, parity, vaccination, timing of first feeding, quantity at first feeding, colostrum quality testing, separate primary calf caretaker, birth monitoring and birth monitoring at night, as well as all metabolic variables, were included as fixed effects, and herd and cow within herd as random effects. The log-transformed variable DBC was included as covariable. The fit of the model was assessed using Schwarz’s Bayesian information criterion (BIC).

**Table 2.** Medians, quartiles, minimums and maximums of metabolic variables and Brix values of 511 German dairy cows and their calves <sup>1</sup>.

|                                  | Median | 1st Quartile | 3rd Quartile | Minimum | Maximum |
|----------------------------------|--------|--------------|--------------|---------|---------|
| Brix (%)                         | 23.0   | 19.5         | 26.0         | 7.2     | 39.9    |
| Days before calving of sampling  | 9.0    | 5.0          | 13.0         | 2.0     | 45.0    |
| Concentration in serum (calf)    |        |              |              |         |         |
| Immunoglobulin G (g/L)           | 12.1   | 7.9          | 16.5         | 2.0     | 36.8    |
| Total protein (g/L)              | 56.2   | 50.9         | 62.3         | 36.9    | 94.8    |
| Albumin (g/L)                    | 26.8   | 25.6         | 28.0         | 17.6    | 35.8    |
| Concentration in serum (cow)     |        |              |              |         |         |
| Total protein (g/L)              | 65.2   | 61.4         | 69.4         | 47.1    | 86.0    |
| Albumin (g/L)                    | 32.2   | 31.1         | 33.5         | 22.3    | 37.2    |
| Inorganic phosphorus (mmol/L)    | 2.02   | 1.83         | 2.22         | 0.87    | 3.23    |
| AST <sup>2</sup> (nkat/L)        | 1057.0 | 926.0        | 1238.0       | 626.0   | 3520.0  |
| Bilirubin (µmol/L)               | 2.83   | 2.30         | 3.44         | 0.76    | 13.94   |
| Calcium (mmol/L)                 | 2.36   | 2.29         | 2.44         | 1.61    | 2.89    |
| Cholesterol (mmol/L)             | 2.24   | 1.88         | 2.67         | 0.56    | 6.14    |
| CK <sup>3</sup> (µkat/L)         | 1.83   | 1.33         | 2.94         | 0.33    | 142.0   |
| NEFA <sup>4</sup> (mmol/L)       | 0.26   | 0.23         | 0.33         | 0.17    | 1.61    |
| GLDH <sup>5</sup> (nkat/L)       | 178.8  | 127.6        | 279.2        | 51.6    | 4995.0  |
| Urea (mmol/L)                    | 4.3    | 3.6          | 5.0          | 0.9     | 10.1    |
| Magnesium (mmol/L)               | 0.93   | 0.86         | 0.99         | 0.63    | 1.38    |
| Selenium (µmol/L)                | 0.68   | 0.57         | 0.77         | 0.10    | 1.05    |
| Concentration in urine (cow)     |        |              |              |         |         |
| Calcium (mmol/L)                 | 1.4    | 0.5          | 4.2          | 0.4     | 22.0    |
| Potassium (mmol/L)               | 248.2  | 193.1        | 290.2        | 28.8    | 469.4   |
| Creatinine (mmol/L)              | 11.9   | 8.6          | 15.8         | 1.5     | 36.5    |
| Sodium (mmol/L)                  | 33.1   | 5.5          | 78.0         | 5.0     | 287.4   |
| Net acid-base excretion (mmol/L) | 97.0   | 55.0         | 150.0        | −60.0   | 340.0   |

<sup>1</sup> Brix values measured in colostrum samples between March 2017 and March 2018 by digital refractometry. Metabolic variables measured in blood and urine samples collected during the close-up period for cows and after birth for calves. <sup>2</sup> AST: aspartate aminotransferase. <sup>3</sup> CK: creatine kinase. <sup>4</sup> NEFA: non-esterified fatty acids. <sup>5</sup> GLDH: glutamate dehydrogenase.

Variables included in the final model for serum Ig concentration of the calf are presented in Table 3. Variables included in the final model for serum TP concentration of the calf are presented in Table 4.

The Wald test was used to estimate the effect of BCS, breed, timing of first feeding, quantity at first feeding, colostrum quality testing, separate primary calf caretaker and birth monitoring at night on serum Ig and TP concentration. Furthermore, multiple comparisons were carried out for breed, quantity at first milking and birth monitoring at night. Statistical differences in least squares means were adjusted by the Bonferroni correction.

**Table 3.** Coefficients, SE and 95% CI of variables included in the final linear regression model regarding the association between serum immunoglobulin concentration of 511 calves between March 2017 and March 2018 as measured by an indirect proxy measurement and cow-level variables measured 1 to 3 weeks before calving, including Brix values of colostrum samples.

| Item                             | Coefficient | SE        | CI 95%      |             | p-Value   | Wald Test | p-Value |
|----------------------------------|-------------|-----------|-------------|-------------|-----------|-----------|---------|
|                                  |             |           | Lower Bound | Upper Bound |           |           |         |
| BCS                              |             |           |             |             |           |           |         |
| BCS 3–4                          | Reference   | Reference |             |             | Reference | 4.845     | 0.09    |
| BCS < 3                          | 1.998       | 0.91      | 0.20        | 3.79        | 0.03      |           |         |
| BCS > 4                          | 0.269       | 0.77      | −1.24       | 1.78        | 0.73      |           |         |
| Breed                            |             |           |             |             |           |           |         |
| German Holstein                  | Reference   | Reference |             |             | Reference | 3.639     | 0.16    |
| Simmental                        | −1.510      | 1.22      | −3.91       | 0.89        | 0.22      |           |         |
| Brown swiss                      | −1.891      | 1.05      | −3.96       | 0.18        | 0.07      |           |         |
| Timing of first feeding (h)      |             |           |             |             |           |           |         |
| <2                               | Reference   | Reference |             |             | Reference | 4.002     | 0.14    |
| 2–4                              | −0.842      | 0.76      | −2.33       | 0.65        | 0.27      |           |         |
| >4                               | −2.783      | 1.42      | −5.59       | 0.02        | 0.05      |           |         |
| Quantity at first feeding (L)    |             |           |             |             |           |           |         |
| 1–2                              | Reference   | Reference |             |             | Reference | 8.305     | <0.01   |
| >2                               | 2.256       | 0.78      | 0.72        | 3.80        | <0.01     |           |         |
| Birth monitoring at night        |             |           |             |             |           |           |         |
| Yes                              | Reference   | Reference |             |             | Reference | 8.670     | 0.01    |
| No                               | −2.074      | 0.78      | −3.62       | −0.53       | <0.01     |           |         |
| Only Heifers                     | −3.165      | 2.09      | −7.28       | 0.95        | 0.13      |           |         |
| Brix value of colostrum (%)      | 0.213       | 0.05      | 0.12        | 0.32        | <0.01     |           |         |
| Serum concentration of calves    |             |           |             |             |           |           |         |
| Albumin (g/L)                    | −0.786      | 0.14      | −1.05       | −0.52       | <0.01     |           |         |
| Serum concentration of cows      |             |           |             |             |           |           |         |
| Albumin (g/L)                    | 0.165       | 0.14      | −0.12       | 0.45        | 0.25      |           |         |
| Billirubin (log) (μmol/L)        | −2.341      | 1.76      | −5.81       | 1.13        | 0.19      |           |         |
| NEFA <sup>1</sup> (log) (mmol/L) | 4.939       | 2.27      | 0.48        | 9.40        | 0.03      |           |         |
| Urine concentration of cows      |             |           |             |             |           |           |         |
| Urea (mmol/L)                    | −0.240      | 0.24      | −0.71       | 0.23        | 0.31      |           |         |
| Creatinine (mmol/L)              | −0.060      | 0.05      | −0.16       | 0.04        | 0.24      |           |         |

<sup>1</sup> NEFA: non-esterified fatty acids. BCS: body condition score, SE: Standard error. CI: Confidence interval.

**Table 4.** Coefficients, SE and 95% CI of variables included in the final linear regression model regarding the association between serum total protein concentration of 511 calves between March 2017 and March 2018 and cow-level variables measured 1 to 3 weeks before calving, including Brix values of colostrum samples.

| Item                                  | Coefficient | SE        | CI 95%      |             | p-Value   | Wald Test | p-Value |
|---------------------------------------|-------------|-----------|-------------|-------------|-----------|-----------|---------|
|                                       |             |           | Lower Bound | Upper Bound |           |           |         |
| Breed                                 |             |           |             |             |           |           |         |
| German Holstein                       | Reference   | Reference |             |             | Reference |           |         |
| Simmental                             | −4.288      | 1.66      | −7.56       | −1.01       | 0.01      | 9.863     | <0.01   |
| Brown swiss                           | −3.940      | 1.48      | −6.86       | −1.02       | <0.01     |           |         |
| Timing of first feeding (h)           |             |           |             |             |           |           |         |
| <2                                    | Reference   | Reference |             |             | Reference |           |         |
| 2–4                                   | −0.865      | 1.03      | −2.89       | 1.16        | 0.40      | 3.763     | 0.15    |
| >4                                    | −3.755      | 1.94      | −7.58       | 0.07        | 0.05      |           |         |
| Quantity at first feeding (L)         |             |           |             |             |           |           |         |
| 1–2                                   | Reference   | Reference |             |             | Reference |           |         |
| >2                                    | 3.072       | 1.06      | 0.99        | 5.16        | <0.01     | 8.411     | <0.01   |
| Separate primary calf caretaker       |             |           |             |             |           |           |         |
| Yes                                   | Reference   | Reference |             |             | Reference |           |         |
| No                                    | −1.512      | 0.89      | −3.26       | 0.23        | 0.09      | 2.907     | 0.09    |
| Birth monitoring at night             |             |           |             |             |           |           |         |
| Yes                                   | Reference   | Reference |             |             | Reference |           |         |
| No                                    | −3.082      | 1.08      | −5.21       | −0.96       | <0.01     | 8.565     | 0.01    |
| Only Heifers                          | −2.427      | 2.85      | −8.03       | 3.17        | 0.39      |           |         |
| Days before calving of sampling (log) | −1.432      | 1.43      | −4.09       | 1.22        | 0.29      |           |         |
| Brix of the colostrum (%)             | 0.259       | 0.08      | 0.12        | 0.41        | <0.01     |           |         |
| Serum concentration of cows           |             |           |             |             |           |           |         |
| Albumin (g/L)                         | 0.331       | 0.22      | −0.10       | 0.76        | 0.13      |           |         |
| ASAT <sup>1</sup> (log) (nkat/L)      | −4.070      | 3.55      | −11.05      | 2.91        | 0.25      |           |         |
| Bilirubin (log) (μmol/L)              | −2.560      | 2.49      | −7.46       | 2.34        | 0.30      |           |         |
| Calcium (mmol/L)                      | −3.850      | 3.12      | −9.99       | 2.29        | 0.22      |           |         |
| NEFA <sup>2</sup> (log) (mmol/L)      | 4.882       | 3.42      | −1.85       | 11.61       | 0.15      |           |         |
| Urea (mmol/L)                         | −0.504      | 3.42      | −1.16       | 0.15        | 0.15      |           |         |
| Urine Concentration of cows           |             |           |             |             |           |           |         |
| Calcium (log) (mmol/L)                | −1.162      | 0.92      | −2.98       | 0.66        | 0.21      |           |         |
| Creatinine (mmol/L)                   | −0.099      | 0.07      | −0.24       | 0.04        | 0.17      |           |         |

<sup>1</sup> ASAT: aspartate aminotransferase. <sup>2</sup> Non-esterified fatty acids. SE: Standard error. CI: Confidence interval.

### 3. Results

Samples of all cows were collected, on average, 10.3 days before calving, ranging from 2 to 45 days, and calves were sampled, on average, 2.9 days after birth. The overall mean ( $\pm$  standard deviation) serum Ig concentration of the calves was 12.7 g/L ( $\pm$  6.4), with a minimum of 2.0 g/L and a maximum of 36.8 g/L. The overall mean ( $\pm$  SD) serum TP concentration of the calves was 57.1 g/L ( $\pm$  8.6), with a minimum of 36.9 g/L and a maximum of 94.8 g/L. For all metabolic variables, a detailed description is presented in Table 2.

#### 3.1. Associations between the Serum Ig Concentrations of Calves and Cow-Level Variables

Higher serum Ig concentrations in calves were associated with increasing serum NEFA concentrations ( $p = 0.03$ ) and Brix values ( $p < 0.01$ ), and a negative association with calf serum albumin concentrations ( $p < 0.01$ ) was identified. With respect to the Wald test, in herds with established frequent birth monitoring at night, serum Ig concentrations in calves were higher compared to herds with no birth monitoring at night (12.6 g/L vs. 10.5 g/L, LSM, respectively;  $p = 0.05$ ). Calves fed more than 2 L of colostrum at first feeding had

greater serum Ig concentrations compared to calves fed 1–2 L of colostrum (11.95 g/L vs. 9.69 g/L, LSM, respectively;  $p < 0.01$ ; Table 5).

**Table 5.** Least squares means (LSM) (SE), minimum and maximum of immunoglobulin and total protein concentration from the final model, measured in serum of 511 calves between March 2017 and March 2018, regarding breed, quantity at first feeding of colostrum and birth monitoring at night.

|                               | Immunoglobulin Concentration |                             |         |         |
|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|---------|---------|
|                               | <i>n</i>                     | LSM (SE)                    | Minimum | Maximum |
| Quantity at first feeding (L) |                              |                             |         |         |
| 1–2                           | 146                          | 9.69 (1.01) <sup>a</sup>    | 2.8     | 28.7    |
| >2                            | 365                          | 11.95 (1.02) <sup>b</sup>   | 2.0     | 36.8    |
| Birth monitoring at night     |                              |                             |         |         |
| Yes                           | 252                          | 12.6 (0.76) <sup>a</sup>    | 2.0     | 36.8    |
| No                            | 246                          | 10.5 (0.96) <sup>b</sup>    | 2.3     | 36.2    |
| Only heifers                  | 13                           | 9.4 (2.18) <sup>ab</sup>    | 2.8     | 16.8    |
|                               |                              | Total protein concentration |         |         |
| Breed                         |                              |                             |         |         |
| German Holstein               | 406                          | 56.4 (1.27) <sup>a</sup>    | 39.3    | 94.8    |
| Simmental                     | 48                           | 52.1 (1.81) <sup>ab</sup>   | 36.9    | 71.0    |
| Brown Swiss                   | 57                           | 52.4 (1.65) <sup>b</sup>    | 38.2    | 74.5    |
| Quantity at first feeding (L) |                              |                             |         |         |
| 1–2                           | 146                          | 52.1 (1.36) <sup>a</sup>    | 36.9    | 80.0    |
| >2                            | 365                          | 55.2 (1.37) <sup>b</sup>    | 39.3    | 94.8    |
| Birth monitoring at night     |                              |                             |         |         |
| Yes                           | 252                          | 55.5 (1.01) <sup>a</sup>    | 36.9    | 90.0    |
| No                            | 246                          | 52.4 (1.31) <sup>b</sup>    | 39.3    | 94.8    |
| Only heifers                  | 13                           | 53.0 (2.99) <sup>ab</sup>   | 40.2    | 62.6    |

<sup>a,b</sup> Values with different letters indicate differences within each category ( $p \leq 0.05$ ). LSM (SE): Least squares means (Standard error).

The associations between calf serum Ig concentration and BCS ( $p = 0.09$ ), breed ( $p = 0.16$ ), timing of first feeding ( $p = 0.14$ ), dam's serum albumin concentration ( $p = 0.25$ ), log(bilirubin) ( $p = 0.19$ ) and urea ( $p = 0.31$ ) and creatinine levels ( $p = 0.24$ ) were statistically not significant (Table 3).

### 3.2. Associations between Calf Serum TP Concentrations and Cow-Level Variables

With respect to the Wald test, higher serum TP concentrations in calves were related to established birth monitoring at night compared to no birth monitoring at night (55.5 g/L vs. 52.4 g/L, LSM, respectively;  $p = 0.03$ ). Furthermore, calves fed more than 2 L at first feeding had higher serum TP concentrations compared to calves fed only 1–2 L (55.2 g/L vs. 52.1 g/L, LSM, respectively;  $p < 0.01$ ). Regarding breed, calves of Holstein Friesian cows showed higher LSMs of TP concentrations (56.4 g/L) compared to Simmental (52.1 g/L,  $p = 0.05$ ) and Brown Swiss cows (52.4 g/L,  $p = 0.04$ ; Table 5).

A positive association with calf serum TP concentrations was identified for Brix values ( $p < 0.01$ ). The associations between calf serum TP concentrations and 'timing of first feeding' ( $p = 0.15$ ), separate primary calf caretaker ( $p = 0.09$ ), DBC ( $p = 0.29$ ), dam's serum albumin concentration ( $p = 0.13$ ), log(AST) ( $p = 0.25$ ), log(bilirubin) ( $p = 0.30$ ), calcium ( $p = 0.22$ ), NEFA ( $p = 0.15$ ), urea ( $p = 0.15$ ), log(calcium in urine) ( $p = 0.21$ ) as well as creatinine ( $p = 0.17$ ) were statistically not significant (Table 4).

## 4. Discussion

High colostrum quality and its supply within 24 h postpartum are crucial to keep calves healthy [2,6,8]. Maternal factors influencing colostrum quality, as determined by Brix refractometry, were investigated recently [28]. Our study was performed to identify relationships between health and metabolic parameters of close-up cows and serum Ig



and TP concentrations of their calves as measured between 1 and 9 days of age. Serum Ig and TP concentration of calves are two common parameters to indicate FPTI, if serum Ig concentrations below 10 g/L and serum TP concentrations below 4.0–5.5 g/dL are measured [4,6,31–33]. In this study, well-accepted variables influencing FPTI, such as colostrum quality and supply, were recorded as well so as to be able to account for them in the multivariable models and minimize confounding.

The most striking finding in this study was a positive relationship between the serum NEFA concentration of a dam and the serum Ig concentration of her calf. Metabolic changes during the transition period are challenging for dairy cows [34–36]. Lipolysis, and consequently elevated serum NEFA concentrations, indicate negative energy balances (NEB) during this period, ensuring the additional energy demand [35–37]. Various *in vitro* studies have substantiated the negative effects of serum NEFA concentrations in dams on peripheral blood mononuclear cell (PBMC) proliferation and reduced INF-gamma secretion [35,38]. In contrast, a positive association between serum NEFA concentrations and natural antibodies in milk was identified in dairy cows [39]. Recently, a link between prenatal immune stimulation of dams by repeated lipopolysaccharide challenge and serum NEFA concentrations of beef heifers at weaning was reported [40]. Similarly, our results suggest a biological link between an assumed immune challenge, raising serum NEFA concentrations in dams and increased serum Ig concentrations in calves. A possible explanation of this phenomenon might be a presumed association between increasing serum Ig concentrations in dams caused by immune stimulation and serum Ig concentrations in their calves [41], probably caused by increased colostrum Ig concentrations due to increased plasma Ig concentrations in dams. In general, there is evidence that the serum NEFA concentration of the dam, as an indicator of NEB, is involved in the function of the immune system. Predominantly, PBMCs and cytokine secretion are negatively influenced by raising serum NEFA concentrations in the dam [35,38,42]. A positive effect of serum NEFA concentrations in dams on serum Ig concentrations in calves has not yet been described. Further studies should take up these findings to clarify the biological background of this association.

Although BCS barely missed significance in our study, we observed that calves of thin cows (BCS < 3) showed higher serum Ig concentrations compared to the reference group of cows (BCS 3–4). This is in line with the results of another study on the relationship between BCS and lymphocyte function in periparturient cows, where overconditioned cows had lower IgM secretion and INF-gamma secretion compared to medium and thin cows [34]. Remarkably, a study on the presence of lymphocytes in colostrum found that BCS was positively related to the presence of lymphocytes in colostrum [43]. Taken together, there is some evidence that the body condition of dams is associated with immune function (PBMC function, cytokine secretion) and serum Ig concentration in calves. To the best of our knowledge, relationships between BCS and serum Ig concentrations in calves have not yet been studied; further investigations should clarify this issue.

Birth monitoring at night was associated with serum Ig and TP concentrations in calves. We assume a close link between whole-time birth monitoring and early supply of colostrum. Furthermore, care intensity might play a vital role in avoiding dystocia, which can cause acidosis, hypoxia and reduced suckling behavior in newborn calves. Moreover, pain reduces colostrum intake as well as APT [3,44–46]. Whole-day frequent birth monitoring, especially during the night, can avoid these weaknesses and can be recommended to improve colostrum supply and reduce the risk of non-vital calves.

A strength of our study is that we recorded variables reflecting colostrum supply to newborn calves and its quality and included them in our model, accounting for them in the multivariable models to avoid confounding. The management factors ‘volume of colostrum at first feeding’ and ‘timing to first colostrum feeding’ are well-known to be crucial factors in supplying calves with sufficient Ig [2] and therefore have been included in our model. Our results show that calves fed more than 2 L of colostrum at first feeding had higher serum Ig and TP concentrations compared to calves only fed 1–2 L. These results are consistent with those of other studies [15,21]. Even though ‘timing to first feeding’ showed

no significance in our study, other studies have demonstrated its importance [21,47], and it is recommended to feed calves within 1–2 h after birth [2]. Furthermore, serum albumin concentration of calves, representing the largest protein fraction at birth, was included in the model because it is related to serum Ig concentration [18,48]. During the first 30 days of life, albumin concentration changes, with an initial decrease, followed by a continuous increase. In contrast, serum Ig concentration increases after colostrum intake and decreases continuously until the development of the immune function of the calves [18]. Similar results were obtained by Bogin et al. [48]. The calculated ratio of albumin to globulin describes the relative distribution of these two protein fractions and changes accordingly during the first weeks of life. If serum TP concentration is used to control for APT, high serum albumin concentrations can mask Ig deficiency [49].

In our study, we analyzed the most common variables to measure FPTI in calf blood serum in parallel, i.e., the serum concentrations of Ig and TP, allowing us to identify factors which are associated with both outcomes. As proxy measurements, precipitation with sodium sulfate solution for Ig and automated spectrophotometry for TP are commonly used in the field [14]; we determined the associations between management practices variables and serum Ig, as well as TP concentrations in calves and cow-level variables, independently. For example, birth monitoring at night was related to both outcome variables which improved the evidence of this finding. NEFA was associated with serum concentrations of Ig but not TP. On the one hand, this may reflect a lower level of evidence, and suggests, on the other hand, that associations with FPTI were identified when serum Ig concentrations were measured rather than serum TP concentrations. Nonetheless, when on-farm refractometry is used, measuring TP is a valuable test for screening for FPT because the convenience of on-farm testing allows a greater number of samples than laboratory testing [17]. For further investigations on factors influencing FPTI, serum Ig measurement may be the preferable variable.

A limitation of our study is that we recorded variables related to the supply of colostrum and the management of newborns at the herd level but not at the individual level. The hierarchical model enabled us to consider these as herd level variables, but accuracy was limited compared to individual recording. Taking into account that accuracy of individual recording by farmers would have been limited by interobserver variability, a herd-level classification in at most three categories can be considered a good compromise between accuracy and recordability.

Furthermore, a meaningful determination of a discrete sample size was limited due to the observational character of this study and a wide range of parameters included in a multivariable approach. Therefore, a sample size calculation was not performed, limiting the external validity of our study. Metabolic imbalances of prepartum cows seem to impact adequate passive transfer of Ig but pathophysiological backgrounds need to be further investigated.

## 5. Conclusions

From our results we conclude that the metabolism of the cow is related to passive transfer of Ig. We found evidence that the serum NEFA concentration of the dam prepartum might be a suitable candidate parameter to investigate this association. Regarding the pathophysiological backgrounds, an interaction of body condition, fat mobilization and immune reaction prepartum is assumed to be of particular importance and needs to be further investigated. We identified clear relationships between gamma globulin concentration and colostrum quality, as determined by Brix refractometry and the management of colostrum supply. Whole-day birth monitoring, which enables timely colostrum supply and minimizes the risk of dystocia, was proven to be a relevant factor to improve APT and calf health.

**Author Contributions:** Conceptualization, K.D., M.I., K.B. and A.W.; methodology, T.G., K.B. and M.I.; validation, K.B., T.G. and M.I.; formal analysis, M.I., K.B. and K.D.; investigation, M.I. and K.D.; resources, K.D.; data curation, M.I. and T.G.; writing—original draft preparation, M.I.; writing—review and editing, M.I., K.D. and A.W.; visualization, M.I.; supervision, K.D. and A.W.; project administration, K.D.; funding acquisition, K.D. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** There was no external funding for this research.

**Institutional Review Board Statement:** The study was performed within the framework of the cattle health monitoring project of the Thuringian Animal Health Service, Germany. The project was approved by the Thuringian State Office for Consumer Protection, which is a competent authority for research ethics approval in Thuringia. They granted a formal waiver of the need for animal-use approval because the study was part of the official Cattle Health Monitoring Program in Thuringian Cattle Herds (2684-04-5-TSK-19-103). Every effort was made to minimize suffering during the sampling of blood and urine and during the clinical examination.

**Data Availability Statement:** Data is contained within the article (Tables 1–5). Details of the laboratory analysis are available on request.

**Acknowledgments:** We gratefully recognize the participating dairy producers for supplying data and assisting with the sampling. The authors thank the veterinarians and the laboratory staff of the Animal Health Service department of the Thuringian Animal Diseases Fund (Jena, Germany) for their technical assistance and the board of administration for budgeting this study.

**Conflicts of Interest:** The authors have not stated any conflicts of interest.

## References

- McCracken, M.M.; Morrill, K.M.; Fordyce, A.L.; Tyler, H.D. Technical note: Evaluation of digital refractometers to estimate serum immunoglobulin G concentration and passive transfer in Jersey calves. *J. Dairy Sci.* **2017**, *100*, 8438–8442. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Godden, S.; Lombard, J.E.; Woolums, A.R. Colostrum Management for Dairy Calves. *Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract.* **2019**, *35*, 535–556. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Furman-Fratczak, K.; Rzasa, A.; Stefaniak, T. The influence of colostrum immunoglobulin concentration in heifer calves' serum on their health and growth. *J. Dairy Sci.* **2011**, *94*, 5536–5543. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Vogels, Z.; Chuck, G.M.; Morton, J.M. Failure of transfer of passive immunity and gammaglobulinaemia in calves in south-west Victorian dairy herds: Prevalence and risk factors. *Aust. Vet.* **2013**, *91*, 150–158. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Raboisson, D.; Trillat, P.; Cahuzac, C. Failure of Passive Immune Transfer in Calves: A Meta-Analysis on the Consequences and Assessment of the Economic Impact. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0150452. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Atkinson, D.J.; von Keyserlingk, M.A.G.; Weary, D.M. Benchmarking passive transfer of immunity and growth in dairy calves. *J. Dairy Sci.* **2017**, *100*, 3773–3782. [[CrossRef](#)]
- DeNise, S.K.; Robison, J.D.; Stott, G.H.; Armstrong, D.V. Effects of Passive Immunity on Subsequent Production in Dairy Heifers. *J. Dairy Sci.* **1989**, *72*, 552–554. [[CrossRef](#)]
- Weaver, D.M.; Tyler, J.W.; VanMetre, D.C.; Hostetler, D.E.; Barrington, G.M. Passive transfer of colostrum immunoglobulins in calves. *J. Vet. Intern. Med.* **2000**, *14*, 569–577. [[CrossRef](#)]
- Klaus, G.G.B.; Bennett, A.; Jones, E.W. A Quantitative Study of the Transfer of Colostrum Immunoglobulins to the Newborn Calf. *Immunology* **1969**, *16*, 293–299.
- Bush, L.J.; Staley, T.E. Absorption of Colostrum Immunoglobulins in Newborn Calves. *J. Dairy Sci.* **1980**, *63*, 672–680. [[CrossRef](#)]
- Wilm, J.; Costa, J.H.C.; Neave, H.W.; Weary, D.M.; von Keyserlingk, M.A.G. Technical note: Serum total protein and immunoglobulin G concentrations in neonatal dairy calves over the first 10 days of age. *J. Dairy Sci.* **2018**, *101*, 6430–6436. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Lee, S.-H.; Jaekal, J.; Bae, C.-S.; Chung, B.-H.; Yun, S.-C.; Gwak, M.-J.; Noh, G.-J.; Lee, D.-H. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, Single Radial Immunodiffusion, and Indirect Methods for the Detection of Failure of Transfer of Passive Immunity in Dairy Calves. *J. Vet. Intern. Med.* **2008**, *22*, 212–218. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Buczinski, S.; Gicquel, E.; Fecteau, G.; Takwoingi, Y.; Chigerwe, M.; Vandeweerd, J.M. Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic Accuracy of Serum Refractometry and Brix Refractometry for the Diagnosis of Inadequate Transfer of Passive Immunity in Calves. *J. Vet. Intern. Med.* **2018**, *32*, 474–483. [[CrossRef](#)]
- De Souza, R.S.; dos Santos, L.B.C.; Melo, I.O.; Cerqueira, D.M.; Dumas, J.V.; Leme, F.d.O.P.; Moreira, T.F.; Meneses, R.M.; de Carvalho, A.U.; Farcy-Filho, E.J. Current Diagnostic Methods for Assessing Transfer of Passive Immunity in Calves and Possible Improvements: A Literature Review. *Animals* **2021**, *11*, 2963. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Conneely, M.; Berry, D.P.; Sayers, R.; Murphy, J.P.; Lorenz, I.; Doherty, M.L.; Kennedy, E. Factors associated with the concentration of immunoglobulin G in the colostrum of dairy cows. *Animal* **2014**, *7*, 1824–1832. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

16. Trotz-Williams, L.A.; Leslie, K.E.; Peregrine, A.S. Passive Immunity in Ontario Dairy Calves and Investigation of Its Association with Calf Management Practices. *J. Dairy Sci.* **2008**, *91*, 3840–3849. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Hogan, I.; Doherty, M.; Fagan, J.; Kennedy, E.; Conneely, M.; Brady, P.; Ryan, C.; Lorenz, I. Comparison of rapid laboratory tests for failure of passive transfer in the bovine. *Ir. Vet. J.* **2015**, *68*, 18. [[CrossRef](#)]
18. Tóthová, C.; Nagy, O.; Kováč, G.; Nagyová, V. Changes in the concentrations of serum proteins in calves during the first month of life. *J. Appl. Anim. Res.* **2016**, *44*, 338–346. [[CrossRef](#)]
19. Quigley, J.D.; Strohbehn, R.E.; Kost, C.J.; O'Brien, M.M. Formulation of Colostrum Supplements, Colostrum Replacers and Acquisition of Passive Immunity in Neonatal Calves. *J. Dairy Sci.* **2001**, *84*, 2059–2065. [[CrossRef](#)]
20. Ganz, S.; Bülte, M.; Gajewski, Z.; Wehrend, A. Substances in the bovine colostrum—A survey. *Tierarztl. Prax. Ausg. G Grosstiere Nutztiere.* **2018**, *46*, 178–188. (In German) [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Osaka, I.; Matsui, Y.; Terada, F. Effect of the mass of immunoglobulin (Ig)G intake and age at first colostrum feeding on serum IgG concentration in Holstein calves. *J. Dairy Sci.* **2014**, *97*, 6608–6612. [[CrossRef](#)]
22. Besser, T.E.; Gay, C.C.; Pritchett, L. Comparison of three methods of feeding colostrum to dairy calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **1991**, *198*, 419–422. [[PubMed](#)]
23. Filteau, V.; Bouchard, É.; Fecteau, G.; Dutil, L.; DuTremblay, D. Health status and risk factors associated with failure of passive transfer of immunity in newborn beef calves in Québec. *Can. Vet. J.* **2003**, *44*, 907–913. [[PubMed](#)]
24. Nowak, W.; Mikula, R.; Zachwieja, A.; Paczyńska, K.; Pecka, E.; Drzazga, K.; Ślósarz, P. The impact of cow nutrition in the dry period on colostrum quality and immune status of calves. *Pol. J. Vet. Sci.* **2012**, *15*, 77–82. [[CrossRef](#)]
25. Osorio, J.S.; Trevisi, E.; Ballou, M.A.; Bertoni, G.; Drackley, J.K.; Looor, J.J. Effect of the level of maternal energy intake prepartum on immunometabolic markers, polymorphonuclear leukocyte function, and neutrophil gene network expression in neonatal Holstein heifer calves. *J. Dairy Sci.* **2013**, *96*, 3573–3587. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Jolazadeh, A.R.; Mohammadabadi, T.; Dehghan-banadaky, M.; Chaji, M.; Garcia, M. Effect of supplementation fat during the last 3 weeks of uterine life and the preweaning period on performance, ruminal fermentation, blood metabolites, passive immunity and health of the newborn calf. *Br. J. Nutr.* **2019**, *122*, 1346–1358. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Tao, S.; Dahl, G.E. Invited review: Heat stress effects during late gestation on dry cows and their calves. *J. Dairy Sci.* **2013**, *96*, 4079–4093. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Immler, M.; Failing, K.; Gärtner, T.; Wehrend, A.; Donat, K. Associations between the metabolic status of the cow and colostrum quality as determined by Brix refractometry. *J. Dairy Sci.* **2021**, *104*, 10131–10142. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Kutas, F. Determination of net acid-base excretion in the urine of cattle. *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.* **1965**, *15*, 147–153. [[PubMed](#)]
30. Hair, J.F.; Anderson, R.E.; Tatham, R.L.; Black, W.C. *Multivariate Data Analysis with Readings*, 4th ed.; Prentice-Hall: Englewood Cliffs, NJ, USA, 1995.
31. Tyler, J.W.; Hancock, D.D.; Wiksie, S.E.; Holler, S.L.; Gay, J.M.; Gay, C.C. Use of Serum Protein Concentration to Predict Mortality in Mixed-Source Dairy Replacement Heifers. *J. Vet. Intern Med.* **1998**, *12*, 79–83. [[CrossRef](#)]
32. Beam, A.L.; Lombard, J.E.; Koprak, C.A.; Garber, L.P.; Winter, A.L.; Hicks, J.A.; Schlater, J.L. Prevalence of failure of passive transfer of immunity in newborn heifer calves and associated management practices on US dairy operations. *J. Dairy Sci.* **2009**, *92*, 3973–3980. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Cuttance, E.L.; Mason, W.A.; Laven, R.A.; McDermott, J.; Phyn, C. Prevalence and calf-level risk factors for failure of passive transfer in dairy calves in New Zealand. *N. Z. Vet. J.* **2017**, *65*, 297–304. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Lacetera, N.; Scalia, D.; Bernabucci, U.; Ronchi, B.; Pirazzi, D.; Nardone, A. Lymphocyte Functions in Overconditioned Cows Around Parturition. *J. Dairy Sci.* **2005**, *88*, 2010–2016. [[CrossRef](#)]
35. Ster, C.; Loisel, M.-C.; Lacasse, P. Effect of postcalving serum nonesterified fatty acids concentration on the functionality of bovine immune cells. *J. Dairy Sci.* **2012**, *95*, 708–717. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Gärtner, T.; Gernand, E.; Gottschalk, J.; Donat, K. Relationships between body condition, body condition loss, and serum metabolites during the transition period in primiparous and multiparous cows. *J. Dairy Sci.* **2019**, *102*, 9187–9199. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Scalia, D.; Lacetera, N.; Bernabucci, U.; Demeyere, K.; Duchateau, L.; Burvenich, C. In Vitro Effects of Nonesterified Fatty Acids on Bovine Neutrophils Oxidative Burst and Viability. *J. Dairy Sci.* **2006**, *89*, 147–154. [[CrossRef](#)]
38. Lacetera, N.; Scalia, D.; Franci, O.; Bernabucci, U.; Ronchi, B.; Nardone, A. Short Communication: Effects of Nonesterified Fatty Acids on Lymphocyte Function in Dairy Heifers. *J. Dairy Sci.* **2004**, *87*, 1012–1014. [[CrossRef](#)]
39. Van Knegsel, A.T.M.; de Vries Reilingh, G.; Meulenberg, S.; van den Brand, H.; Dijkstra, J.; Kemp, B.; Parmentier, H.K. Natural Antibodies Related to Energy Balance in Early Lactation Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* **2007**, *90*, 5490–5498. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Carroll, J.A.; Burdick Sanchez, N.C.; Broadway, P.R.; Silva, G.M.; Ranches, J.; Warren, J.; Arthington, J.D.; Lancaster, P.A.; Moriel, P. Prenatal immune stimulation alters the postnatal acute phase and metabolic responses to an endotoxin challenge in weaned beef heifers. *Transl. Anim. Sci.* **2021**, *5*, txab097. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Dudek, K.; Bednarek, D.; Ayling, R.D.; Szcawka, E. Stimulation and analysis of the immune response in calves from vaccinated pregnant cows. *Res. Vet. Sci.* **2014**, *97*, 32–37. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Contreras, G.A.; Strieder-Barboza, C.; De Koster, J. Symposium review: Modulating adipose tissue lipolysis and remodeling to improve immune function during the transition period and early lactation of dairy cows. *J. Dairy Sci.* **2018**, *101*, 2737–2752. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

43. Meganck, V.; Goddeeris, B.M.; De Campeneere, S.; Hostens, M.; Van Eetvelde, M.; Piepers, S.; Cox, E.; Opsomer, G. Effects of  $\beta$ -hydroxybutyric acid, parity, and body condition score on phenotype and proliferative capacity of colostral mononuclear leukocytes of high-yielding dairy cows. *J. Dairy Sci.* **2015**, *98*, 6782–6791. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Donovan, G.A.; Badinga, L.; Collier, R.J.; Wilcox, C.J.; Braun, R.K. Factors Influencing Passive Transfer in Dairy Calves. *J. Dairy Sci.* **1986**, *69*, 754–759. [[CrossRef](#)]
45. Murray, C.F.; Leslie, K.E. Newborn calf vitality: Risk factors, characteristics, assessment, resulting outcomes and strategies for improvement. *Vet. J.* **2013**, *198*, 322–328. [[CrossRef](#)]
46. Uetake, K. Newborn calf welfare: A review focusing on mortality rates. *Anim. Sci. J.* **2013**, *84*, 101–105. [[CrossRef](#)]
47. Reschke, C.; Schelling, E.; Michel, A.; Remy-Wohlfender, F.; Meylan, M. Factors Associated with Colostrum Quality and Effects on Serum Gamma Globulin Concentrations of Calves in Swiss Dairy Herds. *J. Vet. Intern. Med.* **2017**, *31*, 1563–1571. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Bogin, E.; Avidar, Y.; Shenkler, S.; Israeli, B.-A.; Spiegel, N.; Cohen, R. A Rapid Field Test for the Determination of Colostral Ingestion by Calves, Based on  $\gamma$ -Glutamyltransferase. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* **1993**, *31*, 695–699. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Hampe, M.; Wehrend, A. Determination of the immunoglobulin G supply in the newborn calf. *Tierarztl. Prax. Ausg. G Grosstiere Nutztiere.* **2019**, *47*, 97–109. (In German) [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

## 4 Diskussion

### 4.1 Diskussion der Fragestellung

Zahlreiche Studien bestätigen, dass eine ausreichende Versorgung mit Erstkolostrum guter Qualität ein wichtiger Faktor zur Gesunderhaltung neugeborener Kälber ist (Godden, et al., 2019; Lopez und Heinrichs, 2021). Dabei wird die Qualität des Kolostrums im Wesentlichen an der Konzentration der enthaltenen Ig gemessen (Godden et al., 2019). Aufgrund der besonderen Struktur der Plazenta epitheliochorialis des Rindes, die den diaplazentaren Austausch von Ig während der Trächtigkeit verhindert, wird das Kalb ohne immunologischen Schutz geboren (Weaver et al., 2000). Die Aufnahme einer ausreichenden Menge Kolostrum guter Qualität in den ersten Lebensstunden ist für den Aufbau der passiven Immunität von besonderer Bedeutung und trägt zur gesunden Entwicklung des Kalbes bei (Lopez und Heinrichs, 2021). Neben den Ig enthält Kolostrum weitere essentielle Bestandteile: Somatische Zellen (z.B. Leukozyten), die sich positiv auf die Entwicklung der Immunität im Darm sowie im Blut des Kalbes auswirken, Hormone und Wachstumsfaktoren, die u.a. zur Entwicklung der Darmschleimhaut beitragen, höhere Gehalte an Fetten und Kohlenhydraten zur Energieversorgung und lebenswichtige Vitamine, Mineralstoffe und Spurenelemente (Ganz et al., 2018; Demattio und Wehrend, 2020).

Das Kolostrum wird in den letzten Wochen der Trächtigkeit gebildet (Baumrucker und Bruckmaier, 2014). Zahlreiche äußere und innere Faktoren beeinflussen die Bildung qualitativ hochwertigen Kolostrums durch die Kuh. In dieser Zeit können Umwelteinflüsse (z.B. Hitze), Haltung, Trockenstehmanagement und die Gesundheit der Kuh Einfluss auf die Bildung und somit auch die Qualität des Kolostrums nehmen (Baumrucker et al., 2014; Mann et al., 2016; Denholm et al., 2018; Shivley et al., 2018; Godden et al., 2019; Puppel et al., 2019). Hinzu kommt, dass eine vorhandene Incontinentia lactis (Rovai et al., 2007), der Zeitabstand zwischen Geburt und der ersten Melkung (Phipps et al., 2017; Reschke et al., 2017) sowie die Menge des Erstgemelks (Conneely et al., 2013; Chuck et al., 2017) die Qualität des Kolostrums erheblich beeinflussen können.

Untersuchungen zum Einfluss des präpartalen Stoffwechsels auf die Kolostrumqualität sind zum jetzigen Zeitpunkt nicht bekannt. Um eine Optimierung der Kolostrumqualität über eine Verbesserung der Stoffwechselgesundheit der Kuh zu schaffen, wurden Beziehungen zwischen metabolischen Parametern und der Kolostrumqualität in dieser Studie untersucht. Durch ein umfangreiches Stoffwechselscreening und eine klinische Untersuchung der Muttertiere mit Erfassung etablierter Scores zum Gesundheitsstatus (BCS, Lahmheit, Pansenfüllung) wurden

mögliche Einflussfaktoren des präpartalen Stoffwechsels auf die Kolostrumqualität untersucht (erste Fragestellung). Die Kolostrumqualität wurde dabei mittels eines Brix-Refraktometers gemessen. Im Rahmen dieser Arbeit wurde zudem untersucht, ob es neben den bekannten Managementfaktoren und der Kolostrumqualität direkte Beziehungen zwischen dem präpartalen Stoffwechsel der Kuh und dem erfolgreichen passiven Transfer von Ig auf das Kalb gibt (zweite Fragestellung).

#### 4.2 Diskussion der Methode

Die Ergebnisse dieser Studie sind Teil einer Querschnittsstudie, die im Rahmen eines Kälbergesundheitsprojektes der Thüringer Tierseuchenkasse von 2017 bis 2018 durchgeführt wurde. Landwirtschaftliche Betriebe aus Thüringen, die durch den Thüringer TGD betreut werden, wurden auf freiwilliger Basis zu der Studie eingeladen. Insgesamt nahmen 97 Betriebe aus Thüringen teil. Zusätzlich wurden die Untersuchungen in weiteren 27 Betrieben in Südbayern (Unterallgäu) auf freiwilliger Basis durchgeführt. Ziel war es, möglichst viele Betriebe in die Studie aufzunehmen. Pro Betrieb wurden sieben bis zehn hochtragende Kühe ausgewählt, die sich zum Zeitpunkt des Bestandsbesuches circa drei Wochen vor dem errechneten Geburtstermin befanden. Dieser Zeitpunkt wurde ausgewählt, um einerseits sicherzustellen, dass der Kalbezeitpunkt in naher Zukunft liegt und der Metabolismus der Kühe zeitlich mit der Bildung des Kolostrums assoziiert ist und andererseits noch ausreichend Zeit bis zur Kalbung vergeht, damit die mit der Kalbung verbundenen metabolischen Dysbalancen das Ergebnis der metabolischen Untersuchung noch nicht beeinflussen. Im Rahmen der statistischen Auswertung wurde berücksichtigt, wie groß der Zeitraum zwischen der Probenahme und der tatsächlichen Kalbung war, um diesen Einflüssen Rechnung zu tragen.

Es wurden ausschließlich Muttertiere ab der zweiten Laktation und ohne akute Erkrankungen mit Allgemeinstörungen, wie z.B. Fieber oder Mastitis ausgewählt. Der Ausschluss von primiparen Kühen erfolgte, da aus bisherigen Studien bekannt ist, dass bedingt durch das noch anhaltende Wachstum der Erstkalbinnen die metabolischen Parameter in der Transitphase im Vergleich zu Mehrkalbskühen einer anderen Dynamik unterliegen (Gärtner et al., 2019). Der Ausschluss von Kühen mit akuten Erkrankungen erfolgte aus ähnlichen Gründen, da der hohe Energiebedarf des Immunsystems im Krankheitsfall das metabolische Profil verändert (Kvidera et al., 2017). Beide Ausschlüsse hatten zum Ziel, die Variabilität in der Untersuchungspopulation zu begrenzen und eine dadurch bedingte Verzerrung der Variablen zu vermeiden. So flossen insgesamt 1053 Muttertiere in die primäre Auswahl ein. Im Rahmen der Datenauswertung wurden folgende weitere Ausschlüsse vorgenommen:

- Kalbungen innerhalb von 24 Stunden nach der Probenentnahme (n = 85)
- Zwillingsgeburten (n = 21)
- versehentlich einbezogene primipare Kühe (n = 12)
- Kolostrumproben, die nicht zugeordnet werden konnten (n = 58)
- Kühe mit fehlenden Messwerten (n = 4)

Eine gesonderte Kalkulation der Stichprobengröße wurde nicht durchgeführt, da es sich um eine Beobachtungsstudie mit einer Vielzahl von erfassten Merkmalen handelte, deren Interaktionen bei der Kalkulation der Stichprobengröße nicht hätten berücksichtigt werden können. Dies ist eine Einschränkung dieser Studie in Bezug auf die externe Validität.

Durch die Freiwilligkeit der Teilnahme am Kälbergesundheitsprojekt der Thüringer Tierseuchenkasse und an den Untersuchungen in der südbayrischen Praxis ist mit einem Selektionsbias in der Studie bezüglich der Betriebsauswahl zu rechnen. Dieser liegt darin begründet, dass Betriebe mit guter Kälbergesundheit in der Regel eine größere Bereitschaft zeigen, an einer solchen Feldstudie teilzunehmen, und Problembetriebe die Teilnahme eher verweigern. Diesem Bias hätte mit einer Zufallsauswahl der Betriebe begegnet werden können. Davon wurde jedoch Abstand genommen, da in der vorliegenden Arbeit vor allem tierindividuelle Merkmale betrachtet wurden und die betriebsspezifischen Managementfaktoren lediglich als zusätzliche Merkmale in den Modellen berücksichtigt wurden. Bezüglich der Auswahl der einzelnen Kuh-Kalb-Paare ist der Selektionsbias limitiert, denn es wurden jeweils die zum Untersuchungszeitpunkt verfügbaren hochtragenden Kühe in die Studie einbezogen, ohne dass die Möglichkeit einer weiteren Selektion bestand. Damit war die Auswahl der Kühe von den zu betrachtenden Merkmalen hinreichend unabhängig und das Studienergebnis kann als verallgemeinerungswürdig betrachtet werden.

Die Untersuchungen der Muttertiere und die Blut- und Harnprobenentnahme erfolgte durch vier erfahrene Tierärzte des Thüringer TGD. Um subjektive Einflussfaktoren bei der Untersuchung zu vermeiden, wurde zu Beginn der Studie ein einheitliches Training durchgeführt. Damit wurde eine Verzerrung der Ergebnisse durch eine unterschiedliche Beurteilung der Untersucher begrenzt. Die Untersuchung der Muttertiere umfasste die Messung der inneren Körpertemperatur, die Erfassung des BCS nach Edmonson et al. (1989), die Erfassung des Lahmheitsgrad gegliedert in ‚keine Lahmheit‘, ‚geringgradige‘, ‚mittelgradige‘ und ‚hochgradige Lahmheit‘, sowie die Erfassung der Pansenfüllung nach einer modifizierten Skala von Zaaijer und Noordhuizen (2001). Die Verwendung dieser in der Beurteilung der Tiergesundheit bei Rindern langfristig etablierten Scores diente ebenfalls einer einheitlichen



Erfassung der Merkmale und einer Vermeidung von Informationsbias. Insofern zutreffend, wurde die Gabe saurer Salze zur Prophylaxe der Gebärpause, die Substitution von Vitamin E und Selen sowie die Durchführung von Impfungen der Muttertiere während der Trockenstehperiode erfasst.

Die Blutproben der Kühe wurden aus der Vena caudalis mediana entnommen. LeBlanc (2006) empfiehlt die Blutentnahme aus der Vena caudalis mediana für Stoffwechseluntersuchungen. Problematisch ist, dass bei der Entnahme aus der Vena caudalis mediana die blutchemische Untersuchung zum Teil an arteriellem oder arteriell-venösem Mischblut erfolgt. Die Untersuchungen von Parker und Blowey (1974) geben einen Hinweis auf möglicherweise vorhandene Unterschiede. Sie stellten bezüglich verschiedener Werte aus Blutbild und Blutchemie (z.B. Hämoglobin, Harnstoff, Albumin, Glukose, FFS, Kalzium, Magnesium, anorganisches Phosphat, Natrium, Kalium) bei der Entnahme aus der Arteria caudalis mediana im Vergleich zur Vena caudalis mediana lediglich geringe Abweichungen der Glukosekonzentration und des Hämatokrits fest. Generell wird die Vena jugularis als die geeignetste Blutentnahmestelle für blutchemische Untersuchungen angesehen. Jedoch sprachen die o.g. geringen Abweichungen sowie Gründe des Arbeitsschutzes und des Handlings der Kühe für die Blutentnahme aus der Vena caudalis mediana. Bei Kälbern erfolgte die Blutprobenentnahme aus der Vena jugularis. Die Harnproben wurden durch Katheterisieren der Harnröhre entnommen und das Entnahmegefäß sofort verschlossen, um präanalytische Veränderungen der Harnprobe zu vermeiden.

Die in dieser Studie ausgewählten Stoffwechselfparameter beruhen auf der langjährigen Erfahrung angewandter Stoffwechselfprofile für Kühe in der Trockenstehperiode bei Bestandsuntersuchungen in über 100 Betrieben, die durch den Thüringer TGD betreut werden (Donat et al., 2016). Es wurden solche metabolischen Parameter in die Untersuchung einbezogen, die sich in bisherigen Studien für metabolische Untersuchungen in der Transitphase von Milchkühen bewährt haben und für die im Labor des TGD eine validierte Analyseverfahren zur Verfügung stand. Außerdem wurde die Auswahl der Parameter auf solche Analyten limitiert, die keinen wesentlichen präanalytischen Veränderungen während des Transports der Proben zum Labor unterworfen sind, wie das beispielsweise bei Glukose der Fall ist. Dies ist ein Nachteil dieser als Feldstudie konzipierten Untersuchung, der allerdings in Kauf genommen wurde, um eine große Anzahl an Kuh-Kalb-Paaren in die Studie einbeziehen zu können, was in einer experimentellen Studie nicht in dieser Größenordnung möglich gewesen wäre.

Bei der Durchführung der Feldstudie kam es auch auf eine gute und zuverlässige Zusammenarbeit mit dem Landwirt an. Das betraf sowohl die Erhebung der Variablen zum betrieblichen Management als auch die Entnahme der Probe des Erstkolostrums. Bei den Variablen zum Betriebsmanagement handelt es sich um Bewertungen des Betriebsleiters oder Herdenmanagers zur betriebsüblichen Vorgehensweise. Das betraf folgende Informationen: Menge und Zeitpunkt der Kolostrumgabe, Qualitätsprüfung des Kolostrums, muttertreue Kolostrumgabe, Betreuung der Kälber durch separates Personal und Informationen zur Geburtsüberwachung im Betrieb. Diese Merkmale wurden jeweils vom erfassenden Tierarzt im Rahmen der Betriebsbegehung geprüft und gegebenenfalls korrigiert. Daher war das Risiko eines Informationsbias, der durch falsche Merkmalerfassung verursacht wurde, als gering zu bewerten. Zudem konnte eine andere Studie zeigen, dass die Bewertung des Managements durch den Betriebsleiter selbst zu einer für epidemiologische Zwecke gut nutzbaren Datengrundlage führen kann, wenn die Kategorisierungsmerkmale eindeutig und klar beschrieben sind (Zitzmann et al., 2019). Das war auch in dieser Arbeit der Fall.

Nach der Geburt des Kalbes wurde eine Probe des Erstkolostrum durch den Landwirt entnommen. Es kann als ein Nachteil angesehen werden, dass man sich darauf verlassen musste, dass die Probe wirklich von der ersten Melkung entnommen wurde und keine Verwechslungen vorkamen. Dagegen war es ein Vorteil, dass mit der Übertragung der Probennahme auf den Landwirt abgesichert wurde, dass eine zeitgerechte Probennahme bei jeder Kalbung möglich war. Damit konnte gewährleistet werden, dass Probanden nicht deshalb aus der Auswertung ausgeschlossen wurden, weil der Probenehmer nicht rechtzeitig vor Ort war.

Zur Bewertung des erfolgreichen passiven Transfers von Ig wurde sowohl die Konzentration der Ig, als auch die Konzentration des TP im Serum des Kalbes verwendet (abhängige Variablen, Fragestellung 2). Zur Bestimmung der Serum Ig- und TP-Konzentration des Kalbes wurden Blutproben zwischen dem ersten und neunten Lebenstag entnommen. In diesem Zeitraum können Kälber zuverlässig auf die passive Übertragung von Ig untersucht werden (Wilm et al., 2018). Im Rahmen der statistischen Auswertung wurde in einem gesonderten Modell geprüft, ob die Zahl der Tage zwischen Geburt und Blutprobe Einfluss auf das Modellergebnis haben. Da dies nicht der Fall war, wurde auf die Ergebnisse des Modells ohne Berücksichtigung dieser Kovariable zurückgegriffen. Zusätzlich zu den bereits für die erste Fragestellung vorgenommenen Ausschlüssen wurden für die zweite Fragestellung folgende weitere Ausschlüsse vorgenommen:

- Kälber, die nicht das Kolostrum der eigenen Mutter erhielten (n = 173)
- Kälber, die früher als 24 Stunden nach der Geburt oder später als 9 Tage nach der Geburt beprobt wurden (n = 150)
- Kälber mit fehlenden Informationen zum Betriebsmanagement (n = 39)

Um eventuelle Zusammenhänge zwischen dem präpartalen Stoffwechsel der Kuh und der Ig-Konzentration im Serum des Kalbes zu identifizieren war es notwendig, die Untersuchungen auf Kuh-Kalb Paare zu beschränken, bei denen die Kälber das Erstkolostrum der eigenen Mutter erhielten. Das war von besonderer Bedeutung für die zweite Fragestellung, bei der es darum ging, direkte Beziehungen zwischen dem präpartalen Stoffwechsel und dem erfolgreichen passiven Transfer von Ig auf das Kalb zu untersuchen, die über die Kolostrumqualität hinausgehen.

Die Merkmale zum Kälbermanagement waren für die statistische Auswertung der Daten im Rahmen des multivariablen Regressionsmodells von Bedeutung. Da durch zahlreiche Studien bekannt war, dass Menge und Zeitpunkt der Kolostrumgabe den passiven Ig-Transfer beeinflussen (Conneely et al., 2014; Lora et al., 2017; Godden et al., 2019), wurden diese Merkmale als fixe Faktoren im Modell berücksichtigt. Weiterhin wurde durch die hierarchische Struktur der Modelle betriebliche Einflüsse auf die Merkmalsausprägung berücksichtigt. Damit ist eine gute interne Validität der Studie gewährleistet, auch wenn die Probanden in unterschiedlichen Betrieben gehalten wurden. Bei der Modellbildung durch schrittweise Rückwärtseliminierung wurde der Ansatz bevorzugt, die Variablen in zwei Schritten entsprechend dem P-Wert des Regressionskoeffizienten zu eliminieren. Der gängigste Ansatz besteht darin, eine Variable nach der anderen zu entfernen. Die Modellbildung ist in den meisten Fällen ein Prozess, der mit dem Risiko behaftet ist, dass tatsächlich diejenigen Variablen ausgewählt werden, die den biologischen Hintergrund am besten widerspiegeln. Einerseits erlaubt es die größtmögliche Reduzierung des Modells, die Variabilität durch nur wenige Variablen zu erklären, andererseits kann die Beibehaltung nur der signifikanten Variablen im endgültigen Modell dazu führen, dass Störfaktoren nicht beachtet werden. In Anbetracht dieser Ambivalenz war die Auswahl der Variablen in zwei Schritten unter Beibehaltung biologisch relevanter Variablen eine geeignete Vorgehensweise. Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe der AG Biomathematik und Datenverarbeitung der Justus-Liebig-Universität Gießen, Fachbereich Veterinärmedizin.

### 4.3 Diskussion der Ergebnisse

In der vorliegenden Studie konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Serumaktivität der GLDH und dem Brix-Wert des Kolostrums festgestellt werden. Die GLDH ist ein spezifisches Leberenzym, das in den Mitochondrien der Leberzellen vorkommt und die höchste Aktivität im zentrilobulären Bereich des Leberläppchens aufweist (Neumann, 2013). Aktivitätssteigerungen sind die Folge nekrotisierender und degenerativer Leberparenchymschäden (Gründer, 2012), die oft in Folge einer Leberverfettung auftreten (Stengärde et al., 2010). Die Messung der Serumaktivität der GLDH ist Bestandteil des Stoffwechselmonitorings des Thüringer TGD und wird zur Charakterisierung der Leberfunktion herangezogen (Donat et al., 2016). Studien zur Auswirkung der GLDH-Aktivität im maternalen Blut auf die Kolostrumqualität sind in der wissenschaftlichen Literatur derzeit nicht verfügbar. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen eine Abnahme des Brix-Wertes bei Erhöhung der Serumaktivität von GLDH. Es kann vermutet werden, dass Kühe mit einer hohen GLDH-Aktivität eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für Leberzellschäden aufgrund einer hepatischen Lipidose, aufweisen und deren Funktion zur Bildung von Proteinen für die Kolostragenese eingeschränkt ist (Rehage et al., 1996; Bobe et al., 2004; Stengärde et al., 2010). Zudem beschrieben Wentink et al. (1997) einen möglichen Zusammenhang zwischen der hepatischen Lipidose, induziert durch eine energiereiche Fütterung a. p. und einer verminderten Immunantwort und postulierten die Annahme, dass das häufige Auftreten unspezifischer Infektionen bei Kühen mit Leberverfettung auf eine beeinträchtigte immunologische Reaktivität zurückzuführen sein könnte. Die Serum Aktivität der AST, die in anderen Studien zur Beurteilung der Leberfunktion untersucht wird, insbesondere zur Diagnostik der hepatischen Lipidose (Bobe et al., 2004; González et al., 2011; Mostafavi et al., 2013), war in dieser Studie nicht mit dem Brix-Wert des Kolostrums assoziiert.

Des Weiteren konnte eine positive Beziehung zwischen der Konzentration FFS im Serum der Kuh und der Serum Ig-Konzentration des Kalbes beobachtet werden. Besonders in der Transitphase sind Milchkühe mit metabolischen und hormonellen Veränderungen konfrontiert (Ster et al., 2012; Gärtner et al., 2019). Ein erhöhter Energiebedarf kann durch die Futteraufnahme oft nicht mehr gedeckt werden, weshalb Kühe in eine negative Energiebilanz fallen und es zur Lipolyse kommt. Folglich steigt die Konzentration FFS im Serum an (Lacetera et al., 2005; Scalia et al., 2006; Ingvarsen and Moyes, 2012; Gärtner et al., 2019). Auswirkungen von verschiedenen Konzentrationen FFS auf die DNA-Synthese, IgM-Sekretion und IFN- $\gamma$  Sekretion von Lymphozyten untersuchten Lacetera et al. (2004) in einer in vitro-Studie. Dabei wurden mononukleäre Zellen aus peripherem Blut mit unterschiedlichen

Konzentrationen FFS inkubiert. Konzentrationsabhängig waren die DNA-Synthese sowie die Sekretion von IgM und INF- $\gamma$  vermindert. Die Autoren schlussfolgerten einen möglichen negativen Effekt steigender Serumkonzentrationen FFS auf die Funktion mononukleärer Zellen. Eine verminderte Proliferation von mononukleären Zellen im Blut durch erhöhte Konzentrationen FFS sowie eine verminderte Sekretion von INF- $\gamma$  konnte auch in einer weiteren Studie belegt werden (Ster et al., 2012). Im Gegensatz dazu konnte in einer Studie von Van Kneysel et al. (2007), in der Beziehungen zwischen natürlichen Antikörpern und der Energiebilanz sowie der Energiequelle in der Nahrung untersucht wurden, festgestellt werden, dass ein positiver Zusammenhang zwischen der Konzentration FFS und den natürlichen Antikörpern in der Milch besteht. Aufgrund niedriger Konzentrationen natürlicher Antikörper im Plasma schlussfolgerten sie, dass eine NEB zu einer verminderten angeborenen Immunantwort führen kann. Kürzlich wurde über einen Zusammenhang zwischen der pränatalen Immunstimulation von Muttertieren durch wiederholte Lipopolysaccharid-Gabe und den Serumkonzentrationen FFS von Rinderfärsen beim Absetzen berichtet (Carroll et al., 2021). Die Konzentrationen FFS im Serum der Färsen unterschied sich zwischen der Versuchsgruppe und der Kontrollgruppe, dabei zeigten Färsen der Versuchsgruppe höhere Konzentrationen FFS nach Immunstimulation. Die Autoren sehen jedoch keinen biologisch signifikanten Zusammenhang aufgrund geringgradiger Unterschiede zwischen den Gruppen. Generell gibt es Hinweise darauf, dass die Konzentration FFS im Serum von Kühen als Indikator für eine NEB an der Funktion des Immunsystems beteiligt ist. Vor allem die Funktion und Proliferation von mononukleären Zellen im Blut sowie die Zytokinsekretion werden durch erhöhte Konzentrationen FFS negativ beeinflusst (Lacetera et al., 2004; Ster et al., 2012; Contreras et al., 2018). In ähnlicher Weise deutet die in dieser Studie festgestellte Beziehung zwischen erhöhten Konzentrationen FFS im Serum der Kuh und erhöhten Ig-Konzentrationen im Serum der Kälber auf einen biologischen Zusammenhang zwischen Immunsystem und Fettstoffwechsel hin. Weitere Studien sollten diese Erkenntnisse aufgreifen, um den pathophysiologischen Hintergrund dafür zu klären.

Der BCS, der mit einer NEB und der Konzentration FFS im Serum der Kuh in Verbindung steht, zeigte keinen signifikanten Zusammenhang mit dem Brix-Wert des Kolostrums und der Ig-Konzentration im Serum der Kälber. Jedoch stellten wir fest, dass Kälber von Kühen mit einem BCS < 3 höhere Ig-Konzentrationen im Serum aufwiesen als Kälber von Kühen mit einem BCS 3-4. Dieser Trend deckt sich mit den Ergebnissen einer anderen Studie über den Zusammenhang zwischen dem BCS und der Lymphozytenfunktion bei peripartalen Kühen. Dabei zeigten überkonditionierte Kühe im Vergleich zu normal konditionierten und dünnen

Kühen eine geringere IgM- und INF- $\gamma$  Sekretion (Lacetera et al., 2005). Weiterhin ergab eine Studie über das Vorhandensein von Lymphozyten und Makrophagen im Kolostrum bei Kühen mit Tetanus-Toxoidimpfung, dass der BCS positiv mit dem Vorhandensein dieser Zellen im Kolostrum verbunden war (Meganck et al., 2015). Dabei hatten unterkonditionierte Kühe einen signifikant höheren Anteil an Makrophagen im Kolostrum als normal konditionierte Kühe, während überkonditionierte Kühe signifikant mehr Lymphozyten im Kolostrum aufwiesen. In Bezug auf die Zusammenhänge mit dem Brix-Wert stellten wir fest, dass Kühe mit einem BCS < 3 höhere Brix-Werte des Kolostrums aufwiesen als Kühe mit einem BCS 3-4. Es kann spekuliert werden, dass Kühe mit einem BCS < 3 geringere Mengen Kolostrum produzieren und sich die Ig anreichern, wobei es zu höheren Brix-Werten kommt. Es gibt folglich Hinweise darauf, dass die Körperkondition mit der Stimulation und Funktion des Immunsystems in Verbindung steht. Auch hier sind weitere Studien wünschenswert, um die biologischen Zusammenhänge besser erklären zu können.

Weiterhin konnte eine signifikante Beziehung zwischen der Calciumkonzentration im Serum der Kuh und dem Brix-Wert des Kolostrums identifiziert werden. Bei steigenden Calciumkonzentrationen nahm die Kolostrumqualität ab. Dieses Ergebnis deckt sich mit einer Studie von Diehl et al. (2018). Ein Fütterungsexperiment sollte die Auswirkungen verschiedener Calciumkonzentrationen im Futter auf die Kolostrumqualität, gemessen mittels eines Brix-Refraktometers, untersuchen. Dabei zeigte sich bei der Fütterung calciumarmer Rationen (1,3%) im Vergleich zu calciumreichen Rationen (1,8%), dass das Kolostrum eine höhere Dichte aufwies (Brix 21,58% und 19,87%). Die Autoren weisen jedoch darauf hin, dass die Ergebnisse dieser Studie darauf hindeuten, dass eine Calcium-Supplementierung vor der Geburt keine Auswirkungen auf die Ig-Resorption hat. Eine weitere Studie konnte eine negative Korrelation zwischen der Calcium-Konzentration im Serum einen Tag p. p. und der Ig-Konzentration im Kolostrum zeigen (Klingbeil, 2014). Aufgrund fehlender wissenschaftlicher Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen der Calcium-Konzentration im Serum und der Ig-Konzentration im Kolostrum kann über den physiologischen Hintergrund nur spekuliert werden. An der Transzytose von Calcium in die Drüsenepithelzelle ist ein Calcium-Sensing-Rezeptor beteiligt (VanHouten et al., 2004; Mamillapalli et al., 2013). Der Calcium-Sensing-Rezeptor wird während der Trächtigkeit herunterreguliert und während der Laktation hochreguliert. Die Expression wird reduziert, wenn die Calcium-Verfügbarkeit im Serum niedrig ist und fungiert als Schutzmechanismus, der eine Hypokalzämie verhindert (VanHouten et al., 2004). Verschiedene Ca<sup>2+</sup>-ATPasen sind am Transport von Calcium aus der Drüsenepithelzelle in die Milch beteiligt (Reinhardt et al., 2004; VanHouten et al., 2007; Faddy

et al., 2008). Ähnlich wird für IgG ein spezifischer Rezeptor exprimiert und durch hormonelle Signale während der Trockenstehperiode reguliert (Larson et al., 1980; Butler, 1998; Barrington et al., 2001). Denkbar wäre ein ähnlicher Transportmechanismus von Calcium und IgG. Ein Abfall der Calciumkonzentration im Serum durch den Transport in das Kolostrum wäre dementsprechend mit einem Anstieg der Ig-Konzentration im Kolostrum vergesellschaftet (Klingbeil, 2014). Ob es einen Zusammenhang der Regulation beider Transportmechanismen tatsächlich gibt, bleibt offen und sollte Bestandteil weiterer Forschungsarbeiten sein.

Eine positive Beziehung konnte zwischen der Konzentration der Ig im Serum der Kuh und dem Brix-Wert des Kolostrums identifiziert werden. Während der Trockenstehperiode bis zur Geburt des Kalbes nimmt die Ig-Konzentration im Serum der Kuh bis zu 50 % ab, während die Konzentration der Ig im Kolostrum zunimmt (Brandon et al., 1971; Larson et al., 1980; Butler, 1998). Hormonelle Signale von Östrogenen und Progesteron sind an der Induktion der Replikation eines spezifischen Oberflächenrezeptors auf der Drüsenepithelzelle beteiligt, der eine starke Affinität zu IgG, insbesondere zu IgG<sub>1</sub>, aufweist (Larson et al., 1980; Butler, 1998; Barrington et al., 2001). Die starke Affinität zu IgG<sub>1</sub> erklärt sich durch die hohe Konzentration von 90 mg/ml IgG<sub>1</sub> im Kolostrum im Vergleich zu 2,8 mg/ml IgG<sub>2</sub>, 1,6 mg/ml IgA und 4,5 mg/ml IgM (Elfstrand et al., 2002). Brandon et al. (1971) konnten eine unveränderte Serumkonzentration von IgG<sub>2</sub>, IgA und IgM zwei bis drei Wochen vor dem Geburtstermin messen, während die Serumkonzentration von IgG<sub>1</sub> zur gleichen Zeit um über 50 % abnahm. Zum Ende der Trockenstehperiode ändert sich die hormonelle Signalgebung und es wird angenommen, dass Prolaktin dazu führt, dass die Anzahl der spezifischen Rezeptoren reduziert wird (Barrington et al., 2001). Infolgedessen werden weniger IgG in die Milch übertragen.

Zudem konnte ein Zusammenhang zwischen der Albumin-Konzentration im Serum der Kälber und der Ig-Konzentration im Serum der Kälber festgestellt werden. In den ersten 30 Lebenstagen verändert sich die Albumin-Konzentration mit einem anfänglichen Rückgang, gefolgt von einem kontinuierlichen Anstieg. Im Gegensatz dazu steigt die Serum Ig-Konzentration nach der Kolostrumaufnahme an und sinkt kontinuierlich parallel zur Ausreifung der Immunfunktion der Kälber (Tóthová et al., 2016). Ähnliche Ergebnisse wurden von Bogin et al. (1993) erzielt. Das berechnete Verhältnis von Albumin zu Globulin beschreibt die relative Verteilung dieser beiden Proteinfractionen und verändert sich entsprechend in den ersten Lebenswochen. Wenn die TP-Konzentration im Serum des Kalbes zur Kontrolle der APT verwendet wird, können hohe Albumin-Konzentrationen im Serum einen Ig-Mangel verschleiern (Hampe et al., 2019).

Die Auswertung der multiplen Regressionsanalyse zeigte einen engen Zusammenhang zwischen der Anzahl der Laktationen und dem Brix-Wert des Kolostrums. Kühe ab der dritten Laktation zeigten höhere Brix-Werte des Kolostrums als Kühe in der zweiten Laktation. Dieses Ergebnis stimmt mit früheren Studien überein (Muller und Ellinger, 1981; Tyler et al., 1999; Morin et al., 2001; Puppel et al., 2019). Kühe, die über einen langen Zeitraum hinweg vielen Antigenen ausgesetzt sind, haben mit größerer Wahrscheinlichkeit ein breiteres Spektrum an Ig, welche in das Kolostrum übergehen können (Larson et al., 1980; Puppel et al., 2019). Interessanterweise konnten verschiedene Studien zeigen, dass das Kolostrum von Kühen, die in die zweite Laktation kommen, tendenziell eine geringere Qualität aufweist als das von primiparen Kühen und Kühen, die in die dritte und höhere Laktation kommen (Gulliksen et al., 2008; Reschke et al., 2017; Johnsen et al., 2019). Eine mögliche Erklärung hierfür ist die höhere Einsatzleistung zu Beginn der zweiten Laktation im Vergleich zur ersten bzw. zur dritten und weiteren Laktationen, wogegen die Ig-Konzentration im Kolostrum mit zunehmender Laktationszahl kontinuierlich und nur moderat ansteigt (Reschke et al., 2017). Dies kann zu einem Verdünnungseffekt und damit zu einer geringeren Dichte des Kolostrums mit scheinbar schlechterer Qualität führen. Eine weitere Vermutung ist, dass die Replikation des spezifischen Oberflächenrezeptors der Milchdrüsenzellen für Ig mit steigender Laktation zunimmt und ein längerer Kontakt mit Antigenen im Laufe der Jahre die Konzentration von Ig im Kolostrum erhöht (Devery-Pocius und Larson, 1983).

Impfungen in der Trockenstehperiode wirken sich positiv auf die Qualität des Kolostrums aus. Durch die zusätzliche Exposition gegenüber Antigenen durch die Impfung kommt es zur vermehrten Bildung von Antikörpern, die in das Kolostrum gelangen. Ähnliche Ergebnisse wurden auch von Denholm et al. (2018) beschrieben. Sie fanden heraus, dass das Kolostrum geimpfter Herden einen höheren Brix-Wert hat als Kolostrum nicht geimpfter Herden. Sie konnten jedoch keinen Unterschied in der Qualität des Kolostrums bei partiell geimpften Herden im Vergleich zu ungeimpften Herden beobachten, weshalb sie die Empfehlung aussprechen, alle Tiere einer Herde zu impfen, um den gewünschten Effekt zu erhalten. Bei der Untersuchung des Einflusses der Impfung auf die Ig- und TP-Konzentration im Serum des Kalbes konnten wir hingegen keine Beziehung feststellen. Um den positiven Effekt der Impfung auch auf den passiven Transfer von Ig auf das Kalb zu übertragen muss sichergestellt werden, dass die Kälber das Kolostrum der geimpften Muttertiere in einem zeitnahen Abstand zur Geburt verabreicht bekommen (Lora et al., 2017).

Darüber hinaus konnte ein Zusammenhang zwischen dem Lahmheitsgrad und dem Brix-Wert festgestellt werden, wobei Kühe mit einer geringgradigen Lahmheit höhere Brix-Werte



aufwiesen als Kühe mit einem mittleren bis hohen Lahmheitsgrad. In einer anderen deutschen Studie konnte gezeigt werden, dass Kühe mit einer Lahmheit während der Trockenstehperiode mehr Ig pro Liter Kolostrum aufweisen als Kühe ohne Lahmheit (Klingbeil, 2014). Im Allgemeinen wirken sich der Gesundheitszustand und das Vorhandensein von Krankheiten wie Mastitis, chronische Azidose und Ketose negativ auf die Konzentration von Ig im Kolostrum aus (Dardillat et al., 1978; Puppel et al., 2019). Es wäre denkbar, dass die einer geringgradigen Lahmheit zu Grunde liegende Entzündung zu einer unspezifischen Immunstimulation führt, was sich in einer höheren Synthese von Ig widerspiegelt. Aufgrund der geringen Datenmenge dieser Beobachtung wäre es von großem Interesse, Zusammenhänge zwischen dem Vorhandensein von Lahmheit und dem Brix-Wert des Kolostrums genauer zu ermitteln.

Entscheidende Faktoren zur Sicherstellung der passiven Immunisierung neugeborener Kälber sind der Zeitpunkt der ersten Kolostrumgabe sowie die Menge des verabreichten Kolostrums. Kälber sind innerhalb der ersten 24 bis 36 Lebensstunden in der Lage, Ig über das Dünndarmepithel aufzunehmen (Weaver et al., 2000). Während der ersten vier Lebensstunden ist die Permeabilität des Dünndarmepithels am höchsten (Stott et al., 1979b), ab der 12. Lebensstunde nimmt diese progressive ab (Bush und Staley, 1980). In der vorliegenden Studie konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Zeitpunkt der ersten Kolostrumfütterung und der Serum Ig- und TP-Konzentration festgestellt werden. Eine mögliche Ursache könnte in der Kategorisierung der Zeitintervalle liegen. In dieser Studie wurde erfasst, ob die Kälber innerhalb von zwei Stunden, zwei bis vier Stunden oder erst nach der vierten Stunde mit Kolostrum gefüttert wurden. Beam et al. (2009) und Osaka et al. (2014) hingegen konnten einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Zeitpunkt der ersten Kolostrumfütterung und der Serum Ig- Konzentration feststellen. In der Studie von Beam et al. (2009) wurde erfasst, ob Kälber innerhalb von vier Stunden nach der Geburt oder nach der vierten Stunde mit Kolostrum versorgt wurden. In der Studie von Osaka et al. (2014) wurde erfasst, ob die Kälber innerhalb der ersten Stunde, zwischen der ersten und sechsten Stunde, zwischen der sechsten und 12. Stunde oder zwischen der 12. und 18. Stunde nach der Geburt mit Kolostrum versorgt wurden. In der vorliegenden Studie praktizierten die meisten Betriebe eine frühzeitige Kolostrumgabe nach ein bis zwei Stunden, sodass nur eine geringe Variabilität dieses Merkmals gegeben war und somit in der statistischen Auswertung keine Signifikanz festgestellt wurde. Eine weitere Ursache könnte darin liegen, dass die Angaben zum Zeitpunkt der ersten Kolostrumfütterung auf Herdenebene und nicht auf Tierebene erfasst wurden. Die daraus resultierende Diskrepanz zwischen der erfassten und der tatsächlichen Merkmalsausprägung kann außerdem dazu beitragen, dass sich biologische Zusammenhänge

in der statistischen Auswertung dieser Studie nicht zeigen, obwohl deren biologischer Hintergrund durch andere Studien belegt ist. Der Zeitpunkt der ersten Kolostrumfütterung ist ein wichtiger Faktor in der Sicherstellung des APT und es wird empfohlen, Kälber innerhalb der ersten zwei Stunden nach der Geburt mit Kolostrum zu versorgen (Godden et al., 2019). Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten, dass Kälber, die bei der Erstfütterung mehr als 2 l Kolostrum erhielten, höhere Ig- und TP-Konzentrationen im Serum aufwiesen als Kälber, die nur 1-2 l erhielten. Conneely et al. (2014) konnten zeigen, dass Kälber, die innerhalb der ersten zwei Lebensstunden 8,5% ihres Körpergewichts an Kolostrum erhalten haben signifikant höhere Ig-Konzentrationen im Serum aufweisen als Kälber, die entweder 7 oder 10% ihres Körpergewichts erhalten haben. Osaka et al. (2014) empfiehlt, Kälber mit mindestens 120g Ig innerhalb der ersten Stunde p. n. bzw. 125g Ig zwischen der ersten und sechsten Stunde p. n. zu versorgen, um Serumkonzentrationen von  $> 10 \text{ g/l}$  zu erreichen. Chigerwe et al. (2008) kamen in einer weiteren Studie zu dem Ergebnis, dass Kälber mindestens 153g Ig in 3 l Kolostrum innerhalb der ersten zwei Lebensstunden erhalten müssen, um den passiven Transfer von Ig sicherzustellen. In einer Studie von Lora et al. (2017) konnte gezeigt werden, dass das Risiko für FPT um 13% pro Stunde steigt, die das Kalb später mit Kolostrum versorgt wird sowie um 59% gesenkt wird, bei jedem zusätzlichen Liter an Kolostrum, das das Kalb erhält und weiterhin um 3% gesenkt wird für jedes weitere Gramm Ig, welches im Kolostrum enthalten ist. Die Vielzahl der Studien zeigt die Wichtigkeit der Versorgung mit einer ausreichenden Menge an Ig in den ersten Lebensstunden. Dabei sollte auch immer im Vordergrund die Überprüfung der Qualität des Kolostrums stehen, da es nicht alleine auf die verabreichte Menge ankommt, sondern auf die Konzentration von Ig in Gramm pro Liter Kolostrum (Jaster, 2005). Zudem wird eine physiologische Grenze der Resorption der Ig diskutiert (Conneely et al., 2014). Ein weiterer möglicher Grund für die Reduktion der Effektivität der Resorption von Ig könnte die mechanische Überdehnung des Labmagens sein, wenn große Volumina in einer einzelnen Gabe gefüttert werden (Conneely et al., 2014).

Zur Überprüfung der Kolostrumqualität hat sich die Messung der optischen Dichte als Äquivalent für die Ig-Konzentration in der Praxis etabliert. Hierfür stehen sowohl manuelle als auch elektronische Refraktometer zur Verfügung. Studien zeigen eine gute Korrelation zwischen der Messung der Ig im Kolostrum mittels RID und den Refraktometern (Bartens et al., 2016; Sutter et al., 2020). In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die Dichte des Kolostrums, gemessen mittels eines Brix-Refraktometers, positiv mit der Ig- und TP-Konzentration im Serum des Kalbes verbunden ist. Kolostrum mit einer Ig-Konzentration  $\leq 50 \text{ g/l}$  zählt zu den Risikofaktoren für FPT (Weaver et al., 2000; Reschke et al., 2017; Shivley

et al., 2018). Die einfache und kostengünstige Anwendung von Refraktometern zur Überprüfung der Kolostrumqualität ist ein wesentlicher Faktor für die Sicherstellung des APT.

Betriebe, die eine nächtliche Geburtsüberwachung etabliert haben, hatten signifikant höhere Ig- und TP-Konzentrationen im Serum der Kälber. Es wird ein enger Zusammenhang zwischen der ganztägigen Geburtsüberwachung und der frühen Versorgung neugeborener Kälber mit Kolostrum vermutet. Darüber hinaus könnte die Betreuungsintensität eine wichtige Rolle bei der Vermeidung von Dystokien spielen, die bei neugeborenen Kälbern zu Azidose, Hypoxie und reduziertem Saugverhalten führen können (Donovan et al., 1986; Murray and Leslie, 2013; Uetake, 2013). Während Stott et al. (1978) keine Beeinträchtigung der Ig-Resorption beim Kalb nach einer Schweregeburt feststellen konnte, war bei Donovan et al. (1986) die Resorption von Ig beeinträchtigt. Eine ganztägige, regelmäßige Geburtsüberwachung, insbesondere während der Nacht, wird empfohlen, um die Kolostrumversorgung zu verbessern und das Risiko lebensschwacher Kälber zu verringern.

Die Ergebnisse unserer Studie geben Hinweise auf mögliche Beziehungen zwischen dem metabolischen Status der Kuh und dem Brix-Wert des Kolostrums sowie der Ig- und TP-Konzentration im Serum der Kälber. Klinisch-Chemische Parameter wie die Serumaktivität der GLDH, sowie die Serumkonzentrationen von Calcium, FFS und Serumproteine können den Einfluss metabolischer Belastungen auf den passiven Transfer von Ig auf das Kalb widerspiegeln. Weiterführende Studien sind wünschenswert, um die pathophysiologischen Hintergründe genauer zu untersuchen. Ein Stoffwechsel-Monitoring bei trockenstehenden Kühen in der Vorbereitungsphase ist empfehlenswert, denn es kann Hinweise auf metabolische Imbalancen sowie eine schlechte Kolostrumqualität und damit eine Unterversorgung neugeborener Kälber mit Ig geben. Weiterhin konnten bereits bekannte Managementfaktoren zur Sicherung der Kolostrumqualität und des APT bestätigt werden. Bestandsimpfungen hochträchtiger Tiere und eine ganztägige Geburtsüberwachung tragen dazu bei, Kälber zeitnah mit qualitativ hochwertigem Kolostrum zu versorgen. Der Gehalt des Kolostrums an Ig hat wesentlichen Einfluss auf den APT und kann mittels Brix-Refraktometer auf einfache Weise geschätzt werden. Die Untersuchung von Kolostrumproben mittels Refraktometer bietet den Landwirten eine kostengünstige Methode zur Überprüfung der Qualität und sichert somit eine optimale Versorgung der Kälber.

## **5 Zusammenfassung**

Ziel dieser Querschnittsstudie war es, (1) Beziehungen zwischen dem präpartalen Stoffwechsel der Kuh und dem Brix-Wert des Kolostrums, sowie (2) Beziehungen zwischen dem präpartalen Stoffwechsel der Kuh und der Immunglobulin (Ig)- und Gesamtprotein (TP)-konzentration im Serum des Kalbes unter der Berücksichtigung relevanter Managementfaktoren zu identifizieren.

Von März 2017 bis März 2018 haben insgesamt 124 landwirtschaftliche Betriebe an der Studie teilgenommen. Die Betriebe wurden aus dem Kundenkreis des Thüringer Tiergesundheitsdienstes (97 Betriebe) und aus dem Kundenkreis von zwei Großtierpraxen in Südbayern (27 Betriebe) rekrutiert. Die Teilnahme an der Studie war freiwillig. Pro Betrieb wurden sieben bis zehn pluripare, hochtragende Kühe ausgewählt, die sich wenige Wochen vor dem errechneten Geburtstermin befanden. Bei der klinischen Untersuchung wurde die innere Körpertemperatur sowie der Body Condition Score, der Lahmheitsgrad und die Pansenfüllung ermittelt. Insofern zutreffend, wurde die Gabe saurer Salze zur Prophylaxe der Gebärpause, die Substitution von Vitamin E und Selen sowie die Durchführung von Impfungen der Muttertiere während der Trockenstehperiode erfasst. Von jeder Kuh wurden Blutproben durch Punktion der Vena caudalis mediana und Harnproben durch Katheterisierung der Harnblase entnommen. Die klinische Untersuchung und die Probenahme fanden etwa drei bis eine Woche vor dem errechneten Geburtstermin statt. Im Labor des Thüringer Tiergesundheitsdienstes wurden unter der Verwendung des Laboranalysesystems Beckman DX 600 die Serumkonzentrationen von Cholesterin, Bilirubin, Harnstoff, TP, Albumin, Freie Fettsäuren (FFS), Calcium, anorganisches Phosphat und Magnesium, sowie die Serumaktivitäten der Aspartat-Aminotransferase, der Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) und der Creatin-Kinase und die Harnkonzentrationen von Calcium, Natrium, Kalium und Kreatinin bestimmt. Die Netto-Säure-Basen-Ausscheidung wurde titrimetrisch ermittelt. Selen wurde in einem externen Labor untersucht (Synlab Analytics & Services Germany GmbH in Jena). Die Kolostrumproben wurden unmittelbar nach der Geburt entnommen und die Dichte wurde mittels eines digitalen Brix-Refraktometers bestimmt. Bei den Kälbern erfolgte die Blutprobenentnahme aus der Vena jugularis zwischen dem ersten und neunten Lebenstag. Die Serumkonzentrationen von Albumin und TP wurden unter der Verwendung des Laboranalysesystems Beckman DX 600 bestimmt. Die Ig-Konzentration wurde mittels des Natriumsulfat-Trübungstest ermittelt. Zusätzlich wurden folgende Informationen zum Betriebsmanagement erhoben: Menge und Zeitpunkt der Kolostrumgabe, Qualitätsprüfung des Kolostrums, muttertreue Kolostrumgabe, Betreuung der Kälber durch separates Personal und Informationen zur Geburtsüberwachung im Betrieb. Bei

der statistischen Auswertung kamen multivariable lineare Regressionsmodelle mit schrittweiser Eliminierung der Variablen zum Einsatz. Von ursprünglich 1053 Tieren, flossen 873 Tiere in die Datenanalyse der ersten Fragestellung. In die Datenanalyse zur zweiten Fragestellung wurden 551 Kuh-Kalb-Paare einbezogen, die in Betrieben gehalten wurden, welche ausschließlich eine muttertreue Verfütterung des Erstkolostrum praktizierten.

Bei der Datenanalyse zu Fragestellung 1 wurden folgende Ergebnisse ermittelt:

- Eine erhöhte Serumaktivität der GLDH im Serum der Kuh ist assoziiert mit einem niedrigeren Brix-Wert des Kolostrums ( $P = 0,002$ ).
- Eine erhöhte Calciumkonzentrationen im Serum der Kuh ist assoziiert mit einem niedrigeren Brix-Wert des Kolostrums ( $P = 0,05$ ).
- Die Konzentration der Serumglobuline bei der Kuh ist positiv mit dem Brix-Wert des Kolostrums assoziiert ( $P < 0,01$ ).
- Kühe in der zweiten Laktation zeigen geringere Brix-Werte des Kolostrums als Kühe in der dritten oder höheren Laktation ( $P < 0,01$ ).
- Kühe, die während der Trockenstehperiode geimpft wurden, zeigen höhere Brix-Werte des Kolostrums ( $P < 0,01$ ).
- Kühe mit einer geringgradigen Lahmheit im Vergleich zu mittel- und hochgradig lahmen Kühen zeigen höhere Brix-Werte des Kolostrums ( $P = 0,02$ ).

Bei der Datenanalyse zu Fragestellung 2 wurden folgende Ergebnisse ermittelt:

- Eine Erhöhung der Serumkonzentration FFS bei der Kuh ist assoziiert mit höheren Ig-Konzentrationen im Serum des Kalbes ( $P = 0,03$ ).
- Die Serum-Albuminkonzentration des Kalbes ist negativ mit der Ig-Konzentration im Serum des Kalbes assoziiert ( $P < 0,01$ ).
- Kälber von Betrieben mit einer etablierten nächtlichen Geburtsüberwachung zeigen höhere Ig- und TP-Konzentrationen im Serum im Vergleich zu Betrieben ohne nächtliche Geburtsüberwachung ( $P = 0,05$  für Ig und  $P = 0,03$  für TP).
- Kälber, die bei der ersten Mahlzeit 2 Liter Kolostrum erhalten, haben höhere Ig- und TP-Konzentrationen im Serum als Kälber die 1-2 Liter Kolostrum erhalten ( $P < 0,01$ ).
- Der Brix-Wert des Kolostrums ist positiv mit der Ig- und TP-Konzentration im Serum der Kälber assoziiert ( $P < 0,01$ ).

Die Ergebnisse dieser Studie geben Hinweise auf mögliche Beziehungen zwischen dem präpartalen Stoffwechsel der Kuh und dem Brix-Wert des Kolostrums sowie der Ig- und TP-Konzentration im Serum des Kalbes. Dabei sind die Serumaktivität der GLDH sowie die Serumkonzentrationen von Calcium, FFS und der Serumglobuline von besonderem Interesse. Weiterführende Studien zu den pathophysiologischen Mechanismen sind wünschenswert. Stoffwechseluntersuchungen in der Trockenstehperiode können dazu beitragen, mögliche Ursachen für einen fehlerhaften passiven Transfer von Ig (FPTI) auf Tier- und Herdenebene zu identifizieren. Muttertierimpfungen in der Trockenstehperiode und ganztägige Geburtsüberwachung, die eine rechtzeitige Kolostrumversorgung ermöglicht und das Risiko einer Dystokie minimieren kann, erwiesen sich als wichtige Managementfaktoren, um FPTI vorzubeugen.

## 6 Summary

The objective of this cross-sectional study was (1) to evaluate relationships between the prepartum metabolic status of dams and the colostrum quality as determined by Brix-refractometry and (2) to determine the influence of the prepartum metabolic status of dams on the serum immunoglobulin (Ig) and total protein (TP) concentrations of their dairy calves, taking other relevant management factors into account.

From March 2017 to March 2018, a total of 124 farms participated in the study. Farms were recruited from among the Thuringian Animal Health Service's clientele (97 farms) and from the clientele of two large animal practices in Southern Bavaria (27 farms). Participation in the study was voluntary. Seven to ten multiparous cows per dairy farm about three to one weeks prepartum were selected based on the expected calving date. The clinical examination included rectal temperature as well as body condition score, lameness score, and degree of rumen fill. Where applicable, administration of anionic salts as a low dietary cation-anion difference-diet, the administration of vitamin E and selenium, and vaccination of dams during the dry period were recorded. Blood was harvested from the coccygeal vessels and urine samples were collected in tubes using a sterile stainless-steel bladder catheter. Clinical examination and sampling took place about three to one weeks before the expected calving date. In the laboratory of the Thuringian Animal Health Service, serum and urine samples were analyzed by automated spectrophotometry (Beckman Coulter Unicel D×C 600). Selected metabolites were serum concentration of cholesterol, bilirubin, urea, TP, albumin, non-esterified fatty acids (NEFA), calcium, phosphorus, magnesium, as well as serum activity of aspartate aminotransferase, glutamate dehydrogenase (GLDH) and creatine kinase, and urine concentration of calcium, sodium, creatinine, and potassium. Net acid-base excretion was determined by titrimetric method. Selenium serum concentration was analyzed by an external laboratory (Synlab Analytics & Services Germany GmbH, Jena, Germany). Colostrum samples were collected after birth and analyzed using a digital Brix-refractometer. Calves were sampled between one and nine days of age. Blood was harvested from the jugular vein and analyzed for serum concentration of albumin and TP by automated spectrophotometry (Beckman Coulter Unicel D×C 600) and Ig was measured photometrically using an indirect proxy measurement (precipitation with sodium sulfate solution). In addition, the following data on newborn calf management was recorded for each farm: time and amount of first colostrum feeding, colostrum quality testing, first colostrum-feeding from the own dam, separate primary calf caretaker and birth control. Multivariable linear regression models with stepwise backward elimination of variables were used in the statistical analysis. Overall, 873 of the 1053 originally tested cows

were included in the data analysis for question one. The data analysis for question two included 551 cows with their calves kept in herds where each calf received first-feeding colostrum from its own dam.

The following results were obtained in the data analysis for question 1:

- An increase of the serum activity of GLDH is associated with lower Brix values ( $p = 0.002$ ).
- An increase of the serum concentration of calcium is associated with lower Brix values ( $p = 0.05$ ).
- The concentration of serum globulins in the cow is positively associated with the Brix value of the colostrum ( $p < 0.01$ ).
- Cows entering second parity have lower Brix values than cows entering third or greater parity ( $p < 0.01$ ).
- Prepartum vaccination of cows leads to higher Brix values ( $p < 0.01$ ).
- Cows with low-grade lameness show higher Brix values of the colostrum than cows with moderate to high-grade lameness ( $p = 0.02$ ).

The following results were obtained in the data analysis for question 2:

- Increasing serum NEFA concentration of the cow is associated with higher serum Ig concentration of the calf ( $p = 0.03$ ).
- Calf serum concentration of albumin is negatively associated with calf serum concentration of Ig ( $p < 0.01$ ).
- The Brix value of colostrum is positively associated with Ig and TP concentrations in the serum of the calf ( $p < 0.01$  for Ig and TP).
- In herds with established frequent birth monitoring during night serum Ig- and TP concentrations are higher compared to herds with no birth monitoring at night ( $p = 0.05$  and  $p = 0.03$  respectively).
- Calves fed more than 2 liters of colostrum at first feeding have higher serum Ig- and TP concentrations compared to calves fed 1-2 liters ( $p < 0.01$ ).

The results of this study provide evidence that prepartum metabolic health is associated with colostrum quality as well as the serum Ig- and TP concentrations of calves. The serum activity of GLDH, as well as serum concentrations of calcium, NEFA, and serum globulins are of particular interest. Further research on the pathophysiological mechanisms is desirable. Metabolic monitoring of close-up cows may contribute to identify potential causes of failure of



passive transfer at individual and herd level. Prepartum vaccination of the cows and whole-day birth monitoring, which enables timely colostrum supply and minimizes the risk of dystocia, were proven to be a relevant factor to improve APT and calf health.

## **7 Literaturverzeichnis**

Abuelo, A., P. Havrlant, N. Wood und M. Hernandez-Jover (2019):

An investigation of dairy calf management practices, colostrum quality, failure of transfer of passive immunity, and occurrence of enteropathogens among Australian dairy farms.

Journal of Dairy Science, 102, 8352-8366.

Barrington, G. M., T. B. McFadden, M. T. Huyler und T. E. Besser (2001):

Regulation of colostrogenesis in cattle.

Livestock Production Science, 70, 95-104.

Bartens, M. C., M. Drillich, K. Rychli, M. Iwersen, T. Arnholdt, L. Meyer und D. Klein-Jöbstl (2016):

Assessment of different methods to estimate bovine colostrum quality on farm.

New Zealand Veterinary Journal, 64, 263-267.

Bartier, A. L., M. C. Windeyer und L. Doepel (2015):

Evaluation of on-farm tools for colostrum quality measurement.

Journal of Dairy Science, 98, 1878-1884.

Baumrucker, C. R. und R. M. Bruckmaier (2014):

Colostrogenesis: IgG<sub>1</sub> Transcytosis Mechanisms.

Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia, 19, 103-117.

Baumrucker, C. R., R. S. Zbinden, H. A. van Dorland, G. J. Remmelink, B. Kemp, A. T. van Knegsel und R. M. Bruckmaier (2014):

Continuous milking of dairy cows disrupts timing of peak IgG concentration appearance in mammary secretions.

Journal of Dairy Research, 81, 403-409.

Besser, T. E., C. C. Gay und L. Pritchett (1991):

Comparison of three methods of feeding colostrum to dairy calves.

Journal of the American Veterinary Medical Association, 198, 419-422.

Bobe, G., J. W. Young und D. C. Beitz (2004):

Invited review: Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows.

Journal of Dairy Science, 87, 3105-3124.

- Bogin, E., Y. Avidar, S. Shenkler, B.-A. Israeli, N. Spiegel und R. A. Cohen (1993):  
Rapid Field Test for the Determination of Colostral Ingestion by Calves, Based on  $\gamma$ -  
Glutamyltransferase.  
European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry, 31, 695-699.
- Brandon, M. R., D. L. Watson und A. K. Lascelles (1971):  
The mechanism of transfer of immunoglobulin into mammary secretion of cows.  
Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science, 49, 613-623.
- Buczinski, S. und J. M. Vandeweerd (2016):  
Diagnostic accuracy of refractometry for assessing bovine colostrum quality: A systematic  
review and meta-analysis.  
Journal of Dairy Science, 99, 7381-7394.
- Bush, L. J. und T. E. Staley (1980):  
Absorption of Colostral Immunoglobulins in Newborn Calves.  
Journal of Dairy Science, 63, 672-680.
- Butler, J. E. (1998):  
Immunoglobulin diversity, B-cell and antibody repertoire development in large farm animals.  
Revue Scientifique et Technique, 17, 43-70.
- Cabral, R. G., C. E. Chapman, K. M. Aragona, E. Clark, M. Lunak und P. S. Erickson (2016):  
Predicting colostrum quality from performance in the previous lactation and environmental  
changes.  
Journal of Dairy Science, 99, 4048-4055.
- Carroll, J. A., N. C. Burdick Sanchez, P. R. Broadway, G. M. Silva, J. Ranches, J. Warren, J.  
D. Arthington, P. A. Lancaster und P. Moriel (2021):  
Prenatal immune stimulation alters the postnatal acute phase and metabolic responses to an  
endotoxin challenge in weaned beef heifers.  
Translational Animal Science, 5, 1-12.
- Chigerwe, M., J. W. Tyler, L. G. Schultz, J. R. Middleton, B. J. Steevens und J. N. Spain  
(2008):  
Effect of colostrum administration by use of oroesophageal intubation on serum IgG  
concentrations in Holstein bull calves.  
American Journal of Veterinary Research, 69 (9), 1158-1163.

- Chuck, G. M., P. D. Mansell, M. A. Stevenson und M. M. Izzo (2017):  
Factors affecting colostrum quality in Australian pasture-based dairy herds.  
*Australian Veterinarian Journal*, 95, 421-426.
- Conneely, M., D. P. Berry, R. Sayers, J. P. Murphy, I. Lorenz, M. L. Doherty und E. Kennedy (2013):  
Factors associated with the concentration of immunoglobulin G in the colostrum of dairy cows.  
*Animals*, 7, 1824-1832.
- Conneely, M., D. P. Berry, R. Sayers, J. P. Murphy, I. Lorenz, M. L. Doherty und E. Kennedy (2014):  
Factors associated with the concentration of immunoglobulin G in the colostrum of dairy cows.  
*Animals* 7, 1824-1832.
- Contreras, G. A., C. Strieder-Barboza und J. De Koster (2018):  
Symposium review: Modulating adipose tissue lipolysis and remodeling to improve immune function during the transition period and early lactation of dairy cows.  
*Journal of Dairy Science*, 101, 2737-2752.
- Dardillat, J., G. Trillat und P. Larvor (1978):  
Colostrum immunoglobulin concentration in cows: Relationship with their calf mortality and with the colostrum quality of their female offspring.  
*Annales de Recherches Vétérinaires*, 9, 375-384.
- Deelen, S. M., T. L. Ollivett, D. M. Haines und K. E. Leslie (2014):  
Evaluation of a Brix refractometer to estimate serum immunoglobulin G concentration in neonatal dairy calves.  
*Journal of Dairy Science*, 97, 3838-3844.
- Demattio, L. und A. Wehrend (2020):  
Vorkommen und Bedeutung von Leukozyten im Kolostrum.  
*Tierärztliche Praxis Ausgabe Großtiere/Nutztiere*, 48, 35-44.

- Denholm, K. S., S. McDougall, G. Chambers und W. Clough (2018):  
Factors associated with colostrum quality in individual cows from dairy herds in the Waikato region of New Zealand.  
New Zealand Veterinary Journal, 66, 115-120.
- De Souza, R. S., L. B. C. dos Santos, I. O. Melo, D. M. Cerqueira, J. V. Dumas, F. d. O. P. Leme, T. F. Moreira, R. M. Meneses, A. U. de Carvalho und E. J. Facury-Filho (2021):  
Current Diagnostic Methods for Assessing Transfer of Passive Immunity in Calves and Possible Improvements: A Literature Review.  
Animals, 11, 2963.
- Devery-Pocius, J. E. und B. L. Larson (1983):  
Age and Previous Lactations as Factors in the Amount of Bovine Colostral Immunoglobulins  
Journal of Dairy Science, 66, 221-226.
- Diehl, A. L., J. K. Bernard, S. Tao, T. N. Smith, T. Marins, D. J. Kirk, D. J. McLean und J. D. Chapman (2018):  
Short communication: Blood mineral and gas concentrations of calves born to cows fed prepartum diets differing in dietary cation-anion difference and calcium concentration.  
Journal of Dairy Science, 101, 9048-9051.
- Donat, K., W. Siebert, E. Menzer und S. Söllner-Donat (2016):  
Langfristige Trends im metabolischen Profil von Deutsch-Holstein-Milchviehherden in Thüringen.  
Tierärztliche Praxis Ausgabe Großtiere/Nutztiere, 44, 73-82.
- Donovan, G. A., L. Badinga, R. J. Collier, C. J. Wilcox und R. K. Braun (1986):  
Factors Influencing Passive Transfer in Dairy Calves.  
Journal of Dairy Science, 69, 754-759.
- Dunn, A., A. Ashfield, B. Earley, M. Welsh, A. Gordon, M. McGee und S. J. Morrison (2017):  
Effect of concentrate supplementation during the dry period on colostrum quality and effect of colostrum feeding regimen on passive transfer of immunity, calf health, and performance.  
Journal of Dairy Science, 10, 357-370.
- Edmonson, A. J., I. J. Lean, L. D. Weaver, T. Farver und G. Webster (1989):  
A body condition scoring chart for Holstein dairy cows.  
Journal of Dairy Science, 72, 68-78.

- Elfstrand, L., H. Lindmark-Månsson, M. Paulsson, L. Nyberg und B. Åkesson (2002):  
Immunoglobulins, growth factors and growth hormone in bovine colostrum and the effects of processing.  
International Dairy Journal, 12, 879-887.
- Faddy, H. M., C. E. Smart, R. Xu, G. Y. Lee, P. A. Kenny, M. Feng, R. Rao, M. A. Brown, M. J. Bissell, S. J. Roberts-Thomson und G. R. Monteith (2008):  
Localization of plasma membrane and secretory calcium pumps in the mammary gland.  
Biochemical and Biophysical Research Communications, 369, 977-981.
- Franklin, S. T., M. C. Newman, K. E. Newman und K. I. Meek (2005):  
Immune Parameters of Dry Cows Fed Mannan Oligosaccharide and Subsequent Transfer of Immunity to Calves.  
Journal of Dairy Science, 88, 766-775.
- Furman-Fratczak, K., A. Rzasa und T. Stefaniak (2011):  
The influence of colostrum immunoglobulin concentration in heifer calves' serum on their health and growth.  
Journal of Dairy Science, 94, 5536-5543.
- Ganz, S., M. Bülte, Z. Gajewski und A. Wehrend (2018):  
Inhaltsstoffe des bovinen Kolostrums - eine Übersicht.  
Tierärztliche Praxis Ausgabe Großtiere/Nutztiere, 46, 178-188.
- Gärtner, T., E. Gernand, J. Gottschalk und K. Donat (2019):  
Relationships between body condition, body condition loss, and serum metabolites during the transition period in primiparous and multiparous cows.  
Journal of Dairy Science, 102, 9187-9199.
- Godden, S. M., J. E. Lombard und A. R. Woolums (2019):  
Colostrum management for dairy calves.  
Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 35, 535-556.
- González, F. D., R. Muiño, V. Pereira, R. Campos und J. L. Benedito (2011):  
Relationship among blood indicators of lipomobilization and hepatic function during early lactation in high-yielding dairy cows.  
Journal Veterinary Science, 12, 251-255.

- Gulliksen, S. M., K. I. Lie, L. Sølverød und O. Østerås (2008):  
Risk factors associated with colostrum quality in Norwegian dairy cows.  
*Journal of Dairy Science*, 91, 704-712.
- Gründer, H.-D. und M. Stöber (2012):  
Kapitel: Kreislauf.  
In: Dirksen, G., Gründer, H.-D. und Stöber, M. (Hrsg.): *Die klinische Untersuchung des Rindes*.  
Enke Verlag, 4. Auflage, ISBN 978-3-8304-1211-3, S. 218
- Güngör, Ö., A. Bastan und M. K. Erbil (2004):  
The usefulness of the -glutamyltransferase activity and total proteinemia in serum for detection of the failure of immune passive transfer in neonatal calves.  
*Revista Română de Medicină Veterinară*, 155, 27-30.
- Hampe, M. und A. Wehrend (2019):  
Bestimmung der Immunglobulin-G-Versorgung beim neugeborenen Kalb.  
*Tierärztliche Praxis Ausgabe Großtiere/Nutztiere*, 47(2), 97-109.
- Hampe, M. (2019):  
Untersuchung zur Sensitivität und Spezifität verschiedener Methoden der Immunglobulin G-Messung im Blut beim neonatalen Kalbe.  
Inaugural-Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen
- Hampe, M, K. Failing, S. Söllner-Donat und A. Wehrend (2020):  
Beeinflussung des Ergebnisses eines semiquantitativen Schnelltests zur Ermittlung der Immunglobulin-G-Konzentration im Serum boviner Kälber.  
*Tierärztliche Praxis Ausgabe Großtiere/Nutztiere*, 48(4), 249-252.
- Hampe, M., S. Söllner-Donat, K. Failing und A. Wehrend (2021):  
Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and Fassisi® bovine immunoglobulin G (IgG) immunoassay for quantification of bovine IgG in neonatal calf serum.  
*Veterinary World*, 14(12), 3211-3215.
- Hogan, I., M. Doherty, J. Fagan, E. Kennedy, M. Conneely, P. Brady, C. Ryan und I. Lorenz (2015):  
Comparison of rapid laboratory tests for failure of passive transfer in the bovine.  
*Irish Veterinary Journal*, 68(1), 18.

Ingvartsen, K. L. und K. Moyes (2012):

Nutrition, immune function and health of dairy cattle.

Animal, 1, 112-122.

Jaster, E. H. (2005):

Evaluation of quality, quantity, and timing of colostrum feeding on immunoglobulin G<sub>1</sub> absorption in jersey calves.

Journal of Dairy Science, 88, 296-302.

Johnsen, J. F., J. Sørby, C. M. Mejdell, Å. M. Sogstad, A. Nødtvedt und I. H. Holmøy (2019):

Indirect quantification of IgG using a digital refractometer, and factors associated with colostrum quality in Norwegian Red Cattle.

Acta Veterinaria Scandinavica, 61, 59.

Jolazadeh, A. R., T. Mohammadabadi, M. Dehghan-banadaky, M. Chaji und M. Garcia (2019):

Effect of supplementation fat during the last 3 weeks of uterine life and the preweaning period on performance, ruminal fermentation, blood metabolites, passive immunity and health of the newborn calf.

British Journal of Nutrition, 122, 1346-1358.

Karl, M. und R. Staufenbiel (2017):

Einflussfaktoren auf die Immunglobulinkonzentration im Erstkolostrum bei Holstein-Friesian-Milchkühen und deren Beziehung zur postpartalen Kalziumkonzentration im Blut und Kolostrum.

Tierärztliche Praxis Ausgabe Großtiere/Nutztier, 45, 331-341.

Klingbeil, M. (2015):

Untersuchung von Einflussfaktoren auf die Menge, Qualität und den Calciumgehalt des Erstkolostrums bei Holstein Friesian.

Inaugural-Dissertation, Freie Universität Berlin.

Kvidera, S. K., E. A. Horst, M. Abuajamieh, E. J. Mayorga, M. V. Sanz Fernandez und L. H. Baumgardl (2017):

Glucose requirements of an activated immune system in lactating Holstein cows.

Journal of Dairy Science, 100, 2360-2374.



- Lacetera, N., D. Scalia, O. Franci, U. Bernabucci, B. Ronchi und A. Nardone (2004):  
Short Communication: Effects of Nonesterified Fatty Acids on Lymphocyte Function in Dairy Heifers.  
Journal of Dairy Science, 87, 1012-1014.
- Lacetera, N., D. Scalia, U. Bernabucci, B. Ronchi, D. Pirazzi und A. Nardone (2005):  
Lymphocyte Functions in Overconditioned Cows Around Parturition.  
Journal of Dairy Science, 88, 2010-2016.
- Larson, B. L., H. L. Heary Jr. und J. E. Devery (1980):  
Immunoglobulin production and transport by mammary gland.  
Journal of Dairy Science, 63, 665-671.
- LeBlanc, S. J. (2006):  
Monitoring Programs For Transition Dairy Cows.  
World Buiatric Congress, Nizza, 460-472.
- Lecce, J.G. und D. O. Morgan (1962):  
Effect of dietary regimen on cessation of intestinal absorption of large molecules (closure) in the neonatal pig and lamb.  
Journal of Nutrition, 78, 263-268.
- Lora, I., F. Gottardob, B. Contierob, B. Dall Avac, L. Bonfantic, A. Stefanic und A. Barberio (2017):  
Association between passive immunity and health status of dairy calves under 30 days of age.  
Preventive Veterinary Medicine, 152, 12-15.
- Lopez, A. J. und A. J. Heinrichs (2022):  
Invited review: The importance of colostrum in the newborn dairy calf.  
Journal of Dairy Science, 105(4), 2733-2749.
- Lorenz, I. (2021):  
Calf health from birth to weaning - an update.  
Irish Veterinary Journal, 74, 5.

Mamillapalli, R., J. VanHouten, P. Dann, W. Bikle, W. Chang, E. Brown und J. Wysolmerski (2013):

Mammary-specific ablation of the calcium-sensing receptor during lactation alters maternal calcium metabolism, milk calcium transport, and neonatal calcium accrual.

Endocrinology, 154, 3031-3042.

Mann, C. K. und J. H. Yoe (1956):

Spectrophotometric determination of magnesium with sodium 1-Azo-2-hydroxy-3-(2,4-dimethylcarboxanilido)-naphthalene-1'-(2-hydroxybenzene-5- sulfonate).

Analytic Chemistry, 28, 202-205.

Mayasari, N., G. de Vries Reilingh, M. G. Nieuwland, G. J. Rummelink, H. K. Parmentier, B. Kemp und A. T. van Knegsel (2015):

Effect of maternal dry period length on colostrum immunoglobulin content and on natural and specific antibody titers in calves.

Journal of Dairy Science, 98, 3969-3979.

McGuirk, S. M. und M. Collins (2004):

Managing the production, storage, and delivery of colostrum.

Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 20, 593-603.

Meganck, V., B. M. Goddeeris, S. De Campeneere, M. Hostens, M. Van Eetvelde, S. Piepers, E. Cox und G. Opsomer (2015):

Effects of  $\beta$ -hydroxybutyric acid, parity, and body condition score on phenotype and proliferative capacity of colostrum mononuclear leukocytes of high-yielding dairy cows.

Journal of Dairy Science, 98, 6782-6791.

Morin, D. E., P. D. Constable, F. P. Maunsell und G. C. McCoy (2001):

Factors associated with colostrum specific gravity in dairy cows.

Journal of Dairy Science, 84, 937-943.

Mostafavi, M., H. A. Seifi, M. Mohri und A. Jamshidi (2013):

Optimal thresholds of metabolic indicators of hepatic lipidosis in dairy cows.

Revista Română de Medicină Veterinară, 164, 564-571.

Muller, L. D. und D. K. Ellinger (1981):

Colostrum immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle.

Journal of Dairy Science, 64, 1727-1730.

Murray, C.F. und K. E. Leslie (2013):

Newborn calf vitality: Risk factors, characteristics, assessment, resulting outcomes and strategies for improvement.

Veterinary Journal, 198, 322-328.

Nardone, A., N. Lacetera, U. Bernabucci und B. Ronchi (1997):

Composition of Colostrum from Dairy Heifers Exposed to High Air Temperatures During Late Pregnancy and the Early Postpartum Period.

Journal of Dairy Science, 80, 838-844.

Neumann, S. (2013):

Kapitel: Leber.

In Moritz, A. (Hrsg.): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin.

Schattauer, 7. Auflage, ISBN 978-3-7945-2737-3, S. 250.

Nowak, W., R. Mikuła, A. Zachwieja, K. Paczynska, E. Pecka, K. Drzazga und P. Ślósarz (2012):

The impact of cow nutrition in the dry period on colostrum quality and immune status of calves.

Polish Journal of Veterinary Science, 15, 77-82.

Osaka, I., Y. Matsui und F. Terada (2014):

Effect of the mass of immunoglobulin (Ig)G intake and age at first colostrum feeding on serum IgG concentration in Holstein calves.

Journal of Dairy Science, 97, 6608-6612.

Osorio, J.S., E. Trevisi, M. A. Ballou, G. Bertoni, J. K. Drackley und J. J. Looor (2013):

Effect of the level of maternal energy intake prepartum on immunometabolic markers, polymorphonuclear leukocyte function, and neutrophil gene network expression in neonatal Holstein heifer calves.

Journal of Dairy Science, 96, 3573-3587.

Parker, B. J. und R. W. Blowey (1974):

Comparison of blood from the jugular vein and coccygeal artery and vein of cows.

Veterinary Record, 95(1), 14-18.

- Phipps, A. J., D. S. Beggs, A. J. Murray, P. D. Mansell und M. F. Pyman (2017):  
Factors associated with colostrum immunoglobulin G concentration in northern-Victorian dairy cows.  
*Australian Veterinary Journal*, 95, 237-243.
- Puppel, K., M. Gołębiewski, G. Grodkowski, J. Ślósarz, M. KunowskaŚlósarz, P. Solarczyk, M. Łukasiewicz, M. Balcerak und T. Przysucha (2019):  
Composition and factors affecting quality of bovine colostrum: A review.  
*Animals*, 9, 1070.
- Quigley, J. D., A. Lago, C. Chapman, P. Erickson und J. Polo (2013):  
Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum.  
*Journal of Dairy Science*, 96, 1148-1155.
- Raboisson, D., P. Trillat und C. Cahuzac (2016):  
Failure of passive immune transfer in calves: A meta-analysis on the consequences and assessment of the economic impact.  
*PLoS One*, 11(3), e0150452.
- Rastani, R. R., R. R. Grummer, S. J. Bertics, A. Gümen, M. C. Wiltbank, D. G. Mashek und M. C. Schwab (2005):  
Reducing dry period length to simplify feeding transition cows: Milk production, energy balance, and metabolic profiles.  
*Journal of Dairy Science*, 88, 1004-1014.
- Rehage, J., M. Mertens, N. Stockhofe-Zurwieden, M. Kaske und H. Scholz (1996):  
Post surgical convalescence of dairy cows with left abomasal displacement in relation to fatty liver.  
*Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 138, 361-368.
- Reinhardt, T. A., J. D. Lippolis, G. E. Shull und R. L. Horst (2004):  
Null mutation in the gene encoding plasma membrane Ca<sup>2+</sup>-ATPase isoform 2 impairs calcium transport into milk.  
*Journal of Biological Chemistry*, 279, 42369-42373.

- Reschke, C., E. Schelling, A. Michel, F. Remy-Wohlfender und M. Meylan (2017):  
Factors associated with colostrum quality and effects on serum gamma globulin concentrations of calves in Swiss dairy herds.  
*Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31, 1563-1571.
- Rovai, M., M. T. Kollmann und R. M. Bruckmaier (2007):  
Incontinentia lactis: Physiology and anatomy conducive to milk leakage in dairy cows.  
*Journal of Dairy Science*, 90, 682-690.
- Salehi, R., D. J. Ambrose und M. Oba (2016):  
Short communication: Effects of prepartum diets supplemented with rolled oilseeds on Brix values and fatty acid profile of colostrum.  
*Journal of Dairy Science*, 99, 3598-3601.
- Scalia, D., N. Lacetera, U. Bernabucci, K. Demeyere, L. Duchateau und C. Burvenich (2006):  
In Vitro Effects of Nonesterified Fatty Acids on Bovine Neutrophils Oxidative Burst and Viability.  
*Journal of Dairy Science*, 89, 147-154.
- Schneider, F. und A. Wehrend. (2019):  
Qualitätsbeurteilung von bovinen und equinen Kolostrum - Eine Übersicht.  
*Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 161(5), 287-297.
- Shivley, C. B., J. E. Lombard, N. J. Urie, D. M. Haines, R. Sargent, C. A. Koprak, T. J. Earleywine, J. D. Olson und F. B. Garry (2018):  
Prewaned heifer management on US dairy operations: Part II. Factors associated with colostrum quality and passive transfer status of dairy heifer calves.  
*Journal of Dairy Science*, 101, 9185-9198.
- Stengårde, L., K. Holtenius, M. Tråvén, J. Hultgren, R. Niskanen und U. Emanuelson (2010):  
Blood profiles in dairy cows with displaced abomasum.  
*Journal of Dairy Science*, 93, 4691-4699.
- Ster, C., M.-C. Loiselle und P. Lacasse (2012):  
Effect of postcalving serum nonesterified fatty acids concentration on the functionality of bovine immune cells.  
*Journal of Dairy Science*, 95, 708-717.

- Stott, G. H. und E. J. Reinhard (1978):  
Adrenal Function and Passive Immunity in the Dystocial Calf  
*Journal of Dairy Science*, 61, 1457-1461.
- Stott, G. H., D. B. Marx, B. E. Menefee und G. T. Nightengale (1979a):  
Colostrum Immunoglobulin Transfer in Calves I. Period of Absorption.  
*Journal of Dairy Science*, 62, 1632-1638.
- Stott, G. H., D. B. Marx, B. E. Menefee und G. T. Nightengale (1979b):  
Colostrum Immunoglobulin Transfer in Calves II. The Rate of Absorption.  
*Journal of Dairy Science*, 62, 1766-1773.
- Sutter, F., E. Rauch, M. Erhard, R. Sargent, C. Weber, W. Heuwieser und S. Borchardt (2020):  
Evaluation of different analytical methods to assess failure of passive transfer in neonatal calves.  
*Journal of Dairy Science*, 103, 5387-5397.
- Tao, S. und G. E. Dahl (2013):  
Invited review: Heat stress effects during late gestation on dry cows and their calves.  
*Journal of Dairy Science*, 96, 4079-4093.
- Tóthová, C., O. Nagy, G. Kováč und V. Nagyová (2016):  
Changes in the concentrations of serum proteins in calves during the first month of life.  
*Journal of Applied Animal Research*, 44, 338-346.
- Tyler, J. W., D. D. Hancock, S. M. Parish, D. E. Rea, T. E. Besser, S. G. Sanders und L. K. Wilson (1996):  
Evaluation of 3 Assays for Failure of Passive Transfer in Calves.  
*Journal of Veterinary Internal Medicine*, 10(5), 304-307.
- Tyler, J. W., B. J. Steevens, D. E. Hostetler, J. M. Holle und J. L. Denbigh Jr. (1999):  
Colostrum immunoglobulin concentrations in Holstein and Guernsey cows.  
*American Journal of Veterinary Research*, 60, 1136-1139.
- Uetake, K. (2013):  
Newborn calf welfare: A review focusing on mortality rates.  
*Journal of Animal Science*, 84, 101-105.

- VanHouten, J., P. Dann, G. McGeoch, E. M. Brown, K. Krapcho, M. Neville und J. J. Wysolmerski (2004):  
The calcium-sensing receptor regulates mammary gland parathyroid hormone-related protein production and calcium transport.  
*Journal of Clinical Investigation*, 113, 598-608.
- VanHouten, J. N., M. C. Neville und J. J. Wysolmerski (2007):  
The calcium-sensing receptor regulated plasma membrane calcium adenosine triphosphatase isoform 2 activity in mammary epithelial cells: a mechanism for calcium-regulating calcium transport into milk.  
*Endocrinology*, 148, 5943-5954.
- Van Knegsel, A. T. M., G. de Vries Reilingh, S. Meulenberg, H. van den Brand, J. Dijkstra, B. Kemp und H. K. Parmentier (2007):  
Natural Antibodies Related to Energy Balance in Early Lactation Dairy Cows.  
*Journal of Dairy Science*, 90, 5490-5498.
- Vogels, Z., G. M. Chuck und J. M. Morton (2013):  
Failure of transfer of passive immunity and gammaglobulinaemia in calves in southwest Victorian dairy herds: prevalence and risk factors.  
*Australian Veterinary Journal*, 91, 150-158.
- Weaver, D. M., J. W. Tyler, D. C. VanMetre, D. E. Hostetler und G. M. Barrington (2000):  
Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves.  
*Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14, 569-577.
- Wentink, G. H., V. P. Rutten, T. S. van den Ingh, A. Hoek, K. E. Müller und T. Wensing (1997):  
Impaired specific immunoreactivity in cows with hepatic lipidosis.  
*Veterinary Immunology and Immunopathology*, 56, 77-83.
- Wiesner, E. und R. Ribbeck (2000)  
*Lexikon der Veterinärmedizin*, 4. Auflage  
Enke im Hippokrates Verlag GmbH, ISBN 3-7773-1459-5, S. 698, 796

Wilm, J., J. H. C. Costa, H. W. Neave, D. M. Weary und M. A. G. von Keyserlingk (2018):  
Technical note: Serum total protein and immunoglobulin G concentrations in neonatal dairy  
calves over the first 10 days of age.

Journal of Dairy Science, 101, 6430-6436.

Zaaijer, D. und J. P. T. M. Noordhuizen (2001):

Dairy cow monitoring in relation to fertility performance.

Cattle Practice, 9, 205-210.

Zitzmann, R., M. Pfeffer, S. Söllner-Donat und K. Donat (2019):

Risikofaktoren für die Kälbersterblichkeit beeinflussen den Nachweis von Antikörpern gegen  
die Erreger der enzootischen Bronchopneumonie.

Tierärztliche Praxis Ausgabe Großtiere/Nutztiere, 47, 151-165.



## **8 Danksagung**

Ich möchte mich hiermit ganz herzlich bei Herrn apl. Prof. Dr. Karsten Donat bedanken für die Möglichkeit der Erstellung dieser Dissertation. Vielen Dank für das entgegengebrachte Vertrauen, für die stetige Motivation und Unterstützung, die zügigen Korrekturen und die vielen netten Telefonate über die Jahre. Ich weiß das alles sehr zu schätzen! Danke!

Vielen Dank an Herrn Prof. Dr. Axel Wehrend, der sich bereit erklärt hat, dass Projekt zu unterstützen, und für die stets schnellen und kritischen Korrekturen der wissenschaftlichen Artikel und der Dissertation.

Herzlichen Dank an Tanja Gärtner, dafür, dass ich mich immer mit den Laborfragen an dich wenden konnte und für die Unterstützung bei der Erstellung der wissenschaftlichen Artikel. Vielen Dank auch an das Team der Thüringer Tierseuchenkasse. Danke an die Tierärzte, die bei der Probenentnahme beteiligt waren. Danke an die Mitarbeiter des Labors für die Bearbeitung der Proben.

Vielen Dank auch an Herrn Dr. Klaus Failing sowie Frau Dr. Kathrin Büttner aus der AG Biomathematik und Datenverarbeitung der JLU Gießen für die Bearbeitung der statistischen Auswertung. Ebenso ein großes Dankeschön an Herrn Schaubmar für die unzähligen Telefonate und geduldigen Erklärungen zu der statistischen Auswertung.

Ich bedanke mich bei allen Landwirtinnen und Landwirten für Ihre Zeit und Mithilfe bei der Probenentnahme. Ohne Ihre freiwillige Teilnahme wäre diese Studie nicht in diesem Umfang möglich gewesen.

Danke an Angela fürs Korrekturlesen und zurechtrücken der falsch gesetzten Kommas.

Und zu guter Letzt, vielen Dank an meine Mama Bettina, die mich einfach immer unterstützt und motiviert, egal in welcher Lebenslage. Danke, dass du immer ein offenes Ohr für mich hast! Danke an meinen Freund Franz, für deine Geduld und dass du immer für mich da bist! Danke Nadine, du bist wirklich eine Freundin fürs Leben! Ich bin froh, dass du mich immer wieder motiviert hast und Verständnis hattest, als ich nicht so viel Zeit hatte! Danke an meine Mama sowie Zenta und Franz, dass ihr euch um Lorenz gekümmert habt.

Vielen Dank an alle, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben!

## 9 Erklärung

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Dirlewang, den 01.12.2022

Manuela Immler



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

VVB LAUFERSWEILER VERLAG  
STAUFENBERGRING 15  
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890  
redaktion@doktorverlag.de  
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-7085-4

