

**Untersuchung zur Sensitivität und Spezifität
verschiedener Methoden der
Immunglobulin G-Messung im Blut
beim neonatalen Kalb**

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin der
Justus-Liebig-Universität Gießen

Marian Hampe

Bibliografische Informationen der Deutschen Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie;
detaillierte bibliografische Daten sind im Internet abrufbar über
<http://dnb.ddb.de>

© 2019 by Verlag:
Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft Service GmbH, Gießen
Printed in Germany

Foto Titelseite
© Mike Mareen/stock.adobe.com

ISBN 978-3-86345-497-5
1. Auflage 2019

Verlag:
DVG Service GmbH
Friedrichstraße 17
35392 Gießen
Tel.: 0641/24466
info@divg.de
www.divg.de

Aus dem Klinikum Veterinärmedizin,
Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere
mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Axel Wehrend

**Untersuchung zur Sensitivität und Spezifität
verschiedener Methoden der Immunglobulin G-Messung im Blut
beim neonatalen Kalb**

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin der
Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von

Marian Hampe

Tierarzt aus Bremen-Blumenthal

Gießen 2019

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

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. Martin Kramer

Gutachter: Prof. Dr. Axel Wehrend
Prof. Dr. Sven König

Tag der Disputation: 8. Juli 2019

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden veröffentlicht:

Tierärztliche Praxis Ausgabe G Großtiere/Nutztiere 2019; 47(2): 97-109

44. Leipziger Fortbildungsveranstaltung, Labordiagnostik in der Bestandsbetreuung

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	IV
Tabellenverzeichnis.....	VI
Abbildungsverzeichnis.....	VIII
1 Einleitung und Zielsetzung	1
2 Literatur	3
2.1 Immunglobuline des Rindes.....	3
2.1.1 Immunglobulin A (IgA)	4
2.1.2 Immunglobulin E (IgE)	5
2.1.3 Immunglobulin G (IgG).....	6
2.1.4 Immunglobulin M (IgM)	7
2.2 Immunglobuline im Kolostrum.....	8
2.3 Passive Immunisierung des Kalbes	11
2.3.1 Resorption von Immunglobulin G durch das Kalb	11
2.3.2 Unzureichende passive Immunisierung des Kalbes (FPT)	17
2.4 Entwicklung des Immunsystems und des Immunglobulin G-Konzentrationsverlaufs im Blut des Kalbes	20
2.5 Labordiagnostische Meßverfahren zur Messung der Immunglobulin G- Konzentration im Blut des Kalbes	26
2.5.1 Direkte Immunglobulin G-Nachweisverfahren.....	26
2.5.1.1 Radialer-Immundiffusionstest (RID/sRID)	26
2.5.1.2 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)	27
2.5.2 Indirekte Immunglobulin G-Nachweisverfahren	29
2.5.2.1 Messung der Gammaglutamyltransferaseaktivität	29
2.5.2.2 Bestimmung der Gesamtproteinkonzentration mit Hilfe der Refraktometrie	32
2.5.3 Labordiagnostische Verfahren im Vergleich	35
3 Tiere, Material und Methoden	39
3.1 Probenentnahme und -bearbeitung	39
3.2 Gesamtproteinmessung mittels Refraktometer im Serum.....	40
3.3 Aktivität der Gammaglutamyltransferase im Serum	40
3.4 Immunglobulin G-Messung mittels ELISA.....	41

3.5	Bestimmung der Immunglobulin G-Konzentration mit Hilfe des Fassisi® Bovine IgG Testes.....	41
3.5.1	Abhängigkeit des Ergebnisses des Fassisi® Bovine IgG Testes vom Zeitpunkt des Ablesens.....	42
3.5.2	Bestimmung der IgG-Konzentration mit Hilfe des Fassisi® Bovine IgG Testes mit tiefgefrorenen Serumproben.....	43
3.5.3	Auswertung des Fassisi® Bovine IgG Testes durch unterschiedliche Ableser.....	43
3.6	Probandenkollektiv.....	43
3.6.1	Tiere	43
3.6.2	Gruppeneinteilung.....	44
3.6.2.1	Alter	44
3.6.2.2	Gesundheitszustand	44
3.7	Statistische Auswertung.....	44
4	Ergebnisse.....	46
4.1	Labordiagnostische Parameter	46
4.1.1	Allgemeine Datenbeschreibung	46
4.1.2	Korrelation zwischen der Immunglobulin G-Konzentration und anderen labordiagnostischen Parametern	47
4.1.2.1	Fassisi® Bovine IgG Test (Schnelltest) versus Immunglobulin G.....	48
4.1.2.2	Gesamtprotein versus Immunglobulin G.....	49
4.1.2.3	Gammaglutamyltransferaseaktivität versus Immunglobulin G	50
4.1.3	Überprüfung des Zusammenhangs zwischen den Ergebnissen des Schnelltestes und dem Immunglobulin G-Gehalt der Serumproben mit Hilfe der schrittweisen logistischen Regression	50
4.1.4	Analyse in der Vierfeldertafel	52
4.1.4.1	Fassisi® Bovine IgG Test (Schnelltest) versus Immunglobulin G.....	52
4.1.4.2	Gesamtprotein versus Immunglobulin G.....	53
4.1.4.3	Gammaglutamyltransferaseaktivität versus Immunglobulin G	54
4.2	Einfluß verschiedener Parameter auf das Ergebnis des Schnelltestes.....	55
4.2.1	Alter und Gesundheitszustand.....	55
4.2.2	Kryokonservierung.....	57
4.2.3	Zeitpunkt des Ablesens.....	58
4.2.4	Unterschiedliche Ableser	58

5	Diskussion	60
5.1	Diskussion der Fragestellung.....	60
5.2	Diskussion der Methode	61
5.3	Diskussion der Ergebnisse	62
5.3.1	Zusammenhang zwischen IgG-Konzentration und dem Schnelltest- ergebnis	62
5.3.2	Zusammenhang zwischen IgG-Konzentration und weiteren labordiagno- stischen Parametern	67
5.3.2.1	Gesamtprotein	68
5.3.2.2	Gammaglutamyltransferase	69
6	Zusammenfassung	70
7	Summary	72
8	Literaturverzeichnis	74
9	Anhang	110
10	Erklärung	129
11	Danksagung	130

Abkürzungsverzeichnis

AS	Ayrshire
BVDV	Bovines Virusdiarrhoe-Virus
C	Celsius
CHA	Charolais
DFV	Deutsch Fleckvieh
dl	Deziliter
DRB	Deutsches Rotbuntes Niederungsrind
DSB	Deutsches Schwarzbuntes Niederungsrind
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FcRn	Brambellrezeptor (engl. <i>neonatal fragment crystallisable receptor</i>)
FL	Fleckvieh
FPT	fehlerhafter passiver Transfer (engl. <i>failure of passive transfer</i>)
g	Gramm
GGT	Gammaglutamyltransferase
HF	Holstein-Friesian
IE	Internationale Einheiten
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry
IVF	In-vitro-Fertilisation
Ig	Immunglobulin
IgA	Immunglobulin A
IgE	Immunglobulin E
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
kDa	Kilodalton
KI	Konfidenzintervall
l	Liter
lg	dekadischer Logarithmus
log	Logarithmus
mg	Milligramm
ml	Milliliter
n	Stichprobenumfang
p	Wahrscheinlichkeit

plgR	polymerer Immunoglobulinrezeptor (engl. <i>polymeric immunoglobulin receptor</i>)
r	Korrelationskoeffizient nach Pearson
r _s	Korrelationskoeffizient nach Spearman
RHV	Rotes Höhenvieh
RV	Rotvieh
S	Svedberg
SC	sekretorische Komponente
SIgA	sekretorisches IgA
sRID	einfache radiale Immundiffusion
TIA	turbidimetrischer Immunassay (engl. <i>turbidimetric immunoassay</i>)
\bar{x}_g	geometrischer Mittelwert

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Immunglobulinkonzentrationen in bovinem Kolostrum und maturer Milch	9
Tabelle 2:	Immunglobulinkonzentrationen in bovinem Kolostrum	9
Tabelle 3:	Präkolostrale Immunglobulinkonzentrationen im Serum neonataler Kälber.....	22
Tabelle 4:	Zusammenfassende Darstellung der unterschiedlichen Nachweismethoden für die Immunglobulinkonzentration im Serum von Kälbern	36
Tabelle 5:	Ergebnisse der labordiagnostischen Parameter in Blutproben von Kälbern während der ersten zehn Lebenstage.....	46
Tabelle 6:	Korrelation der mittels ELISA und indirekter Meßmethoden erhobenen Immunglobulinkonzentration der Blutproben an bis zu zehn Tagen alten Kälbern mit Hilfe der Korrelationsanalysen nach Pearson bzw. der Rangkorrelation nach Spearman	47
Tabelle 7:	Statistische Details zur logistischen Regression zur Überprüfung des Zusammenhangs der Ergebnisse des Schnelltestes und des IgG-Gehaltes in Blutproben von Kälbern während der ersten zehn Lebenstage.....	51
Tabelle 8:	Vierfeldertafel des Schnelltestes und einer mittels ELISA diagnostizierten Hypogammaglobulinämie bei der Untersuchung von Blutproben an bis zu zehn Tage alten Kälbern	52
Tabelle 9:	Gesamtpopulation: Vierfeldertafel des Gesamtproteins und einer mittels ELISA diagnostizierten Hypogammaglobulinämie bei der Untersuchung von Blutproben an bis zu zehn Tage alten Kälbern....	53
Tabelle 10:	Vergleich der Ergebnisse der Gesamtproteinbestimmung zwischen gesunden und erkrankten Kälbern: Vierfeldertafel des Gesamtproteins und einer mittels ELISA diagnostizierten Hypogammaglobulinämie bei der Untersuchung von Blutproben an bis zu zehn Tage alten Kälbern.....	54
Tabelle 11:	Vierfeldertafel der GGT-Aktivität und einer mittels ELISA diagnostizierten Hypogammaglobulinämie bei der Untersuchung von Blutproben an bis zu zehn Tage alten Kälbern	55

Tabelle 12:	Vergleich der Klassifizierung zwischen Schnelltest und ELISA der Kälber sortiert nach Alter und Gesundheitszustand	56
Tabelle 13:	Vergleichende Auflistung der Ergebnisse der IgG-Bestimmung mittels ELISA und mit Hilfe des Schnelltestes an 15 bis zu zehn Tagen alten Kälbern	57
Tabelle 14:	Auflistung der Anzahl der Schnelltestergebnisse unterschieden nach direkter Untersuchung und Untersuchung nach Tiefgefrieren ..	58
Tabelle 15:	Labordiagnostische Daten aus den Serumproben der Kälber	110
Tabelle 16:	Ergebnis des Fassisi [®] Bovine IgG Testes in Abhängigkeit vom Zeitpunkt des Ablesens	127
Tabelle 17:	Auswertung des Fassisi [®] Bovine IgG Testes durch unterschiedliche Ableser	128

Abbildungsverzeichnis

Abbildungen 1 - 4: Auswertung des Fassisi® Bovine IgG Testes nach zehn Minuten	42
Abbildung 5: Graphische Darstellung der Korrelation zwischen Schnelltest und IgG	48
Abbildung 6: Graphische Darstellung der Korrelation zwischen Gesamtprotein und IgG	49
Abbildung 7: Graphische Darstellung der Korrelation zwischen GGT und IgG	50
Abbildung 8: Darstellung der logistischen Regression inklusive Regressionskurve zwischen der IgG-Konzentration und dem Schnelltest	51

1 Einleitung und Zielsetzung

Aufgrund der Struktur der bovinen Plazenta (*Placenta epitheliochorialis*) (Grosser, 1909) ist die Versorgung mit Immunglobulinen intrauterin nur sehr gering, so daß die Kälber mit einer ausgeprägten Hypogammaglobulinämie zur Welt kommen (Ganz et al., 2018). Diese ist eine der Hauptursachen für infektiöse Erkrankungen beim neugeborenen Kalb, insofern die Aufnahme mittels Kolostralmilch nicht genügend erfolgt (Besser und Gay, 1994). Eine ausreichende Versorgung mit kolostralen Antikörpern innerhalb der ersten Lebensstunden ist für die Entwicklung und den Gesundheitsstatus entscheidend. Es ist sinnvoll im Rahmen der Bestandskontrolle und -beratung die IgG-Aufnahme beim Einzeltier, insbesondere aber auf Herdenebene zu überprüfen, um eine tierschutzgerechte und wirtschaftliche Kälberaufzucht zu ermöglichen (Wittum und Perino, 1995). Die Folgen unzureichender Kolostrumversorgung bestehen

- in einer erhöhten Krankheitsinzidenz (v. a. Diarrhoe und respiratorische Erkrankungen) (Donovan et al., 1998; Erhard et al., 1999 b; Tyler et al., 1999; Kunz und Malchau, 2009; Vasseur et al., 2010);
- in einer erhöhten Mortalität und vorzeitiger Verwertung in der Aufzucht (Tyler et al., 1999; Trilk und Münch, 2010);
- in einer reduzierten Leistungsfähigkeit als Jungrind bzw. adultes Rind (Robison et al. 1988; Erhard und Stangassinger, 1999 c; Faber et al., 2005; Trilk und Münch, 2010; Münch und Roffeis, 2012; Soberon und van Amburgh, 2013). Dies führt zu ökonomischen Verlusten von 60 € pro Tier in Milchviehherden und von 80 € pro Tier in der Mast (Raboisson et al., 2016).

Zur Überprüfung der Resorption kolostraler Antikörper gilt die Radiale Immundiffusion als Goldstandard. Hier findet eine direkte Messung der IgG-Konzentration im Blut statt (Mancini et al., 1965). Eine weitere Methode zur direkten IgG-Bestimmung besteht mit Hilfe eines ELISA (Erhard et al., 1995). Aufgrund der aufwendigen und zeitintensiven Messung haben sich mehrere Nachweismethoden zur indirekten IgG-Konzentrationsbestimmung in der Praxis durchgesetzt. Diese versuchen über korrelierte Meßgrößen, einen Rückschluß auf die Aufnahme kolostralen Immunglobulin Gs zu ermöglichen. Überprüfungen dieser Methoden stellten teilweise

erhebliche Differenzen in bezug auf Präzision, Spezifität und Sensitivität im Vergleich mit dem Goldstandard fest (Gränzer, 1986; Weaver et al., 2000).

Ziel dieser Studie ist es, einen semiquantitativen Schnelltest zur IgG-Bestimmung beim Kalb im Blut hinsichtlich seiner Sensitivität und Spezifität zur Erkennung einer Hypogammaglobulinämie zu analysieren, und Einflußfaktoren auf die Sensitivität und Spezifität zu untersuchen.

Weiterhin soll die derzeit sicherste Schnellmeßmethode zur Bestimmung der Immunglobulinversorgung neugeborener Kälber im Vergleich zu einem Goldstandard identifiziert werden.

2 Literatur

2.1 Immunglobuline des Rindes

Immunglobuline (Antikörper) zählen aufgrund ihrer Zuckerketten an den Aminosäureresten zu den Glykoproteinen. Antikörper können Antigene binden, sie können aber auch Fremdsubstanzen für eine Phagozytose markieren oder das Komplementsystem der unspezifischen Abwehr aktivieren (Banks, 1982). Sie werden als Folge einer Wechselwirkung zwischen antigensensitiven B-Lymphozyten und einem spezifischen Antigen von Plasmazellen gebildet und finden sich in variabler Konzentration in verschiedenen Gewebsflüssigkeiten wieder. Ihre Grundeinheit besteht aus vier Polypeptidketten, zwei identischen schweren Ketten (engl. *heavy chains*, H) und zwei identischen leichten Ketten (engl. *light chains*, L) (Korhonen et al., 2000). Die schweren Ketten besitzen jeweils eine variable und drei (IgA, IgD, IgG) beziehungsweise vier (IgE, IgM) konstante Domänen (V_H , C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} ; IgE, IgM: zusätzlich C_{H4}). Die leichten Ketten bestehen aus je einer variablen und einer konstanten Domäne (V_L und C_L) (Tizard, 2013).

Die Ketten sind durch Disulfidbrücken miteinander symmetrisch zu einer Y-förmigen Struktur verbunden. Das intakte Molekül kann proteolytisch durch das Enzym Papain in drei Fragmente gespalten werden; zwei antigenbindende Fragmente (Fab) (engl. *antigen-binding fragment*) und ein kristallisierbares Fragment (Fc) (engl. *crystallisable fragment*). Das Fc-Fragment ist nicht an der Antigenbindung beteiligt, sondern interagiert mit Makrophagen, Lymphozyten und Komplementfaktoren. Das Fab setzt sich zusammen aus den beiden leichten Ketten und dem oberhalb der Gelenksregion (engl. *hinge region*) liegendem Anteil der schweren Ketten. Die jeweilige Aminosäuresequenz der variablen Domäne des Fab-Fragments ist antigenspezifisch. Die Domänen lassen sich aufgrund ihrer Aminosäuresequenz und ihres Kohlenhydratanteils in unterschiedliche Typen unterteilen (Typen, schwere Kette: α , γ , δ , ϵ , μ ; Typen, leichte Kette: κ , λ) (Tizard, 2013). Die jeweiligen Typen entscheiden, zu welcher Immunglobulinklasse der Antikörper gehört. Verschiedene Immunglobulinklassen besitzen unterschiedliche Funktionen hinsichtlich ihrer Antigenbindung (Korhonen et al., 2000).

Beim Rind wurden bisher vier verschiedene Immunglobulinklassen und ihre Aufgaben ermittelt: IgA, IgE, IgG, IgM (Butler, 1983). Immunglobulin D findet sich auf

immaturen Lymphozyten; seine Funktion ist bisher unbekannt (Tizard, 2013). Immunglobulin G lässt sich in drei Subklassen untergliedern: IgG₁, IgG_{2a} und IgG_{2b} (teilweise auch IgG₁, IgG₂ und IgG₃ bezeichnet) (Duncan et al., 1972; Butler, 1998). Trotz ihrer wichtigen Funktionen beruht die Initiierung der Reaktionen der Immunabwehr nicht alleine auf Antikörpern, sondern auf einem Zusammenspiel einer Vielzahl von Zellen des Immunsystems (Butler, 1998).

2.1.1 Immunglobulin A (IgA)

Immunglobulin A wurde erstmals von Gough et al. (1966) im Serum und in der Milch des Rindes beschrieben. Es besitzt einen Anteil von 2 % an den Gesamtimmunglobulinen im Serum des Rindes (Butler, 1973) und hat eine Serumhalbwertszeit von zwei bis drei Tagen (Banks, 1982; Logan et al., 1973; Husband et al., 1972). Neben Monomeren mit 7 Svedberg (S) und 150 Kilodalton (kDa) (Duncan et al., 1972) kommt es durch Polymerisation häufig auch zu 11 S-Dimeren, 13 S-Trimeren und höheren Polymeren. Diese sind durch ein kleines cysteinreiches Polypeptid, genannt J-Kette (engl. *joining*), miteinander verbunden. Im Blut liegt IgA vorwiegend als Dimer vor (Butler, 1971; Butler, 1983; Vaerman, 1970; Duncan et al., 1972; Butler et al., 1980). Zur Passage epithelialer Zellschichten binden die IgA-Dimere auf der basolateralen Zellmembran an einen polymeren Immunglobulinrezeptor (plgR). Das so gebundene IgA-Dimer wird inklusive plgR endozytiert (Brandtzaeg, 1974; Poger und Lamm, 1974; Brown et al., 1977) und nach erfolgter Transzytose (Orlans et al., 1979; Nagura et al., 1979; Renston et al., 1980; Kühn und Kraehenbuhl, 1979) exozytiert. Luminal erfolgt eine Freisetzung durch enzymatische Spaltung (Mostov et al., 1980, 1982). Die extrazellulären Anteile des plgR verbleiben am Dimer und bilden die sogenannte „sekretorische Komponente“ (SC) (Tizard, 2013). Es entsteht ein sekretorisches IgA (SIgA) (Dimer), mit einer Sedimentationsrate von 10,8 S und einem Molekulargewicht von 420 - 550 kDa. SIgA besteht aus 4- α Ketten mit ca. 60 kDa, 4 L-Ketten mit ca. 23 kDa, einer SC (70 - 86 kDa) (Butler, 1971) und einer J-Kette. Die sekretorische Komponente verleiht dem Molekül eine relative Stabilität gegenüber Proteolyse durch Verdauungsenzyme (Korhonen et al., 2000). Als Bestandteil äußerer Sekrete schützt SIgA den Gastrointestinal- und Respirationstrakt, das Urogenitalsystem, die Augen und die Milchdrüse. Im Speichel und den Tränen macht es über 85 % der Immunglobuline

aus (Mach und Pahud, 1971). Der erste Nachweis von SIgA im Kolostrum beim Rind gelang Mach et al. (1969).

Neben der Serumverfügbarkeit wird IgA auch durch lokale submuköse Plasmazellen am Ort des Antigenreizes synthetisiert und sezerniert, so daß es am stärksten in Organen mit Schleimhautepithel gebildet wird (Butler, 1972). Es ist das einzige Immunglobulin, das auch anteilig im Euter produziert wird.

Seine wichtigsten Funktionen bestehen in der Agglutination von partikulärem Antigen, der Virusneutralisation, der Inaktivierung bakteriell und viral gebildeter Toxine und einer Verhinderung der Adhäsion von enteropathogenen Keimen an der Darmschleimhaut (Korhonen et al., 2000; Butler, 1998).

Es nimmt somit eine Schlüsselfunktion im Rahmen der Muttertierimpfung ein. In Kolostralmilch angereichertes maternales IgA soll den Neonaten vor Infektionen, insbesondere des Gastrointestinaltraktes und der Lunge, schützen.

2.1.2 Immunglobulin E (IgE)

Immunglobulin E wird hauptsächlich von Plasmazellen synthetisiert und liegt als Monomer vor. Seine Sedimentationskonstante beträgt 8 S bei einem Molekulargewicht von 196 kDa. Die Serumhalbwertszeit beträgt zwei Tage. Es ist hauptverantwortlich für die sofortige Hypersensitivität (Überempfindlichkeitsreaktionen vom Typ I) und befindet sich nahezu ausschließlich mittels Fc-Rezeptors membrangebunden an der Oberfläche von Mastzellen und basophilen Granulozyten (Mousavi et al., 1997; Gershwin, 2009; Tizard, 2013). Bei Antigenkontakt führt dies zu einer starken Ausschüttung vasoaktiver Substanzen aus den Mastzellen (Mastzelldegranulation). Als Folge ist ein akuter anaphylaktischer Schock möglich (Bourne und Newby, 1981). Die Serumkonzentration ist gering.

Hammer et al. (1971) sowie Wells und Eyre (1972) konnten aus dem Serum stammendes Immunglobulin E (Butler, 1983) im Kolostrum des Rindes nachweisen. Eine erfolgreiche Übertragung und passive Immunisierung des Kalbes (von Benten et al., 1976) sorgt für einen frühen Krankheitsschutz insbesondere gegen Darmparasiten. Mit zwölf Wochen beginnt die Eigensynthese des Kalbes (Thatcher und Gershwin, 1989). Die Konzentration schwankt im Nüchternblut der Kälber zwischen 0 und 0,28 IE/l Plasma (Schäfer et al., 1998), wobei die Konzentration 24 bis 48 Stunden nach der Geburt stark abfällt und dann eine stetige Abnahme bis zur

dritten Lebenswoche zeigt (Thatcher und Gershwin, 1989). Es macht somit nur einen geringen Anteil der Gesamtimmunglobuline aus.

Einen Zusammenhang zwischen IgE-Serumkonzentration und Parasitenbefall konnte von zahlreichen Autoren nachgewiesen werden. Miller et al. (1996) konnten nachweisen, daß der Serum IgE-Gehalt bei parasitologisch naiven Kälbern nach Exposition einer mit Parasiten kontaminierten Weide signifikant ansteigt. Eine positive Korrelation zwischen Parasitenbelastungen und der Serum-IgE-Konzentration ist bei Rindern nachgewiesen (Stear et al., 1990; Baker und Gershwin, 1992; Kooyman et al., 2002; Bricarello et al., 2007).

Mit einem Anstieg der IgE-Konzentration reagiert das Rind auf aerogene Antigenbelastung (Gershwin und Olsen, 1984 a, b; Gershwin et al., 1990, 1994), bei viralen Infektionen (Anderson et al., 1987; Stewart und Gershwin, 1989 a, b; Gershwin et al., 2000), bei bakteriellen Atemwegsinfektionen (McBride et al., 1992; Gershwin et al., 2005) und bei Protozoeninfektionen (Shin et al., 2004; Corbeil et al., 2005).

2.1.3 Immunglobulin G (IgG)

Immunglobulin G wird von den Plasmazellen der Milz, der Lymphknoten und im Knochenmark gebildet und sezerniert (Butler, 1972). Es ist mit einem Anteil von 85 - 90 % im bovinen Serum das Immunglobulin mit der höchsten Blutkonzentration (Butler, 1969; Butler, 1973) und spielt die wichtigste Rolle der antikörpervermittelten Immunabwehr. Mit einer Halbwertszeit von 16 - 32 Tagen (Husband et al., 1972; Besser et al., 1988; Banks, 1982; Douglas et al., 1989) ist es das am längsten zirkulierende Immunglobulin des Rindes. Eine Unterteilung in drei Subtypen, IgG₁, IgG_{2a}, IgG_{2b}, ist möglich. Bei anderen Autoren treten parallel die Bezeichnungen IgG₁, IgG₂ und IgG₃ auf (Butler, 1998). IgG₁ bildet mit über 50 % die größte Fraktion und kommt außer im Serum auch in hohen Konzentrationen im Kolostrum vor. IgG₂ hingegen findet sich vor allem im Blut. Sein Anteil im Kolostrum, in Milch oder Speichel ist deutlich geringer (Butler, 1969).

Die Antikörper der Immunglobulin G-Klasse bilden Monomere mit zwei Antigenbindungsstellen, die sich aus zwei H-Ketten (ca. 58 kDa) und zwei L-Ketten (22 kDa) zusammensetzen. Es handelt sich um mit einer Sedimentationskonstante von 7 S und einem Molekulargewicht von 180 kDa (Mach und Pahud, 1969; Butler,

1983). Aufgrund seiner geringen Größe gelangt es aus den Gefäßen gut in den Extravaskulärraum und hat eine hohe Bedeutung bei Immunreaktionen in Körperhöhlen, Interzellularräumen und an Körperoberflächen. Eine wichtige Rolle spielt es bei der Opsonierung von bakteriellen Antigenen, der Antigenagglutination und der Präzipitation. Es ist beteiligt an der Aktivierung komplementvermittelter bakteriolytischer Reaktionen (Korhonen et al., 2000). Voraussetzung für die Komplementaktivierung ist eine ausreichende Ansammlung von Molekülen in korrekter Anordnung auf der Oberfläche des Antigens (Antigenspezifität). IgG ist das wesentliche Immunglobulin für Antigen-Antikörperreaktionen, die zur Lyse des Fremdartigens führen (Tizard, 2013).

2.1.4 Immunglobulin M (IgM)

Die Erstbeschreibung von IgM erfolgte durch Gough et al. (1966) im Serum und in der Milch des Rindes. Gebildet wird es durch Plasmazellen, die nach Antigenstimulation aus B-Lymphozyten konvertiert sind. Mit einem Anteil von 12 % bildet es die zweitgrößte Klasse der Immunglobuline im bovinen Serum (Butler, 1973). Die Serumhalbwertszeit beträgt vier bis fünf Tage (Husband et al., 1972; Banks, 1982). Aufgebaut ist IgM aus fünf sternförmig angeordneten Untereinheiten (7 S), welche am Ende ihrer Fc-Fragmente mittels Disulfidbrücken verbunden sind (Miller und Metzger, 1965 a, b). Es besitzt zehn Antigenbindungsstellen (Bourne und Newby, 1981). Zusätzliche Stabilität erhält das Makromolekül durch eine J-Kette, welche je zwei Untereinheiten verbindet (Komar und Mukkur, 1974). Seine Sedimentationskonstante beträgt 19 S, bei einem Molekulargewicht von 900 kDa. Aufgrund seiner Größe befindet es sich fast ausschließlich im Blutstrom. Ein Übertritt in Körpersekrete und Gewebsflüssigkeiten ist in der Regel nicht möglich.

IgM ist das dominierende Immunglobulin der primären Immunantwort und das prädominierende Immunglobulin der Immunglobulinproduktion junger Kälber in den ersten drei bis fünf Lebenswochen (Banks, 1982).

Von allen Immunglobulinklassen hat IgM die stärkste Wirkung bei der Komplementaktivierung, der Opsonierung von bakteriellen Antigenen beziehungsweise bei komplementvermittelten bakteriolytischen Reaktionen, der Virusneutralisation und der Agglutination (Korhonen et al., 2000).

2.2 Immunglobuline im Kolostrum

Im Euter des Rindes beginnt etwa drei bis vier Wochen ante partum die kolostrumbildende Phase, die sogenannte Kolostrogenese (Kielwein, 1976; Capuco et al., 1997). Im Zeitraum bis zur Geburt gelangen Antikörper durch einen speziellen Transportmechanismus über Exozytose ins Milchsekret. Diese Mechanismen bevorzugen bei den meisten Tierarten IgG (Korhonen, 2013), insbesondere IgG₁ (Barrington et al., 1997). Die absolute Anzahl der notwendigen Rezeptoren und die Spezifität für den Immunglobulintransport sind in der Zeit der Kolostrogenese am höchsten und nehmen während der fortschreitenden Laktation in der Milchdrüse signifikant ab (Watson, 1980). Präpartal kommt es bei Kühen zu einer Hypogammaglobulinämie im Serum (Butler, 1983). Im Zeitraum von zwei bis drei Wochen ante partum fällt die Serumkonzentration von IgG₁ um über 50 % ab, zeitgleich erreicht es im Kolostrum die höchsten Konzentrationen (Brandon et al., 1971 a). IgA und IgG₂ bleiben im Serum unverändert (Brandon et al., 1971 a). Es liegt ein selektiver Transport von IgG₁ ins Euter vor. Während IgG₁ zu annähernd 100 % aus dem Serum stammt, trifft dies nur bei 50 % des IgAs zu (Newby und Bourne, 1977). IgA wird anteilig auch im Euter synthetisiert (Butler, 1998). Im gesamten präpartalen Zeitraum ist IgG₁ im Milchsekret ungefähr elffach höher konzentriert als IgG₂ und wird in den drei Wochen ante partum wöchentlich mit über 500 g ins Euter transportiert (Brandon et al., 1971 a).

Die Immunglobuline haben einen Anteil von rund 95 % des Gesamtproteins im Erstkolostrum (Butler, 1983), von denen über 75 % der Immunglobulin G-Klasse zuzuordnen sind (Korhonen et al., 2000). IgA und IgM lassen sich ebenso nachweisen (Elfstrand et al., 2002; Larson, 1992) wie IgE (Hammer et al., 1971; Wells und Eyre, 1972). In der Milch besitzt ihr Anteil nur noch 7 % des Gesamtproteins (Korhonen et al., 2000). Bis 80 Stunden post partum fallen die Immunglobuline stark ab (IgA um 93 %, IgG₁ um 92 %, IgG₂ um 87 %, IgM um 84 %). Am dritten Tag post partum sind nahezu keine Immunglobuline mehr im Kolostrum vorhanden (Elfstrand et al., 2002) (siehe Tabelle 1).

Die Mengenangaben des Immunglobulingehaltes des Erstkolostrums variieren in der Literatur stark (siehe Tabelle 2) und sind tierindividuell von zahlreichen Faktoren abhängig (Morin et al., 1997).

Tabelle 1: Immunglobulinkonzentrationen in bovinem Kolostrum und maturer Milch (Tizard, 2013).

	IgA [mg/ml]	IgG [mg/ml]	IgM [mg/ml]
Kolostrum	1,0 - 7,0	24,0 - 80,0	3,0 - 13,0
Milch	0,1 - 0,5	0,5 - 7,5	0,1 - 0,2

Tabelle 2: Immunglobulinkonzentrationen in bovinem Kolostrum (zusammengestellt nach verschiedenen Autoren).

Quelle	Ig-Gehalt [mg/ml]	Rasse / Anzahl untersuchter Tiere	Nachweismethode
Brandon und Lascelles (1971 b)	IgG ₁ : 79,2 IgG ₂ : 5,2 IgM: 10,7 IgA: 6,9	8 AS, 5 HF	sRID
Mach und Pahud (1971)	IgG ₁ : 75,0 IgG ₂ : 1,9 IgA: 4,4 IgM: 4,9	10 FL	RID
Porter (1971)	IgG ₁ : 88,2 IgG ₂ : 2,49 IgM: 9,18 IgA: 0,34	5 AS	sRID
Husband et al. (1972)	IgG ₁ : 48,2 IgG ₂ : 4,0 IgM: 7,1 IgA: 4,7	4 AS, 2 HF, 2 Krzg.	sRID
Butler (1973)	IgG ₁ : 47,6 IgG ₂ : 6,1 IgM: 4,2 IgA: 3,9	Keine Angaben	Keine Angaben
Stott et al. (1981)	IgG: 73,4 IgA: 17,8 IgM: 12,0	12 HF	RID

Lambrecht et al. (1982)	IgG: 53,6 IgM: 4,8 IgA: 9,5	130 DSB	Nephelometrie
Eigenmann et al. (1983)	IgG: 104,0	ca. 50 DSB, DRB	RID
Butler (1983)	IgG ₁ : 46,4 IgG ₂ : 2,9 IgA: 5,4 IgM: 6,8	285 Kühe (aus 12 Studien)	Keine Angaben
Besser et al. (1991)	IgG ₁ : 47,2	496 HF	sRID
Stengel (1998)	IgG: 32,3	58 Kühe (DSB, DRB, RV, CHA, DFV, Krzg.)	ELISA
Elfstrand et al. (2002)	IgG ₁ : 90,0 IgG ₂ : 2,8 IgA: 1,6 IgM: 4,5	20 HF	RID
Kehoe et al. (2007)	IgG ₁ : 35,0 IgG ₂ : 6,0 IgM: 4,3 IgA: 1,7	55 HF	RID
Bender und Bostedt (2009)	IgG: 24,8 IgM: 5,7	15 HF	ELISA
Scholz et al. (2011)	Ig: 89 (nicht näher spezifiziert)	337 HF	Eiweiß- elektrophorese

AS: Ayrshire; CHA: Charolais; DFV: Deutsch Fleckvieh; DRB: Deutsches Rotbuntes Niederungsrind; DSB: Deutsches Schwarzbuntes Niederungsrind; FL: Fleckvieh; HF: Holstein-Friesian; RV: Rotvieh

2.3 Passive Immunisierung des Kalbes

Die Bedeutung des Kolostrums für Wachstum und Gesundheit des neonatalen Kalbes ist seit über 120 Jahren bekannt (Ehrlich, 1892). Das Kolostrum enthält neben Nährstoffen Immunglobuline, Leukozyten, Lysozyme, Interleukine und Komplementfaktoren, die dem Kalb Schutz gegen eine Vielzahl von Mikroorganismen bieten und eine passive Immunität bis zur vollständigen Entwicklung des eigenen Immunsystems gewähren (Godden, 2008). Aufgrund seiner mangelhaften immunologischen Kapazität ist es zwingend auf die intestinale Aufnahme maternaler Antikörper angewiesen (Banks, 1982).

2.3.1 Resorption von Immunglobulin G durch das Kalb

Die Resorption der mit dem Kolostrum aufgenommenen Immunglobuline und weiterer Makromoleküle ist zeitlich begrenzt, da es zu einem Schluß der Darmschranke (engl. *gut closure*) kommt (Lecce und Morgan, 1962). Dieser beginnt ungefähr ab der zwölften Lebensstunde (Stott et al., 1979 a; Bush und Staley, 1980) und ist in Abhängigkeit der jeweiligen Immunglobulinklasse zwischen der 16. und 48. Stunde abgeschlossen (Stott et al., 1979 a; Bush und Staley, 1980; Clover und Zarkower, 1980). Penhale et al. (1973) konnten für IgA, IgM und IgG einen Schluß nach 22, 16 beziehungsweise 27 Stunden feststellen. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Kim und Schmidt (1983). Sie untersuchten die Resorption der unterschiedlichen Immunglobulinklassen an 84 Kuh-Kalb-Paaren unterschiedlicher Rassen in Mutterkuhhaltungen. Ein Ende der Absorption für IgA mit 25 Stunden, IgM mit 16 Stunden und IgG mit 29 Stunden wurde berechnet. Stott et al. (1979 a) ermittelten in Untersuchungen an zehn Holstein-Friesian Kälbern einen späteren Eintritt des Darmschrankenschlusses nach verzögerter Kolostrumaufnahme. Dieser erfolgte erst 24 Stunden nach der Geburt. Die Aufnahmezeit für IgA verlängerte sich dabei um neun auf 32 Stunden, für IgM um acht auf 31 Stunden und für IgG um zwölf auf 33 Stunden post natum. Sie folgerten, daß der Schluß durch die Kolostrumaufnahme selbst eingeleitet wird (Stott et al., 1979 a, b).

Die Epithelzellen des Darmes verlieren nach gewisser Zeit die Fähigkeit, Makromoleküle zu transportieren oder intrazellulär aufzunehmen (Lustermann und Günther, 1977). Neben der Reifung und dem Ersatz von Darmepithelzellen kommt es zu einer Zunahme der Verdauungsaktivität im Magendarmtrakt des Kalbes und die

Immunglobuline werden verstärkt abgebaut (Quigley und Drewry, 1998). Die Aufnahme intakter Immunglobuline durch das Dünndarmepithel ist möglich, da das Kolostrum einen Trypsininhibitor enthält und die Salzsäuresekretion im Labmagen am ersten Tag nach der Geburt gering ist (Kolb und Seehawer, 2002). Eine mögliche Interaktion zwischen intestinalen Mikroben und Immunglobulinen um einen bestimmten Darmwandrezeptor wurde diskutiert (Staley und Bush, 1985). In diesem Zusammenhang kamen Kolb und Seehawer (2002) zu dem Ergebnis, daß bereits eine Vermehrung von pathogenen *E. coli* im Dünndarm vor Aufnahme von Kolostrum mit Antikörpern gegen diesen Keim die Resorption der Immunglobuline wegen der durch die Toxine im Dünndarmepithel ausgelösten Entzündung verringert. Ein Teil der Immunglobuline wird durch die bakteriellen Proteasen abgebaut.

Todd und Whyte (1995) konnten bei Untersuchungen an 85 Holstein-Friesian Kälbern keine negativen Auswirkungen auf die resorbierte Immunglobulinmenge nachweisen, nachdem die erste Kolostrumfütterung erst acht Stunden post natum erfolgte. Ein bedeutender Zusammenhang zwischen dem Zeitpunkt der ersten Kolostrumaufnahme und dessen Zusammensetzung auf die Resorptionsrate wurde von Kim und Schmidt (1983) ermittelt. Je früher das erste Immunglobulin post natum aufgenommen wurde, desto höher war dessen Absorptionsrate. Osaka et al. (2014) bestätigten dies in einer Studie mit 44 Holstein-Friesian Kälbern. Erfolgte die Kolostrumaufnahme innerhalb von sechs Stunden post natum, wurden annähernd 30 % des verfügbaren IgGs resorbiert, während bei einer Ingestion 12 - 18 Stunden post natum Resorptionsraten von 16 % erreicht wurden. Untersuchungen von Fischer et al. (2018) an 27 HF-Bullenkälbern kamen zu vergleichbaren Ergebnissen. Erfolgte die Kolostrumversorgung innerhalb von 45 Minuten nach der Geburt, kam es zu Absorptionsraten von > 50 %. Bei einer Verzögerung um sechs beziehungsweise zwölf Stunden, fielen diese auf 36 %. Der Zeitraum einer unzureichenden passiven Immunisierung (IgG-Gehalt im Blutserum < 10 mg/ml, siehe Kapitel 2.3.2) verlängerte sich dadurch um sieben bis 15 Stunden.

Die nichtrezeptorvermittelte Aufnahme der Immunglobuline über Pinozytose (Pacha, 2000; Mayer et al., 2002; Marnila und Korhonen, 2011), wurde von Broughton und Lecce (1970) erstmals beim Ferkel nachgewiesen und erfolgt hauptsächlich im mittleren bis kaudalen Dünndarm. Hier werden maximale Resorptionsraten mit bis zu 78 % der aufgenommenen IgG₁ Menge pro Gramm Darm erreicht (Fetcher et al., 1983). Kaup et al. (1996) untersuchten elektronenmikroskopisch die Absorption von IgG in

allen Dünndarmabschnitten. Sie konnten zunehmend vom kranialen Jejunum zum Ileum und von der Zottenbasis zur Spitze in den Enterozyten präkolostral zahlreiche leere Vakuolen lokalisieren, die nach erfolgter Tränkeaufnahme als Immunglobulinhaltige Vakuolen nachweisbar waren. Am intrazellulären Transport ist der FcRn (Synonym: Brambellrezeptor; engl. *neonatal fragment crystallisable receptor*) (Brambell, 1966; Brambell, 1969; Junghans, 1997) beteiligt, der ebenfalls für den Transport der Immunglobuline ins Kolostrum verantwortlich ist. Mayer et al. (2002) konnten bei Lämmern die Expression von FcRn in den Kryptenzellen, hauptsächlich an der Apikalseite nachweisen. In den Enterozyten des Dünndarms, die für die initiale Absorption von IgG aus dem Darmlumen verantwortlich sind, gelang der Nachweis nicht (Mayer et al., 2002). Nachdem die Vesikel die Basolateralmembran erreicht haben, gelangen die Antikörper über Exozytose ins Interstitium und werden vornehmlich durch die Lymphgefäße abtransportiert (Staley et al., 1972). Über den Ductus thoracicus treten sie in die Blutzirkulation ein (Besser und Gay, 1994).

Ob es sich bei der Aufnahme der Immunglobuline um einen selektiven oder nicht selektiven Transport handelt, wird seit längerer Zeit diskutiert:

Brandon et al. (1971 b) und Clover und Zarkower (1980) plädierten auf eine nicht selektive Resorption, da das Verhältnis der einzelnen Antikörperklassen im Kolostrum dem Verhältnis in der Lymphe des Ductus thoracicus entspricht. Zum gleichen Schluß kamen Boyd und Boyd (1987). Sie untersuchten an 20 HF-Bullenkälbern die Konzentrationsverläufe der Immunglobulinklassen (IgG₁, IgG₂ und IgM) mit Hilfe eines speziell entwickelten Computermodells. Dieses simulierte die Absorption und den Verlauf der einzelnen IgG-Klassen unter der Berücksichtigung zahlreicher Einflußfaktoren. Es konnten die jeweiligen Serumspitzenwerte zwölf Stunden nach Kolostrumfütterung gemessen werden. Der mit dem Transport und der Pinozytose in Zusammenhang gebrachte FcRn konnte von Mayer et al. (2002) nicht an der Oberfläche der Darmepithelzellen beobachtet werden. Ihrer Auffassung nach ist er, neben der IgG₁-Anreicherung im Kolostrum, beim Neonaten für die Sekretion und Resekretion von IgG₁ in das Darmlumen wichtig. Bei immunologisch ausreichend versorgten Kälbern führt die Elimination von Immunglobulin G über den Gastrointestinaltrakt, vermutlich über lokale Antigenbindung, zu einer zusätzlichen Immunitätssteigerung (Besser et al., 1988; Mayer et al., 2002). Heckert et al. (1999) konnten nachweisen, daß die Antikörper im Darm spezifisch an antigene Strukturen

aufgenommener Keime, zum Beispiel *E. coli*, binden. Mit der Belegung der Anheftungsstellen wird eine Bindung und dadurch Schädigung der Darmzotten begrenzt. Die Antigen-Antikörper-Komplexe können fäkal ausgeschieden werden. Gleichzeitig ermöglicht der FcRn durch das zeitweilige Binden von IgG₁-Antikörpern, die Halbwertszeit im Blutkreislauf zu verlängern.

Nachdem die Aminosäuresequenz des bovinen FcRn von Kacs Kovics et al. (2000) entschlüsselt werden konnte, stellten Laegreid et al. (2002) Variationen im Allel für FCGRT, des Genabschnitts, welcher eine spezielle Proteinkette (α -Kette) des bovinen neonatalen FcRn-Rezeptors kodiert, fest. Diese Varianten können die Höhe des Immunglobulinspiegels beim neonatalen Kalb ebenfalls beeinflussen.

Beim Menschen und Nager konnte der rezeptorvermittelte Immunglobulintransport mittels Pinozytose nachgewiesen werden (Ghetie und Ward, 2000; Pacha, 2000; Mayer et al., 2002). IgG bindet an den FcRn an der Oberfläche der Darmepithelzellen und wird durch Endozytose in die Zelle aufgenommen. Nach der Transzytose folgt die exozytotische Freisetzung an der basolateralen Seite. Der Rezeptor erfüllt zusätzlich wichtige Funktionen im Zusammenhang mit der IgG-Homöostase (Ghetie und Ward, 2000).

Daß es auch beim Rind einen selektiven Transport für die Aufnahme kolostraler Antikörper geben muß, schlossen zahlreiche Autoren aus ihren Untersuchungen. Husband et al. (1972) stellten fest, daß die einzelnen Immunglobulinklassen unterschiedliche Resorptionsraten im Vergleich zwischen Kolostrum- und Serumkonzentration hatten. Diese betragen für IgA 71,0 %, für IgG₁ 43,9 %, für IgG₂ 58,9 % und für IgM 94,7 %. Die Serumhöchstkonzentrationen wurden nach zwölf (IgA, IgM) beziehungsweise nach 24 Stunden (IgG₁, IgG₂) erreicht. Erhöhte Resorption für IgA und IgM konnten Kim und Schmidt (1983) ebenfalls messen. Die Resorptionsraten betragen für IgA 43,8 %, für IgM 57,2 % und für IgG 34,6 % bezogen auf das metabolische Körpergewicht der im Kolostrum enthaltenen Immunglobuline. Eine mögliche Erklärung sehen die Autoren im niedrigen Molekulargewicht und der geringen Größe des IgGs. Diese könnten zu einem erhöhten Verlust führen. Zaremba et al. (1982) konnten keine Wechselbeziehung zwischen der aufgenommenen IgG-Menge und der Höhe der IgG-Blutserumkonzentration ermitteln. Schon geringe Aufnahmen von IgG führen zu einem starken Anstieg der Serumkonzentration. Sie vermuten einen selektiven Transport, der besonders hoch ist, wenn nur geringe Kolostralmilchmengen oder

Kolostren mit niedrigem IgG-Gehalt verfüttert werden. Unterschiedliche Resorptionsraten konnten auch von Schäfer et al. (1998) nachgewiesen werden. Eine mögliche Erklärung besteht erstens in der Sättigung eines Transportsystems für Immunglobuline oder zweitens in Regulationsmechanismen des Neonaten (Besser et al., 1985).

Penhale et al. (1973) geben zu bedenken, daß ein einfacher Vergleich der Kolostrumimmunglobulinkonzentration und der Plasmakonzentration nicht den wirklichen Absorptionsvorgang und die Verteilung der Immunglobuline im Kalb widerspiegeln. Mögliche Variationen der Transferraten und -dauer, die proteolytische Aktivität des Verdauungstraktes, die unterschiedliche Verteilung (intra-/extravaskulär) und die Metabolisierungsraten finden bei den meisten Autoren keine Beachtung.

Weitere mögliche Einflußfaktoren auf die Resorption kolostraler Antikörper wurden zwischenzeitlich untersucht.

Keine Auswirkungen auf die passive Immunisierung hatte eine endogene oder iatrogene Erhöhung des Kortikosteroidspiegels (Stott, 1980). Ähnliche Ergebnisse konnten Riedl et al. (2004) vorlegen. Sie stellten bei Studien an 27 Kälbern unter Einbeziehung des Geburtsverlaufs, des Kortisolspiegels und der IgG-Absorption sechs Stunden post natum keine signifikanten Zusammenhänge fest. Einige exogene Stressoren wie zum Beispiel hohe Temperaturen, konnten die Resorption hingegen herabsetzen (Stott et al., 1975). Kältestreß in den ersten drei Lebenstagen führte in Untersuchungen von Olson et al. (1980) an 26 HF-Kälbern hingegen zu keiner Veränderung der Absorptionsraten. Johnston und Stewart (1986) werteten vergleichend die Absorption von Immunglobulinen bei 34 prämaternen Kälbern nach Geburtseinleitung beziehungsweise bei prämaternen Kälbern nach Sectio caesarea aus. Bei diesen Kälbern konnte eine Glukokortikoidgabe die Antikörperaufnahme vermutlich sogar verbessern. Eine negative Korrelation bestand nach Cabello und Vevieux (1980) zwischen Serumimmunglobulin- und Thyroxinspiegeln neonataler Kälber. Eine restriktive präpartale Fütterung der Kühe (Olson et al., 1980), eine Aufnahme von Milch vor erster Kolostrumaufnahme (Michanek et al., 1990) oder der pH-Wert der Tränke (Quigley et al., 2000) beeinflussten die Resorptionsraten von Immunglobulinen nicht. Geschlechtsspezifische Unterschiede wurden von Roy (1990), Odde (1998), Quigley und Drewry (1998) und Weingand (2015) beschrieben. In ihren Studien konnten bei weiblichen Tieren höhere Serum-IgG-Konzentrationen gemessen werden. Dies führt Odde (1988) auf verhältnismäßig häufigere

Schweregeburten männlicher Kälber zurück, während Quigley und Drewry (1998) die Ursache vor allem in der größeren Körpermasse und dem damit verbundenen höheren Blutvolumen sahen. Bradley et al. (1979), Norman et al. (1981), Perino et al. (1995), Bailey et al. (1998) und Reinicke (2006) konnten keinen geschlechtsspezifischen Unterschied erkennen.

Untersuchungen, ob eine fehlerhafte passive Immunisierung durch verschiedene Stoffwechselstörungen oder durch eine Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens des Kalbes als Folge einer Dystokie auftreten kann, wurden durchgeführt. Eigenmann et al. (1983) stellten fest, daß Kälber mit vorausgegangener Geburtsazidose 24 Stunden post natum trotz Flaschenfütterung erheblich niedrigere Serum-IgG-Spiegel aufweisen als ad libitum getränkte Neonaten ohne subpartale Azidose. Sie vermuteten die Ursache in einer eingeschränkten Kolostrumaufnahme der atemdepressiven Kälber in den ersten acht Lebensstunden. Einen Unterschied des Serum-IgGs bei restriktiv gefütterten Kälbern mit und ohne Geburtsazidose konnten sie in ihrer Studie nicht nachweisen. Lipp (2005) sieht eine Schädigung der Darmmukosa infolge der Hypoxie als ursächlich an. Diese führte zu einer verringerten Absorption von Immunglobulinen. Aufgrund der häufig eingeschränkten Vitalität der Neonaten nach Schweregeburten kommt es zu einer verminderten Sauglust und in deren Folge zu einer eingeschränkten und verspäteten Kolostrumaufnahme (Kolb und Seehawer, 2002). Die Auswirkungen einer subpartalen Hypoxie untersuchten Boyd (1989) und Besser et al. (1990). Sie stellten eine negative Korrelation zwischen dem Kohlenstoffdioxidpartialdruck im Blut zwei bis vier Stunden alter Kälber und der IgG₁-Serumkonzentration zur zwölften Lebensstunde fest. Daß in Folge einer Sauerstoffunterversorgung der Zeitraum der Immunglobulinabsorption von 20 auf 40,5 Stunden verlängert wird, war das Ergebnis der Arbeit von Tyler und Ramsey (1991). Keinen negativen Effekt auf die Immunglobulinresorption beziehungsweise auf die Absorptionseffizienz für IgG konnten Drewry et al. (1999) an 48 HF-Kälbern für den Kohlendioxidpartialdruck eine Stunde post natum ermitteln. Dem Einfluß der Sectio caesarea conservativa auf die Antikörperaufnahme gingen Bailey et al. (1998) nach. Sie verglichen 54 Kälber (hervorgegangen aus „In-vitro-Fertilisation“ = IVF), die per Kaiserschnitt entwickelt wurden, mit 20 Kontrollkälbern. Die IVF-Neonaten wurden 24 Stunden nach Geburtseinleitung mit 30 mg Dexamethason, per sectionem am 275. - 277. Tag der

Gestation entwickelt. Die Kontrolltiere wurden per vias naturales geboren. Die Resorption in beiden Gruppen war gleich effizient.

2.3.2 Unzureichende passive Immunisierung des Kalbes (FPT)

Der fehlerhafte passive Transfer (FPT, engl. *failure of passive transfer*) maternalen Antikörper sollte nicht als Krankheit angesehen werden, prädisponiert aber für das Auftreten einer solchen (House et al., 2011). Es wurde wiederholt untersucht, welche Kolostrummenge ein Kalb aufnehmen muß, um optimal gegen pathogene Umwelterreger geschützt zu sein. Verglichen mit den erreichten Serumglobulinwerten kommt der aufgenommenen Kolostrummenge eine geringere Bedeutung zu (Godden, 2008).

Perino et al. (1993) ermittelten in ihren Studien 8 mg IgG/ml Serum als Grenzwert, bei dessen Unterschreiten Kälber ein 9,5fach erhöhtes Risiko hatten, bis zum Absetzen zu erkranken. Für Wells et al. (1996) bestand eine unzureichende passive Immunisierung bei Werten unterhalb von 10 mg IgG/ml Serum 36 - 48 Stunden post natum. Bei ihnen sank die Mortalität der Kälber bei Erreichen dieser Antikörpermenge um mehr als die Hälfte. Daß diese Konzentration, bezogen auf IgG₁, innerhalb von 30 - 60 Stunden nach der Geburt überschritten sein muß, stößt bei den meisten Autoren bis in die heutige Zeit auf Zustimmung (Gay, 1983; Donovan et al., 1986; Besser et al., 1991; Tyler et al., 1996; Weaver et al. 2000; Godden, 2008; Furman-Fratczak et al., 2011; Windeyer et al., 2014; McCracken et al., 2017; Cuttance et al., 2017; Fischer et al., 2018). Kaske et al. (2003) schlossen sich dem an und definierten einen mangelhaften oder partiellen FPT (pFPT) bei einer IgG-Konzentration im Serum zwischen 5 - 10 mg/ml in einem Alter von 24 Lebensstunden.

Eine normale Entwicklung der Kälber war für Schäfer et al. (1998) bei IgG-Konzentrationen von 6 - 12 mg/ml Serum möglich. Dennoch wurden immer wieder höhere Immunglobulinkonzentrationen als notwendig erachtet, um einen optimalen Schutz des Neonaten zu gewährleisten. Untersuchungen von Robison et al. (1988) an 1.000 Milchkuhkälber führten zu einer Mindestkonzentration von 12 mg IgG/ml im Serum 24 - 48 Stunden post natum. Bei erfolgreicher Antikörperaufnahme fiel die Mortalität von 6,78 % auf 3,33 %. Wittum und Perino (1995) definierten einen partiellen fehlerhaften passiven Transfer bei Serumkonzentrationen von 8 - 16

mg IgG/ml. Sehr hohe IgG₁ Serumgrenzwerte von über 27 mg/ml waren für Dewell et al. (2006) nach Studien an 1.568 Fleischkreuzungskälbern erforderlich.

Die Folgen einer unzureichenden passiven Immunisierung bestehen vor allem in einer stark erhöhten Morbidität und Mortalität der betroffenen Kälber sowie in einer eingeschränkten Leistungsfähigkeit, die sich über den Zeitraum des Absetzens hinaus erstreckt.

In einer Auswertung von Untersuchungen an 9.484 Milchkuhkälbern stellten Wells et al. (1996) fest, daß Kälber, die kein Kolostrum erhielten, in den ersten 21 Lebenstagen 74mal häufiger verstarben als gut versorgte Neonaten.

Penhale et al. (1970) untersuchten Kälber, die an einer *E. coli*-Septikämie verstarben. Diese zeigten in der ersten Lebenswoche nur geringe Konzentrationen von 0,8 mg/ml IgG und 0,2 mg/ml IgM im Blutplasma. Bei Kälbern, die überlebten und lediglich kurze Diarrhoeepisoden entwickelten, konnten deutlich höhere Antikörperkonzentrationen im Plasma gemessen werden ($\geq 7,5$ mg/ml IgG, $\geq 0,8$ mg/ml IgM). Ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer Hypogammaglobulinämie und erhöhter Diarrhoeanfälligkeit beziehungsweise Diarrhoeinzidenz, konnte von zahlreichen Autoren bestätigt werden (Borg, 1981; Borg und Frerking, 1982; Blom, 1982; Luetgebrune, 1982; Basoglu et al., 1999).

Daß die Inzidenz von Enteritiden und Diarrhoen nicht in signifikantem Zusammenhang mit den Serumimmunglobulinkonzentrationen steht, war das Ergebnis der Studien von Caldow et al. (1988), Pickel et al. (1989) und Stengel (1998), deren Aussagen von Bender (2004) bestätigt wurden. Sie konnten keine signifikante Beziehung zwischen dem Gesundheitsstatus und den Immunglobulinkonzentrationen zu den jeweiligen Meßzeiten erkennen.

Keine enge Korrelation von Immunglobulinspiegeln und dem Risiko respiratorischer Erkrankungen war bei Blom (1982) vorhanden. Der zeitgleiche Nachweis einer Hypogammaglobulinämie bei an Bronchopneumonie erkrankten Kälbern gelang Caldow et al. (1988) nicht. Bei Borg und Frerking (1982) wurde bei 50 % der Kälber mit akuter oder chronischer Bronchopneumonie eine mangelhafte Serumkonzentration an Betaglobulin, verbunden mit einem niedrigen Gehalt an IgM nachgewiesen. Ein erhöhter Gehalt an Betaglobulin und IgM war bei den weiteren Tieren, die größtenteils akut erkrankt waren, nachweisbar. In den Studien von Virtala et al. (1999) waren niedrige IgG-Serumkonzentrationen doppelt so häufig mit Bronchopneumonien assoziiert. Ferner waren postkolostrale IgG-Konzentrationen

≤ 8 - 13 mg/ml signifikante Indikatoren für eine spätere Bronchopneumonie. Wittum und Perino (1995) untersuchten die Leistung und Gesundheit von Fleischkälbern und stellten diese in bezug zur postkolostralen IgG-Konzentration. Sie erkannten für FPT-Kälber eine erhöhte Mortalitäts- und Morbiditätsrate bis zum Absetzen. Geringere tägliche Zunahmen über den Zeitraum des Absetzens hinaus resultierten in niedrigeren Absetzgewichten. Positive Langzeitfolgen einer ausreichenden Kolostralmilchversorgung konnten Robison et al. (1988) an 1.000 HF-Tieren nachweisen. Diese bestanden aus einem signifikanten Anstieg der täglichen Zunahmen bei Milchkühen in den ersten 180 Lebenstagen und einer geringeren Todesrate insbesondere nach dem Absetzen. Furman-Fratczak et al. (2011) kamen zu ähnlichen Ergebnissen bei 400 HF-Kühen, deren Erstbesamungsalter circa 30 Tage früher bei besserem Gesundheitszustand war, als bei unzureichend immunisierten Kälbern (Serum-Ig < 10 mg/ml, 30 - 60 Stunden post natum). Zu einer durchschnittlich um 452,5 kg erhöhten Milchleistung in der ersten Laktation führte eine ausreichende Kolostrumversorgung und anschließende Fütterung mit hochwertiger Vollmilch beziehungsweise hochwertigem Milchaustauscher (Soberon und van Amburgh, 2013).

Die Ursachen einer ungenügenden Immunisierung mit kolostralen Antikörpern sind vielfältig. Sie können in Mängeln der Geburtsüberwachung, einem schlechten Gesundheitszustand der Muttertiere oder der Neugeborenen liegen (Unreife, intestinale Malabsorption) (Vogels et al., 2013). Auch genetische Faktoren der Muttertiere (Guy et al., 1994; Muller und Ellinger, 1981) oder des Kalbes können eine Rolle spielen. Die Gene des neonatalen Fc-Rezeptors (FCGRT und $\beta 2M$) wurden von Laegreid et al. (2002) und Clawson et al. (2004) in Zusammenhang mit einem FPT evaluiert. Tiere mit dem Genotyp $\beta 2M$ 2,2 auf dem 10. Chromosom sind zehnmal häufiger von einem FPT betroffen als andere $\beta 2M$ Genotypen (Clawson et al., 2004). Tyler et al. (1999 b) untersuchten das Gesamtprotein an 3.479 Kälbern im Bundesstaat Washington. Je nach gewähltem Grenzwert (5,5 g/dl bzw. 5,0 g/dl) sind 60 beziehungsweise < 35 % der Kälber unzureichend versorgt. Zu ähnlichen Werten kam McMorran (2006) bei Untersuchungen an 1.037 Kälbern im Bereich der Bundesrepublik Deutschland. Hiervon waren 403 Kälber (39,8 %) unterversorgt (FPT definiert als Serum IgG < 8 mg/ml).

Zur Vermeidung einer mangelhaften IgG-Versorgung benötigt das Kalb innerhalb der ersten Lebensstunden zwei bis vier Liter Erstkolostrum mit einem

Gesamtimmunglobulingehalt von 100 bis 200 Gramm (Marnila und Korhonen, 2011). Eine in jedem Betrieb bestehende Grundmortalität (abhängig von Infektionsdruck, Pathogenen, Ernährung, Hygiene) ist auch mit bester Kolostrumversorgung nicht unterschreitbar. Als niedrigste Grundmortalität innerhalb der ersten 16 Lebenswochen konnte in Abhängigkeit des Betriebes 5 % nicht unterschritten werden (Tyler et al., 1999 b).

Wird ein FPT festgestellt, so sind mögliche Therapieoptionen abhängig vom Alter des Kalbes, dem Gesundheitszustand und nicht zuletzt von dem wirtschaftlichen oder persönlichen Wert für den Besitzer. Innerhalb der ersten zwölf Lebensstunden ist eine Therapie mit ausreichenden Mengen qualitativ hochwertigem Kolostrum angebracht. Alternativen hierfür können zum Teil Kolostrumersatzstoffe auf Basis von Rinderserum bieten, die mindestens 100 g IgG pro Liter enthalten. Kolostrumergänzungsmittel sind hingegen keinesfalls fähig, Serumimmunglobuline zu erhöhen (House et al., 2011). Ist der Darmschrankenschluß bereits eingetreten, so ist eine Behandlung mit kommerziell erhältlichem Plasma oder einer Vollbluttransfusion des Muttertieres am effektivsten. Unverträglichkeitsreaktionen treten hierbei selten auf (House et al., 2011).

2.4 Entwicklung des Immunsystems und des Immunglobulin G-Konzentrationsverlaufs im Blut des Kalbes

Die Entwicklung des Immunsystems folgt bei allen Säugetieren einem festen Muster, dessen Reihenfolge bei allen annähernd identisch ist.

Der Thymus entwickelt sich als erstes lymphoides Organ und ist beim Kalb am 41. Tag nach der Konzeption nachweisbar. Vier Tage später zirkulieren die ersten Lymphozyten im Blutkreislauf fetaler Kälber. Knochenmark und Milz sind am 56. Tag vorhanden. Ebenfalls sehr früh tauchen IgM-tragende B-Zellen am 59. Tag auf, während sich IgG tragende B-Zellen erst in der Mitte der Trächtigkeit am Tag 135 bestimmen lassen. Der Fetus ist damit in der Lage, auf spezifische Antigene zu reagieren (Tizard, 2013).

Aufgrund des hochsensitiven Nachweisverfahrens des Virusneutralisationstestes ist ein Nachweis einer Immunantwort auf virales Antigen früher als auf andere Antigene möglich. Deutliche Unterschiede existieren in Abhängigkeit des jeweiligen Virus'. Während ein Kontakt mit Rotaviren bereits am 73. Tag zu einer Immunreaktion führt,

erfolgt diese bei Parvovirus am Tag 93 und bei Parainfluenzavirus am Tag 120 (Tizard, 2013). Bei Kontakt mit dem Blauzungenvirus oder *Brucella abortus* läßt sich keine Immunantwort erkennen (Tizard, 2013).

Lymphknoten sind ab Tag 60 auffindbar. Fetale Lymphozyten entwickeln zwischen dem 75. bis 80. Tag die Möglichkeit, auf Mitogene zu reagieren. Zeitweise verlieren sie diese Fähigkeit kurz vor der Geburt aufgrund des hohen Serumglukokortikoidspiegels. Ergänzt wird das Immunsystem ab dem 90. Tag durch das Komplementsystem. Zwanzig Tage später folgen die ersten Granulozyten. Im Blutkreislauf freies IgG und IgM sind ab dem 130. Tag beziehungsweise 145. Tag vorhanden. Die Tonsillen finden sich ab Tag 155. Sehr spät im Verhältnis zur restlichen Entwicklung tauchen im Bereich des Darmes die Peyerschen Platten am Tag 175 auf (Tizard, 2013).

Obwohl der Fetus intrauterin bereits über eine gewisse Immunabwehr verfügt, ist er nicht in der Lage, auf Erreger in ähnlicher Weise und Effizienz wie ein adultes Tier zu reagieren. Infektionen, die bei erwachsenen Rindern normalerweise zu keiner klinischen Erkrankung oder nur mit leichten Verlaufsformen einhergehen, können zu schweren bis letalen Verläufen führen. Weiterhin kann es zu der Ausbildung einer Immuntoleranz kommen, wenn das unreife, sich entwickelnde Immunsystem vorzeitig in Kontakt mit Fremdartigen kommt.

Exemplarisch ist die intrauterine Infektion mit dem Bovinen Virusdiarrhoe-Virus zu nennen. Kommt es bis zum 50. Trächtigkeitstag zur Ansteckung des Muttertieres, so führt dies in der Regel zum Abort, während die Infektion mit einem nicht zytopathogenen Stamm zwischen dem 50. und 120. Tag häufig aufgrund einer Antigentoleranz zu einer Persistenz führt. Betroffene Kälber sind zeitlebens Virämiker und bilden keine Antikörper gegen das Virus aus (Tizard, 2013).

Das gleiche Prinzip verbirgt sich in der Chimärenbildung bei Mehrlingsträchtigkeiten. Durch plazentare Gefäßanastomosen zwischen den Feten kommt es zu einer Blutzellmischung (Chimären). Diese genetisch divergierenden Zellen persistieren zeitlebens in Folge der erworbenen Immuntoleranz im Blutkreislauf (Owen, 1945). Die These, daß Kälber agammaglobulinämisch zur Welt kommen, wurde widerlegt (Husband et al., 1972; Penhale et al., 1973). Durch die Entwicklung sensitiverer Nachweismethoden konnten verschiedene Immunglobulinklassen im Kälberserum vor der ersten Kolostrumaufnahme nachgewiesen werden (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3: Präkolostrale Immunglobulinkonzentrationen im Serum neonataler Kälber (zusammengestellt nach verschiedenen Autoren).

Quelle	Immunglobulin- gehalt [mg/ml]	Rasse / Anzahl untersuchter Tiere	Nachweismethode
Husband et al. (1972)	IgG ₁ : 0,70 IgG ₂ : 0,16 IgM: 0,97 IgA: 0,29	4 AS, 1 HF, 2 Krzg.-Kälber	sRID
Eigenmann et al. (1983)	IgG: 0,53	27 Kälber (DRB, DSB)	sRID
Kim und Schmidt (1983)	IgG: 0,60 IgM: 0,15 IgA: 0,15	84 Kälber (DFV, DSB, DSBxCHA, DSBxDFV)	sRID
Zaremba et al. (1985)	IgG ₁ : 0,63	20 DSB	sRID
Burton et al. (1989)	IgG: 0,69 IgM: 0,18 IgA: 0,26	156 Kälber	sRID
Stengel (1998)	IgG: 0,02	29 DSB, 15 DRB, 2 CHA, 2 RV, 1 DFV, 9 Krzg.-Kälber	ELISA
Erhard et al. (1999 a)	IgG ₁ : 0,15 IgG ₂ : 0,06	19 Kälber	ELISA
Stadler (2002)	IgG: 0,10		sRID
Bender und Bostedt (2004, 2008)	IgG: 0,27 IgM: 0,14	30 Kälber	ELISA
Riedl et al. (2004)	IgG: 0,7	34 Kälber	ELISA

AS: Ayrshire; CHA: Charolais; DFV: Deutsch Fleckvieh; DRB: Deutsches Rotbuntes Niederungsrind; DSB: Deutsches Schwarzbuntes Niederungsrind; HF: Holstein-Friesian; RV: Rotvieh

Penhale et al. (1973) konnten durch Untersuchungen an 45 Kälbern bei allen Tieren bereits vor erster Tränkeaufnahme IgG und IgM nachweisen. Ferner fiel je ein Kalb mit einer hohen präkolostralen IgG-Konzentration von 5,1 mg/ml beziehungsweise einer hohen IgM-Konzentration von 7,3 mg/ml auf. Der Nachweis von IgA gelang zu diesem Zeitpunkt nicht. Die abweichend hohen Immunglobulinwerte der beiden Kälber führten sie auf eine intrauterine Immunantwort zurück. Ähnliche Beobachtungen gelangen Bender und Bostedt (2008). Sie ermittelten präkolostrale Werte von 0,022 bis 3,89 mg/ml für IgG und von 0,008 bis 0,985 mg/ml für IgM. Die Varianz um mehr als das Hundertfache sahen sie ebenfalls in einer pränatalen Primärantwort des Immunsystems begründet. Diese zeigte keinen Einfluß auf den Gesundheitsstatus der neugeborenen Kälber innerhalb der ersten Lebensstage. Das IgA ebenfalls intrauterin gebildet wird, geht aus den Ergebnissen von Burton et al. (1989) hervor. Sie konnten nach der Geburt folgende Immunglobulinkonzentrationen ermitteln: IgA 0,26 mg/ml, IgG 0,69 mg/ml, IgM 0,18 mg/ml.

Bereits zwölf Stunden nach erster Kolostrumaufnahme ist in Untersuchungen von Erhard et al. (1999 a) an 19 Kälbern die höchste Serumkonzentration an IgG erreicht (IgG₁: 9,3 mg/ml, IgG₂: 0,8 mg/ml). Fischer et al. (2018) hatten bei zeitnaher Kolostrumgabe 45 Minuten nach der Geburt maximale IgG-Spiegel zur 15. Lebensstunde messen können. Die Serumspitzenkonzentrationen verschieben sich bei verspäteter Fütterung nach hinten.

Von vielen Autoren wurde angegeben, daß die maximalen Serumimmunglobulinkonzentrationen innerhalb des ersten Lebensstages erreicht werden (Burton et al., 1989; Rajala und Castrén, 1995; Stengel, 1998; Erhard et al., 1999 a, b, c; Fischer et al., 2018). Untersuchungen von Bender (2004) zufolge ist diese Annahme nicht haltbar. Zwar hatten in ihren Studien an 30 Kälbern die meisten ihre Immunglobulinspitzenwerte im Serum innerhalb der ersten 24 Stunden nach Biestmilchaufnahme (IgG $\bar{x}_g = 7,35$ mg/ml, IgM $\bar{x}_g = 2,01$ mg/ml), doch erreichten einzelne Neonaten diese erst am letzten Tag der zehntägigen Studie und damit lange Zeit nach der letzten Kolostrumfütterung. Die Mengen an enthaltenen Immunglobulinen des Milchaustauschers waren zu gering und kamen hierfür nicht in Frage. Die Ursache der späten Höchstkonzentration erklärte Bender (2004) mit einem teilweise individuellen Eintritt des Darmschrankenschlusses. Sie vermutete, daß das Verteilungsvolumina der Immunglobuline in Abhängigkeit des Lebensalters variiert beziehungsweise die Immunglobuline nicht immer gleichmäßig im

Gefäßlumen verteilt sind. Ein Wechsel zwischen marginaler Lage oder Position im zentralen Blutstrom führen bei einmaliger Punktion zu ungenauen Meßergebnissen. Eine individuell unterschiedliche Freisetzung kolostraler Immunglobuline aus den Vesikeln und Vakuolen der Darmzellen in den Blutkreislauf ist möglich. Bei IgM besteht die Möglichkeit, daß es aufgrund seiner Größe länger im Darmlumen zwischen den Mikrovilli verweilen kann und erst protrahiert resorbiert wird, sofern der Darmschrankenschluß noch nicht eingetreten ist. Im Anschluß an die erreichten Höchstkonzentrationen fielen die Immunglobulinmengen ab und erreichten ihre niedrigsten Werte für IgG₁ am 28. Tag (4,9 mg/ml) und für IgG₂ am 11. Tag post natum (0,5 mg/ml) (Erhard et al., 1999 a). Dies konnten Erhard et al. (1999 b, c) in weiteren Studien bestätigen.

Ab wann postnatal die Antikörpereigensynthese beginnt, wurde durch Experimente mit kolostrumfrei aufgezogenen Kälbern zu beantworten versucht. Husband und Lascelles (1975) konnten ab dem vierten Lebenstag eine endogene IgM-Produktion nachweisen, wobei funktionale Konzentrationen (IgM \geq 1 mg/ml) am achten Tag erreicht wurden. IgA, IgG₁ und IgG₂ erreichen erst mit 16 - 32 Tagen nennenswerte Mengen (Husband und Lascelles, 1975). Banks (1982) konnte bei kolostrumfrei aufgezogenen Kälbern IgA, IgM, IgG₂, IgG₁ am 4., 4., 8. und 32. Tag nachweisen.

Im gesamten Untersuchungszeitraum der ersten zehn Lebenstage gelang Bender (2004) der Nachweis von IgG und IgM im Serum kolostrumfrei aufgezogener Kälber mittels ELISA. IgM erreichte seine Maximalkonzentration am 5. ($\bar{x}_g = 2,05$ mg/ml), IgG am 10. Lebenstag ($\bar{x}_g = 1,29$ mg/ml). Dies war nur durch eine endogene Produktion möglich. Der Antigenkontakt mußte aufgrund der Latenzzeit bereits pränatal erfolgt sein. Endogenes IgG konnte Stadler (2002) bereits am zweiten Lebenstag detektieren.

Hat die Aufnahme maternalen Antikörper stattgefunden, gelang der Nachweis endogener Antikörper erst ab der vierten Lebenswoche (Husband et al., 1972). Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Logan et al. (1974) bei ihren Studien an 30 Fleischkälbern. Während hypogammaglobulinämische Kälber bereits innerhalb der ersten Lebenstage Immunglobuline synthetisieren, war dieser Nachweis bei kolostral ausreichend versorgten Neonaten in den ersten vier Lebenswochen erfolglos.

Die Serumgesamtkonzentration fiel auf perinatale Mengen bis zur dritten/vierten Woche, um folgend stetig bis zur siebten Lebenswoche anzusteigen (Burton et al., 1989). Die Konzentrationen an IgA, IgM und IgG₁ erreichten mit 128 Tagen die Werte

adulter Tiere (Husband et al., 1975; Banks, 1982). In den Untersuchungen von Logan et al. (1973) und Erhard et al. (1999 a, b, c) erreichte IgG schon mit elf bis zwölf Wochen adulte Konzentrationen (IgG₁: 9,0 mg/ml, IgG₂: 1,2 mg/ml). Zu diesem Zeitpunkt hat IgG₂ erst ungefähr 50 % der adulten Mengen erreicht (Banks, 1982). Erhard et al. (1999 a, b, c) wiesen explizit darauf hin, daß die Serumimmunglobulinwerte stets im Zusammenhang mit der zunehmenden Körpermasse und damit dem vergrößerten Blutvolumen zu sehen sind. Bei Betrachtung dieser Einflüsse schlußfolgerten sie, daß die endogene Antikörpersynthese bereits in der ersten Lebenswoche beginnen muß. Zwischen dem 11. und 28. Tag post natum überstieg die Produktion bereits den Verlust maternaler Immunglobuline durch Elimination (Erhard et al., 1999 b).

Unabhängig von der spezifischen Immunabwehr verfügt auch das neugeborene Kalb über ein unspezifisches Immunsystem; dieses ist allerdings noch nicht zu gleichen Abwehrleistungen wie bei adulten Tieren befähigt. Die Aktivität des Komplementsystems des neugeborenen Kalbes lag, verglichen mit derjenigen erwachsener Rinder, bei 12 - 60 % und erreichte mit sechs Monaten ihre vollständige Effektivität (Banks, 1982). Dies wurde von Firth et al. (2005) bestätigt. Ihren Untersuchungen nach betrug die Aktivität des Komplementsystems beim neugeborenen Kalb zur Geburt ungefähr 50 % im Vergleich zu der adulter Tiere. Die zirkulierenden Komplementfaktoren wurden am ersten Tag schnell auf 20 % des Levels adulter Tiere reduziert. Mit einem Monat hatten sie ungefähr 50 % der Menge adulter Tiere erreicht. Die Anzahl zirkulierender B-Lymphozyten machte nur 4 % der Gesamtleukozyten bei einem Lebensalter von einer Woche aus. Der Anteil der B-Zellen stieg in der sechsten bis achten Lebenswoche allmählich auf einen Anteil von 20 % der Totallymphozyten. Beim ausgewachsenen Tier betrug er 20 - 30 % (Kampen et al., 2006). Der Anstieg dauerte damit länger als von Banks (1982) ermittelt. Er konnte adulte Konzentrationen am 20. Lebenstag nachweisen.

Die Lymphozyten von kolostrumfrei aufgezogenen Kälbern reagieren intensiver auf Zellmitogene wie Kermesbeerenmitogene oder Phythämagglutinin, als jene von mit Kolostrum aufgezogenen Kälbern. Kolostrumfrei aufgezogene Neonaten zeigten zudem in den ersten 24 Lebensstunden eine deutlichere Leukozytose und Neutrophilie (Clover et al., 1980).

Die vollständige Reife des Immunsystems ist erst mit einem Alter von fünf bis acht Monaten erreicht. Jüngere Kälber sind dennoch in der Lage, auf Antigene zu reagieren. Diese Reaktion fällt jedoch schwächer und langsamer aus und ist schneller erschöpft als bei murenen Tieren (Cortese, 2009; Gonzales und Dus Santos, 2017). Die Effizienz und Reaktionsbreite des Immunsystems ist abhängig von Art und Zeitpunkt des Antigenstimulus'.

2.5 Labordiagnostische Meßverfahren zur Messung der Immunglobulin G-Konzentration im Blut des Kalbes

2.5.1 Direkte Immunglobulin G-Nachweisverfahren

2.5.1.1 Radialer-Immundiffusionstest (RID/sRID)

Der Radiale-Immundiffusionstest nach Mancini et al. (1965) erlaubt die quantitative, direkte Messung von Antikörpern. Der spezifische Nachweis von Immunglobulin G beruht auf einer Antigen-Antikörperreaktion. Dazu wird ein Antiserum mit spezifischen Antikörpern gegen bovines IgG in ein semisolid Medium (Agargel) eingebracht. Nach Erstarren des Gels werden Vertiefungen eingestanz, in die das zu prüfende Kälberserum beziehungsweise Standardseren eingebracht werden. Die Reaktion der IgG-Antigene und IgG-Antikörper resultiert in Präzipitatrigen. Durch das Vermessen der Durchmesser und den Vergleich der Standardseren mit den zu prüfenden Serumpräzipitatrigen läßt sich deren IgG-Konzentration bestimmen. Gränzer (1986) bestimmte eine Empfindlichkeit von 0,05 µg Protein/ml. Die Durchführung des Tests ist aufwendig und dauert zwischen 18 und 24 Stunden (Naylor und Kronfeld, 1977; Lambrecht et al., 1982; Pfeiffer et al., 1977; Kähn, 1991; Morrill et al., 2013). Auch ist sie mit relativ hohen Kosten verbunden (Pfeiffer et al., 1977). Als weiteren Nachteil sehen Lambrecht et al. (1982, 1984) die Verwendung von Standardseren zum Kalibrieren an. Werden nicht alle „Testplätze“ zur gleichen Zeit für den Test präpariert, so führt dies zum Teil zu ungenauen Resultaten in der Auswertung (Becht und Semrad, 1985). Aufgrund verfahrensbedingter Unterschiede und Abweichungen zwischen verschiedenen Laboren sehen auch Hosty et al. (1973)

und Kähn (1991) die RID als Referenzmethoden zur IgG-Messung kritisch. Lambrecht und Petzoldt (1984) sowie Brown (1990) lehnen sie als Goldstandard ab, da es zu keinen absoluten Ergebnissen kommt, die untereinander verglichen werden können.

Ameri und Wilkerson (2008) verglichen zwei kommerziell erhältliche Testsätze für die Bestimmung der IgG-Konzentration mittels RID miteinander (sRID und VET-RID). Sie stellten erhebliche Unterschiede in den gemessenen Konzentrationen fest. Dies erschwert einen Vergleich untereinander und bestätigt die oben genannten Aussagen. Dennoch sehen mehrere Autoren neuerer Zeit die RID weiterhin als Goldstandard zur quantitativen Bestimmung der passiven Immunisierung mit IgG an (Weaver et al., 2000; Fecteau et al., 2013; Deelen et al., 2014; Hogan et al., 2015, 2016).

2.5.1.2 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Der ELISA geht in seiner Grundlage auf den Radioimmunassay zurück (Yalow und Berson, 1960). Die Weiterentwicklung zum ELISA erfolgte 1971 (Engvall und Perlman, 1971; Van Weemen und Schuurs, 1971). Im wesentlichen beruht er auf einer Antigen-Antikörperreaktion, wobei über die Farbreaktion eines enzymmarkierten Antikörpers die Antikörperkonzentration ermittelt wird. Die Auswertung erfolgt in der Regel photometrisch. Seine Empfindlichkeit gilt als sehr gut und ist mit 0,0005 µg Protein/ml bei optimalen Versuchsbedingungen der RID deutlich überlegen (Gränzer, 1986).

Aufgrund seines unterschiedlichen Aufbaus läßt er sich in mehrere Varianten unterteilen. Eine Einteilung in einen direkten und indirekten ELISA ist möglich. Bei der direkten Variante ist der mit dem Antigen reagierende Antikörper bereits enzymmarkiert. Der indirekte Aufbau benötigt einen weiteren Inkubationsschritt. Nach Bindung eines unmarkierten Antikörpers an ein bestimmtes Antigen folgt die Zugabe eines markierten Sekundärantikörpers. Dieser bindet an den Primärantikörper. Das Verfahren ermöglicht die Verstärkung eines Farbsignales und erhöht damit die Sensitivität. Jedoch ist der Zeit- und Arbeitsaufwand gegenüber dem direkten ELISA erhöht. Eine weitere Form stellt der kompetitive ELISA dar. Hierbei wird zur Detektion kein zweiter markierter Antikörper eingesetzt, sondern es konkurriert ein zugesetztes

markiertes Kompetitorantigen mit den nachzuweisenden Antikörpern um Bindungsstellen. Es erscheint ein umgekehrt proportionales Farbsignal zur in der Probe vorliegenden Antikörpermenge.

Die Anwendung zur Untersuchung der Immunglobulinaufnahme beim Kalb fand der ELISA durch Erhard et al. (1995). Die Methodik stand jedoch nicht im Mittelpunkt ihrer Untersuchungen. Eine Verifizierung der Methode anhand von Kontrollmessungen mit einem anerkannten Verfahren wurde nicht durchgeführt. Dennoch hat sich dieser ELISA in der Literatur etabliert (Lipp, 2005; McMorran, 2006; Weingand, 2015). Erhard et al. (1999 b) entwickelten einen Sandwich-ELISA zur Messung von bovinem IgG₁ und IgG₂. Für die IgG₁-Messung erfolgte eine Beschichtung der ELISA-Platte mit monoklonalen Mäuseantikörpern, die sich gegen bovinen IgG₁ richteten. An diese konnten die IgG₁-Antikörper binden. Abschließend erfolgten die Zugabe von an Enzym gebundenen, monoklonalen Anti-bovinen-IgG₁-Antikörpern und die Farbreaktion.

In Abweichung hierzu wurde bei der Bestimmung von IgG₂ die ELISA-Platte mit Hühner Anti-bovinem-IgG₂ beschichtet, das nach der intramuskulären Immunisation von Hennen aus Hühnereigelb gewonnen worden waren. Eine einfache und nicht invasive Methode, die eine Gewinnung in geeigneter Qualität ermöglicht. Zur Detektion des bovines IgG₂ wurde ein enzymmarkiertes Protein G verwendet. Dieses bindet an bovinen, nicht jedoch an aviäres IgG. Im Gegensatz zum klassischen ELISA (wie für IgG₁ beschrieben) wurde daher nur ein Antikörper benötigt.

Stengel (1998) entwickelte einen kompetitiven ELISA zur IgG-Messung im bovinen Serum und Kolostrum, welcher mittels RID überprüft wurde. Er konnte minimale IgG-Konzentrationen von 0,002 mg/ml im Kälberserum bis zu hohen Werten im Kolostrum (136,67 mg/ml) nachweisen. Die Problematik an der Durchführung bestand darin, daß Stengel (1998) die Immunglobulinstandards selbst herstellte. Dies führte neben einem hohen Aufwand an Personal, Geld und Zeit, zu einer verringerten Reproduzierbarkeit. Eine Weiterentwicklung wurde von Bender (2004) durchgeführt. Durch die Verwendung kommerzieller, standardisierter Reagenzien erreichte sie, neben einer erheblichen Vereinfachung der Durchführung und Kostenreduktion, eine deutliche Steigerung der Wiederholbarkeit. Der relative Fehler bei der Reproduzierbarkeit betrug 4,9 %. Ein Vergleich mit der Radialen Immundiffusion brachte überaus zufriedenstellende Ergebnisse. Gleichzeitig erweiterte sie den Test und ermöglichte, es ebenfalls IgM mit Hilfe des ELISAs zu messen. Die niedrigsten

von ihr gemessenen Konzentrationen betragen 0,009 mg/ml IgG beziehungsweise 0,007 mg/ml IgM im Serum von Kälbern, die höchsten lagen bei 75,50 mg/ml IgG beziehungsweise 13,85 mg/ml IgM im Kolostrum der Muttertiere.

2.5.2 Indirekte Immunglobulin G-Nachweisverfahren

2.5.2.1 Messung der Gammaglutamyltransferaseaktivität

Das Enzym Gammaglutamyltransferase (GGT) wird von den „duktalen Zellen“ der Milchdrüse produziert und findet sich folglich im Kolostrum wieder (Baumrucker und Pocius, 1979). Dort zeigt sich die Aktivität der Gammaglutamyltransferase im Vergleich zum Serum adulter Tiere bis zu 800fach erhöht (Thompson und Pauli, 1981; Braun et al., 1982; Barcelos, 1983). Im Verlauf der Laktation nimmt die Aktivität der einzelnen Enzyme im Milchsekret zum Teil drastisch ab. So konnten Zanker et al. (2001) einen Rückgang der Enzymaktivität der Gammaglutamyltransferase im Kolostrum von 30.500 IE/l auf 3.100 IE/l in maturer Milch messen. Zu beachten sind starke tierindividuelle Schwankungen (Jürgensen, 2016). Thompson und Pauli (1981) konnten in einer Studie zur Evaluierung der GGT-Serumaktivität bei Kälbern nach erfolgter Kolostrumaufnahme eine stark erhöhte Aktivität der Gammaglutamyltransferase im Serum messen, die die Werte adulter Tiere um ein Vielfaches übertrafen. Dies wurde von zahlreichen Autoren bestätigt (Braun et al., 1982; Beyer, 1988; Boediker, 1991; Bogin et al., 1993; Perino et al., 1993; Schlerka und Bucher, 2003; Werner, 2003; Cuttance et al., 2017). Ein Maximum der GGT-Aktivität konnten Beyer (1988) und Steffen et al. (1997) zwölf Stunden nach erster Kolostrumaufnahme ermitteln. In den folgenden 24 Stunden fand ein starker Aktivitätsrückgang statt, bevor die kommenden zwei Monate eine allmähliche Abnahme erfolgte. Dies erlaubte den Rückschluß, daß die GGT beim Kalb infolge der Kolostrumaufnahme ansteigt.

Die Hypothese, daß die erhöhte GGT-Aktivität in direktem Zusammenhang mit erfolgter Kolostrumaufnahme steht, wurde von Braun et al. (1982) in einer Studie bestätigt. Sie evaluierten die GGT-Aktivität im Serum von 14 Kälbern und im Kolostrum der jeweiligen Muttertiere. Eine erhöhte Serum GGT-Aktivität konnte bei allen Kälbern nach Kolostrumaufnahme gemessen werden. Es fand ein Anstieg der

GGT-Aktivität von post natum 10 - 31 IE/l, auf maximale Werte am ersten beziehungsweise zweiten Lebenstag statt (370 - 5.000 IE/l). Es folgt eine Phase des langsamen Abfalls bis zum 20. Lebenstag, an dem noch Konzentrationen von durchschnittlich 133 IE/l ermittelt werden konnten. Zwei weitere Kälber erhielten stattdessen Milchaustauscher und abgekochte Milch. Bei diesen stieg die Aktivität der GGT nicht über die präkolostralen Werte an. Dieses Phänomen wurde ebenfalls von Beyer (1988) und Boediker (1991) beobachtet. Starke Variationen der Aktivität der GGT im Blut der Kälber konnten auch in neuerer Zeit immer wieder gemessen werden (Werner, 2003; Bender und Bostedt, 2009; Wenzel, 2014). Diese können mit einem unterschiedlichen Resorptionsverhalten erklärt werden (Thompson und Pauli, 1981). Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der kolostralen GGT-Aktivität und der folgenden Serum-GGT-Aktivität besteht nicht. Eine Korrelation besteht hingegen zwischen der logarithmierten Serum-GGT-Aktivität und den Serumglobulinen in den ersten vier Lebenstagen ($r = 0,62$; $p < 0,01$). Die Studie von Braun et al. (1982) kam zu dem Ergebnis, daß die Aktivität der GGT als Anzeichen einer stattgefundenen Kolostrumaufnahme genutzt werden kann. Ein Versuch, Grenzwerte festzulegen, wurde nicht unternommen. Perino et al. (1993) kamen in einer Studie an 48 Kälbern zu ähnlichen Ergebnissen. Ein Zusammenhang zwischen Serum-GGT und Serum-IgG wurde beobachtet, die Korrelation war niedrig ($r = 0,72$). Die GGT-Aktivität erlaubt damit Rückschlüsse auf die Aufnahme von Kolostrum, nicht jedoch auf eine ausreichende passive Immunisierung. Dies konnte von mehreren Autoren bestätigt werden (Braun et al., 1982; Bogin et al., 1993; Werner, 2003; Schlerka und Bucher, 2003). Zanker et al. (2001) konnten zeigen, daß die Resorption des Enzyms GGT über den Darm zwischen der sechsten und zwölften Lebensstunde abgeschlossen ist. Parish et al. (1997) konnten die bisherigen Ergebnisse an einer Studie mit 71 Milchkuhkälbern bestätigen. Sie entwickelten ein Modell zur Vorhersage der erfolgreichen passiven Immunisierung bei bis zu 17 Tage alten Kälbern als Funktion von Alter und Serum-GGT-Aktivität ($r = 0,54$). Bei einer Altersgrenze von bis zu zehn Tagen erhöhte sich der Korrelationskoeffizient zwischen IgG₁-Konzentration und GGT-Aktivität ($r = 0,63$; $n = 56$). Folgende Werte konnten zur Auswertung gewonnen werden: Am ersten Lebenstag sollte die Serum-GGT-Aktivität bei Kälbern > 200 IE/l sein. Perino et al. (1993) konnten hierfür eine Sensitivität von 80 % bei einer Spezifität von 97 % für die Diagnose eines FPT ermitteln. Bei vier Tage alten Kälbern sinkt die Aktivität auf > 100 IE/l ab und fällt bis

zum Ende der ersten Lebenswoche auf > 75 IE/l. Bei Kälbern, die innerhalb der ersten zwei Lebenswochen eine Serum-GGT-Aktivität von < 50 IE/l besitzen, kann von einer unzureichenden Aufnahme kolostraler Antikörper ausgegangen werden (Parish et al., 1997). Eine ausreichende IgG₁-Versorgung wird mit 10 mg/ml definiert (Parish et al., 1997). Ähnliche Werte für die GGT-Aktivität fanden auch Steffen et al. (1997). Sie untersuchten zusätzlich Unterschiede der GGT-Aktivitäten zwischen gesunden und erkrankten Kälbern. Hierbei konnten keine festgestellt werden. Eine Aussage über die Gesundheitsentwicklung der Kälber in den ersten 14 Lebenstagen ist laut Steffen et al. (1997) nicht möglich. Im Gegensatz zu Parish et al. (1997) konnten Wilson et al. (1999) diese Ergebnisse bei Untersuchungen an 69 Fleischkälbern nicht bestätigen. Sie fanden bei bis zu 18 Tage alten Fleischkälbern nur geringe Korrelationen zwischen der GGT-Aktivität und der IgG-Konzentration ($r = 0,065$). Eine bessere Voraussage war bei bis zu acht Tage alten Kälbern möglich ($r = 0,438$; $n = 17$). Es handelte sich allerdings nicht um eine direkte lineare Beziehung, so daß eine genaue Vorhersage erschwert wurde.

Tyler et al. (1999 a) untersuchten an 27 kranken Kälbern die GGT-Aktivität in Hinblick auf die Erfassung eines fehlerhaften passiven Transfers. Bei einem Grenzwert von IgG₁ < 10 mg/ml, und einem GGT-Aktivitäts-Grenzwert von 50 IE/l hatte die GGT-Aktivität eine Sensitivität von 93 % und eine Spezifität von 92 %. Die Messung der GGT-Aktivität stellte sich als genaueste Schnelltestmethode zur Überprüfung der passiven Immunisierung bei klinisch erkrankten Kälbern da. Cuttance et al. (2017) erkannten an 471 unter fünf Tagen alten Milchkälbern eine gute Vorhersage des FPT mittels GGT-Aktivitätsmessung ($r = 0,94$), ihre Spezifität war entsprechend hoch.

2.5.2.2 Bestimmung der Gesamtproteinkonzentration mit Hilfe der Refraktometrie

Die Messung des Gesamtproteins mit Hilfe der Refraktometrie zur Abschätzung der Serumimmunglobulinkonzentration wurde zuerst von McBeath et al. (1971) an 185 Kälbern evaluiert. Da die Immunglobuline ein Teil des Gesamtproteingehaltes des Blutes darstellen, war der Nachweis einer signifikant positiven Korrelation zwischen beiden möglich. Sie kamen in ihrer Studie zu moderaten Korrelationen im Vergleich zu der direkten Immunglobulinmessung mit Hilfe der Radialen Immundiffusion ($r = 0,72$). Deelen et al. (2014) kamen bei der vergleichenden Untersuchung an 400 Holstein-Friesian-Kälbern zu einer deutlich besseren Korrelation ($r = 0,93$) zwischen RID-Messung und Gesamtproteinbestimmung mittels Refraktometrie.

Die Messung des Serumgesamtproteingehaltes nach Kolostrumaufnahme spiegelt den Anstieg der Serumimmunglobulinkonzentration nach erfolgter Kolostrumaufnahme wieder (Boyd, 1972; Jensen, 1978; Dobbelaar et al., 1987; Perino et al., 1993; Calloway et al., 2002). Da sie schnell, einfach und kostengünstig durchführbar ist, ermöglicht sie unter Feldbedingungen eine indirekte Einschätzung der Antikörpersversorgung neonataler Kälber (Boyd, 1972; Naylor und Kronfeld, 1977 a; Biswal et al., 1993). Beachtet werden sollte, daß der mittels Refraktometer gemessene Wert in der Regel nicht der wirklichen Gesamtproteinkonzentration entspricht. Übliche Refraktometer sind bei der Gesamtproteinmessung auf menschliches Serum geeicht. Der Brechungsindex für bovines Serumprotein ist niedriger, so daß das Gesamtprotein ungefähr 1 g/dl zu niedrig angegeben wird (Boyd, 1972).

Kühne et al. (2000) bestimmten an 16 Bullenkälbern den Verlauf des Gesamtproteins innerhalb der ersten sieben Lebenstage. Während ein deutlicher Anstieg bei mit Kolostrum gefütterten Kälbern zu beobachten war, konnten bei ausschließlich mit Milchaustauscher getränkten Kälbern keine größeren Veränderungen beobachtet werden. Problematisch bei einer einmaligen Gesamtproteinmessung ist unter anderem, daß die anderen Serumproteine in ihrem Anteil konstant sein müssen. Dies ist nicht der Fall. Schultz et al. (1971) konnten an 42 Kälbern eine Varianz des Serumalbumins zwischen 1,9 und 3,3 g/dl messen. Zu ähnlichen Schwankungen der Albuminkonzentration kamen auch Bogin et al. (1993) und Werner (2003). Dies legte für Munro und Norton (1996) die Vermutung nahe, daß bei ausschließlicher Gesamtproteinbestimmung mittels Refraktometrie ein IgG-Mangel durch hohe

Albuminkonzentrationen verdeckt werden kann. Insbesondere bei niedrigen Werten ist die Bestimmung des Gesamtproteins ein unsicherer Indikator für eine ausreichende Immunglobulinversorgung (Pfeiffer et al., 1977).

Der Verlauf der Gesamtproteinkonzentration wurde von zahlreichen weiteren Autoren untersucht (Boyd, 1989; Bender und Bostedt, 2009; Wenzel, 2014). Steffen et al. (1997) konnten einen signifikanten Anstieg von 4,2 g/dl vor der ersten Fütterung auf 5,3 g/dl 12 Stunden post natum feststellen. Diese Konzentration blieb bis zum vierten Lebenstag relativ stabil und fiel dann langsam wieder ab. Ein Unterschied konnte bei den gesunden Tieren (Abfall auf 5,0 g/dl am 8. - 10. Tag) im Vergleich zu den schwer erkrankten, rehydrierten Kälbern (Abfall auf 4,8 g/dl am 7. - 10. Tag) festgestellt werden. Der verstärkte Abfall bei erkrankten Tieren läßt sich mit Proteinverlusten über den Darm, Maldigestion und -absorption bei Diarrhoe sowie auf die reduzierte Futteraufnahme bei schweren Krankheitsverläufen zurückführen. Infolge einer Exsikkose kann es durch Hämokonzentration zu einem relativen Anstieg der Serumproteinkonzentration kommen. Das Absinken des Gesamtproteins bei erkrankten Kälbern konnte ebenfalls durch Fischer und Butte (1974) bei ihren Untersuchungen an 72 Deutsch Schwarzbunten Kälbern festgestellt werden. Der anfängliche Anstieg des Gesamtproteins bis zum zweiten Lebenstag, wird gefolgt von einem langsamen Absinken (Cabello und Michel, 1977).

Eine Festlegung von Grenzwerten, oberhalb derer eine ausreichende passive Immunisierung der Kälber stattgefunden hat, wurde in mehreren Studien evaluiert. So bestimmten Perino et al. (1993) an 42 Kälbern 4,2 g/dl als Grenzwert zur Bestimmung einer unzureichenden passiven Immunisierung mit einer Sensitivität von 80 % und einer Spezifität von 100 % bei einen Tag alten Neonaten. Zu höheren Werten kamen Besser und Gay (1994) und Weaver et al. (2000), die bei Serumproteinkonzentration 24 Stunden post natum < 5 g/dl ein erhöhtes Erkrankungsrisiko beziehungsweise eine höhere Mortalität feststellten.

Zaremba et al. (1995) konnten bei Untersuchungen an 1.157 Holstein-Friesiankälbern in bezug auf die Morbidität und Mortalität in den ersten 60 Lebenstagen starke Unterschiede feststellen. Betrug die Morbidität 88,4 % und die Mortalität 40,2 % bei einem Totalplasmaprotein $< 5,0$ g/dl so sanken sie deutlich bei einem Anstieg auf $\geq 5,0$ g/dl auf eine Morbidität von 50,1 % und eine Mortalität von 0,5 %. Vergleichend ist wichtig, daß die Gesamtproteinkonzentration im Serum

ungefähr 1,5 g/dl niedriger gemessen wird als die Gesamtproteinkonzentration im Plasma (Villarroel et al., 2010).

Eine Aufteilung in drei Krankheitsklassen wurde von Braun und Tennant (1983) vorgenommen. Sie erkannten bei einem Gesamtprotein 24 - 48 Stunden post natum < 5,0 g/dl ein hohes, bei 5,0 - 5,4 g/dl ein mittleres und bei über > 5,4 g/dl ein niedriges Erkrankungsrisiko. Tyler et al. (1996) konnten in einer Studie an 242 Kälbern im Vergleich verschiedener kommerzieller Test zur passiven Immunübertragung eine gute Aussage der refraktometrischen Gesamtproteinmessung bestätigen. Eine Serumproteinkonzentration von 5,2 g/dl entsprach einer IgG₁-Konzentration von 10 mg/ml. Abhängig vom gewählten Grenzwert klassifiziert die Gesamtproteinmessung > 80 % der Kälber richtig. Bei einem Endwert von 5,0 g/dl erhöht sich die Spezifität auf 96 %, bei einer Sensitivität von lediglich 59 %. Bei einem Wert von 5,5 g/dl besitzt er eine Spezifität von 76 %, bei einer Sensitivität von 94 %. Bei möglichst hoher Spezifität begrenzt der Grenzwert von 5,0 g/dl die falsch positiven Ergebnisse. Durch eine maximale Sensitivität mit 5,5 g/dl werden die falsch negativen Ergebnisse reduziert. Die Wahl des Endpunktes hängt daher von einer Abwägung der Auswirkungen, der Prävalenz unterversorgter Kälber und den geplanten Folgen ab (siehe Kapitel 2.3.2).

Die Bestimmung der Gesamtproteinkonzentration mit Hilfe der Refraktometrie eignet sich für die Herdenüberwachung und ist einfach durchführbar. Entgegen der Skepsis und Bedenken hinsichtlich der Auswirkungen des Alters und Hydratationszustandes, erlaubt die Refraktometrie eine einigermaßen genaue Einschätzung des passiven Transferstatus moribunder Kälber. Ein Testendpunkt von 5,5 g/dl ist bei klinisch erkrankten Kälbern vorzuziehen (Tyler et al., 1999 a). Bei klinisch gesunden, nicht dehydrierten Kälbern korreliert eine Gesamtproteinkonzentration von mindestens 5,2 g/dl mit einer ausreichenden passiven Übertragung (Tyler et al., 1999 a). Diesen Aussagen schlossen sich McGuirk und Collins (2004) an.

Buczinski et al. (2018) führten eine systematische Auswertung von elf Studien durch, die die Ergebnisse der Refraktometrie mit der Messung von IgG mittels RID (9 Studien) bzw. TIA (engl. *turbidimetric immunoassay*) (2 Studien) verglichen. Durchschnittlich lag bei 21 % der getesteten Kälber ein FPT vor (< 10 mg/ml IgG). In den Studien wurden zwei unterschiedliche Grenzwerte verwendet: 5,2 g/dl (6 Studien), 5,5 g/dl (5 Studien). Für den Grenzwert bei 5,2 g/dl betrug die Sensitivität (95 % KI) 76,1 % (63,8 - 85,2 %) und die Spezifität (KI 95 %) 89,3 % (82,3 - 93,7 %).

Für den Grenzwert bei 5,5 g/dl betrug die Sensitivität (95 % KI) 88,2 % (80,2 - 93,3 %) und die Spezifität (KI 95 %) 77,9 % (74,5 - 81,0 %). Zur Minimierung der falsch negativen Ergebnisse sollte der Grenzwert bei 5,5 g/dl gewählt werden, der Wert von 5,2 g/dl eignet sich andererseits besser zum Ausschluß eines FPT. Das eine niedrige Gesamtproteinkonzentration nicht zwingend zu einer erhöhten Erkrankungsrate führt beziehungsweise geeignet ist, eine Erkrankung in den ersten Lebenswochen vorauszusagen, stellten mehrere Autoren fest (Thornton et al., 1972; Naylor et al., 1977 b; Dobbelaar et al., 1987; Steffen et al., 1997).

2.5.3 Labordiagnostische Verfahren im Vergleich

Mittlerweile existieren eine Vielzahl von Veröffentlichungen, die sich mit dem Vergleich unterschiedlicher Methoden zur Immunglobulinmessung bzw. -schätzung im Blut des Kalbes beschäftigt haben. Diese unterscheiden sich sowohl in der Art des Antikörpernachweises als auch in ihrer Empfindlichkeit. Eine vergleichende Zusammenstellung einiger wichtiger, etablierter Methoden findet sich in Tabelle 4.

Tabelle 4: Zusammenfassende Darstellung der unterschiedlichen Nachweismethoden für die Immunglobulinkonzentration im Serum von Kälbern. Eine detaillierte Beschreibung der einzelnen Verfahren findet sich in den Kapiteln 2.5.1.1 - 2.5.2.2.

		Indirekte Methoden	
Methode	RID/sRID	ELISA	Photometrische Messung der Aktivität der GGT
Art des Antikörper-nachweises	quantitative, direkte Messung von Antikörpern	quantitative, direkte Messung von Antikörpern	indirekte Schätzung der aufgenommenen Immunglobulinmengen
Prinzip	<ul style="list-style-type: none"> - spezifischer Nachweis von IgG mittels Antigen-Antikörperreaktion - Messung der Durchmesser der Präzipitationshöfe 	<ul style="list-style-type: none"> - Antigen-Antikörperreaktion, wobei über die Farbreaktion eines enzymmarkierten Antikörpers die Antikörperkonzentration photometrisch gemessen wird 	<ul style="list-style-type: none"> - GGT-Serumaktivität bei Kälbern nach erfolgter Kolostrumaufnahme stark erhöht (Thompson et al., 1981) - es besteht eine Korrelation zwischen der log Serum-GGT-Aktivität und den Serumglobulinen in den ersten vier Lebenstagen (Braun et al., 1982)
Empfindlichkeit	- 0,05 µg Protein/ml (Gränzer, 1986)	- 0,0005 µg Protein/ml (Gränzer, 1986)	<ul style="list-style-type: none"> - abhängig von der Wahl des Refraktometers (Bsp.: Handrefraktometer HRMT 18 der Fa. Krüss: 0,2 g/dl Serumprotein)

Kosten	- relativ hoch (Pfeiffer et al., 1977)	- mittel	- gering	- sehr gering
Aufwand/Dauer	- hoch (Morrill et al., 2013) - Dauer zwischen 18 und 24 Stunden (Morrill et al., 2013)	- mittel (Bender, 2004)	- mittel	- schnell und kostengünstig (Boyd, 1972)
Vorteile	- direkter Antikörpernachweis - Verwendung von Standardseren zur Kalibrierung (Mancini et al., 1965) - Goldstandard (Deelen et al., 2014) - kommerziell erhältlich	- direkter Antikörpernachweis - gute Korrelation zum Goldstandard (Bender, 2004) - gute Reproduzierbarkeit (Bender, 2004) - kommerziell erhältlich	- keine Unterschiede der GGT-Aktivitäten zwischen gesunden und erkrankten Kälbern (Steffen et al., 1997) - Referenzwerte für ausreichende IgG-Versorgung: Am 1. Lebenstag sollte die Serum-GGT-Aktivität bei Kälbern > 200 IE/l sein (Perino et al., 1993, Sensitivität von 80 % bei einer Spezifität von 97 % für die Diagnose eines FPT); bis zum 4. Lebenstag sinkt die Aktivität auf > 100 IE/l ab und fällt bis zum Ende der ersten Lebenswoche auf > 75 IE/l; innerhalb der ersten zwei Wochen sollte die Serum-GGT-Aktivität \geq 50 IE/l sein (Parish et al., 1997)	- schnell und vor Ort durchführbar, eignet sich für die Herdenüberwachung (Tyler et al., 1999 a) - signifikanter Anstieg von 4,2 g/dl vor der ersten Fütterung auf 5,3 g/dl 12 Std. post natum; Konzentration bleibt bis zum 4. Tag stabil und sinkt dann (Steffen et al., 1997) - bei gesunden Tieren Abfall auf 5,0 g/dl am 8. bis 10. Tag; Abfall bei schwer erkrankten, rehydrierten Kälbern auf 4,8 g/dl am 7. bis 10. Tag (Steffen et al., 1997) - eine Serumproteinkonzentration von 5,2 g/dl entspricht einer IgG ₁ -Konzentration von 10 mg/ml

Nachteile	<ul style="list-style-type: none"> - Labortest, Ergebnis nicht zeitnah vor Ort vorhanden - verfahrensbedingte Unterschiede und Abweichungen zwischen verschiedenen Laboren (Ameri und Wilkerson, 2008) - keine absoluten Ergebnisse (Lambrecht und Petzoldt, 1984; Brown, 1990) 	<ul style="list-style-type: none"> - Labortest, Ergebnis nicht zeitnah vor Ort vorhanden 	<ul style="list-style-type: none"> - Labortest, Ergebnis nicht zeitnah vor Ort vorhanden - starke tierindividuelle Schwankungen der GGT-Aktivität im Kolostrum (Jürgensen, 2016) - GGT-Aktivität erlaubt Rückschlüsse auf die Aufnahme von Kolostrum, nicht jedoch auf eine ausreichende passive Immunisierung (Braun et al., 1982; Schlerka und Bucher, 2003) 	<p>(Tyler et al., 1996)</p> <ul style="list-style-type: none"> - andere Serumproteine, insbesondere Albumin sind nicht konstant, dies führt zu verfälschten Ergebnissen (Schultz et al., 1971) - infolge einer Exsikkose kann es durch Hämkonzentration zu einem relativen Anstieg der Serumproteinkonzentration kommen (Steffen et al., 1997) - zahlreiche unterschiedliche Grenzwerte
------------------	--	---	---	--

3 Tiere, Material und Methoden

3.1 Probenentnahme und -bearbeitung

Bei allen Kälbern wurde zur Überprüfung einer ausreichenden IgG-Versorgung eine Blutprobe im Rahmen der tierärztlichen Diagnostik entnommen. Anhand dieser Blutproben wurden verschiedene direkte und indirekte Nachweisverfahren für die Resorption kolostraler Antikörper verglichen. Der Rest der Blutprobe wurde für weitergehende Untersuchungen verwendet (kTV 8-2017). Der Probenentnahmezeitraum umfaßte Kälber unmittelbar post natum vor der ersten Tränkeaufnahme, bis hin zu zehn Tage alten Jungtieren. Jedes Tier wurde insgesamt nur einmal beprobt. Die Entnahme der Blutproben erfolgte im Rahmen der Diagnostik in der Klinik oder im landwirtschaftlichen Betrieb.

Die Entnahme erfolgte zumeist unter Hilfestellung einer zweiten Person zur Fixierung des Kalbes, aus der Vena jugularis externa mittels Einmalkanüle (Sterican[®], Größe 18 G; 1,2 x 40 mm, B. Braun, Melsungen, Deutschland) und sterilen Serummonovetten (Monovette[®] 9 ml Z, Sarstedt AG und Co. KG, Nümbrecht, Deutschland). Die Blutproben wurden innerhalb von drei Stunden nach der Entnahme bei 4.000 Umdrehungen/Minute und bei 20° C fünf Minuten mit der Rotina 35 R Zentrifuge der Firma Hettich zentrifugiert. Das gewonnene Serum wurde in drei sterile Universalröhrchen (55 x 12 mm Polypropylenröhrchen, Fassungsvermögen 3,5 ml der Firma Sarstedt) pipettiert. Es erfolgte die semiquantitative Messung des IgG-Gehalts mittels des Fassisi[®] Bovine IgG Testes. Anschließend wurden die Proben bei -18° C eingefroren.

Je eine Serumprobe jedes Kalbes wurde zur Bestimmung der IgG-Konzentration mittels ELISA (Methode nach Erhard et al., 1995) gefroren ins Labor des Instituts für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung nach München gesandt. Das zweite Röhrchen wurde aufgetaut und im Labor der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Gießen die Aktivität der Gammaglutamyltransferase gemessen. Zudem wurde das spezifische Gewicht des Serums mittels Refraktometer der Firma Krüss bestimmt.

3.2 Gesamtproteinmessung mittels Refraktometer im Serum

Die Messung des Gesamtproteins erfolgte mittels Handrefraktometer HRMT 18 der Firma Krüss mit der von McBeath et al. (1971) beschriebenen Methode im Labor der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Gießen. Nach dessen Reinigung mit destilliertem Wasser und Abtrocknung, wurden je 100 µl des zu untersuchenden Serums auf das Prisma aufgebracht. Die Ablesung erfolgte unter Nutzung einer Kunstlichtquelle auf der mittleren Skala (g/dl). Es erfolgte eine erneute Reinigung. Das Prinzip der Messung beruht auf der Beeinflussung des Brechungsindex von Licht durch den Proteingehalt des Serums.

3.3 Aktivität der Gammaglutamyltransferase im Serum

Das Prinzip der Bestimmung der Gammaglutamyltransferaseaktivität beruht auf einem enzymatischen Farbstest nach Szasz und Persijn (1974) und Persijn und van der Silk (1976). Hierbei überträgt die Gammaglutamyltransferase als Enzym den Gammaglutamylrest von L-Gamma-Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid auf Glycylglycin. Der freiwerdende Farbstoff (5-Amino-2-nitrobenzoat) ist dabei proportional zur Aktivität der GGT. Es handelt sich um die Referenzmethode des IFCC (International Federation of Clinical Chemistry).

Verwendung fand hierbei der LT-SYS® Gamma-GT Testsatz (Labor + Technik Eberhard Lehmann GmbH, Berlin, Deutschland). Die Herstellung des Arbeitsreagenz' erfolgte unter Nutzung zweier Reagenzien. Bei Reagenz 1 handelte es sich um einen Tris-Glycylglycin-Puffer mit einem pH-Wert von 8,25 und einer Konzentration von 100 mmol/l. Reagenz 2 war L-Gamma-Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid in einer Konzentration von 2,9 mmol/l. 50 µl Probe wurden mit 500 µl Arbeitsreagenz vermischt, in Einmalküvetten pipettiert und im Photometer bei einer Wellenlänge von 405 nm und einer Temperatur von 37° C gemessen. Nach Messung der Anfangsextinktion gegen Luft, folgten Messungen nach einer, zwei und drei Minuten. Die erforderliche Temperierung erfolgte durch das Gerät Epac-TM 5430 (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland), während die photometrische Auswertung unter Verwendung des Epac 6140 (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) durchgeführt wurde. Die Extinktionsdifferenzen ($\Delta E/\text{min}$) wurden zur Berechnung der Mittelwerte genutzt und diese in die folgende Formel eingesetzt:

$\Delta E/\text{min} \cdot \text{Faktor} = \text{Gammaglutamyltransferaseaktivitat (IE/l)}$

Der Faktor nach IFCC beträgt 1.216.

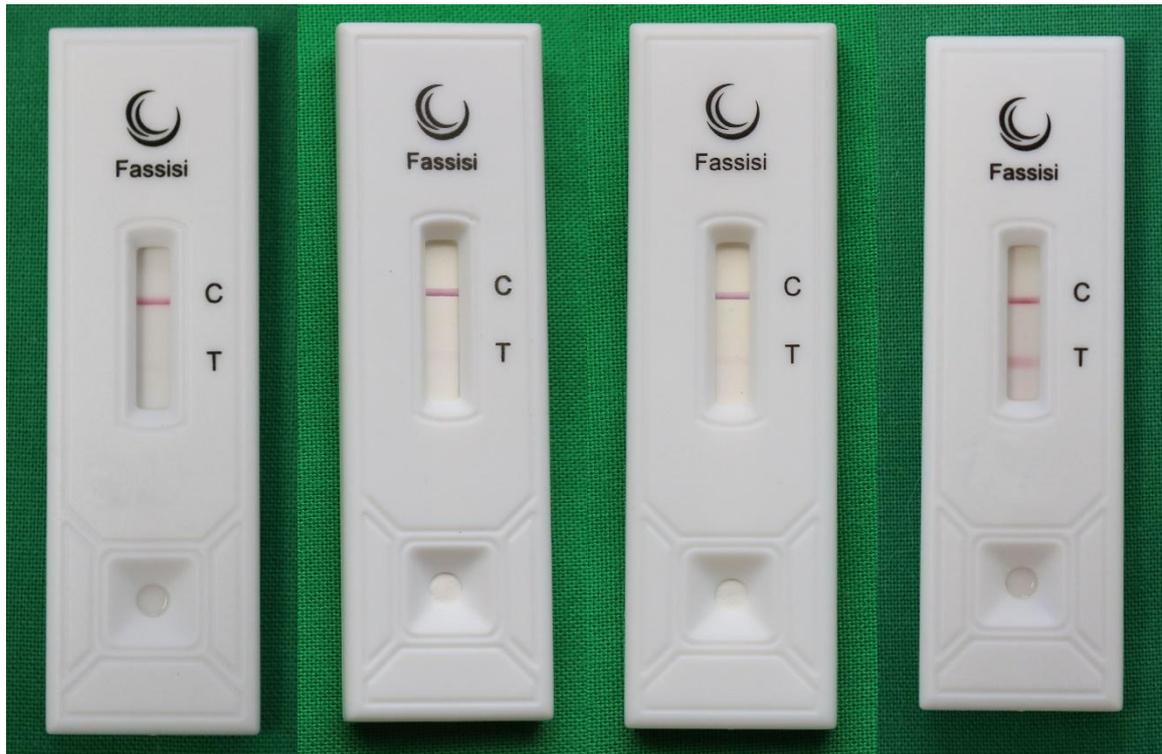
3.4 Immunglobulin G-Messung mittels ELISA

Die Messung der Immunglobulin G-Konzentration erfolgte am Institut für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung in München. Im dortigen Labor stand ein evaluierter Sandwich-ELISA nach Erhard et al. (1995) zur Verfügung. Zu Beginn wurden die Kavitäten der Testplatte mit Kaninchen-anti-Rind-IgG beschichtet. Der Blockierung mit Gelatine folgte die Zugabe des zu prüfenden Kälberserums. Nach Inkubation wurde ein Konjugat aus an Peroxidase gebundenen Kaninchen-anti-Rind-IgG hinzugegeben. Als Substrat wurde Tetramethylbenzidin-Lösung (TMB) zugefügt. Anschließend erfolgte die photometrische Auswertung bei einer Wellenlänge von 450 nm. Die Ergebnisse wurden computergestützt ausgewertet.

3.5 Bestimmung der Immunglobulin G-Konzentration mit Hilfe des Fassisi[®] Bovine IgG Testes

Der Fassisi[®] Bovine IgG Test wird von der Firma Fassisi, Gesellschaft für Veterinardiagnostik und Umweltanalysen mbH in Göttingen hergestellt. Der Test beinhaltet eine Testkassette, eine Pipette und ein Reagenzflaschchen. Für die Durchführung wurden bei Raumtemperatur (18 - 25° C) mit Hilfe der Pipette 30 μl des abzentrifugierten Serums auf das Probenfeld aufgetragen und anschließend mit 90 μl Reagenz vermengt. Durch die Kapillarwirkung lief die Probe die Teststrecke entlang. Nach zehn Minuten mußte der Test abgelesen werden.

Neben einer stets sichtbaren Kontrolllinie (C) wurde bei einer mangelhaften IgG-Versorgung des Kalbes eine zusätzliche Testlinie (T) sichtbar. War diese stark ausgeprägt, so war von einer hochgradigen Unterversorgung des Kalbes mit kolostralen IgG-Antikörpern auszugehen, die zu lebensbedrohlichen Zuständen führen konnte. Eine nicht sichtbare Testlinie sprach für eine erfolgreiche und ausreichende passive Immunisierung und sollte nach Herstellerangaben einer IgG-Konzentration von > 10 mg/ml entsprechen (siehe Abbildungen 1 - 4). Das Kalb wäre somit ausreichend gegen Pathogene geschützt gewesen. Eine schwächere Ausprägung der Testlinie sprach für eine mittelmäßige Versorgung.



Abbildungen 1 - 4: Auswertung des Fassis[®] Bovine IgG Test nach zehn Minuten. Zur Auswertung wurde einer nicht sichtbaren Linie die Nummer 1 (Abb. 1), einer stark sichtbaren Linie die Nummer 3 (Abb. 4) zugeordnet. Die Nummer 2 entspricht Zwischenzuständen (Abb. 2 und 3).

3.5.1 Abhängigkeit des Ergebnisses des Fassis[®] Bovine IgG Testes vom Zeitpunkt des Ablesens

Um einen Einfluß des Zeitraumes zwischen Durchführung des Testes und anschließender Auswertung zu überprüfen, wurden 24 Tests nach 10 Minuten (Herstellerangabe), nach 20 und 30 Minuten abgelesen und ausgewertet.

3.5.2 Bestimmung der IgG-Konzentration mit Hilfe des Fassisi® Bovine IgG Testes mit tiefgefrorenen Serumproben

Im Gegensatz zu der direkten Bestimmung von IgG aus unmittelbar abzentrifugiertem Serum, wurde das zu beprobende Serum von 15 Kälbern hierfür zuvor für mehrere Tage bei -18° C tiefgefroren. Anschließend wurde der Test wie oben beschrieben (siehe Kapitel 3.5) zu einem späteren Zeitpunkt durchgeführt.

3.5.3 Auswertung des Fassisi® Bovine IgG Testes durch unterschiedliche Ableser

Zur Überprüfung, ob das Ablesen des Testergebnisses signifikanten subjektiven Schwankungen unterliegt, wurden zwölf Proben von jeweils sechs, räumlich getrennten Personen unmittelbar hintereinander abgelesen. Zur Vorbereitung wurde den Personen der Test erläutert und als Ablesehilfe die Abbildung der durch die Firma Fassisi® beigelegten Anleitung zur Verfügung gestellt.

3.6 Probandenkollektiv

3.6.1 Tiere

Die Blutproben wurden von insgesamt 292 bis zu zehn Tage alten Kälbern im Zeitraum zwischen Februar 2017 und März 2018 gewonnen.

Ein Teil der Proben wurde in der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Gießen entnommen. Die weiteren Proben stammten aus 16 landwirtschaftlichen Betrieben in Hessen und Thüringen. Mit einem Anteil von 59,6 % gehörten die meisten Kälber der Rasse Deutsch-Holstein Zuchtrichtung Schwarzbunt an (n = 174), gefolgt von den Rassen Deutsch-Holstein Zuchtrichtung Rotbunt mit 8,6 % (n = 25) und Deutsch Fleckvieh mit 8,2 % (n = 24). Limousinkälber stellten einen Anteil von 4,5 % (n = 13), Charolaiskälber einen Anteil von 2,7 % (n = 8). Die Rasse Blonde d'Aquitaine wurde zweimal beprobt (0,7 %). Jeweils nur einmal wurde ein Kalb der Rassen Braunvieh, Deutsch Angus, Fjäll-Rind, Galloway, Hereford und Montbéliard

beprobt (jeweils 0,3 %). Kreuzungskälber bildeten 13,7 % der Probanden ($n = 40$). Es wurden von 157 Bullenkälbern und 135 Kuhkälbern Blutproben entnommen.

3.6.2 Gruppeneinteilung

Die Gesamtgruppe der Kälber wurde im Rahmen der statistischen Auswertung anhand ihres Alters und Gesundheitszustandes in Untergruppen eingeteilt.

3.6.2.1 Alter

Alle Kälber wurden entsprechend ihres Alters zum Zeitpunkt der Probenahme in zwei Gruppen eingeteilt. Die Gruppe eins umfaßte Jungtiere unmittelbar post natum bis hin zu drei Tage alten Kälbern. In der zweiten Gruppe waren Kälber mit einem Alter von vier bis zehn Tagen.

3.6.2.2 Gesundheitszustand

Alle Probanden wurden einer klinischen Untersuchung mittels des segmentalen Untersuchungsganges für Neonaten (Walser und Bostedt, 1990) unterzogen. Anhand der Untersuchungsergebnisse und der erfaßten Anamnese wurden sie in die Gruppen „gesund“ oder „erkrankt“ eingeteilt. Als gesund galten solche Kälber, die zum Untersuchungszeitraum oder davor keine das Allgemeinbefinden beeinflussende Erkrankung aufwiesen. Die Vitalparameter befanden sich bei der Untersuchung im Referenzbereich.

3.7 Statistische Auswertung

Die statistische Evaluierung erfolgte mit Hilfe der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung des Fachbereichs Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen. Zur Anwendung gelangte das Statistikprogrammpaket BMDP/Dynamic, Release 8.1 (Dixon, 1993).

Die Beschreibung der Daten erfolgte anhand einer allgemeinen Datenbeschreibung. Hierzu wurden die Stichprobenumfänge (n), die arithmetischen Mittelwerte (\bar{x}), die Standardabweichungen (SD), die Minima (x_{\min}) und Maxima (x_{\max}) berechnet und

tabellarisch wiedergegeben (Programm BMDP1D). Die Prüfung der Korrelation zwischen der Variablen Immunglobulin G-Konzentration und den Variablen Gammaglutamyltransferaseaktivität, Gesamtproteinkonzentration und der Ergebnisse des Fassisi[®] Bovine Immunglobulin G Tests (Schnelltest) erfolgte entweder anhand der Rangkorrelation nach Spearman (Schnelltest) (Programm BMDP3D) oder des Korrelationskoeffizienten nach Pearson (GGT, Gesamtprotein) (Programm BMDP6D). Die Überprüfung der Abhängigkeit zwischen dem Versorgungsgrad, dem Alter und dem Gesundheitszustand wurde im Rahmen von logistischen Regressionsanalysen (einfache logistische Regression beziehungsweise multiples logistisches Regressionsmodell) unter Verwendung der potentiellen Einflußgrößen Alter und Erkrankung durchgeführt (Programm BMDPLR). Die Ermittlung der Sensitivität und der Spezifität der einzelnen Testverfahren erfolgte mittels Auszählung und Darstellung als Vierfeldertafel (Programm BMDP4F). Der Einfluß der Parameter Alter und Gesundheitszustand auf das Ergebnis des Schnelltestes wurden außerdem mit einer dreidimensionalen Häufigkeitsauszählung untersucht (Programm BMDP4F).

In den Auswertungen wurden die IgG-Werte logarithmisch transformiert, weil die statistische Verteilung der Originalwerte eine deutliche rechtsschiefe Form aufwies, auch linkssteile Verteilung genannt. Zur Überprüfung der Korrelation zwischen Gesamtprotein- und IgG-Konzentration wurde dies nicht durchgeführt. Im Schrifttum findet sich die Logarithmierung nur bei einzelnen Autoren, so daß andernfalls ein Vergleich erschwert worden wäre. Des weiteren kamen der exakte Wilcoxon-Mann-Whitney Test sowie der exakte Friedman-Test zum Einsatz, um die Beeinflussung des Testergebnisses durch verschiedene Störgrößen (Tiefgefrieren, Ablesezeitpunkt, ablesende Person) näher zu analysieren. Bei der Auswertung der statistischen Testverfahren wurde das Signifikanzniveau mit $\alpha = 0,05$ festgelegt.

4 Ergebnisse

4.1 Labordiagnostische Parameter

4.1.1 Allgemeine Datenbeschreibung

Im Rahmen der statistischen Auswertung wurden für die erhobenen Meßwerte der unterschiedlichen Untersuchungsmethoden die Stichprobenumfänge (n), die arithmetischen Mittelwerte (\bar{x}), die Standardabweichungen (SD), die Minima (x_{\min}) und Maxima (x_{\max}) sowie die Spannweite der Daten berechnet.

Details zur allgemeinen Datenbeschreibung finden sich in Tabelle 5.

Tabelle 5: Ergebnisse der labordiagnostischen Parameter in Blutproben von Kälbern während der ersten zehn Lebensstage; Einheiten des Fassisi[®] Bovine IgG Tests: 1 = ausreichende Versorgung mit kolostralen Antikörpern, 2 = partieller fehlerhafter passiver Transfer, 3 = fehlerhafter passiver Transfer, *Anzahl der Proben ohne tiefgefrorene Proben.

	Anzahl	Mittelwert (\bar{x})	Standardabweichung (SD)	Minimum (x_{\min})	Maximum (x_{\max})	Spannweite
Gesamtprotein (g/l)	292	5,10	0,83	2,7	8,3	5,6
GGT-Aktivität (IE/l)	292	209,38	313,61	3,0	2310	2307
IgG (ELISA) (mg/ml)	292	8,30	6,90	0,10	47,50	47,4
Fassisi[®] Bovine IgG Test	277*	1,91	0,91	1	3	2

4.1.2 Korrelation zwischen der Immunglobulin G-Konzentration und anderen labordiagnostischen Parametern

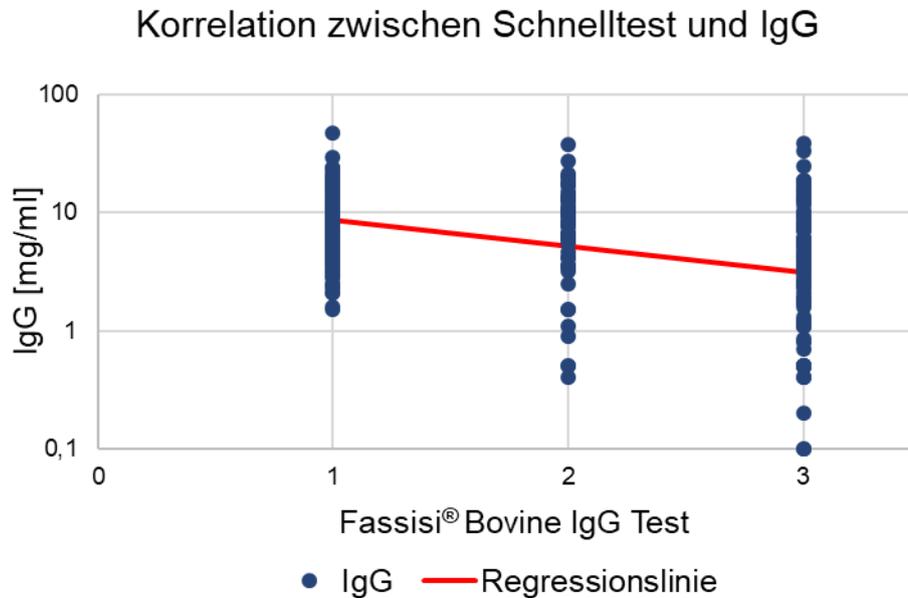
Die Ergebnisse der IgG-Messungen wurden mittels Korrelationsanalyse jeweils mit der Gesamtproteinmessung, der Aktivität der Gammaglutamyltransferase und den Ergebnissen des Schnelltestes auf ihre Abhängigkeit hin untersucht (Tabelle 6).

Tabelle 6: Korrelation der mittels ELISA und indirekter Meßmethoden (Gesamtproteinmessung, Aktivität der Gammaglutamyltransferase, Schnelltest) erhobenen Immunglobulinkonzentration der Blutproben an bis zu zehn Tagen alten Kälbern mit Hilfe der Korrelationsanalysen nach Pearson (Gesamtprotein, GGT) bzw. der Rangkorrelation nach Spearman (Schnelltest).

	Anzahl Kälber	Korrelationskoeffizient	p-Werte
Gesamtprotein vs. IgG	292	0,75	< 0,0001
Ig(GGT)-Aktivität vs. Ig(IgG)	292	0,76	< 0,0001
Fassisi[®] Bovine IgG Test vs. Ig(IgG)	277	-0,36	< 0,0001

4.1.2.1 Fassisi® Bovine IgG Test (Schnelltest) versus Immunglobulin G

Es bestand eine hochsignifikante positive Korrelation ($p < 0,0001$) zwischen den Ergebnissen des Schnelltestes und dem IgG. Allerdings ist der Rangkorrelationskoeffizient mit $r_s = -0,36$ niedrig (Abbildung 5).



4.1.2.2 Gesamtprotein versus Immunglobulin G

Es bestand eine hochsignifikante positive Korrelation ($p < 0,0001$) zwischen den Ergebnissen der Gesamtproteinbestimmung mittels Refraktometer und dem IgG-Gehalt. Der Korrelationskoeffizient ist mit $r = 0,75$ gut (Abbildung 6).

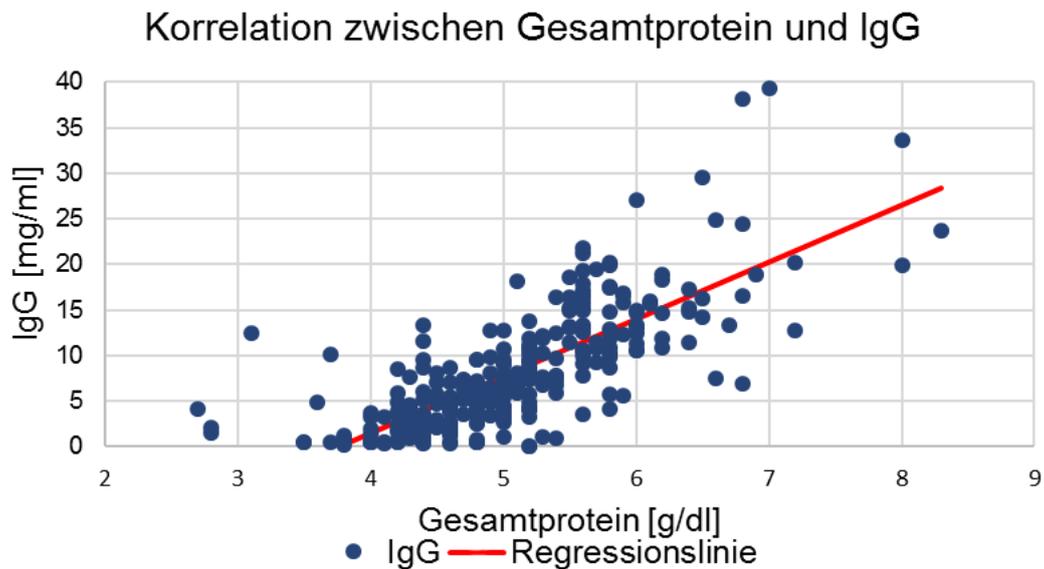


Abbildung 6: Graphische Darstellung der Korrelation zwischen Gesamtprotein und IgG. Die Gleichung der Regressionsgeraden lautet: $Y = -23,559 + 6,2514 \cdot X$.

4.1.2.3 Gammaglutamyltransferaseaktivität versus Immunglobulin G

Es bestand eine hochsignifikante positive Korrelation ($p < 0,0001$) zwischen den Ergebnissen der Ig(GGT)-Messung und dem Ig(IgG). Der Korrelationskoeffizient beträgt $r = 0,76$ (Abbildung 7).

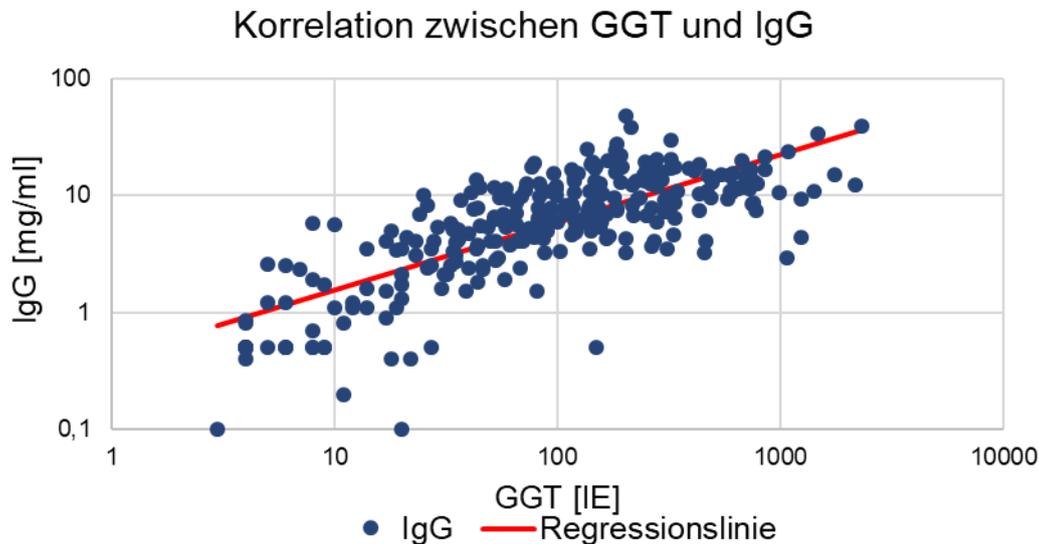


Abbildung 7: Graphische Darstellung der Korrelation zwischen GGT und IgG. Die Gleichung der Regressionsgeraden lautet: $Y = -0,3937 + 0,5796 \cdot X$.

4.1.3 Überprüfung des Zusammenhangs zwischen den Ergebnissen des Schnelltestes und dem Immunglobulin G-Gehalt der Serumproben mit Hilfe der schrittweisen logistischen Regression

Die Ermittlung des statistischen Zusammenhangs zwischen dem Ergebnis des auf zwei Stufen reduzierten Schnelltest (ausreichend versorgt = 1 [Stufe 1] bzw. unversorgt = 0 [Stufen 2 und 3]) und dem Ig(IgG) ergab einen hochsignifikanten Zusammenhang zwischen den beiden Testverfahren (Tabelle 7 und Abbildung 8).

Tabelle 7: Statistische Details zur logistischen Regression zur Überprüfung des Zusammenhangs der Ergebnisse des Schnelltestes und des IgG-Gehaltes in Blutproben von Kälbern während der ersten zehn Lebenstage.

	Koeffizient	Standardfehler	Koeffizient / Standardfehler	Chancenverhältnis) (odds ratio = OR	95 %- Konfidenzintervall	
					Unterer Grenzwert	Oberer Grenzwert
lg(IgG)	1,839	0,339	5,42	6,29	3,22	12,3

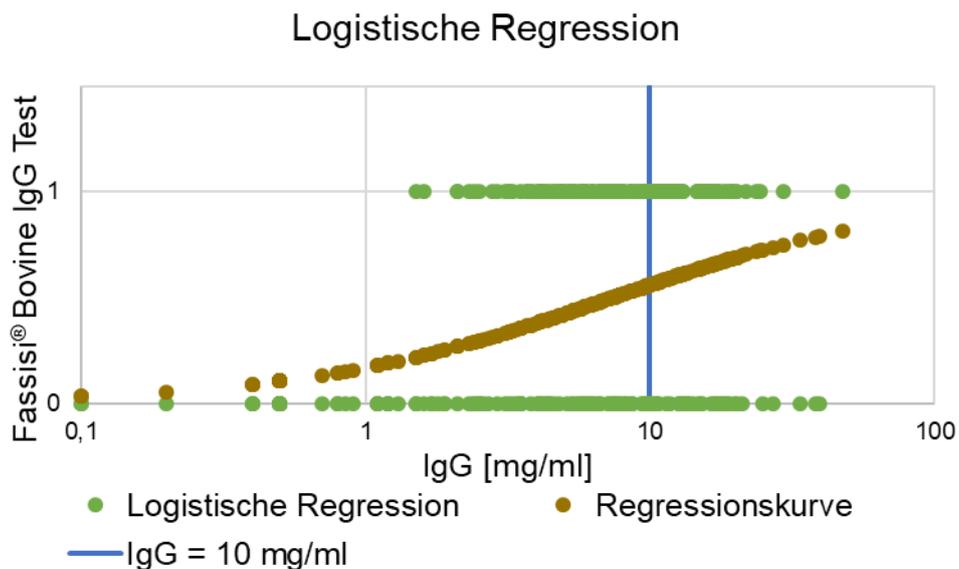


Abbildung 8: Darstellung der logistischen Regression inklusive Regressionskurve zwischen der IgG-Konzentration und dem Schnelltest. Die vertikale Linie markiert einen Immunglobulingehalt im Serum von 10 mg/ml (ausreichende Versorgung). Die Gleichung der Regressionskurve ist:

$$Y = P(\text{Schnelltest} = 1) = \frac{e^{-1,600 + 1,839 \cdot \lg(\text{IgG})}}{1 + e^{-1,600 + 1,839 \cdot \lg(\text{IgG})}}$$

4.1.4 Analyse in der Vierfeldertafel

4.1.4.1 Fassisi® Bovine IgG Test (Schnelltest) versus Immunglobulin G

Bei 277 der 292 Kälbern wurde die Immunglobulin G-Konzentration mit dem Schnelltest im frischen Serum bestimmt. Die Ergebnisse eines partiellen fehlerhaften passiven Transfers (pFPT) und des fehlerhaften passiven Transfers (FPT) wurden als eine Gruppe zusammengefaßt und den optimal versorgten Kälbern gegenübergestellt. Es wurden die Sensitivität und die Spezifität ermittelt (Tabelle 8). Eine Unterversorgung lag bei IgG-Konzentrationen < 10 mg/ml vor, Werte ≥ 10 mg/ml sollten zu einem negativen Testergebnis im Sinne einer ausreichenden Versorgung führen. Die individuellen Ergebnisse finden sich im Anhang (Tabelle 15).

Tabelle 8: Vierfeldertafel des Schnelltestes und einer mittels ELISA diagnostizierten Hypogammaglobulinämie bei der Untersuchung von Blutproben an bis zu zehn Tage alten Kälbern; pFPT = partieller fehlerhafter passiver Transfer, FPT = fehlerhafter passiver Transfer, IgG < 10 mg/ml = Hypogammaglobulinämie; IgG ≥ 10 mg/ml = ausreichende Versorgung mit kolostralen Antikörpern, n = absolute Anzahl, % = relative Anzahl.

	Fassisi® Bovine IgG Test		
IgG (ELISA)	optimal versorgt (n / %)	pFPT/FPT (n / %)	Summe (n / %)
< 10 mg/ml	72 / 38,9 falsch negativ	113 / 61,1 richtig positiv (Sensitivität)	185 / 100
≥ 10 mg/ml	54 / 58,7 richtig negativ (Spezifität)	38 / 41,3 falsch positiv	92 / 100
Summe	126 / 45,5	151 / 54,5	277 / 100

4.1.4.2 Gesamtprotein versus Immunglobulin G

Bei 292 Kälbern wurde das Gesamtprotein mit zuvor kryokonserviertem, aufgetautem Serum bestimmt. Kranke Kälber wurden bei einem Gesamtprotein $< 5,5$ g/dl, gesunde bei einem Wert $< 5,2$ g/dl als unzureichend passiv immunisiert eingestuft. Es wurden die Sensitivität und die Spezifität ermittelt (Tabelle 9 und 10).

Die individuellen Ergebnisse finden sich im Anhang (Tabelle 15).

Tabelle 9: Gesamtpopulation: Vierfeldertafel des Gesamtproteins und einer mittels ELISA diagnostizierten Hypogammaglobulinämie bei der Untersuchung von Blutproben an bis zu zehn Tage alten Kälbern; pFPT = partieller fehlerhafter passiver Transfer, FPT = fehlerhafter passiver Transfer, IgG < 10 mg/ml = Hypogammaglobulinämie; IgG ≥ 10 mg/ml = ausreichende Versorgung mit kolostralen Antikörpern, n = absolute Anzahl, % = relative Anzahl.

	Gesamtprotein		
IgG (ELISA)	optimal versorgt (n / %)	FPT (n / %)	Summe (n / %)
< 10 mg/ml	32 / 16,2 falsch negativ	165 / 83,8 richtig positiv (Sensitivität)	197 / 100
≥ 10 mg/ml	86 / 90,5 richtig negativ (Spezifität)	9 / 9,5 falsch positiv	95 / 100
Summe	118 / 40,4	174 / 59,6	292 / 100

Tabelle 10: Vergleich der Ergebnisse der Gesamtproteinbestimmung zwischen gesunden und erkrankten Kälbern: Vierfeldertafel des Gesamtproteins und einer mittels ELISA diagnostizierten Hypogammaglobulinämie bei der Untersuchung von Blutproben an bis zu zehn Tage alten Kälbern; pFPT = partieller fehlerhafter passiver Transfer, FPT = fehlerhafter passiver Transfer, IgG < 10 mg/ml = Hypogammaglobulinämie; IgG ≥ 10 mg/ml = ausreichende Versorgung mit kolostralen Antikörpern, n = absolute Anzahl, % = relative Anzahl.

	IgG (ELISA)	Gesamtprotein		
		optimal versorgt (n / %)	pFPT/FPT (n / %)	Summe (n / %)
gesunde Kälber (Grenzwert 5,2 g/dl)	< 10 mg/ml	27 / 19,1	114 / 80,9	141 / 100
	≥ 10 mg/ml	72 / 94,7	4 / 5,3	76 / 100
	Summe	99 / 45,6	118 / 54,4	217 / 100
erkrankte Kälber (Grenzwert 5,5 g/dl)	< 10 mg/ml	5 / 8,9	51 / 91,1	56 / 100
	≥ 10 mg/ml	14 / 73,7	5 / 26,3	19 / 100
	Summe	19 / 25,3	56 / 74,7	75 / 100

4.1.4.3 Gammaglutamyltransferaseaktivität versus Immunglobulin G

Bei 292 Kälbern wurde die GGT-Aktivität mit aufgetautem Serum bestimmt. Folgende Enzymaktivitäten mußten zu dem angegebenen Lebensalter für eine ausreichende passive Immunisierung überschritten sein: Erster Lebenstag > 200 IE/l; zweiter bis vierter Lebenstag > 100 IE/l; fünfter bis siebter Lebenstag > 75 IE/l; achter bis zehnter Lebenstag > 50 IE/l. Es wurden die Sensitivität und die Spezifität ermittelt (Tabelle 11).

Die individuellen Ergebnisse finden sich im Anhang (Tabelle 15).

Tabelle 11: Vierfeldertafel der GGT-Aktivität und einer mittels ELISA diagnostizierten Hypogammaglobulinämie bei der Untersuchung von Blutproben an bis zu zehn Tage alten Kälbern; pFPT = partieller fehlerhafter passiver Transfer, FPT = fehlerhafter passiver Transfer, IgG < 10 mg/ml = Hypogammaglobulinämie; IgG ≥ 10 mg/ml = ausreichende Versorgung mit kolostralen Antikörpern, n = absolute Anzahl, % = relative Anzahl.

	Gammaglutamyltransferase		
IgG (ELISA)	optimal versorgt (n / %)	FPT (n / %)	Summe (n / %)
< 10 mg/ml	73 / 37,1 falsch negativ	124 / 62,9 richtig positiv (Sensitivität)	197 / 100
≥ 10 mg/ml	83 / 87,4 richtig negativ (Spezifität)	12 / 12,6 falsch positiv	95 / 100
Summe	156 / 53,4	136 / 46,6	292 / 100

4.2 Einfluß verschiedener Parameter auf das Ergebnis des Schnelltestes

4.2.1 Alter und Gesundheitszustand

Zur Beurteilung möglicher Einflüsse des Alters und des Gesundheitszustandes auf das Ergebnis des Schnelltestes, wurde eine multiple logistische Regressionsanalyse durchgeführt. Hierbei konnte für das Alter ein statistisch signifikanter Einfluß ($p < 0,0001$) ermittelt werden. Der Einfluß des Gesundheitszustandes war statistisch nicht signifikant ($p = 0,98$).

Daraus folgt, daß ältere Tiere vom Schnelltest häufiger als optimal versorgt eingestuft werden, unabhängig, ob dies mit Hilfe eines ELISAs bestätigt werden kann. Mit jedem weiteren Lebenstag steigt die Chance als optimal versorgt eingestuft zu werden um den Faktor 1,22 (odds ratio).

Des weiteren wurden vier Untergruppen gebildet: Alter ≤ 3 Tage, Alter ≥ 4 Tage; gesund/erkrankt. Hierbei sank der Anteil der als richtig unterversorgt detektierten gesunden Kälber (Sensitivität) von 79,7 % auf 38,6 % zwischen den Gruppen mit

einem Alter von bis zu drei Tagen und bei den zwischen vier und zehn Tagen alten Jungtieren. Bei den zum Untersuchungszeitpunkt erkrankten Tieren fällt der korrekt unterversorgt klassifizierte Anteil (Sensitivität) von 83,3 % (Alter \leq 3 Tage) auf 53,8 % (Alter $>$ 4 Tage). Im gleichen Zeitraum steigt die Spezifität von 48,4 % auf 61,9 % bei den gesunden, respektive von 66,7 % auf 71,4 % bei den erkrankten Kälbern. Die tabellarische Darstellung der Ergebnisse findet sich in Tabelle 12.

Tabelle 12: Vergleich der Klassifizierung zwischen Schnelltest und ELISA der Kälber sortiert nach Alter und Gesundheitszustand; pFPT = partieller fehlerhafter passiver Transfer, FPT = fehlerhafter passiver Transfer, IgG $<$ 10 mg/ml = Hypogammaglobulinämie; IgG \geq 10 mg/ml = ausreichende Versorgung mit kolostralen Antikörpern, n = absolute Anzahl, % = relative Anzahl.

	IgG (ELISA)	Fassisi [®] Bovine IgG Test		
		optimal versorgt (n / %)	pFPT/FPT (n / %)	Summe (n / %)
Alter \leq 3 Tage, gesund	$<$ 10 mg/ml	12 / 20,3	47 / 79,7	59 / 100
	\geq 10 mg/ml	15 / 48,4	16 / 51,6	31 / 100
	Summe	27 / 30	63 / 70,0	90 / 100
Alter \leq 3 Tage, erkrankt	$<$ 10 mg/ml	5 / 16,7	25 / 83,3	30 / 100
	\geq 10 mg/ml	8 / 66,7	4 / 33,3	12 / 100
	Summe	13 / 31,0	29 / 69,0	42 / 100
Alter \geq 4 Tage, gesund	$<$ 10 mg/ml	43 / 61,4	27 / 38,6	70 / 100
	\geq 10 mg/ml	26 / 61,9	16 / 38,1	42 / 100
	Summe	69 / 61,6	43 / 38,4	112 / 100
Alter \geq 4 Tage, erkrankt	$<$ 10 mg/ml	12 / 46,2	14 / 53,8	26 / 100
	\geq 10 mg/ml	5 / 71,4	2 / 28,6	7 / 100
	Summe	17 / 51,5	16 / 48,5	33 / 100

4.2.2 Kryokonservierung

Um den Einfluß des Tiefgefrierens zu überprüfen, wurden 15 Serumproben tiefgefroren und zu einem späteren Zeitpunkt (ungefähr einen Monat) mit dem Schnelltest untersucht. Wie in den Tabellen 13 und 14 erkenntlich, wurden alle 15 Proben als optimal versorgt eingestuft. Der statistische Vergleich zwischen den frisch beprobten und den kryokonservierten Seren mit Hilfe des exakten Wilcoxon-Mann-Whitney Testes ergab mit $p < 0,0001$ einen statistisch hochsignifikanten Unterschied in der Klassifizierung in die Gruppen der ausreichend beziehungsweise mangelhaft passiv immunisierten Tiere. Dies bedeutet, daß die tiefgefrorenen Proben statistisch signifikant zu gut versorgt eingestuft werden. Dies läßt den Schluß zu, daß der Schnelltest auf tiefgefrorene Proben nicht anwendbar ist.

Tabelle 13: Vergleichende Auflistung der Ergebnisse der IgG-Bestimmung mittels ELISA und mit Hilfe des Schnelltestes an 15 bis zu zehn Tagen alten Kälbern; n = absolute Anzahl, % = relative Anzahl, Einheit des Fassisi[®] Bovine IgG Tests: 1 = ausreichende Versorgung mit kolostralen Antikörpern.

Kalb Nr.	ELISA [mg/ml]	Fassisi [®] Bovine IgG Test
122	6,3	1
123	13,1	1
124	12,1	1
125	5,8	1
126	7,8	1
127	5,3	1
128	6,6	1
129	3,3	1
130	3,1	1
131	3,8	1
132	7,4	1
133	10,5	1
134	2,9	1
135	1,6	1
136	5,9	1

Tabelle 14: Auflistung der Anzahl der Schnelltestergebnisse unterschieden nach direkter Untersuchung und Untersuchung nach Tiefgefrieren; pFPT = partieller fehlerhafter passiver Transfer, FPT = fehlerhafter passiver Transfer, (x_{\min}) = Minimum, (x_{\max}) = Maximum, (\bar{x}) = Mittelwert, n = absolute Anzahl, % = relative Anzahl.

	Fassisi® Bovine IgG Test				IgG [mg/ml]		
	optimal versorgt (n / %)	pFPT (n / %)	FPT (n / %)	Summe (n / %)	(x_{\min})	(x_{\max})	(\bar{x})
Frischunter- suchung	126 / 45,5	49 / 17,7	102 / 36,8	277 / 100	0,1	47,5	8,40
Tiefgefrier- probe	15 / 100	0 / 0	0 / 0	15 / 100	1,6	13,1	6,37
Summe	141 / 48,3	49 / 16,8	102 / 34,9				

4.2.3 Zeitpunkt des Ablesens

Zur Klärung der Frage, inwiefern über die Zeit signifikante Abweichungen bei der Beurteilung des Schnelltestergebnisses auftreten, wurde die exakte Variante des Friedman-Testes durchgeführt. Die in diese Auswertung einbezogenen Probenwerte finden sich in Tabelle 16 im Anhang.

Es ergab sich ein exakter p-Wert von 0,31. Somit konnte kein signifikanter Einfluß des Ablesezeitpunktes auf das Ergebnis des Schnelltestes erkannt werden. Allerdings konnten lediglich bei fünf der 24 Proben abweichende Resultate über die Zeit festgestellt werden (fünf informative Blöcke). Dies bedeutet, daß bei 20,8 % der Ergebnisse Unterschiede über die Zeit auftraten. Eine Aussage hinsichtlich des Einflusses der Ablesezeit ist trotzdem nicht sicher möglich.

4.2.4 Unterschiedliche Ableser

Um zu klären, inwieweit das Ableseergebnis subjektiven Schwankungen bei Ablesung durch unterschiedliche Personen unterliegt, wurde die exakte Variante des Friedman-Testes durchgeführt. Die in diese Auswertung einbezogenen Probenwerte finden sich in Tabelle 17 im Anhang.

Es konnte ein exakter p-Wert von 0,64 ermittelt werden. Somit konnte kein signifikanter Einfluß der ablesenden Person auf das Ergebnis des Schnelltestes erkannt werden. Allerdings lagen zur Auswertung lediglich vier Proben vor, bei denen Abweichungen zwischen den Untersuchern auftraten. Dies bedeutet, daß bei 33,3 % der Ergebnisse Unterschiede abhängig vom Untersucher auftraten. Im Umkehrschluß folgt, daß acht der zwölf geprüften Serumproben von den sechs ablesenden Personen gleich bewertet wurden. Eine Aussage hinsichtlich der subjektiven Wahrnehmung ist daher auf Basis der vorliegenden Daten nicht möglich.

5 Diskussion

5.1 Diskussion der Fragestellung

Die Bedeutung einer rechtzeitigen, ausreichenden Aufnahme von kolostralen Immunglobulinen nach der Geburt beim Kalb für die Krankheitsprävention und spätere Leistungsfähigkeit ist vielfach dargestellt worden (Donovan et al., 1998; Vasseur et al., 2010; Soberon und van Amburgh, 2013; Raboisson et al., 2016).

Obwohl diese Zusammenhänge gut bekannt sind, ist die Hypogammaglobulinämie nach wie vor ein großes Problem (USDA, 2010; Reschke et al., 2017). Im Rahmen der Kontrolle und Überwachung der Kolostrumversorgung von Kälbern spielt die Messung der IgG-Konzentration im Serum eine große Rolle. Durch die frühzeitige Aufdeckung eines fehlerhaften passiven Transfers beim Einzeltier ließe sich dieser unter Umständen noch ausgleichen und dem Risiko einer negativen Folge entgegenwirken. Zusätzlich ermöglichen Messungen auf Herdenebene einen Überblick über das generelle Kolostrummanagement innerhalb eines Betriebes. Möglicherweise vorhandene, grundlegende Probleme in der IgG-Versorgung können erkannt werden und können Anlaß zur Überprüfung der Versorgung mit Kolostrum sein, um in der Folge die allgemeine Kälbergesundheit und das Tierwohl zu verbessern.

Ziel dieser Studie ist es, die Aussagekraft eines semiquantitativen Schnelltests (Fassisi® Bovine IgG Test) zur IgG-Bestimmung beim Kalb im Blut hinsichtlich seiner Sensitivität und Spezifität zur Erkennung einer Hypogammaglobulinämie zu analysieren, und Einflußfaktoren auf die Sensitivität und Spezifität zu untersuchen. Des weiteren werden die etablierten indirekten Methoden zur IgG-Messung (Gesamtproteinmessung mit Refraktometer im Serum, Messung der Aktivität der Gammaglutamyltransferase im Serum) im Vergleich zu einem Goldstandard (ELISA) bewertet. Ziel ist es, die derzeit sicherste Schnellmeßmethode zur Abschätzung der IgG-Versorgung von Kälbern zu identifizieren.

5.2 Diskussion der Methode

Um subjektive Faktoren im Rahmen der vorliegenden Arbeit zu vermeiden, erfolgten die Entnahme und Aufbereitung der Blutproben von der gleichen Person. Diese Handhabung wurde ebenfalls bei der Durchführung, dem Ablesen und der Interpretation des Schnelltestes und der Refraktometrie des abzentrifugierten Kälberserums gewählt. Für die Auswertung zur Untersuchung der Abhängigkeit des Ableseergebnisses von der ablesenden Person (siehe 3.5.3) wurde der Test zusätzlich durch weitere Personen bewertet.

Die Messung der Aktivität der Gammaglutamyltransferase erfolgte im Labor der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Gießen durch immer dieselbe Person. Diese war bereits seit Jahren mit der Durchführung dieses Testes vertraut.

Die Immunglobulin G-Konzentrationsmessung wurde am Institut für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung in München durchgeführt. Im dortigen Labor steht ein evaluierter Sandwich-ELISA nach Erhard et al. (1995) zur Verfügung. Es handelt sich bei allen Labormethoden um etablierte Tests, die durch Fachpersonal durchgeführt wurden. Die statistische Evaluierung erfolgte mit Hilfe der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung des Fachbereichs Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Im Gegensatz zu den anderen Meßmethoden ist beim Schnelltest das negative Vorzeichen des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman auffällig. Ursächlich hierfür ist die Zuordnung der Ziffern 1 bis 3 für die Ergebnisse. Einer stark sichtbaren Linie des Schnelltestes (IgG-Gehalt < 5 mg/ml) wurde die 3, einer nicht sichtbaren Linie (IgG-Gehalt > 10 mg/ml) die Nummer 1 zugeordnet. Die Nummer 2 entspricht Zwischenzuständen mit einer schwachen Testlinie (IgG-Gehalt 5 - 10 mg/ml). Dies bedingt statt einer ansteigenden Regressionslinie, eine abfallende Gerade und führt zu einem negativen Vorzeichen.

Für die Durchführung des Schnelltestes eignen sich nach Angaben des Herstellers Serum, Plasma und Vollblutüberstand. Der Test wurde immer mit abzentrifugiertem Serum, spätestens drei Stunden nach Blutentnahme, durchgeführt. Da die Messungen der GGT-Aktivität, der Gesamtproteinkonzentration mittels Refraktometrie und der IgG-Konzentration durch einen ELISA gesammelt zu einem späteren Zeitpunkt erfolgten, wurden die Proben nach der Messung kryokonserviert. Bei der Messung von aufgetauten, kryokonservierten Proben handelt es sich um in

der Literatur beschriebene Verfahren, die seit Jahren in der Praxis etabliert sind (Perino et al., 1993; Tyler et al., 1999 a; Werner, 2003; Bender, 2004; Weingand, 2015; Buczinski et al., 2018).

5.3 Diskussion der Ergebnisse

5.3.1 Zusammenhang zwischen IgG-Konzentration und dem Schnelltestergebnis

Der Schnelltest ist als kompetitiver Immunassay konzipiert, der aufgrund seines einfachen Aufbaus und Handhabung eine simple Durchführung auch durch den medizinischen Laien vor Ort ermöglicht. Dies soll eine schnelle, laborunabhängige IgG-Messung im Kälberblut ermöglichen.

Es bestand eine hochsignifikante positive Korrelation ($p < 0,0001$) zwischen den Ergebnissen des Schnelltestes und dem mittels ELISA ermittelten Ig(IgG). Allerdings ist der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman mit $r_s = -0,36$ niedrig. Er lag unterhalb der Korrelationskoeffizienten von GGT-Aktivität zu Ig(IgG) von $r = 0,76$ und von Gesamtprotein zu IgG von $r = 0,75$.

Diese Problematik zeigte sich insbesondere in den Ergebnissen zur Sensitivität und Spezifität. Zur Ermittlung einer Unterversorgung mit kolostralen Antikörpern wurde, wie vom Hersteller angegeben und in der Literatur empfohlen, ein Grenzwert von ≤ 10 mg/ml IgG festgelegt. Es wurde angenommen, daß der Test bei einer IgG-Konzentration von ≤ 10 mg/ml positiv ausfällt und bei einer Konzentration > 10 mg/ml negativ ist.

Für die Diagnostik eines fehlerhaften passiven Transfers ergab sich für alle Kälber eine Sensitivität von 61,1 % ($n = 113$) und eine Spezifität von 58,7 % ($n = 54$). Demnach wurden 110 von 277 überprüften Kälbern durch den Schnelltest falsch klassifiziert (39,7 %). Bei separater Betrachtung der Alterklassen werden bei den bis zu drei Tage alten Kälbern 72,0 % und bei den vier bis zehn Tage alten Kälbern 49,7 % richtig klassifiziert.

Im Gegensatz zu den vorliegenden Ergebnissen stehen die Daten, die durch den Hersteller in der Gebrauchsanweisung angegeben worden sind. In einer Teststudie 2014 an der Universität Göttingen konnte eine Sensitivität von 97,7 % und eine Spezifität von 92,4 % ermittelt werden. In einer Untersuchung durch die „ID Ringbox IgG“ wurden Werte von 99,9 % bzw. 93,2 % erreicht. Ein negatives Testergebnis sprach für eine ausreichende Versorgung des Kalbes. Leider liegen keine weiteren Angaben zu diesen beiden Studien vor, so daß diese nicht bezogen werden konnten. Da der Schnelltest eine direkte Bestimmung der IgG-Konzentration im Blut durchführt, sollte das Ergebnis unabhängig vom Alter und dem Erkrankungs- bzw. Hydrationszustand mit dem Ergebnis der ELISA IgG-Bestimmung übereinstimmen. In der statistischen Auswertung ergab sich kein statistisch signifikanter Einfluß des Gesundheitszustandes ($p = 0,98$). Es zeigt sich ein klarer Vorteil im Vergleich zur Messung des Gesamtproteins, welches aufgrund Veränderungen der Blutzusammensetzung bei Erkrankungen beeinflusst wird. Im Verlauf einer Erkrankung kann die Gesamtproteinkonzentration sowohl steigen (Hämokonzentration infolge einer Exsikkose) (Steffen et al., 1997) als auch fallen (verstärkter Proteinverlust über den Darm, Maldigestion und -absorption bei Diarrhoe, reduzierte Futteraufnahme) (Fischer und Butte, 1974; Steffen et al., 1997) und spiegelt so nicht zwingend die IgG-Serumkonzentration wieder.

Zur Ermittlung des Einflusses des Alters wurden die Probanden entsprechend ihres Alters zum Zeitpunkt der Probenahme in zwei Gruppen eingeteilt. Die Gruppe 1 umfaßte Neonaten unmittelbar post natum bis zum dritten Lebenstag. Die zweite Gruppe setzte sich aus Kälbern vom vierten bis zum zehnten Lebenstag zusammen. Es konnte ein statistisch signifikanter Einfluß des Alters auf das Ergebnis des Schnelltestes ermittelt werden. Unabhängig von der tatsächlichen IgG-Konzentration stieg mit jedem weiteren Lebenstag die Wahrscheinlichkeit für eine Einstufung als ausreichend versorgt um den Faktor 1,22.

In den Untergruppen konnte der Einfluß des Alters entsprechend nachvollzogen werden. Mit zunehmendem Alter klassifizierte der Schnelltest zu viele Kälber als ausreichend versorgt, obwohl dies nicht der Fall war.

In der Gruppe der bis zu drei Tage alten Kälber, waren zahlreiche Tiere, die zum Probenahmezeitraum noch keine Biestmilch aufgenommen hatten und

dementsprechend niedrige Immunglobulinkonzentrationen im Serum aufwiesen. Viele dieser hochgradig unterversorgten Kälber wurden durch den Schnelltest als solche erkannt. Bei den älteren Probanden mit FPT waren die IgG-Serumkonzentrationen bereits angestiegen. Sie befanden sich zwar noch im Bereich < 10 mg/ml allerdings näher im Grenzbereich zu den ausreichend versorgten Jungtieren. Die Gefahr einer Fehlklassifizierung stieg.

Die meisten bisher beschriebenen indirekten und direkten Methoden sind sowohl mit frischem als auch mit zuvor tiefgefrorenen Serumproben durchgeführt und etabliert worden. Da zu dem Schnelltest diesbezüglich keine Daten vorlagen, wurde der Einfluß der Kryokonservierung auf das Ergebnis untersucht.

Der statistische Vergleich zwischen den frisch beprobten und den kryokonservierten Seren mit Hilfe des exakten Wilcoxon-Mann-Whitney Testes ergab einen statistisch hochsignifikanten Unterschied in der Klassifizierung in die Gruppen der ausreichend beziehungsweise mangelhaft passiv immunisierten Tiere. Die tiefgefrorenen Proben hatten in einer Überprüfung mittels ELISA eine mittlere IgG-Konzentration von 6,37 mg/ml mit einer Spanne von 1,6 bis 13,1 mg/ml. Dennoch wurden alle 15 Kälber durch den Schnelltest als ausreichend versorgt bewertet. Dies läßt den Schluß zu, daß der Schnelltest auf tiefgefrorene Proben nicht anwendbar ist.

Generell besteht bei jeder Proteinverbindung die Möglichkeit, daß sie aufgrund zunehmenden Alters, durch Enzyme oder durch äußere Einwirkung (Hitze, Kälte, Strahlung) zerfällt oder in ihrer Struktur modifiziert wird. Abhängig ist dies unter anderem von ihrer Größe und den Vernetzungen innerhalb des Proteins. Diese Problematik besteht ebenfalls bei IgG-Antikörpern (Elfstrand et. al., 2002). Bei der Bestimmung der Immunglobulinkonzentration im Serum bindet ein Antikörper (des ELISAs) an eine bestimmte Stelle des IgG-Proteins. Wird beim Tiefgefrieren diese Bindungsstelle teilweise oder vollständig zerstört beziehungsweise in ihrer Struktur verändert, kann dies zwei gegensätzliche Konsequenzen haben. Die erste Möglichkeit besteht darin, daß die ELISA-Antikörper keine passende Anheftungsstelle am Immunglobulin G-Protein (Antigen) erkennen. Folglich wird dieses Antigen nicht erfaßt. Für das Kalb werden fälschlicherweise zu niedrige Immunglobulinspiegel angenommen. Andererseits können Veränderungen an den Immunglobulinen dazu führen, daß mehrere Antikörper des ELISAs an die IgG-Reste

binden. Ein einzelner Antikörper wird daher mehrfach erkannt. Vor diesem Hintergrund, ist insbesondere IgM zu beachten. Aufgrund seiner Struktur als Pentamer aus fünf monomeren, IgG ähnlichen Glykoproteinen, ist seine Stabilität deutlich geringer. Das labile Protein kann durch Einfrier- und Auftauprozesse zerfallen. Die einzelnen Monomere könnten durch den ELISA als IgG gemessen werden, obwohl sie keinen Anteil an der ursprünglichen IgG-Fraktion ausmachen. Für diese Hypothese spricht, daß der Schnelltest zu hohe Werte (Kategorie: ausreichend versorgt) anzeigt.

Neben den grundlegenden Zielen der Studie, bot es sich an, einzelne Aspekte der Handhabung (Ablesezeitpunkt, subjektives Ableseergebnis) des Schnelltestes mit zu untersuchen. Diese Analysen wurden nur an wenigen Seren nach Abschluß der Hauptuntersuchungen durchgeführt. Da sich bereits nach wenigen Proben deutliche Hinweise für die Verwendung ergaben, wurden die Fallzahlen nicht erhöht.

Die Auswertung des Schnelltestes erfolgte nach jeweils zehn Minuten. Der Gebrauchsinformation ist zu entnehmen, daß die Ergebnisse zwingend nach dieser Zeit abgelesen werden müssen, um eine korrekte Aussage zu erhalten. Nach späterem Ablesen, bestünde die Gefahr, „daß schwache Testlinien erscheinen können.“ Dieses konnte zwar statistisch nicht sicher bestätigt werden, weil der statistisch notwendige Probenumfang zu gering war, dennoch traten bei fünf der 24 zusätzlich ausgewerteten Proben (20,8 %) abweichende Resultate über die Zeit hinweg auf. Dies entspricht auch der subjektiven Wahrnehmung des Autors, der dies bei weiteren Proben beobachten konnte. Die Abweichungen zeigten bei vier der fünf Proben eine schwach sichtbare Testlinie, die zuvor nicht sichtbar war. Dies stimmt bei dreien auch mit dem Ergebnis des ELISA überein, der diese Kälberproben mit einem FPT klassifizierte. Das Ergebnis wechselte von falsch negativ auf richtig positiv. Eine der Serumproben stammte von einem ausreichend versorgten Kalb. Hier wechselte das Resultat von richtig negativ zu falsch positiv. Bei einer Probe zeigte der Test ein Verblässen der Linie, obwohl ein FPT vorlag. Da insbesondere die Sensitivität des Testes relativ niedrig ausfällt, könnte eine Ablesung nach einer längeren Inkubationsdauer die Sensitivität möglicherweise erhöhen. Zur Überprüfung dieser Hypothese ist ein höherer Probenumfang notwendig.

Sämtliche Testmethoden, deren Ergebnis nicht auf einer Skala oder vergleichbar objektiv abgelesen werden kann, unterliegen in der Regel subjektiven Schwankungen. Obwohl mit Hilfe des exakten Friedman-Testes kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den sechs ablesenden Personen festgestellt werden konnte, traten bei vier der zwölf Proben (33,3 %) unterschiedliche Ergebnisse auf. Insbesondere in Grenzbereichen (schwache Linie/keine Linie) kam es zu einer unterschiedlichen Einteilung. Für eine statistisch signifikante Divergenz der Ergebnisse müssen deutlich höhere Probenzahlen durch unterschiedliche Ableser überprüft und klassifiziert werden, es zeigte sich jedoch schon bei der geringen Probenzahl, daß subjektive Unterschiede in der Beurteilung des Testergebnisses auftreten.

Ein ähnlich aufgebauter Schnelltest zur schnellen Bestimmung von bovinen IgG im Blut ist in den Vereinigten Staaten bereits seit längerer Zeit kommerziell erhältlich. Es handelt sich ebenfalls um einen semiquantitativen ELISA (Quick Test Calf IgG Kit, Midland Bio-Products Corporation, Boone, Iowa, USA), der angibt, ob ein Grenzwert von 10 mg/ml IgG im Vollblut oder im Plasma überschritten wird.

Eine wissenschaftliche Überprüfung des Testes fand durch zwei Arbeitsgruppen im Jahre 2002 statt.

McVicker et al. (2002) setzten den Schnelltest bei 204 Bullenkälbern im Alter von vier bis acht Tagen ein. Als Referenzmethode stand ihnen die TIA zur Verfügung, mit der sie eine mittlere IgG-Konzentration von 10,9 mg/ml (0,84 - 33,2 mg/ml) feststellten. 56 % der beprobten Kälber hatten nachweislich einen fehlerhaften passiven Transfer an kolostralen Antikörpern. Nach der Blutentnahme fand die Zentrifugation innerhalb von sechs Stunden statt. Das Serum wurde bei -20° C gefroren und die Auswertung fand zu einem späteren Zeitpunkt mit Hilfe der TIA und des Schnelltestes statt. Für die Durchführung des Schnelltestes wurden 200 µl Serum mit einer Pufferlösung vermischt und anschließend einige Tropfen auf das Testfeld gegeben. Eine Ablesung folgte nach zehn Minuten. Sie ermittelten im Vergleich zur IgG-Konzentration eine Sensitivität von 99 % und eine Spezifität von 89 % zur korrekten Bestimmung einer ausreichenden Versorgung mit Antikörpern. Die Genauigkeit betrug 95 %. Lediglich 13 Proben wurden falsch klassifiziert, von denen eine falsch positiv war (Testergebnis positiv, Serum-IgG < 10 mg/ml).

Eine Untersuchung eines möglichen Alters- oder Krankheitseinflusses wurde nicht durchgeführt.

Dawes et al. (2002) überprüften diesen Test mit Unterstützung des Herstellers an 123 Kälbern. Von den 123 Kälbern im Alter von bis zu zwei Wochen konnte der Test bei 119 Tieren ausgewertet werden. Vier Proben waren aufgrund eines Handhabungsfehlers des Schnelltestes nicht auswertbar. Die Referenzmethode bildete die RID. Der Schnelltest wurde unmittelbar nach Blutentnahme gemäß Herstelleranweisung durchgeführt, die Ablesung fand nach 20 Minuten statt. Das Serum für die spätere IgG-Messung wurde bei - 20° C kryokonserviert. Die mittlere IgG-Konzentration betrug 18,16 mg/ml (\pm 6,8 mg/ml). 14 % der beprobten Kälber hatten nachweislich eine mangelhafte Antikörperversorgung. Für die Erkennung eines FPT konnte eine Sensitivität von 93 % und eine Spezifität von 88 % berechnet werden. Mögliche Einflüsse einer Erkrankung oder des Alters auf das Ergebnis des Schnelltestes wurden nicht überprüft.

Diese Untersuchungen zeigen, daß ein semiquantitativer ELISA als Schnelltest zur Diagnostik eines FPT beim Kalb auf dem internationalen Markt verfügbar ist. Auch für das Fohlen gibt es einen semiquantitativen Schnelltest zur Bestimmung der Immunglobulinversorgung, der in Studien eine sehr gute Sensitivität und Spezifität aufwies (Pusterla et al., 2002; Unterstab, 2016).

Ein direkter Vergleich mit dem hier vorliegenden Test ist grundsätzlich möglich, allerdings ist über den Aufbau, im speziellen der verwendeten Antikörper, nichts bekannt. Zudem unterscheiden sich die Tests in der Anwendung und dem Zeitpunkt der Ablesung.

5.3.2 Zusammenhang zwischen IgG-Konzentration und weiteren labordiagnostischen Parametern

Die Zusammenhänge zwischen der IgG-Konzentration und der Gesamtprotein-konzentration, der GGT-Aktivität und dem Schnelltest sind statistisch signifikant.

Die Bestimmung der GGT-Aktivität zeigte die höchste Korrelation, gefolgt von der Gesamtproteinbestimmung.

5.3.2.1 Gesamtprotein

Die Korrelation zwischen der IgG-Konzentration und der mit Hilfe der Refraktometrie gemessenen Totalproteinkonzentration betrug $r = 0,75$. Dies stimmt mit den Werten weiterer Studien überein (McBeath et al., 1971: $r = 0,72$; Deelen et al., 2014: $r = 0,93$; Elsohaby et al., 2019: $r = 0,75$).

In der vorliegenden Studie konnte eine Sensitivität zur Erkennung eines FPT von 83,8 % bei einer Spezifität (Ausschluß eines FPT) von 90,5 % ermittelt werden. 86 % der Kälber wurden dabei richtig klassifiziert.

Für die Einteilung wurden zwei unterschiedliche Grenzwerte bei gesunden und erkrankten Kälbern verwendet. Bei gesunden Neonaten wurde ein FPT bei einer Gesamtproteinkonzentration $< 5,2$ g/dl vermutet, bei klinisch erkrankten Kälbern bei einem Testergebnis $< 5,5$ g/dl. Diese Differenz beruht auf der Tatsache, daß bei erkrankten Kälbern die Gesamtproteinkonzentration häufig erhöht ist (Tyler et al., 1999 a; McGuirk und Collin, 2004). Die höheren Gesamtproteinkonzentrationen, die in dieser Gruppe erreicht werden mußten, minimierten die falsch negativen Ergebnisse.

Wurden die beiden Gruppen einzeln betrachtet, wurde bei den Gesunden eine Sensitivität von 80,9 % bei einer Spezifität von 94,7 % erreicht. Bei den erkrankten Tieren betrugen diese 91,1 % beziehungsweise 73,7 %. Richtig klassifiziert wurden somit 85,7 % respektive 86,7 %. Hierdurch wurde insbesondere bei den erkrankten und somit gefährdeten Kälbern eine erhöhte Sicherheit in der Erkennung eines FPT ermöglicht. Eine intensivere Beobachtung sowie therapeutische Maßnahmen waren hierdurch gezielter möglich.

In der Literatur ist eine Unterteilung erkrankt/gesund innerhalb einer Studie mit gemeinsamer Auswertung nicht aufzufinden. Buczinski et al. (2018) konnten in einer systematischen Auswertung von elf Studien für die Ergebnisse der Refraktometrie für den Grenzwert bei 5,2 g/dl eine Sensitivität (Erkennen ausreichend versorgter Kälber) von 76,1 % (63,8 - 85,2 %) und eine Spezifität (Erkennen der unterversorgten Kälber) von 89,3 % (82,3 - 93,7 %) feststellen. Für den Grenzwert bei 5,5 g/dl betrug die Sensitivität 88,2 % (80,2 - 93,3 %) und die Spezifität 77,9 % (74,5 - 81,0 %).

Beim Vergleich zur vorliegenden Studie, sind die unterschiedlichen Definitionen von Sensitivität und Spezifität zu beachten ist.

5.3.2.2 Gammaglutamyltransferase

In der vorliegenden Studie zeigte die Messung der GGT-Aktivität die höchste Korrelation zur IgG-Konzentration mit $r = 0,76$. Die Sensitivität für das Erkennen eines FPT lag bei 62,9 %, die Spezifität betrug 87,4 %, 70,9 % der Kälber wurden richtig klassifiziert.

Ein Maximum der GGT-Aktivität konnten Beyer (1988) und Steffen et al. (1997) zwölf Stunden nach erster Kolostrumaufnahme ermitteln. In den folgenden 24 Stunden fand ein starker Aktivitätsrückgang statt. Die Grenzwerte für eine ausreichende IgG-Konzentration bzw. eines FPT wurden in Altersabhängigkeit des Tieres nach der Einteilung nach Parish et al. (1997) vorgenommen, um den nicht linearen Abfall mit zunehmendem Alter Rechnung zu tragen. Parish et al. (1997) konnten eine Korrelation zwischen dem IgG₁-Gehalt im Serum und der GGT-Aktivität von $r = 0,63$ feststellen. Beachtet werden muß, daß die Bestimmung der GGT-Aktivität im Alter von drei bis zehn Tagen erfolgte und die Messung der IgG-Konzentration mittels RID im Alter von ein bis drei Tagen durchgeführt wurde. Die korrelierenden Datenpaare beruhten auf zeitlich unterschiedlichen Messungen.

Perino et al. (1993) kamen zu einer ähnlichen Korrelation ($r = 0,72$) bei einem Grenzwert von 200 IE/l. Dennoch schwanken die Korrelationen in der Literatur sehr stark. Ein direkter Vergleich mit bisherigen Arbeiten wird dadurch erschwert, daß häufig unterschiedliche Grenzwerte für einen FPT, deutlich variierende Altersklassen der Kälber und unterschiedlich gut mit kolostralen Antikörpern versorgte Jungtiere in die Studien einbezogen wurden.

Aufgrund der variablen Korrelationen werden nur selten Angaben zur Sensitivität und Spezifität des Erkennens eines FPT angegeben. Perino et al. (1993) konnten eine Sensitivität von 80 % bei einer Spezifität von 97 % berechnen.

Das Ergebnis der Studie legt nahe, daß die GGT-Aktivität zwar Rückschlüsse auf die Aufnahme von Kolostrum erlaubt, nicht jedoch auf eine ausreichende passive Immunisierung. Es ist generell eine gute Korrelation zur IgG-Konzentration vorhanden, doch werden zu wenige der unterversorgten Kälber erkannt und zu viele Kälber falsch klassifiziert. Diese Feststellung wird von zahlreichen Autoren geteilt (Braun et al., 1982; Bogin et al., 1993; Werner, 2003; Schlerka und Bucher, 2003).

6 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, einen neuentwickelten Schnelltest auf der Grundlage eines semiquantitativen ELISAs zur Immunglobulin G-Bestimmung im Serum des Kalbes auf seine Sensitivität und Spezifität zur Erkennung einer Hypogammaglobulinämie hin zu überprüfen. Dies erfolgte anhand der Korrelation der Ergebnisse zur Immunglobulin G-Messung mit Hilfe eines laborgebundenen ELISAs als Goldstandard. Potentielle Einflüsse auf das Ergebnis des Schnelltestes wurden untersucht. Diese bestanden einerseits in Faktoren, die von den Proben ausgingen (Alter und Gesundheitszustand des Kalbes zum Zeitpunkt der Beprobung), andererseits in Beeinflussungen durch die Bearbeitung der Proben (Kryokonservierung) und durch den Ableser des Testes (subjektive Einflüsse, Zeitpunkt des Ablesens).

Zusätzlich wurden weitere etablierte indirekte Meßverfahren zur Abschätzung der Immunglobulinversorgung des Kalbes (Gesamtproteinmessung mit Refraktometer im Serum, Messung der Aktivität der Gammaglutamyltransferase im Serum) im Vergleich zu dem Goldstandard überprüft, um die derzeit sicherste Schnellmeßmethode zur Abschätzung der kolostralen Antikörperversorgung beim Kalb zu identifizieren.

Die 292 Serumproben von Kälbern im Alter von null bis zehn Tagen wurden von mehreren landwirtschaftlichen Betrieben in Hessen und Thüringen gewonnen.

In dieser Studie konnten folgende relevanten Ergebnisse gewonnen werden:

- Die Zusammenhänge zwischen dem Ergebnis des ELISAs und des Schnelltestes ($p < 0,0001$; $r = -0,36$), der Gesamtproteinbestimmung im Serum des Kalbes ($p < 0,0001$; $r = 0,75$), der Messung der Aktivität der Gammaglutamyltransferase im Serum des Kalbes ($p < 0,0001$; $r = 0,76$) sind statistisch signifikant.
- Der Schnelltest weist eine schlechte Sensitivität (61,1 %) und Spezifität (58,7 %) in der Erkennung eines fehlerhaft immunisierten Kalbes auf. 39,7 % der Kälber werden falsch klassifiziert.
- Es ergibt sich kein Einfluß des Gesundheitszustandes des Kalbes auf das Ergebnis des Schnelltestes ($p = 0,98$).

- Abhängig vom Alter des Kalbes werden ältere Kälber häufiger als zu gut versorgt erkannt, obwohl dies in der Messung mittels ELISA nicht zutrif. Mit jedem zusätzlichen Lebenstag steigt die Wahrscheinlichkeit für eine Einstufung als ausreichend versorgt um den Faktor 1,22.
- Eine Durchführung des Testes mit zuvor kryokonservierten und aufgetauten Serumproben ist nicht möglich.
- Eine Auswertung des Testes nach einer verlängerten Inkubationszeit führt zu abweichenden Ergebnissen.
- Die Ablesung der Ergebnisse unterliegt subjektiven Schwankungen.
- Die Messung des Serumgesamtproteins weist bei allen Kälbern (gesunde Kälber: FPT bei Gesamtprotein < 5,2 g/dl, kranke Kälber: FPT bei Gesamtprotein < 5,5 g/dl) eine mittlere Sensitivität (83,8 %) und gute Spezifität (90,5 %) in der Erkennung eines fehlerhaft immunisierten Kalbes auf. 86 % der Kälber werden richtig klassifiziert.
- In der Gruppe der gesunden Kälber (FPT bei Gesamtprotein < 5,2 g/dl) wird eine Sensitivität zur Erkennung eines FPT von 80,9 % bei einer Spezifität von 94,7 % erreicht. 85,7 % der Kälber werden richtig klassifiziert.
- In der Gruppe der erkrankten Kälber (FPT bei Gesamtprotein < 5,5 g/dl) wird eine Sensitivität zur Erkennung eines FPT von 91,1 % bei einer Spezifität von 73,7 % erreicht. 86,7 % der Kälber werden richtig klassifiziert.
- Die Messung der Aktivität der Gammaglutamyltransferase im Serum weist eine mäßige Sensitivität (62,9 %) und gute Spezifität (87,4 %) in der Erkennung eines fehlerhaft immunisierten Kalbes auf. 70,9 % der Kälber werden richtig klassifiziert.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß der Schnelltest nicht die erwünschte Lösung zur Kontrolle der passiven Immunisierung beim neugeborenen Kalb ist. Bisher etablierte Schnelltestmethoden, insbesondere die Bestimmung der Serumgesamtproteinkonzentration mit Hilfe der Refraktometrie, zeigen deutlich genauere Ergebnisse in der Erkennung eines FPT und somit eine korrekte Einteilung der Kälber.

7 Summary

The aim of the present study was to evaluate the sensitivity and specificity of a newly developed test for analyzing hypogammaglobulinaemia in the serum of calves. The test is based on semiquantitative ELISA detection of immunoglobulin G. For this purpose the results, compared to those obtained by laboratory-based ELISA as gold standard method, were correlated. Potential effects on the results of the rapid test were investigated, basing on probands (age and general health condition of individuals at sampling time), treatment of samples (cryopreservation) and tester (subjective influences, read-off-time).

Additionally, accepted indirect methods for assessment of immunoglobulin-supply in newborn calves (determination of total serum protein by refractometer, measurement of activity of serum gamma-glutamyl transferase) were performed and results compared to gold standard, in order to identify the currently most reliable rapid test method.

292 serum-samples of calves between 0 and 10 days of age were obtained from probands in several agricultural holdings in Hesse and Thuringia.

Relevant results of the study:

- Correlations between the results of ELISA and commercially available rapid-test ($p < 0.0001$; $r = -0.36$), total serum protein determination ($p < 0.0001$; $r = 0.75$), measurement of activity of serum gamma-glutamyl transferase ($p < 0.0001$; $r = 0.76$) indicate statistical significance.
- The rapid-test demonstrates poor sensitivity (61.1 %) and specificity (58.7 %) in detection of low immunized calves. 39.7 % of probands are misclassified.
- General health condition of calves does not influence the results of the rapid-test ($p = 0.98$).
- Depending on age of probands the rapid-test classifies probands as adequately supplied with immunoglobulins, though results of ELISA show low concentrations. Each consecutive day of life increases the probability of classification as sufficiently supplied by the factor 1.22.
- Testing of previously cryopreserved and thawed serum samples by rapid-test is not possible.

- Evaluation of rapid-test after prolonged incubation period leads to discrepant results.
- The readout of test results is subject to individual fluctuation.
- Measured values of total serum protein show average sensitivity (83.8 %; healthy calves: FPT at values < 5.2 g/dl, ill calves: FPT at values < 5.5 g/dl) and good specificity (90.5 %) concerning detection of low immunized probands. 86 % of probands are classified correctly.
- In healthy calves (FPT at total serum protein < 5.2 g/dl) sensitivity for detection of FPT measures 80.9 %, specificity 94.7 %. 85.7 % of probands are classified correctly.
- In ill calves (FPT at total serum protein < 5.5 g/dl) sensitivity for detection of FPT measures 91.1 %, specificity 73.7 %. 86.7 % of probands are classified correctly.
- Measurement of activity of serum gamma-glutamyl transferase shows moderate sensitivity (62.9 %) and good specificity (87.4 %) concerning detection of low immunized probands. 70.9 % of probands are classified correctly.

As a conclusion, the commercially available rapid-test does not fulfil the requirements for monitoring the passive immunization in newborn calves. Accepted indirect methods for assessment of immunoglobulin-supply in newborn calves, particularly the determination of total serum protein by refractometer, show significant more precise results in the detection of FTP and therefore a correct classification of calves.

8 Literaturverzeichnis

Ameri, M.; Wilkerson, M.J. (2008):

Comparison of two commercial radial immunodiffusion assays for detection of bovine immunoglobulin G in newborn calves.

J. Vet. Diagn. Invest. 20(3), 333-336

Anderson, G.A.; Stott, J.L.; Gershwin, L.J.; Osburn, B.I. (1987):

Identification of bluetongue virus-specific immunoglobulin E in cattle.

J. Gen. Virol. 68, 2509-2514

Bailey, T.L.; Whittier, W.D.; Murphy, J.M.; Schurig, G.G.; Riva, A.L.; Swecker, W.S.; Pelzer, K.D.; Bass, R.T.; Caudell, D.; Eyestone, W. (1998):

Serum immunoglobulin type G concentrations in calves produced by IVF and delivered by elective cesarean section.

Theriogenology 50, 853-860

Baker, D.G.; Gershwin, L.J. (1992):

Seasonal patterns of total and *Ostertagia*-specific IgE in grazing cattle.

Vet. Parasitol. 44, 211-221

Banks, K.L. (1982):

Host defense in the newborn animal.

J. Am. Vet. Med. Assoc. 181, 1053-1056

Barcelos, J. de Avila (1983):

Einfluß der Eutergesundheit auf die GGT-Aktivität in Milch und Blut unter Berücksichtigung physiologischer und klinischer Aspekte.

Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover

Barrington, G.M.; Besser, T.E.; Gay, C.C.; Davis, W.C.; Reeves, J.J.; McFadden, T.B. (1997):

Effect of prolactin on in vitro expression of the bovine mammary immunoglobulin G1 receptor.

J. Dairy Sci. 80(1), 94-100

Basoglu, A.; Camkerten, I.; Servinc, M. (1999):

Serum immunoglobulin G concentration in diarrheic calves and their measurement by single radial immunodiffusion.

Isr. J. Vet. Med. 54, 9-10

Baumrucker, C.R.; Pocius, P.A. (1979):

Glutamyl transpeptidase of bovine milk membranes: Distribution and characterization.

J. Dairy Sci. 62, 253-258

Becht, J.L.; Semrad, S.D. (1985):

Hematology, blood typing, and immunology of the neonatal foal.

Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 1(1), 91-116

Bender, P. (2004):

Bestimmung von Immunglobulin G und Immunglobulin M im Serum neugeborener Kälber während der ersten zehn Lebenstage unter besonderer Berücksichtigung der Darmgesundheit der Probanden sowie im Kolostrum derer Mütter mittels zweier neuartiger ELISAs.

Inaugural-Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen

Bender, P.; Bostedt, H. (2008):

Einfluß der IgG- und IgM-Serumkonzentrationen boviner Neonaten auf die Inzidenz gastroenteraler Erkrankungen während der ersten 10 Lebenstage.

Tierärztl. Praxis 36 (G), 73-83

Bender, P.; Bostedt, H. (2009):

Determination of IgG and IgM levels in sera of newborn calves until the 10th day of life by ELISA and description of their correlation to total plasma protein concentration and GGT activity.

Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. 116(2), 44-52

Besser, T.E.; Garmedia, A.E.; McGuire, T.C.; Gay, C.C. (1985):

Effect of colostral immunoglobulin G₁ and immunoglobulin M concentrations on immunoglobulin absorption in calves.

J. Dairy Sci. 68, 2033-2037

Besser, T.E.; Mc Guire, T.C.; Gay, C.C.; Pritchett, L.C. (1988):

Transfer of functional immunoglobulin G (IgG) antibody into the gastrointestinal tract accounts for IgG clearance in calves.

J. Virol. 62, 2234-2237

Besser, T.E.; Scenzi, O.; Gay, C.C. (1990):

Decreased colostral immunoglobulin absorption in calves with postnatal respiratory acidosis.

J. Am. Vet. Med. Assoc. 196, 1239-1243

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

Comparison of three methods of feeding colostrum to dairy calves.

J. Am. Vet. Med. Assoc. 198, 419-422

Besser, T.E.; Gay, C.C. (1994):

The importance of colostrum to the health of the neonatal calf.

Vet. Clin. North. Am. 10, 107-117

Beyer, C. (1988):

Gesundheitszustand und Immunstatus neugeborener Kälber nach Gabe des Molkeneiweißpulvers COLOSTRYX.

Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover

Biswal, S.P.; Dutta, N.K.; Mishra, P.R. (1993):

Estimation of total serum protein and immunoglobulin level in neonatal calves.

Indian Vet. J. 70, 7-9

Blom, J.Y. (1982):

The relationship between serum immunoglobulin values and incidence of respiratory disease and enteritis in calves.

Nord. Vet. Med. 34(7-9), 276-284

Boediker, R. (1991):

Die Bestimmung der GGT im Serum als Indikator für die Kolostralmilchversorgung des Kalbes.

Tierärztl. Umsch. 46, 190-194

Bogin, E.; Avidar, Y.; Shenkler, S.; Israeli, B.A.; Spiegel, N.; Cohen, R. (1993):

A rapid field test for the determination of colostral ingestion by calves, based on gamma-glutamyltransferase.

Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 31, 695-699

Borg, L. (1981):

Quantitative Untersuchungen über den Gesamtprotein- und Immunglobulingehalt im Blutserum kranker, bis zu 12 Wochen alter Kälber mit Hilfe der Refraktometrie, Biuretmethode, Elektrophorese und Nephelometrie.

Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover

Borg, L.; Frerking, H. (1982):

Erkenntnisse bei der Immunglobulinbestimmung im Serum kranker Kälber.

Tierärztl. Umsch. 37, 488-490

Bourne, J.; Newby, T. (1981):

Mucosal immunity.

In Practice 3, 5-11

Boyd, J.W. (1972):

The relationship between serum immune globulin deficiency and diseases in calves: a farm survey.

Vet. Rec. 90, 645-649

Boyd, J.W.; Boyd, A.J. (1987):

Computer model of the absorption and distribution of colostral immunoglobulins in the newborn calf.

Res. Vet. Sci. 43, 291-296

Boyd, J.W. (1989):

Relationships between acid-base balance, serum composition and colostrum absorption in newborn calves.

Br. Vet. J. 3, 249-256

Bradley, J.A.; Niilo, L.; Dorward, W.J. (1979):

Some observations on serum gammaglobulin concentrations in suckled beef calves.

Can. Vet. J. 20, 227-232

Brambell, F.W.R. (1966):

The transmission of immunity from mother to young and the catabolism of immunoglobulins.

Lancet, 1087-1093

Brambell, F.W.R. (1969):

The transmission of immune globulins from the mother to the foetal and newborn young.

Proc. Nutr. Soc. 28(1), 35-41

Brandon, M.R.; Watson, D.L.; Lascelles, A.K. (1971 a):

The mechanism of transfer of immunoglobulin into mammary secretion of cows.

Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 49(6), 613-623

Brandon, M.R.; Lascelles, A.K. (1971 b):

Relative efficiency of absorption of IgG₁, IgG₂, IgA and IgM in the newborn calf.

Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci 49(6), 629-633

Brandtzaeg, P. (1974):

Mucosal and glandular distribution of immunoglobulin components: Differential localization of free and bound SC in secretory epithelial cells.

J. Immunol. 112, 1553-1559

Braun, J.P.; Tainturier, D.; Laugier, C.; Benard, P.; Thouvenot, J.P.; Rico, A.G. (1982):

Early variations of blood plasma gamma-glutamyltransferase in newborn calves. A test of colostrum intake.

J. Dairy Sci. 65, 2178-2181

Braun, R.K.; Tennant, B.C. (1983):

The relationship of serum G-globulin levels of assembled neonatal calves to mortality caused by enteric diseases.

Agri-Practice 4, 14-24

Bricarello, P.A.; Zaros, L.G.; Coutinho, L.L.; Rocha, R.A.; Kooyman, F.N.; De Vries, E.; Goncalves, J.R.; Lima, L.G.; Pires, A.V.; Amarante, A.F. (2007):

Field study on nematode resistance in Nelore-breed cattle.

Vet. Parasitol. 148, 272-278

Broughton, C.W.; Lecce, J.G. (1970):

Electron microscopic studies of the jejunal epithelium from neonatal pigs fed different diets.

J. Nutr. 100, 445-449

Brown, W.R.; Isobe, K.; Nakane, P.K.; Pacini, B. (1977):

Studies on translocation of immunoglobulins across intestinal epithelium. IV.

Evidence for binding of IgA and IgM to secretory component in intestinal epithelium.

Gastroenterology 73, 1333-1339

Brown, C.M. (1990):

Uncertainties in the significance, diagnosis, and treatment of failure of passive transfer in foals.

Int. Soc. Vet. Perinatol. 3(2), 1-2; 8-11

Buczinski, S.; Gicquel, E.; Fecteau, G.; Takwoingi, Y.; Chigerwe, M.; Vandeweerd, J.M. (2018):

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. 32(1), 474-483

Burton, J.L.; Kennedy, B.W.; Burnside, E.B.; Wilkie, B.N.; Burton, J.H. (1989):

Variation in serum concentrations of immunoglobulins G, A and M in Canadian Holstein-Friesian calves.

J. Dairy Sci. 72, 135-149

Bush, L.J.; Staley, T.E. (1980):

Absorption of colostral immunoglobulins in newborn calves.

J. Dairy Sci. 63, 72-80

Butler, J.E. (1969):

Bovine immunoglobulins: A review.

J. Dairy Sci. 52, 1985-1990

Butler, J.E. (1971):

Physicochemical and immunochemical studies of bovine IgA and glycoprotein-a.

Biochim. Biophys. Acta 251(3), 435-449

Butler, J.E.; Maxwell, C.F.; Pierce, C.S.; Hylton, M.B.; Asofsky, R.; Kiddy, C.A.

(1972):

Studies on the relative synthesis and distribution of IgA and IgG₁ in various tissues and body fluids of the cow.

J. Immunol. 109, 38-46

Butler, J.E. (1973):

Synthesis and distribution of immunoglobulins.

J. Am. Vet. Med. Assoc. 163, 795-800

Butler, J.E. (1980):

Antibody-antigen and antibody-hapten reactions.

Enzyme-Immunoassay (E. T. Maggio, ed.), CRC Press, Boca Raton, 5-52

Butler, J.E. (1983):

Bovine immunoglobulins. An augmented review.

Vet. Immunol. Immunopathol. 4, 43-152

Butler, J.E. (1998):

Immunoglobulin diversity, B-cell and antibody repertoire development in large farm animals.

Rev. Sci. Tech. 17(1), 43-70

Cabello, G.; Veveux, D. (1980):

Comparative absorption of colostral IgG₁ and IgM in the newborn calf. Effects of thyroxine, cortisol and environmental factors.

Ann. Rech. Vet. 11, 1-7

Cabello, G.; Michel, M.C. (1977):

Composition of blood plasma (Calcium, Phosphorus, Magnesium, Proteins) during the neonatal period in the calf. Influence of the state of health.

Ann. Rech. Vet. 8, 203-211

Caldow, G.L.; White, D.G.; Kelsey, M.; Peters, A.R.; Solly, K.J. (1988):

Relationship of calf antibody status to disease and performance.

Vet. Rec. 122, 63-65

Calloway, C.D.; Tyler, J.W.; Tessman, R.K; Hostetler, D.; Holle, J. (2002):
Comparison of refractometers and test endpoints in the measurement of serum
protein concentration to assess passive transfer status in calves.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 221, 1605-1608

Capuco, A.V.; Akers, R.M.; Smith, J.J. (1997):
Mammary growth in Holstein cows during the dry period: Quantification of nucleic
acids and histology.
J. Dairy Sci. 80, 477-487

Clawson, M.L.; Heaton, M.P.; Chitko-McKown, C.G.; Fox, J.M.; Smith, T.P.L.;
Snelling, W.M.; Keele, J.W.; Laegreid, W.W. (2004):
Beta-2-microglobulin haplotypes in U.S. beef cattle and association with failure of
passive transfer in newborn calves.
Mamm. Genome 15, 227-236

Clover, C.K.; Zarkower, A. (1980):
Immunologic responses in colostrum-fed and colostrum-deprived calves.
Am. J. Vet. Res. 41, 1002-1007

Corbeil, L.B.; Campero, C.M.; Rhyan, J.C.; Anderson, M.L.; Gershwin, L.J.; Agnew,
D.W.; Munson, L.; Bondurant, R.H. (2005):
Uterine mast cells and immunoglobulin-E antibody responses during clearance of *Tri-
trichomonas foetus*.
Vet. Pathol. 42, 282-290

Cortese, V.S. (2009):
Neonatal immunology.
Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 25, 221-227

Cuttance, E.L.; Mason, W.A.; Denholm, K.S.; Laven, R.A. (2017):
Comparison of diagnostic tests for determining the prevalence of failure of passive
transfer in New Zealand dairy calves.
N. Z. Vet. J. 65(1), 6-13

Dawes, M.E.; Tyler, J.W.; Hostetler, D.; Lakritz, J.; Tessman, R. (2002):
Evaluation of a commercially available immunoassay for assessing adequacy of
passive transfer in calves.

J. Am. Vet. Med. Assoc. 220, 791-793

Deelen, S.M.; Ollivett, T.L.; Haines, D.M.; Leslie, K.E. (2014):

Evaluation of a Brix refractometer to estimate serum immunoglobulin G concentration
in neonatal dairy calves.

J. Dairy Sci. 97(6), 3838-3844

Dewell, R.D.; Hungerford, L.L.; Keen, J.E.; Laegreid, W.W.; Griffin, D.D.; Rupp, G.P.;
Grotelueschen, D.M. (2006):

Association of neonatal serum immunoglobulin G₁ concentration with health and
performance in beef calves.

J. Am. Vet. Med. Assoc. 228, 914-921

Dixon, W.J. (1993):

BMDP Statistical Software Manual, Volume 1 and 2.

University of California Press, Berkeley, Los Angeles, London

Dobbelaar, P.; Noordhuizen, J.P.T.M.; Van Keulen, K.A.S. (1987):

An epidemiological study of gammaglobulin levels in newborn calves.

Prev. Vet. Med. 5, 51-62

Donovan, G.A.; Badinga, L.; Collier, R.J.; Wilcox, C.J.; Braun, R.K. (1986):

Factors influencing passive transfer in dairy calves.

J. Dairy Sci. 69(3), 754-759

Douglas, V.L.; Cullor, J.S.; Tyler, J.W.; Thurmond, M.C.; Bushnell, R.B. (1989):

Rapid decay of serum IgG recognizing gram-negative cell wall core antigens in
neonatal calves.

Am. J. Vet. Res. 50, 1138-1140

Drewry, J.J.; Quigley, J.D. 3rd; Geiser, D.R.; Welborn, M.G. (1999):
Effects of high arterial carbon dioxide tension on efficiency of immunoglobulin G
absorption in calves.
Am. J. Vet. Res. 60, 609-614

Duncan, J.R.; Wilkie, B.N.; Hiestand, F.; Winter, A.J. (1972):
The serum and secretory immunoglobulins of cattle: characterization and
quantitation.
J. Immunol. 108, 965-976

Ehrlich, P. (1892):
[Aus dem Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin]
Ueber Immunität durch Vererbung und Säugung.
Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten 12, 183-203

Eigenmann, U.J.; Zaremba, W.; Luetgebrune, K.; Grunert, E. (1983):
Untersuchungen über die Kolostrumaufnahme und die IgG-Absorption bei Kälbern
mit und ohne Geburtsazidose.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 96, 109-113

Elfstrand, L.; Lindmark-Månsson, H.; Paulsson, M.; Nyberg, L.; Åkesson, B. (2002):
Immunoglobulins, growth factors and growth hormone in bovine colostrum and the
effects of processing.
Int. Dairy J. 12(11), 879-887

Elsohaby, I.; McClure, J.T.; Waite, L.A.; Cameron, M.; Heider, L.C.; Keefe, G.P.
(2019):
Using serum and plasma samples to assess failure of transfer of passive immunity in
dairy calves.
J. Dairy Sci. 102(1), 567-577

Engvall, E.; Perlman, P. (1971):

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G.

Immunochemistry 8(9), 871-874

Erhard, M.H.; Lösch, U.; Stangassinger, M. (1995):

Untersuchungen zur intestinalen Absorption von homologem und heterologem Immunglobulin G bei neugeborenen Kälbern.

Zeitschrift für Ernährungswissenschaft 34(2), 160-163

Erhard, M.H.; Amon, P.; Younan, M.; Ali, Z.; Stangassinger, M. (1999 a):

Absorption and synthesis of immunoglobulin G in new born calves.

Reprod. Dom. An. 34, 173-175

Erhard, M.H.; Amon, P.; Nüske, S.; Stangassinger, M. (1999 b):

Studies on the systemic availability of maternal and endogeneously produced immunoglobulin G₁ and G₂ in newborn calves by using newly developed ELISA systems.

J. An. Phys. Nutr. 81, 239-248

Erhard, M.H.; Stangassinger, M. (1999 c):

Stimulierung der Antikörperproduktion von neugeborenen Kälbern durch die Verfütterung von Eipulver.

Lohmann Information 3/99, 1-4

Fecteau, G.; Arsenault, J.; Paré, J.; Van Metre, D.C.; Holmberg, C.A.; Smith, B.P. (2013):

Prediction of serum IgG concentration by indirect techniques with adjustment for age and clinical and laboratory covariates in critically ill newborn calves.

Can. J. Vet. Res. 77, 89-94

Fetcher, A.; Gay, C.C.; McGuire, T.C.; Barbee, D.D.; Parish, S.M. (1983):
Regional distribution and variation of γ -globulin absorption from the small intestine of the neonatal calf.

Am. J. Vet. Res. 44, 2149-2154

Firth, M.A.; Shewen, P.E.; Hodgins, D.C. (2005):
Passive and active components of neonatal innate immune defenses.
Anim. Health Res. Rev. 6(2), 143-158

Fischer, W.; Butte, R. (1974):
Vergleichende Untersuchungen des Elektrolyt- und Blutstatus gesunder und an Enteritis erkrankter Kälber. 1. Mitteilung.
Dtsch. Tierärztl. Wochenschrift 81, 567-570

Fischer, A.J.; Song, Y.; He, Z.; Haines, D.M.; Guan, L.L.; Steele, M.A. (2018):
Effect of delaying colostrum feeding on passive transfer and intestinal bacterial colonization in neonatal male Holstein calves.
J. Dairy Sci. 101(4), 1-11

Furman-Fratczak, K.; Rzasa, A.; Stefaniak, T. (2011):
The influence of colostrum immunoglobulin concentration in heifer calves' serum on their health and growth.
J. Dairy Sci. 94, 5536-5543

Gay, C.C. (1983):
Failure of passive transfer of colostrum immunoglobulin and neonatal disease in calves: A review.
VIDO in proceedings. fourth international symposium of neonatal diarrhea
Veterinary Infectious Disease Organisation, Saskatoon, 346-364

Ganz, S.; Bülte, M.; Gajewski, Z.; Wehrend, A. (2018):
Inhaltsstoffe des bovinen Kolostrums – eine Übersicht.
Tierärztl. Praxis 46 (G), 178-188

Gershwin, L.J.; Olsen, C.L. (1984 a):

Immunologic responses of calves to aerosolized antigen: humoral response to ovalbumin.

Am. J. Vet. Res. 45, 2511-2517

Gershwin, L.J.; Olsen, C.L. (1984 b):

Humoral response of cattle to aero-solized *Micropolyspora faeni*.

Am. J. Vet. Res. 45, 2135-2142

Gershwin, L.J.; Dungworth, D.L.; Himes, S.R.; Friebertshauser, K.E. (1990):

Immunoglobulin E responses and lung pathology resulting from aerosol exposure of calves to respiratory syncytial virus and *Micro-polyspora faeni*.

Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 92, 293-300

Gershwin, L.J.; Himes, S.R.; Dungworth, D.L.; Giri, S.N.; Friebertshauser, K.E.;

Camacho, M. (1994):

Effect of bovine respiratory syncytial virus infection on hypersensitivity to inhaled *Micropolyspora faeni*.

Int. Arch. Allergy Immunol. 104, 79-91

Gershwin, L.J.; Gunther, R.A.; Anderson, M.L.; Woolums, A.R.; McArthur-Vaughan, K.; Randel, K.E.; Boyle, G.A.; Friebertshauser, K.E.; McInturff, P.S. (2000):

Bovine respiratory syncytial virus-specific IgE is associated with interleukin-2 and -4, and interferon-gamma expression in pulmonary lymph of experimentally infected calves.

Am. J. Vet. Res. 61, 291-298

Gershwin, L.J.; Berghaus, L.J.; Arnold, K.; Anderson, M.L.; Corbeil, L.B. (2005):

Immune mechanisms of pathogenetic synergy in concurrent bovine pulmonary infection with *Haemophilus somnus* and bovine respiratory syncytial virus.

Vet. Immunol. Immunopathol. 107, 119-130

Gershwin, L. (2009):

Bovine immunoglobulin E.

Vet. Immunol. Immunopathol. 132, 2-6

Ghetie, V.; Ward, E.S. (2000):

Multiple roles for the major histocompatibility complex class I-related receptor FcRN.

Annu. Rev. Immunol. 18, 739-766

Godden, S. (2008):

Colostrum management for dairy calves.

Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 24, 19-39

Gonzales, D.D.; Dus Santos, M.J. (2017):

Bovine colostrum cells – the often forgotten component of colostrums.

J. Am. Vet. Med. Assoc. 250(9), 998-1005

Gough, P.; Jenness, R.; Anderson, R.K. (1966):

Characterization of bovine immunoglobulins.

J. Dairy Sci. 49, 718

Gränzer, W. (1986):

Die quantitative Bestimmung der Immunglobuline beim Rind: Definitionen, Methoden, Ergebnisse und Ergebnisevaluationen.

Tierärztl. Umsch. 41, 824-834

Grosser, O. (1909):

Vergleichende Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Eihäute und der Plazenta mit besonderer Berücksichtigung des Menschen.

Wien: Braumüller 1909

Guy, M.A.; McFadden, T.B.; Cockrell, D.C.; Besser, T.E. (1994):

Regulation of colostrum formation in beef and dairy cows.

J. Dairy Sci. 77(10), 3002-3007

Hammer, D.K.; Kickhöfen, B.; Schmid, T. (1971):

Detection of homocytotropic antibody associated with a unique immunoglobulin class in the bovine species.

Eur. J. Immunol. 1, 249-258

Heckert, H.P.; Bardella, I.; Hofmann, W.; Oltmer, S. (1999):

Untersuchungen zum Einfluß eines antikörperhaltigen Volleipulvers auf die aktive Immunitätsausbildung bei Kälbern.

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 106(1-52), 10-14

Hogan, I.; Doherty, M.; Fagan, J.; Kennedy, E.; Conneely, M.; Brady, P.; Ryan, C.; Lorenz, I. (2015):

Comparison of rapid laboratory tests for failure of passive transfer in the bovine.

Ir. Vet. J. 68:18, DOI 10.1186/s13620-015-0047-0

Hogan, I.; Doherty, M.; Fagan, J.; Kennedy, E.; Conneely, M.; Crowe, B.; Lorenz, I. (2016):

Optimisation of the zinc sulphate turbidity test for the determination of immune status.

Vet. Rec. DOI 10.1136/vr.103401

Hosty, T.A.; Hollenbeck, M.; Shane, S. (1973):

Intercomparison of results obtained with five commercial diffusion plates supplied for quantitation of immunoglobulins.

Clin. chem. 19(5), 524-526

House, A.M.; Irsik, M.; Shearer, J.K. (2011):

Sepsis, failure of passive transfer, and fluid therapy in calves.

This document is VM173, one of a series of the Veterinary Medicine-Large Animal Clinical Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.

Original publication date August 2008. Revised July 2011.

Husband, A.J.; Brandon, M.R.; Lascelles, A.K. (1972):
Absorption and endogeneous production of immunoglobulins in calves.
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 50, 491-498

Husband, A.J.; Lascelles, A.K. (1975):
Antibody responses to neonatal immunisation in calves.
Res. Vet. Sci. 18, 201-207

Jensen, P.T. (1978):
Quantitative studies on immunoglobulins, albumin and total protein in serum from
young normal calves.
Nord. Vet. Med. 30, 145-154

Johnston, N.E.; Stewart, J.A. (1986):
The effect of glucocorticoid and prematurity an absorption of colostral
immunoglobulins in the calf.
Aust. Vet. J. 63, 191-192

Junghans, R.P. (1997):
Finally! The Brambell receptor (FcRN).
Immunol. Res. 57, 75-80

Jürgensen, L. (2016):
The impact of warming of newborn Holstein calves on colostrum intake, blood
parameters and vitality.
Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover

Kacskovics, I.; Wu, Z.; Simister, N.E.; Frenyo, L.V.; Hammarström, L. (2000):
Cloning and characterization of the bovine MHC class I like receptor.
J. Immunol. 164, 1889-1897

Kähn, W. (1991):

Die passive Immunisierung und der Fehlerhafte Passive Transfer (FPT) von Immunglobulinen bei neugeborenen Fohlen. Teil 2: Diagnose, Prophylaxe und Therapie des Fehlerhaften Immunglobulintransfers.

Prakt. Tierarzt 11, 983-998

Kampen, A.H.; Olsen, I.; Tollersrud, T.; Storset, A.K.; Lund, A. (2006):

Lymphocyte subpopulations and neutrophil function in calves during the first 6 months of life.

Vet. Immunol. Immunopathol. 113(1-2), 53-63

Kaske, M.; Kunz, H.J. (2003):

Handbuch Durchfallerkrankungen der Kälber. Kapitel: Die Kolostrumversorgung – Grundlage für eine gesunde Aufzucht!

Kamlage Verlag, Osnabrück, 71-80

Kaup, F.J.; Drommer, W.; Jochims, K.; Pickel, M. (1996):

Ultrastructure of pre- and postcolostral enterocytes of the newborn calf.

Anat. Histol. Embryol. 25, 249-255

Kehoe, S.I.; Jayarao, B.M.; Heinrichs, A.J. (2007):

A survey of bovine colostrum composition and colostrum management practices on Pennsylvania dairy farms.

J. Dairy Sci. 90(9), 4108-4116

Kielwein, G. (1976):

Leitfaden der Milchkunde und Milchhygiene. 3. Auflage, Kapitel 2: Zusammensetzung und Bildung der Milch.

Blackwell Wissenschafts-Verlag Berlin, 18-43

Kim, J.W.; Schmidt, F.W. (1983):

Zur Frage der Absorption von kolostralen Immunglobulinen durch das Kalb.

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 90, 283-286

Kolb, E.; Seehawer J. (2002):

Die Bedeutung der Immunglobuline, der Vitamine und der Wachstumsfaktoren des Kolostrums für das Kalb.

Tierärztl. Umschau 57, 348-354

Komar, R.; Mukkur, T.K.S. (1974):

Isolation and characterization of J-chain from bovine colostrum immunoglobulin M.

Can. J. Biochem. 53, 943-949

Kooyman, F.N.; Yatsuda, A.P.; Ploeger, H.W.; Eysker, M. (2002):

Serum immunoglobulin E response in calves infected with the lungworm *Dictyocaulus viviparus* and its correlation with protection.

Parasite Immunol. 24, 47-56

Korhonen, H.; Marnila, P.; Gill, H.S. (2000):

Milk immunoglobulins and complement factors.

Br. J. Nutr. 84(1), 75-80

Korhonen, H.J. (2013):

Production and properties of health-promoting proteins and peptides from bovine colostrum and milk.

Cell. Mol. Biol. 58(1), 26-38

Kühn, L.C.; Kraehenbuhl, J.P. (1979):

Role of secretory component, a secreted glycoprotein, in the specific uptake of IgA dimer by epithelial cells.

J. Biol. Chem. 254, 11072-11081

Kühne, S.; Hammon, H.M.; Bruckmaier, R.M.; Morel, C.; Zbinden, Y.; Blum, J.W. (2000):

Growth performance, metabolic and endocrine traits, and absorptive capacity in neonatal calves fed either colostrum or milk replacer at two levels.

J. Anim. Sci. 78, 609-620

Kunz, H.J.; Malchau, I. (2009):

Zwei Liter Biestmilch reichen nicht aus Untersuchungen zum Biestmilchmanagement.
Milchpraxis 2009 47(2), 58-61

Laegreid, W.W.; Heaton, M.P.; Keen, J.E.; Grosse, W.M.; Chitko-McKown, C.G.;
Smith, T.P.L.; Keele, J.W.; Bennett, G.L.; Besser, T.E. (2002):

Association of bovine neonatal Fc receptor alpha-chain gene (FCGRT) haplotypes
with serum IgG concentration in newborn calves.

Mamm. Genome 13, 704-710

Lambrecht, G.; Frerking, H.; Henkel, E. (1982):

Bestimmung von IgG, IgA und IgM im Erstkolostrum des Rindes mit Hilfe der
Nephelometrie und der radialen Immundiffusion unter besonderer Berücksichtigung
von Jahreszeit, Laktationsnummer und Vererbung.

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 89, 107-110

Lambrecht, G.; Petzoldt, K. (1984):

Kritische Beurteilung der quantitativen Immunglobulinbestimmung beim Kalb.

Tierärztl. Praxis 12, 535-539

Larson, B.L. (1992):

Immunoglobulins in Mammary Secretions.

Advanced Dairy Chemistry, 275-294

Lipp, K. (2005):

Feldstudie zur kolostralen Immunglobulin-Versorgung neugeborener Kälber in
Abhängigkeit von der Verweildauer beim Muttertier.

Inaugural-Dissertation, Ludwig-Maximilian-Universität München

Lecce, J.G.; Morgan, D.O. (1962):

Effect of dietary regimen on cessation of intestinal absorption of large molecules
(closure) in the neonatal pig and lamb.

J. Nutr. 78, 263-268

Logan, E.F.; Penhale, W.J.; Jones, R.A. (1973):

Changes in the serum immunoglobulin levels of colostrum-fed calves during the first 12 weeks postpartum.

Res. Vet. Sci. 14, 394-397

Logan, E.F.; McBeath, D.G.; Lowman, B.G. (1974):

Quantative studies on serum immunoglobulin levels in suckled calves from birth to five weeks.

Vet. Rec. 94(16), 367-370

Luetgebrune, K. (1982):

Untersuchungen über die Kolostrumaufnahme und die Immunglobulinabsorption bei asphyktischen und lebensfrischen Kälbern.

Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover

Lustermann, H.; Günther H. (1977):

Absorption von Kolostrumbestandteilen im Darm - eine Übersicht.

Arch. Exp. Veterinärmed. 31, 53-59

Mach J.P.; Pahud, J.J.; Isliker, H. (1969):

IgA with "Secretory Piece" in bovine colostrum and saliva.

Nature 223, 952-955

Mach J.P.; Pahud, J.J. (1971):

Secretory IgA, a major immunoglobulin in most bovine external secretions.

J. Immunol. 106(2), 552-563

Mancini, G.; Carbonara, A.O.; Heremans, J.F. (1965):

Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion.

Immunochemistry 2, 235-254

Marnila, P.; Korhonen, H. (2011):

Encyclopedia of dairy sciences. 2. Auflage. Kapitel: Milk. Colostrum.

Academic Press, Amsterdam, Fuquay, J.W. (Hrsg.), 591-597

Mayer, B.; Zolnai, A.; Frenyo, L.V.; Jancsik, V.; Szentirmay, Z.; Hammarström, L.; Kacskovics, I. (2002):

Redistribution of the sheep neonatal Fc receptor in the mammary gland around the time of parturition in ewes in the mammary gland and its localization in the small intestine of lambs.

Immunology 107, 288-296

McBeath, D.G.; Penhale, W.J.; Logan, E.F. (1971):

An examination of the influence of husbandry on the plasma immunoglobulin level of the newborn calf, using a rapid refractometer test for assessing immunoglobulin content.

Vet. Rec. 88, 266-270

McBride, J.W.; Corstvet, R.E.; Paulsen, D.B.; McClure, J.R.; Enright, F.M. (1992):

Systemic and pulmonary antibody responses of calves to *Pasteurella haemolytica* after intrapulmonary inoculation.

Am. J. Vet. Res. 53, 1889-1894

McCracken, M.M.; Morrill, K.M.; Fordyce, A.L.; Tyler, H.D. (2017):

Technical note: Evaluation of digital refractometers to estimate serum immunoglobulin G concentration and passive transfer in Jersey calves.

J. Dairy Sci. 100(10), 8438-8442

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

Managing the production, storage, and delivery of colostrum.

Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 20(3), 593-603

McMorran, E.K. (2006):

Bundesweite Untersuchung zur kolostralen Versorgung von neugeborenen Kälbern. Inaugural-Dissertation, Ludwig-Maximilian-Universität München

Michanek, P.; Ventrop, M.; Weström, B. (1990):

Milk intake before first colostrum in newborn dairy calves. Effect on intestinal transmission of macromolecules.

J. Dairy Sci. 73, 480-483

Miller, F.; Metzger, H. (1965 a):

Characterization of a human macroglobulin: I. The molecular weight of its subunit.

J. Biol. Chem. 240(8), 3325-3333

Miller, F.; Metzger, H. (1965 b):

Characterization of a human macroglobulin: II. Distribution of the disulfide bonds.

J. Biol. Chem. 240(12), 4740-4745

Miller, J.E.; Baker, D.G.; Gershwin, L.J.; Canales, J.; Kearney, M.T. (1996):

Serum IgE levels in dairy calves: evaluation of parasite and pasture exposure as possible determinants of IgE response.

Vet. Parasitol. 63, 337-343

Morin, D.E.; McCoy, G.C.; Hurley, W.L. (1997):

Effects of quality, quantity, and timing of colostrum feeding and addition of a dried colostrum supplement on immunoglobulin G₁ absorption in Holstein bull calves.

J. Dairy Sci. 80, 747-753

Morrill, K.M.; Polo, J.; Lago, A.; Campbell, J.; Quigley, J.; Tyler, H. (2013):

Estimate of serum immunoglobulin G concentration using refractometry with or without caprylic acid fractionation.

J. Dairy Sci. 96(7), 4535-4541

Mostov, K.E.; Kraehenbuhl, J.P.; Blöbel, G. (1980):

Receptor-mediated transcellular transport of immunoglobulin: Synthesis of secretory component as multiple and larger transmembrane forms.

Proc. Natl. Acad. Sci. 77, 7257-7261

Mostov, K.; Blobel, G.J. (1982):

A transmembrane precursor of secretory component. The receptor for transcellular transport of polymeric immunoglobulins.

J. Biol. Chem. 257(19), 11816-11821

Mousavi, M.; Rabbani, H.; Hammarström, L. (1997):

Characterization of the bovine ϵ gene.

Immunology, 92, 369-373

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

Colostrum immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle.

J. Dairy Sci. 64, 1727-1730

Münch, K.; Roffeis, M. (2012):

Einfluß der Geburtsüberwachung, Geburtsvor- und -nachbereitung auf die Kälbersterblichkeit, Kälberfitness und das Kuhleistungsniveau.

Ministerium für Infrastruktur und Landwirtschaft des Landes Brandenburg (MIL),
Potsdam

Munro, J.; Norton, J. (1996):

Investigation into the use of copper sulphate solution as an estimation of calf immunoglobulin status.

Cattle Practice 4, 167-174

Nagura, H.; Nakane, P.K.; Brown, W.R. (1979):

Translocation of dimeric IgA through neoplastic colon cells in vitro.

J. Immunol. 123, 2359-2368

Naylor, J.M.; Kronfeld, D.S. (1977 a):

Refractometry as a measure of the immunoglobulin status of the newborn dairy calf: Comparison with the zinc sulfate turbidity test and single radial immunodiffusion.

Am. J. Vet. Res. 38, 1331-1334

Naylor, J.M.; Kronfeld, D.S.; Bech-Nielson, S.; Bartholomew, R. (1977 b):
Plasma total protein measurement for prediction of disease and mortality in calves.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 171(7), 635-638

Newby, F.J.; Bourne, J. (1977):
The nature of the local immune system of the bovine mammary gland.
J. Immunol. 118, 461-465

Norman, L.M.; Hohenboken, W.D.; Kelley, K.W. (1981):
Genetic differences in concentration of immunoglobulins G₁ and M in serum and
colostrum of cows and in serum of neonatal calves.
J. Anim. Sci. 53(6), 1465-1472

Odde, K.G. (1988):
Survival of the neonatal calf.
Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 4, 501-508

Olson, D.P.; Papasian, C.J.; Ritter, R.C. (1980):
The effects of cold stress on neonatal calves. II. Absorption of colostrum
immunoglobulins.
Can. J. Comp. Med. 44, 19-23

Orlans, E.; Peppard, J.; Fry, J.F.; Hinton, R.H.; Mullock, B.M. (1979):
Secretory component as the receptor of polymeric IgA on rat hepatocytes.
J. Exp. Med. 150, 1577-1581

Osaka, I.; Matsui, Y.; Terada, F. (2014):
Effect of the mass of immunoglobulin (Ig)G intake and age at first colostrums feeding
on serum IgG concentration in Holstein calves.
J. Dairy Sci. 97, 6608-6612

Owen, R.D. (1945):
Immunogenic consequence of vascular anastomoses between bovine twins.
Science, 102, 400-401

Pacha, J. (2000):

Development of intestinal transport function in mammals.

Physiol. Rev. 80, 1633-1667

Parish, S.M.; Tyler, J.W.; Besser, T.E.; Gay, C.C.; Krytenberg, D. (1997):

Prediction of serum IgG₁ concentration in Holstein calves using serum GGT activity.

J. Vet. Int. Med. 11, 344-347

Penhale, W.J.; Christie, G.; McEwan, A.D.; Fisher, E.W.; Selman, I.E. (1970):

Quantative studies on bovine immunoglobulins.

Br. Vet. J. 126, 30-36

Penhale, W.J, Logan, E.F.; Selman, I.E.; Fisher, E.W.; Mc Ewan, A.D. (1973):

Observations on the absorption of colostral immunoglobulins by the neonatal calf in Colibacillosis.

Annales de Recherches Vétérinaires 4(1), 223-233

Perino, L.J.; Sutherland, R.L.; Woollen, N.E. (1993):

Serum gamma-glutamyltransferase activity and protein concentration at birth and after suckling in calves with adequate and inadequate passive transfer of immunoglobulin G.

Am. J. Vet. Res. 54, 56-59

Perino, L.J.; Wittum, T.E.; Ross, G.S. (1995):

Effects of various risk factors on plasma protein and serum immunoglobulin concentrations of calves at postpartum hours 10 and 24.

Am. J. Vet. Res. 56, 1144-1148

Persijn, J.P.; van der Silk, W. (1976):

A new method for the determination of γ -glutamyltransferase in serum.

J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 14, 421-427

Pfeiffer, N.E.; McGuire, T.C.; Bendel, R.B.; Weikel, J.M. (1977):
Quantitation of bovine immunoglobulins: Comparison of single radial immunodiffusion, zinc sulfate turbidity test, serum electrophoresis and refractometer methods.

Am J. Vet. Res. 38, 693-698

Pickel, M.; Beyer, C.; Trautwein, G.; Grunert, E. (1989):
Untersuchungen zur Immunglobulinversorgung des neugeborenen Kalbes mit dem Molkeeiweißpulver Colostrx.

Prakt. Tierarzt 70, 29-36

Poger, M.E.; Lamm, M.E. (1974):

Localization of free and bound secretory component in human intestinal epithelial cells.

J. Exp. Med. 139, 629-642

Porter, P. (1971):

Immunoglobulin A in bovine mammary secretions and serum.

Biochem. Biophys. Acta 236, 664-674

Pusterla, N.; Pusterla, J.B.; Spier, S.J.; Puget, B.; Watson, J.L. (2002)

Evaluation of the SNAP foal IgG test for the semiquantitative measurement of immunoglobulin G in foals.

Vet. Rec. 151(9), 258-260

Quigley, J.D; Drewry, J.J. (1998):

Nutrient and immunity transfer from cow to calf pre- and postcalving.

J. Dairy Sci. 81, 2779-2790

Quigley, J.D.; French, P.; James, R.E. (2000):

Short communication: Effect of pH on absorption of immunoglobulin G in neonatal calves.

J. Dairy Sci. 83, 1853-1855

Raboisson, D; Trillat, P.; Cahuzac, C. (2016):

Failure of passive Immune transfer in calves: A meta-analysis on the consequences and assessment of the economic impact.

PLOS ONE | DOI:10.1371/journal.pone.0150452 March 17, 2016

Rajala, P.; Castrén, H. (1995):

Serum immunoglobulin concentrations and health of dairy calves in two management systems from birth to 12 weeks of age.

J. Dairy Sci. 78, 2737-2744

Reinicke, A. (2006):

Vergleichende Fallbeschreibung zur kolostralen IgG-Versorgung neugeborener Kälber in zwei südkalifornischen Milchbetrieben mit unterschiedlichen Managementbedingungen.

Inaugural-Dissertation, Ludwig-Maximilian-Universität München

Renston, R.H.; Jones, A.L.; Christiansen, W.D.; Hradek, G.T.; Underdown, B.J. (1980):

Evidence for a vesicular transport mechanism in hepatocytes for biliary secretion of immunoglobulin A.

Science 208,1276-1278

Riedl, J.; Brauchle, U.; Daffner, B.; Bollwein, H.; Stolla, R.; Schönreiter-Fischer S.; Erhard, M. (2004):

Zusammenhänge zwischen Geburtsverlauf, Cortisolspiegel und Immunglobulin-G-Absorption beim neugeborenen Kalb.

Tierarztl. Umschau 59, 683-686

Robison, J.D.; Stott, G.H.; DeNise, S.K. (1988):

Effects of passive immunity on growth and survival in the dairy heifer.

J. Dairy Sci. 71, 1283-1287

Roy, J.H.B. (1990):

The Calf. Volume 1. Management of Health. 5. Auflage, Kapitel 2: Immunity to disease.

Butterworths, London, 17-52

Schäfer, S.; Wesenauer, G.; Arbeiter, K. (1998):

Der Immunglobulintransfer beim vitalen neugeborenen Kalb.

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 105, 153-157

Schlerka, G.; Bucher, A. (2003):

Über den Verlauf der Gammaglutamyltransferase und des Gesamteiweißgehaltes im Blutserum von neugeborenen Kälbern.

Tierärztl. Umsch. 58, 146-152

Scholz, H.; Knutzen, G.; Fischer, B.; Wähner, M. (2011):

Einflußfaktoren auf die Qualität der Kolostralmilch von Milchkühen.

Züchtungskunde, 396-404

Schultz, R.D.; Confer, F.; Dunne, H.W. (1971):

Occurrence of blood cells and serum proteins in bovine fetuses and calves.

Can. J. Comp. Med. 35, 93-98

Shin, Y.S.; Lee, E.G.; Shin, G.W.; Kim, Y.R.; Lee, E.Y.; Kim, J.H.; Jang, H.;

Gershwin, L.J.; Kim, D.Y.; Kim, Y.H.; Kim, G.S.; Suh, M.D.; Jung, T.S. (2004):

Identification of antigenic proteins from *Neospora caninum* recognized by bovine immunoglobulins M, E, A and G using immunoproteomics.

Proteomics 4, 3600-3609

Soberon, F.; van Amburgh, M.E. (2013):

Lactation Biology Symposium. The effect of nutrient intake from milk or milk replacer of preweaned dairy calves on lactation milk yield as adults: a meta-analysis of current data.

J. Animal Sci. 91(2), 706-712

Stadler, T. (2002):

Übergang von maternalen zu endogener IgG-Dominanz beim neugeborenen Kalb.

Inaugural-Dissertation, Universität Zürich

Staley, T.E.; Corley, L.D.; Bush, L.J.; Jones, E.W. (1972):

The ultrastructure of neonatal calf intestine and absorption of heterologous proteins.

Anat. Rec. 172, 559-579

Staley, T.E.; Bush, L.J. (1985):

Receptor mechanisms of the neonatal intestine and their relationship to immunoglobulin absorption and disease.

J. Dairy Sci. 68, 184-205

Stear, M.J.; Hetzel, D.J.; Brown, S.C.; Gershwin, L.J.; Mackinnon, M.J.; Nicholas, F.W. (1990):

The relationships among ecto- and endoparasite levels, class I antigens of the bovine major histocompatibility system, immunoglobulin E levels and weight gain.

Vet. Parasitol. 34, 303-321

Steffen, S.; Tietz, G.; Grunert, G. (1997):

Untersuchungen des Gesamteiweißgehaltes und der GGT bei Kälbern in den ersten 14 Lebenstagen und ihre Bedeutung für die Voraussage des Gesundheitszustandes in den ersten 2 Wochen post natum.

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 104, 272-276

Stengel, K.-H. (1998):

Immunglobulin G-Bestimmungen im Blutserum neugeborener Kälber in den ersten zehn Lebenstagen sowie im Kolostrum derer Mütter mittels eines neu entwickelten kompetitiven ELISA.

Inaugural-Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen

Stewart, R.S.; Gershwin, L.J. (1989 a):

Detection of IgE antibodies to bovine respiratory syncytial virus.

Vet. Immunol. Immunopathol. 20, 313-323

Stewart, R.S.; Gershwin, L.J. (1989 b):

Role of IgE in the pathogenesis of bovine respiratory syncytial virus in sequential infections in vaccinated and nonvaccinated calves.

Am. J. Vet. Res. 50, 349-355

Stott, G.H.; Wiersma, F.; Menefee, E.; Radwanski, F.R. (1975):

Influence of environment on passive immunity in calves.

J. Dairy Sci. 59 (7), 1306-1311

Stott, G.H.; Marx, D.B.; Menefee, B.E.; Nightengale, G.T. (1979 a):

Colostrum immunoglobulin transfer in calves. I. Period of absorption.

J. Dairy Sci. 62, 1632-1638

Stott, G.H.; Marx, D.B.; Menefee, B.E.; Nightengale, G.T. (1979 b):

Colostrum immunoglobulin transfer in calves. II. Rate of absorption.

J. Dairy Sci. 62, 1766-1773

Stott, G.H. (1980):

Immunoglobulin absorption in calf neonates with special consideration of stress.

J. Dairy Sci. 63, 681-688

Stott, G.H.; Fleenor, W.A.; Kleese, W.C. (1981):

Colostrum immunoglobulin concentration in two fractions of first milking post partum and five additional milkings.

J. Dairy Sci. 64, 459-465

Szasz, G.; Weimann, G.; Wahlefeld, A.-W.; Persijn, J.P. (1974):

New substrates for measuring gamma-glutamyl transpeptidase activity.

Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 12, 228

Thatcher E.F.; Gershwin L.J. (1989):

Colostrum transfer of bovine immunoglobulin E and dynamics of serum IgE in calves.

Vet. Immunol. Immunopathol. 20(4), 325-334

Thompson, J.C.; Pauli, J.V. (1981):

Colostrum transfer of gamma glutamyl transpeptidase in calves.

N. Zeal. Vet. J. 29, 223-226

Thornton, J.R.; Willoughby, R.A.; McSherry, B.J. (1972):

Studies on diarrhea in neonatal calves: the plasma proteins of normal and diarrheic calves during the first ten days of age.

Can. J. Comp. Med. 36(1), 17-25

Tizard, I. (2013):

Veterinary Immunology. 9. Auflage, Kapitel 15: B Cells and Their Response to Antigen; Kapitel 16: Antibodies: Soluble Antigen Receptors; Kapitel 21: Immunity in the Fetus and Newborn.

Elsevier Saunders, Missouri, 165-174; 225-239

Todd, A.G.; Whyte, P.B.D. (1995):

The effect of delays in feeding colostrum and the relationship between immunoglobulin concentration in the serum of neonatal calves and their rates of growth.

Austr. Vet. J. 72, 415-417

Trilk, J.; Münch, K. (2010):

Untersuchungen zum Einfluß der Tiergesundheit und des Aufzuchtverhaltens von Kälbern auf die spätere Leistungsfähigkeit der Milchkuh.

Abschlußbericht Ministerium für Infrastruktur und Landwirtschaft des Landes Brandenburg (MIL), Potsdam

Tyler, R.; Ramsey, H. (1991):

Hypoxia in neonatal calves: effect on intestinal transport of immunoglobulins.

J. Dairy Sci. 74, 1953-1956

Tyler, J.W.; Hancock, D.D.; Parish, S.M.; Rea, D.E.; Besser, T.E.; Sanders, S.G.; Wilson, L.K. (1996):

Evaluation of 3 assays for failure of passive transfer in calves.

J. Vet. Intern Med. 10, 304-307

Tyler, J.W.; Parish, S.M.; Besser, T.E.; Metre, D.C.; Barrington, G.M.; Middleton, J.R. (1999 a):

Detection of low serum immunoglobulin concentrations in clinically ill calves.

J. Vet. Intern Med. 13, 40-43

Tyler, J.W.; Hancock, D.D.; Thorne, J.G.; Gay, C.C.; Gay, J.M. (1999 b):

Partitioning the mortality risk associated with inadequate passive transfer of colostral immunoglobulins in dairy calves.

J. Vet. Intern Med. 13, 335-337

Unterstab, W. (2016):

Untersuchung zur IgG-Bestimmung beim neugeborenen Fohlen.

Inaugural-Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen

Vaerman, J.-P. (1970):

Studies on IgA immunoglobulins in man and animals.

These Universite Catholique de Louvain, Sintal-Louvain, Belgien

Van Weemen, B.K.; Schuurs, A.H.W.M. (1971):

Immunoassay using antigen-enzyme conjugates.

FEBS Letters. 15(3), 232-236

Villarroel, A.; Calderon, G.; Adkins, E.D.; Noyer, K.R.; Ward, J.K. (2010):

Comparison of total protein concentration measured in serum and plasma of dairy calves during the first month of life.

World Buiatrics Congress, Conference Paper, DOI 10.13140/2.1.2553.9201

Virtala, A.M.K.; Gröhn, Y.T.; Mechor, G.D.; Erb, H.N. (1999):

The effect of maternally derived immunoglobulin G on the risk of respiratory disease in heifers on the first three months of life.

Prev. Vet. Med. 39, 25-37

Vogels, Z.; Chuck, G.M.; Morton, J.M. (2013):

Failure of transfer of passive immunity and agammaglobulinaemia in calves in south-west Victorian dairy herds: prevalence and risk factors.

Aust. Vet. J. 91(4), 150-158

von Benten, C.; Floer, W.; Petzoldt, K. (1976):

Untersuchungen zum tierexperimentellen Nachweis von anaphylaktischen Antikörpern des Rindes im passiven Übertragungsversuch unter Verwendung von kolostrumfrei ernährten Kälbern und Lämmern.

Zbl. Vet. Med. B. 23, 200-215

Walser, K.; Bostedt, H. (1990):

Neugeborenen- und Säuglingskunde der Tiere. 1. Auflage. Kapitel 8.2:

Kälberkrankheiten - Diagnostische Maßnahmen.

Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 260-265

Watson, D.L. (1980):

Immunological functions of the mammary gland and its secretion - comparative review.

Aust. J. Biol. Sci. 33(4), 403-422

Weaver, D.M.; Tyler, J.W.; Van Metre, D.C.; Hostetler, D.E.; Barrington, G.M. (2000):

Passive transfer of colostrum immunoglobulins in calves.

J. Vet. Intern. Med. 14, 569-577

Weingand, A.K. (2015):

Immun- und Gesundheitsstatus von Kalb und Kuh in Abhängigkeit von dem Haltungssystem und der Jahreszeit.

Inaugural-Dissertation, Ludwig-Maximilian-Universität München

Wells, P.W.; Eyre, P. (1972):

Preliminary characterization of bovine homocytotrophic antibody.

Immunochemistry 9, 88-91

Wells, S.J.; Dargatz, D.A.; Ott, S.L. (1996):

Factors associated with mortality to 21 days of life in dairy heifers in the United States.

Prev. Vet. Med. 29, 9-19

Wenzel, L. (2014):

Klinische und labordiagnostische Untersuchungen an Kälbern mit Boviner Neonataler Panzytopenie.

Inaugural-Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen

Werner, A. (2003):

Experimentelle Untersuchungen zur Eignung der γ -Glutamyltransferase-Aktivität im Blut von Kälbern zur Überprüfung der Kolostrumversorgung.

Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover

Wilson, L.K.; Tyler, J.W.; Besser, T.E.; Parish, S.M.; Gant, R. (1999):

Prediction of serum IgG₁ concentration in beef calves based on age and serum gamma-glutamyl-transferase activity.

J. Vet. Intern. Med. 13(2), 123-125

Windeyer, M.C.; Leslie, K.E.; Godden, S.M.; Hodgins, D.C.; Lissemore, K.D.;

LeBlanc, S.J. (2014):

Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age.

Prev. Vet. Med. 113(2), 231-240

Wittum, T.E.; Perino, L.J. (1995):

Passive immune status at postpartum hour 24 and long-term health and performance of calves.

Am. J. Vet. Res. 56, 1149-1154

Yalow, R.S.; Berson, S.A. (1960):

Immunoassay of endogenous plasma insulin in man.

J. Clin. Invest. 39(7), 1157-1175

Zanker, I.A.; Hammon, H.M.; Blum, J.W. (2001):

Activities of gamma-glutamyltransferase, alkaline phosphatase and aspartate-aminotransferase in colostrum, milk and blood plasma of calves fed first colostrum at 0-2, 6-7, 12-13 and 24-25 h after birth.

J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med. 48(3),179-185

Zaremba, W.; Grunert, E.; Binder, A. (1982):

Der Einfluß verschiedener Tränkeverfahren auf die Gesundheit neugeborener Kälber.

Tierärztl. Umsch. 37, 469-471

Zaremba, W.; Grunert, E.; Heuwieser, W.; Schiffner-Mehrens, H. (1985):

Untersuchungen über die Immunglobulinabsorption bei Kälbern nach Verabreichung von Kolostrum per Schlundsonde im Vergleich zur freiwilligen Aufnahme.

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 92, 18-20

Zaremba, W.; Guterbock, W.; Ahlers, D. (1995):

Einfluß von Zughilfe bei geburtshilflichem Eingreifen auf den Gesundheitszustand des Kalbes in der peri- und postnatalen Phase.

Prakt. Tierarzt 10, 870-876

9 Anhang

Tabelle 15: Labordiagnostische Daten aus den Serumproben der Kälber.

Die Ergebnisse der IgG-Konzentration nach Bestimmung mit Hilfe des Fassisi® Bovine IgG Tests aus tiefgefrorenem Serumproben sind mit „TK“ gekennzeichnet.

Einheiten des Fassisi® Bovine IgG Tests: 1 = ausreichende Versorgung mit kolostralen Antikörpern, 2 = partieller fehlerhafter passiver Transfer, 3 = fehlerhafter passiver Transfer.

Kalb Nr.	Alter in Tagen	Erkrankt 0: nein 1: ja	Ges. Protein [g/dl]	GGT [IE/l]	ELISA [mg/ml]	Fassisi® Bovine IgG Test
1	1	0	6	602	10,5	1
2	3	1	4,8	11	0,8	3
3	3	1	4,1	4	0,4	3
4	7	1	5,6	20	3,5	2
5	2	1	4,2	44	1,8	3
6	2	1	5	12	1,1	2
7	4	1	3,8	11	0,2	3
8	2	1	4,8	270	4,1	1
9	5	1	5,4	17	0,9	2
10	2	1	5,2	20	0,1	3
11	2	1	5,6	390	17,1	1

Kalb Nr.	Alter in Tagen	Erkrankt 0: nein 1: ja	Ges. Protein [g/dl]	GGT [IE/l]	ELISA [mg/ml]	Fassisi® Bovine IgG Test
12	1	1	2,8	81	1,5	2
13	1	1	4,4	18	0,4	2
14	2	1	5,7	1410	10,9	1
15	3	1	5,2	66	4,1	3
16	3	1	4,3	68	2,4	3
17	0	1	4,6	22	0,4	3
18	3	1	7,2	280	20,2	2
19	8	1	4,3	9	1,7	3
20	5	1	4	20	1,3	3
21	2	1	4,6	46	2,5	2
22	1	0	5	317	7,2	1
23	8	0	5,6	148	9,9	1
24	6	0	5	203	4,3	1
25	4	0	6,4	612	15,2	1
26	4	0	5,6	302	9,1	1
27	3	0	4,8	120	4,8	1
28	1	0	5,7	1230	9,3	1
29	3	1	4,4	55	9,6	2

Kalb Nr.	Alter in Tagen	Erkrankt 0: nein 1: ja	Ges. Protein [g/dl]	GGT [IE/l]	ELISA [mg/ml]	Fassisi® Bovine IgG Test
30	3	1	5	155	5,4	1
31	0,5	0	6	728	11,3	1
32	0,5	0	4,5	1070	2,9	3
33	1	1	6,4	542	14,8	1
34	3	1	4,3	58	1,9	3
35	2	1	4,4	93	6,1	2
36	1	0	4,6	464	4,1	2
37	3	0	5	35	2,7	3
38	0	0	5,2	3	0,1	3
39	1	0	6	295	13,4	3
40	1	0	5,8	1740	14,8	1
41	1	0	5,8	670	19,9	2
42	0	0	5,1	430	7,5	3
43	0	0	7	2310	39,4	3
44	0,5	0	4	103	3,3	3
45	4	0	7,4	202	47,5	1
46	1	0	5,6	276	15	3
47	0,5	0	4,3	184	7,7	3

Kalb Nr.	Alter in Tagen	Erkrankt 0: nein 1: ja	Ges. Protein [g/dl]	GGT [IE/l]	ELISA [mg/ml]	Fassisi® Bovine IgG Test
48	4	0	6,8	214	38,1	2
49	1	0	5,4	850	16,4	3
50	1	0	8	1470	33,7	3
51	3	0	4,9	83	9,8	3
52	2	1	4,5	108	8,1	3
53	2	1	4,6	305	8,7	2
54	3	1	4,6	28	4	3
55	3	0	4,7	770	7,4	3
56	1	0	5,6	770	12,6	2
57	0,5	0	4,6	7	2,3	3
58	0,5	0	4,6	5	2,6	3
59	6	1	3,7	25	10,1	1
60	5	0	5,5	251	16,4	1
61	0,5	1	4,3	330	4,6	2
62	5	1	4,4	146	13,3	2
63	4	0	4,8	49	5,4	3
64	4	0	5,2	98	10,1	2
65	1	0	4,9	334	6,4	2

Kalb Nr.	Alter in Tagen	Erkrankt 0: nein 1: ja	Ges. Protein [g/dl]	GGT [IE/l]	ELISA [mg/ml]	Fassisi® Bovine IgG Test
66	0	0	4,8	8	0,5	3
67	0	0	4,6	6	1,2	3
68	4	0	5,2	41	10,6	2
69	7	1	5	42	7,6	3
70	0,5	0	4,6	21	4,4	3
71	0	0	4,8	6	0,5	3
72	7	1	3,5	27	0,5	3
73	2	1	6,9	259	18,9	3
74	2	1	4,5	65	7,1	3
75	1	1	5,6	147	16,9	3
76	1	1	4,9	19	3,4	3
77	3	0	5,6	850	21,2	2
78	3	1	6,5	324	29,5	1
79	3	1	3,5	9	0,5	3
80	2	0	6,6	136	24,9	3
81	0	0	4,2	4	0,5	3
82	1	1	4	8	1,9	3
83	0	0	4,8	6	2,5	3

Kalb Nr.	Alter in Tagen	Erkrankt 0: nein 1: ja	Ges. Protein [g/dl]	GGT [IE/l]	ELISA [mg/ml]	Fassisi® Bovine IgG Test
84	3	0	5,8	195	17,5	2
85	2	0	4,4	20	1,7	3
86	8	0	5,8	334	8,6	3
87	0	0	4,6	6	0,5	3
88	2	0	4,3	23	3,1	3
89	2	0	4,2	27	3,5	3
90	1	0	4,6	1240	4,4	3
91	0	0	4,3	4	0,85	3
92	0	0	4,2	4	0,5	3
93	0	0	4,2	4	0,8	3
94	4	1	4,4	10	1,1	3
95	5	1	7,2	83	12,7	3
96	0	0	4,4	4	0,5	3
97	0	0	4,8	4	0,5	3
98	0	0	4	4	0,5	3
99	2	0	5,8	431	10,3	3
100	4	0	5,2	151	9,6	2
101	5	0	4,2	14	1,6	3

Kalb Nr.	Alter in Tagen	Erkrankt 0: nein 1: ja	Ges. Protein [g/dl]	GGT [IE/l]	ELISA [mg/ml]	Fassisi® Bovine IgG Test
102	5	0	4,3	12	1,2	3
103	7	0	5,1	88	6,6	2
104	7	0	4,7	34	5,1	3
105	8	0	5,8	191	12,9	3
106	10	0	4,8	34	5,3	3
107	3	0	5	590	10,7	2
108	4	0	6,2	670	11,8	3
109	4	0	5	83	5,9	3
110	6	0	4,2	82	5,9	3
111	7	0	5,5	123	15,3	3
112	8	0	6,2	79	18,9	3
113	7	0	5,6	118	13,1	3
114	1	0	5	493	12,8	2
115	1	1	5,2	700	13,8	2
116	2	0	5,2	229	9,3	3
117	2	0	6,4	640	11,4	2
118	2	0	5	486	9,5	2
119	2	0	4,8	113	7,2	3

Kalb Nr.	Alter in Tagen	Erkrankt 0: nein 1: ja	Ges. Protein [g/dl]	GGT [IE/l]	ELISA [mg/ml]	Fassisi® Bovine IgG Test
120	2	0	5	118	6,2	3
121	2	0	5,1	139	7,8	2
122	4	0	4,8	85	6,3	1 (TK)
123	4	0	6	253	13,1	1 (TK)
124	5	0	5,3	278	12,1	1 (TK)
125	5	0	4,8	33	5,8	1 (TK)
126	5	0	5,4	82	7,8	1 (TK)
127	6	0	4,8	29	5,3	1 (TK)
128	6	0	5	52	6,6	1 (TK)
129	7	0	4,8	34	3,3	1 (TK)
130	7	0	4,4	35	3,1	1 (TK)
131	7	0	4,2	61	3,8	1 (TK)
132	10	0	5,2	183	7,4	1 (TK)
133	9	0	5,6	119	10,5	1 (TK)
134	9	0	5	54	2,9	1 (TK)
135	8	0	4,3	30	1,6	1 (TK)
136	7	0	5,1	132	5,9	1 (TK)
137	0	0	4,1	5	0,5	3

Kalb Nr.	Alter in Tagen	Erkrankt 0: nein 1: ja	Ges. Protein [g/dl]	GGT [IE/l]	ELISA [mg/ml]	Fassisi® Bovine IgG Test
138	0	0	4,4	4	0,5	3
139	0	0	4,4	4	0,5	3
140	7	1	3,6	18	4,9	1
141	1	0	5,2	740	8,3	3
142	2	0	5	100	5,9	1
143	3	0	6,2	346	10,9	1
144	4	0	5,2	148	5,7	1
145	4	0	4,8	249	6,7	1
146	5	0	5,4	149	6,8	1
147	6	0	4,8	90	4,9	1
148	6	0	5,6	43	13,4	3
149	6	0	4,2	26	2,4	1
150	7	0	4,8	44	3,8	3
151	7	0	5,2	71	4,9	1
152	7	0	4,8	33	2,5	1
153	7	0	5	79	4,4	3
154	8	0	6	152	10,5	2
155	8	0	5,6	93	7,8	1

Kalb Nr.	Alter in Tagen	Erkrankt 0: nein 1: ja	Ges. Protein [g/dl]	GGT [IE/l]	ELISA [mg/ml]	Fassisi® Bovine IgG Test
156	8	0	4,4	53	2,8	1
157	9	1	5,1	44	7,8	1
158	10	0	5,9	10	5,6	3
159	10	0	4,6	17	1,5	2
160	3	0	4,7	82	6,3	1
161	3	0	5,2	264	7,7	2
162	3	0	6,2	141	18,3	3
163	4	0	4,6	69	4,3	1
164	5	0	4,2	142	4,9	1
165	6	0	4,9	45	5,5	1
166	6	0	4,4	65	8,6	1
167	7	0	5,4	117	7,8	1
168	7	0	5	60	9,3	1
169	7	0	4,9	58	5,8	1
170	7	0	4,4	36	5,1	1
171	8	0	5,4	121	5,9	1
172	9	0	4,8	44	3,7	1
173	9	0	4,6	35	3,9	1

Kalb Nr.	Alter in Tagen	Erkrankt 0: nein 1: ja	Ges. Protein [g/dl]	GGT [IE/l]	ELISA [mg/ml]	Fassisi® Bovine IgG Test
174	9	0	5	52	6,2	1
175	9	0	5,8	52	11,8	1
176	10	0	5,4	73	12,5	1
177	10	0	5,2	72	11,2	1
178	10	0	4,4	14	3,5	3
179	0,5	0	4	265	3,7	1
180	0,5	0	4,1	202	3,2	2
181	1	0	5,8	470	10,8	1
182	1	0	4,3	166	4,3	3
183	8	0	4,9	78	4,8	3
184	4	0	5,8	309	9,8	3
185	4	0	5,1	219	6,7	2
186	4	0	5,9	730	16,6	1
187	4	0	6,2	590	14,7	1
188	5	0	4,6	39	1,5	1
189	6	0	4,4	27	2,5	3
190	7	0	5,3	138	7,6	3
191	7	0	5,2	53	4,1	1

Kalb Nr.	Alter in Tagen	Erkrankt 0: nein 1: ja	Ges. Protein [g/dl]	GGT [IE/l]	ELISA [mg/ml]	Fassisi® Bovine IgG Test
192	8	1	5,2	70	4,1	3
193	8	0	5	63	6,3	2
194	9	0	4,8	24	6,8	1
195	9	1	4,8	171	4,5	1
196	10	0	4,6	50	4,1	1
197	10	1	4,6	59	5,4	1
198	10	0	5	153	7,8	1
199	10	0	5,2	87	3,2	1
200	10	1	5,3	57	6,8	1
201	8	0	4,5	20	2,1	3
202	10	0	4,6	108	7,1	1
203	7	0	6,5	119	14,2	3
204	8	1	5,7	59	11,4	1
205	3	0	6,7	750	13,3	2
206	7	0	5	43	3,5	1
207	5	0	5	70	4,2	2
208	5	0	4,4	46	2,3	1
209	4	0	4,6	31	2,1	1

Kalb Nr.	Alter in Tagen	Erkrankt 0: nein 1: ja	Ges. Protein [g/dl]	GGT [I/E/l]	ELISA [mg/ml]	Fassisi® Bovine IgG Test
210	2	0	5,7	144	19,5	1
211	1	0	5,1	430	18,2	1
212	1	0	4,1	148	0,5	2
213	8	1	4,8	233	9,5	1
214	5	0	4,8	280	5,9	2
215	5	1	2,8	32	2,1	1
216	6	1	4,4	139	3,5	2
217	1	0	5,2	750	8,6	1
218	1	0	6	2170	12,4	1
219	0	0	3,8	8	0,7	3
220	0	0	4,7	310	3,5	2
221	0	0	5	458	3,2	1
222	1	0	5,6	990	10,5	1
223	2	0	6,8	710	16,6	1
224	2	0	8,3	1080	23,7	1
225	2	0	4,8	120	5,2	1
226	2	0	4,8	115	4,6	1
227	3	0	5	137	7,5	1

Kalb Nr.	Alter in Tagen	Erkrankt 0: nein 1: ja	Ges. Protein [g/dl]	GGT [IE/l]	ELISA [mg/ml]	Fassisi® Bovine IgG Test
228	4	0	5,1	216	8,1	1
229	4	0	5	158	5,9	1
230	4	0	4,8	135	6,9	1
231	5	0	5,6	291	15,8	1
232	5	0	5,9	215	12,3	1
233	5	0	5,9	321	16,9	2
234	5	0	6,1	410	16	1
235	5	0	5,6	262	12,6	1
236	5	0	4,8	179	9,6	1
237	5	0	5,8	321	20,2	1
238	5	0	5,6	247	19,3	1
239	5	0	5,2	98	11,9	1
240	5	0	4,5	40	4,7	1
241	6	0	5,2	92	10,8	1
242	6	0	4,7	94	7,4	1
243	6	0	6	475	14,7	1
244	6	0	5,5	224	13,1	1
245	6	0	5,9	293	15,8	1

Kalb Nr.	Alter in Tagen	Erkrankt 0: nein 1: ja	Ges. Protein [g/dl]	GGT [IE/l]	ELISA [mg/ml]	Fassisi® Bovine IgG Test
246	7	0	5,5	183	18,6	1
247	7	0	6	183	27,1	2
248	1	0	4,9	780	12,7	1
249	1	0	5,4	301	7,3	1
250	1	0	5,2	578	9,4	3
251	2	0	5,2	86	4,3	3
252	5	0	5,5	247	13,2	2
253	5	0	5,8	333	17,4	1
254	6	0	4,9	65	5,6	2
255	6	0	4,4	40	2,4	3
256	7	0	5,6	149	17,8	2
257	7	0	5,2	140	8,2	2
258	7	0	5,5	244	15	2
259	8	0	6	282	14,9	1
260	9	0	6,1	181	15,6	1
261	9	0	5	56	6,6	1
262	9	0	5	17	4,1	1
263	10	0	5,6	96	15,2	1

Kalb Nr.	Alter in Tagen	Erkrankt 0: nein 1: ja	Ges. Protein [g/dl]	GGT [IE/l]	ELISA [mg/ml]	Fassisi® Bovine IgG Test
264	10	0	6,8	182	24,4	1
265	10	0	5,6	115	16,4	1
266	10	0	5	37	9	1
267	0	0	4	9	0,5	3
268	7	1	4,8	75	5,2	1
269	2	1	5,7	139	10,8	1
270	7	1	5,4	69	9,7	1
271	1	0	5,3	159	10,3	1
272	1	0	5,5	99	11,5	1
273	0,5	1	4	6	0,5	3
274	2	1	4,2	115	8,5	1
275	0,5	0	5,3	620	11,8	1
276	9	1	4,9	26	8,1	1
277	10	1	4,4	45	11,6	1
278	4	1	6,8	165	6,9	1
279	2	1	2,7	36	4,2	1
280	3	1	5,8	23	4,1	1
281	4	1	4,5	64	5,7	1

Kalb Nr.	Alter in Tagen	Erkrankt 0: nein 1: ja	Ges. Protein [g/dl]	GGT [IE/l]	ELISA [mg/ml]	Fassisi® Bovine IgG Test
282	3	1	5,3	19	1,1	3
283	6	1	5,8	8	5,8	3
284	5	1	3,8	5	1,2	3
285	5	1	4,4	14	1,1	3
286	3	1	8	168	19,9	1
287	3	1	3,1	155	12,5	1
288	3	1	5,6	192	21,8	1
289	4	1	6,4	77	17,3	1
290	4	1	6,5	183	16,3	1
291	2	1	6,6	86	7,5	3
292	6	1	3,7	8	0,5	2

Tabelle 16: Ergebnisse des Fassisi® Bovine IgG Testes in Abhängigkeit vom Zeitpunkt des Ablesens.

Einheiten des Fassisi® Bovine IgG Tests: 1 = ausreichende Versorgung mit kolostralen Antikörpern, 2 = partieller fehlerhafter passiver Transfer, 3 = fehlerhafter passiver Transfer.

Kalb Nr.	Ablesung nach 10 Minuten	Ablesung nach 20 Minuten	Ablesung nach 30 Minuten
267	3	3	3
268	1	1	1
269	1	1	1
270	1	1	1
271	1	1	2
272	1	1	1
273	3	3	3
274	1	2	2
275	1	1	1
276	1	1	1
277	1	1	1
278	2	1	1
279	1	1	1
280	1	1	1
281	1	1	1
282	3	3	3
283	2	2	3
284	3	3	3
285	1	1	2
286	1	1	1
287	1	1	1
288	1	1	1
289	1	1	1
290	1	1	1

Tabelle 17: Auswertung des Fassisi® Bovine IgG Testes durch unterschiedliche Ableser.

Einheiten des Fassisi® Bovine IgG Tests: 1 = ausreichende Versorgung mit kolostralen Antikörpern, 2 = partieller fehlerhafter passiver Transfer, 3 = fehlerhafter passiver Transfer.

Kalb Nr.	Person 1	Person 2	Person 3	Person 4	Person 5	Person 6
267	3	3	2	2	2	3
268	1	1	1	1	1	1
269	1	1	1	1	1	1
270	1	1	1	1	1	1
274	1	1	1	1	1	1
275	1	1	1	2	1	1
276	1	1	1	1	1	1
277	1	1	1	1	1	1
278	1	1	1	1	1	2
279	1	1	1	2	1	1
280	1	1	1	1	1	1
281	1	1	1	1	1	1

10 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.

11 Danksagung

Zum Abschluß vorliegender Arbeit möchte ich diejenigen erwähnen, die zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen haben.

Ich danke Herrn Prof. Dr. A. Wehrend herzlich für die Überlassung des Themas und die fortwährende Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit, die immer offene Tür und die schnellen Korrekturen.

Ebenfalls gehört mein Dank Frau Dr. S. Söllner-Donat von der Tierseuchenkasse Thüringen sowie dem praktischen Tierarzt Herrn Dr. W. Müller für die Ermöglichung und Unterstützung bei der Probennahme bei von ihnen betreuten Großbetrieben. Ohne sie wäre die vorliegende Arbeit nicht in diesem Umfange möglich gewesen.

An dieser Stelle auch ein großer Dank an die ungenannten Landwirte, die mir die Beprobung ihrer Tiere gestattet haben.

Vielen Dank an Herrn Dr. K. Failing und Frau M. Sparenberg von der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung für ihre Mithilfe bei der statistischen Auswertung meiner Untersuchungsergebnisse.

Ein Dank an meine Arbeitskollegen an der Klinik, die mich bei der Probennahme unterstützt und mir die Möglichkeit gegeben haben, diese stets zeitnah zu untersuchen. Dieser geht insbesondere an Frau J. Blad-Stahl für die Hilfe bei der labordiagnostischen Bearbeitung meiner Proben. Für die Übersetzung der Zusammenfassung ins englische danke ich Rainer. Lene möchte ich danken für ihre Zeit und ihre Ratschläge bei größeren und kleineren Fragen, ihre hilfsbereite Art und ihre Freundschaft.

Der größte Dank gebührt meiner Frau Alex. Ich danke ihr herzlich für ihre Hilfe bei der Probennahme, bei Korrekturen, ihr Verzicht auf meine Zeit und die Übernahme anderer Arbeit. Ohne sie hätte ich diese Dissertation nicht angefertigt.

ISBN: 978-3-86345-497-5



Verlag der DVG Service GmbH

Friedrichstraße 17 • 35392 Gießen

Tel.: 0641 / 24466 • Fax: 0641 / 25375

E-Mail: info@dvg.de • Web: www.dvg.de