

**ANTONIA SIECK**

---

Entwicklung der Antikörpertiter nach Impfung mit einer BVD-Lebendvakzine bei Kühen mit hoher und bei solchen mit niedrigerer Milchleistung



Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines  
**Dr. med. vet.**

beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

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

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

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

1. Auflage 2020

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

1<sup>st</sup> Edition 2020

© 2020 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen  
Printed in Germany



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

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

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

Aus der Klinik für Wiederkäuer und Schweine (Innere Medizin und Chirurgie) der  
Justus-Liebig-Universität

1. Betreuer: Prof. Dr. Dr. habil. K. Doll

2. Betreuer: Prof. Dr. F. Weber

**Entwicklung der Antikörpertiter nach Impfung mit einer  
BVD-Lebendvakzine bei Kühen mit hoher und bei solchen  
mit niedrigerer Milchleistung**

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

eingereicht von

**Antonia Sieck**

Tierärztin aus Göttingen

Gießen 2020

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

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

1. Gutachter: Prof. Dr. Dr. habil. K. Doll

2. Gutachter: Prof. Dr. F. Weber

Tag der mündlichen Prüfung:

28. August 2020

*Für meine Familie*

**Teile dieser Dissertation wurden bereits auf folgenden Tagungen präsentiert:**

Blumhagen, M.; Failing, K.; Mütze, K.; Doll, K.: Beziehungen zwischen Leistung und Nutzungsdauer bei hessischen Holstein- und Fleckviehkühen. DVG-Vet-Congress, Berlin, 09. bis 12. November 2017. Tagungsunterlagen Großtiere, S. 139-141.

Doll, K.; Blumhagen, M.; Sieck, A.: Relationships between milk yield and susceptibility to disease in dairy cows. XIXth Middle European Buiatric Congress, Lemberg (Ukraine), 24.-26.05.2019.

Doll, K.; König, M.; Sieck, A.: Beziehung zwischen Höhe der Milchleistung und humoraler Immunantwort bei Deutschen Holsteins. bpt-Kongress, München, 17. bis 19. Oktober 2019

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Literaturübersicht</b> .....	<b>4</b>
<b>2.1</b>	<b>Milchproduktion in Deutschland</b> .....	<b>4</b>
<b>2.2</b>	<b>Was versteht man unter einer „Hochleistungskuh“?</b> .....	<b>5</b>
<b>2.3</b>	<b>Politische Diskussion</b> .....	<b>6</b>
<b>2.4</b>	<b>Krankheiten durch hohe Milchleistung</b> .....	<b>8</b>
<b>2.5</b>	<b>Das Immunsystem</b> .....	<b>11</b>
2.5.1	Immunglobuline .....	14
2.5.2	Immunglobulin G .....	15
<b>2.6</b>	<b>Immunologische Auswirkungen einer Impfung in Abhängigkeit von der Art des Impfstoffes</b> .....	<b>15</b>
<b>2.7</b>	<b>Negative Energiebilanz</b> .....	<b>17</b>
2.7.1	Ketose .....	19
2.7.2	Fettleber .....	20
2.7.3	Pansenazidose .....	21
<b>2.8</b>	<b>Auswirkungen der NEB auf das Immunsystem</b> .....	<b>22</b>
<b>2.9</b>	<b>Zucht auf Krankheitsresistenz</b> .....	<b>29</b>
<b>2.10</b>	<b>Kuhkomfort</b> .....	<b>30</b>
<b>2.11</b>	<b>Körperkondition (Body Condition Score)</b> .....	<b>30</b>
<b>2.12</b>	<b>Beurteilung der Stoffwechselsituation anhand verschiedener Blutparameter</b> ....	<b>31</b>
<b>2.13</b>	<b>Nachweis von Entzündungsreaktionen</b> .....	<b>33</b>
<b>2.14</b>	<b>Prävalenz und Bedeutung von BVD/MD in Deutschland</b> .....	<b>33</b>
2.14.1	Ätiologie und Pathogenese .....	34
2.14.2	Bekämpfung .....	36
2.14.3	BVD-Impfstoffe .....	38
<b>3</b>	<b>Tiere, Material und Methoden</b> .....	<b>39</b>
<b>3.1</b>	<b>Auswahl der Betriebe</b> .....	<b>39</b>
<b>3.2</b>	<b>Auswahl der Probanden (Einzeltiere)</b> .....	<b>40</b>
<b>3.3</b>	<b>Milchkontrolldaten</b> .....	<b>41</b>
<b>3.4</b>	<b>Kuhkomfortindex</b> .....	<b>42</b>
<b>3.5</b>	<b>Analysemethoden und Aufbereitung der Proben</b> .....	<b>43</b>
<b>3.6</b>	<b>Auswertung der Antikörperproben</b> .....	<b>44</b>
<b>3.7</b>	<b>Impfung</b> .....	<b>45</b>
<b>3.8</b>	<b>Antikörper-Bestimmung, Testdurchführung des SNT</b> .....	<b>45</b>

<b>3.9</b>	<b>Tierversuchsgenehmigung</b> .....	<b>49</b>
<b>3.10</b>	<b>Statistische Auswertung</b> .....	<b>49</b>
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>51</b>
<b>4.1</b>	<b>Betriebskennzahlen</b> .....	<b>51</b>
<b>4.2</b>	<b>Milchleistung im Gruppenvergleich</b> .....	<b>52</b>
<b>4.3</b>	<b>Die Verteilung der Antikörpertiter</b> .....	<b>54</b>
<b>4.4</b>	<b>Zusammenhang zwischen den Blut-, Urin- und Leistungsparametern und den Antikörpertitern (Einzeltierebene)</b> .....	<b>58</b>
<b>4.5</b>	<b>Zusammenhang zwischen den Blut-, Urin- und Leistungsparametern und den Antikörpertitern (Herdenebene)</b> .....	<b>60</b>
<b>4.6</b>	<b>Vergleich zwischen Test- und Kontrollgruppe bezüglich der ermittelten Blut- und Harnparameter</b> .....	<b>61</b>
<b>4.7</b>	<b>Einfluss der Holstein-Farbrichtung auf die Antikörpertiter</b> .....	<b>62</b>
<b>4.8</b>	<b>Beziehung zwischen den Ergebnissen der Allgemeinuntersuchung und den Antikörpertitern</b> .....	<b>62</b>
<b>4.9</b>	<b>Häufigkeitsverteilungen der Referenzwertüberschreitungen</b> .....	<b>64</b>
<b>4.10</b>	<b>Einfluss des Kuhkomforts auf den Antikörpertiter</b> .....	<b>66</b>
<b>4.11</b>	<b>Body Condition Score</b> .....	<b>66</b>
<b>5</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>68</b>
<b>5.1</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>68</b>
5.1.1	Betriebe.....	68
5.1.2	Analysemethode.....	69
5.1.3	Begründung für den gewählten Impfzeitpunkt.....	70
<b>5.2</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>71</b>
5.2.1	Betriebsauswertungen.....	71
5.2.2	Antikörpertiter-Entwicklung im Überblick.....	71
5.2.3	Antikörpertiter infolge einer BVD-Feldinfektion oder einer Impfung.....	73
5.2.4	Boostereffekte.....	74
5.2.5	Titerunterschiede im Vergleich zu anderen Studien.....	75
5.2.6	Beziehung zwischen der Milchleistung und den BDV-Antikörpertitern.....	77
5.2.7	Beziehungen zwischen den NEFA-Konzentrationen und den BVD-Antikörpertitern.....	79
5.2.8	Beziehungen zwischen der BHBA-Konzentration und den BVD-Antikörpertitern.....	81
5.2.9	Beziehungen zwischen der Netto-Säure-Basen-Ausscheidung und den BVD-Antikörpertitern.....	82
5.2.10	Beziehungen zwischen der GLDH-Aktivität und den BVD-Antikörpertitern.....	83
5.2.11	Beziehungen zwischen den BVD-Antikörpertitern und der Laktationsnummer.....	84

5.2.12	Beziehungen zwischen der Körperkondition und den BVD-Antikörpertitern .....	85
5.2.13	Beziehungen zwischen klinischen Befunden und den BVD-Antikörpertitern .....	86
5.2.14	Beziehungen zwischen dem Kuhkomfort in den Betrieben und den BVD-Antikörpertitern .....	86
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>88</b>
<b>7</b>	<b>Summary .....</b>	<b>90</b>
<b>8</b>	<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>92</b>
<b>9</b>	<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>93</b>
<b>10</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>XCIV</b>
<b>11</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>CVI</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AVA Agrar- und Veterinär Akademie  
BCS Body condition score; Körperkondition  
BHBA Beta-Hydroxybutyrat  
BHV Bovines Herpesvirus  
BMEL Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft  
BVD Bovine Virusdiarrhoe  
DGfZ Deutsche Gesellschaft für Züchtungskunde e.V.  
DHV Deutscher Holstein Verband  
FBS Fötale Bovines Kälberserum  
FLI Friedrich-Löffler-Institut  
GH Growth Hormone; Wachstumshorm  
GLDH Glutamat-Dehydrogenase  
HVL Hessischer Verband für Leistungs- und Qualitätsprüfungen in der Tierzucht e.V.  
Ig Immunglobulin  
IL Interleukin  
ISS internes Standardserum  
kDa kilo Dalton  
MD Mucosal Disease  
MHC Major histocompatibility complex; Haupthistokompatibilitätskomplex  
NEB Negative Energiebilanz  
NEFA unveresterte Fettsäuren; non-esterified fatty acids  
NEL Netto Energie Laktation  
NES Negativserum  
nzp nicht zytopathogen  
o. b. B. ohne besonderen Befund  
PI persistent infiziert  
PMN Polymorphkernige Neutrophile Granulozyten  
SARA Sub-Acute Ruminal Acidosis; subakute Pansenazidose  
SNT Serum-Neutralisationstest  
TH-Zellen T-Helferzellen  
TierSchG Tierschutzgesetz  
TNF Tumor-Nekrosefaktor  
usw und so weiter  
VGV Virus-Gebrauchsverdünnung  
VIT Vereinigte Informationssysteme Tierhaltung w.V.

VLDL Very Low Density Lipoproteins; Lipoproteine mit sehr niedriger Dichte  
zp zytopathogen



## 1 Einleitung

Die enorme Steigerung der Milchleistung in der modernen Milchviehhaltung ist das Ergebnis einer systematischen genetischen Selektion, einer verbesserten Nährstoffversorgung und eines strukturierten Managements (INGVARTSEN 2006, MARTENS 2016). Diese Entwicklung gerät allerdings immer mehr in ein Spannungsfeld zwischen züchterischen Möglichkeiten und gesellschaftlichen Erwartungen an eine tiergerechte Milchproduktion. Von verschiedener Seite wird postuliert, dass es sich bei der Zucht auf hohe Milchleistung um eine „tierschutzrelevante Qualzucht“ handle, welche einen Verstoß gegen § 11b (1) Nr. 2c TierSchG darstelle (DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ZÜCHTUNGSKUNDE E.V. 2013, BUNDESTIERÄRZTEKAMMER 2016). In der heutigen Gesellschaft wird diese Entwicklung daher zunehmend kritisiert; so werden die inzwischen realisierten hohen Milchleistungen von teilweise über 10.000 kg oft pauschal für eine erhöhte Krankheitsanfälligkeit dieser Kühe mit Verkürzung der Nutzungsdauer verantwortlich gemacht (MARTENS 2012a,b, HÖRNING 2013, MARTENS 2016). Aus der postulierten Kausalität ergeben sich dann rasch mögliche Beziehungen zu den Bestimmungen des § 11b TierSchG („Qualzuchtparagraph“). Und entsprechend wird dieser züchterische Trend auch in dem Kommentar zum Tierschutzgesetz von HIRT et al. (2013) als eindeutig tierschutzwidrig bezeichnet. Daher bemühen sich mittlerweile verschiedene Gremien um die Erarbeitung von Standards, welche die Tierwohlanforderungen in der Nutztierzucht konkretisieren sollen (PraeRi – Eine Prävalenzstudie zum Thema Tiergesundheit, Hygiene und Biosicherheit in deutschen Milchkuhbetrieben, BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG UND LANDWIRTSCHAFT, BUNDESVERBAND RIND UND SCHWEIN E. V. 2018). Grundlage ist der § 1 des Tierschutzgesetzes, in dem die Vermeidung von Schmerzen, Leiden und Schäden als zentrale Kriterien festgelegt sind. Wie der Kompetenzkreis Tierwohl beim Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (2016) in diesem Zusammenhang festgestellt hat, komme die Nutztierhaltung ohne die politische und gesellschaftliche Erörterung sowie wissenschaftliche Aufarbeitung nicht aus ihrer permanenten Defensive (KOMPETENZKREIS TIERWOHL BEIM BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG UND LANDWIRTSCHAFT 2016, KOMPETENZKREIS TIERWOHL BEIM BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG UND LANDWIRTSCHAFT 2016). Seitens des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft wurde dieser Kompetenzkreis im Jahre 2014 im Rahmen der „Tierwohl-Offensive“ einberufen. Entsprechende Forderungen zur wissenschaftlichen Erarbeitung und Konkretisierung der Zuchtziele und deren Grenzen in der Rinderzucht gibt es weiterhin durch den Arbeitskreis für Tierschutz der Bundestierärztekammer. Dabei existieren divergierende Ansichten hinsichtlich der tatsächlichen Auswirkungen einer hohen Milchleistung auf das Wohlbefinden und die Gesundheit der Milchkühe. Zudem ist umstritten, ob eine niedrigere Milchleistung unter den derzeitigen Haltungsbedingungen weniger Schmerzen, Leiden und Krankheiten garantiert (GRÖHN et al. 1995, FLEISCHER et al. 2001, INGVARTSEN et al. 2003,

WANGLER & SANFTLEBEN 2007). Die verschiedenen Argumente und Untersuchungen werden im Kapitel 2.4 genauer ausgeführt.

Diese Arbeit soll dazu beitragen, wissenschaftliche Fakten zur Einschätzung dieser Fragestellungen zu liefern. Hohe Milchleistung ist allerdings ein flexibler Begriff. So hat heutzutage eine „Hochleistungsherde“ in Deutschland einen Stalldurchschnitt von über 10.000 kg Milch pro Tier in einer Laktation (MARTENS 2016). Regionale und nationale Unterschiede in der Höhe der Milchleistung sind dabei nicht außer Acht zu lassen (ROSSOW 2002). In den USA werden Herdenleistungen von 12.000 kg Milch angestrebt (Rossow 2002), in den neuen Bundesländern liegt die Milchleistung pro Kuh im Landesdurchschnitt derzeit höher als in den alten Bundesländern. Beispielsweise lag die durchschnittliche Milchleistung im Jahr 2015 in Niedersachsen bei 8.910 kg und in Thüringen bei 9.505 kg (JAHRESABSCHLUSS LANDESKONTROLLVERBAND 2015).

Gesundheits- und Reproduktionsprobleme schmälern die Gewinne aus der Milchproduktion. Die Lieferung von weniger Milch oder von Milch geringerer Qualität an die Molkereien, höhere Kosten für tierärztliche Behandlungen und hohe Remontierungsraten wirken sich nachteilig auf den Gewinn der Landwirte aus (INGVARTSEN 2006). Dabei stellt sich die Frage, ob eine Hochleistungskuh, die mehr als 10.000 kg Milch in einer Laktation gibt, ein höheres Risiko hat, an Stoffwechsel- oder Infektionskrankheiten zu erkranken, als eine Milchkuh mit einer durchschnittlichen Milchleistung von 7.000 kg. Zu diesem Thema gehen die Meinungen zwischen der Öffentlichkeit, den Landwirten und Zuchtverbänden, der Bundestierärztekammer, den praktizierenden Tierärzten sowie den Lehrmeinungen der Universitäten und Forschungseinrichtungen sehr weit auseinander (INGVARTSEN et al. 2003, ROSSOW 2007, STANGASSINGER 2007, STAUFENBIEL 2013, BRADE 2016, BUNDESTIERÄRZTEKAMMER 2016, MARTENS 2016, BRADE et al. 2016, DEUTSCHER HOLSTEIN VERBAND E.V. & VEREINIGTE INFORMATIONSSYSTEME TIERHALTUNG W.V. 2016).

Sowohl in der deutschen als auch in der internationalen Literatur findet sich folglich stets der Hinweis auf weiteren Forschungsbedarf zur Klärung dieser Fragestellungen, insbesondere hinsichtlich des zu diskutierenden Zusammenhangs zwischen Milchleistung, Krankheitsanfälligkeit und Tierschutz. In ihrer Resolution vom April 2016 fordert die Bundestierärztekammer das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) dazu auf, die Zucht auf hohe Milchleistung und die daraus resultierenden erblich bedingten Gesundheitsrisiken in der Nutztierzucht näher zu bestimmen (BUNDESTIERÄRZTEKAMMER 2016). Auch die Deutsche Gesellschaft für Züchtungskunde e.V. unterstützt die Suche nach Ursachen und Lösungsansätzen zur Klärung der komplexen Zusammenhänge zwischen Erkrankungshäufigkeit im peripartalen Zeitraum und der Nutzungsdauer (DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ZÜCHTUNGSKUNDE E.V.

2016). Bislang existieren nur wenige Studien von hinreichender Evidenz über den Zusammenhang von Milchleistung und Krankheitsrisiko (DETILLEUX et al. 1995, INGVARTSEN et al. 2003). So ist weitere Forschung notwendig, um Indikatoren zu erkennen und zu definieren, welche als notwendige Standardkriterien dienen könnten (INGVARTSEN et al. 2003). Die meisten der bislang veröffentlichten Studien beziehen sich auf die Beziehungen zwischen Krankheitsinzidenz und hoher Milchleistung (ERB et al. 1981, GRÖHN et al. 1995, FLEISCHER et al. 2001, INGVARTSEN et al. 2003). Daneben gibt es Arbeiten über genetische Einflüsse auf die Krankheitsanfälligkeit und zur Zucht auf Krankheitsresistenz bei Milchkühen (SIMIANER et al. 1991, DETILLEUX et al. 1995, THOMPSON-CRISPI et al. 2012a, MARTENS 2016).

Der beste Weg zur Beurteilung des Immunsystems besteht darin, den Verlauf und die Reaktion der Kuh auf einen Reiz zu beobachten. Dies lässt sich am ehesten nach einer Vakzination mit daraufhin gebildeten, messbaren Antikörpern feststellen (SORDILLO 2016). Abgesehen von einer Studie von Detilleux aus dem Jahr 1995 konnte jedoch bisher keine weitere Studie gefunden werden, in welcher der Zusammenhang zwischen hoher Milchleistung und Immunantwort nach Impfung untersucht wurde. Aufgrund der vielfach postulierten Auffassung, Kühe mit hoher Milchleistung seien in ihrer Immunabwehr beeinträchtigt und daher infektionsanfälliger (ROSSOW 2002, MARTENS 2012b), sollte in der eigenen Arbeit diese Fragestellung im Rahmen einer kontrollierten klinischen Studie untersucht werden. Hierzu sollten Kühe in Milchviehbeständen mit hoher Milchleistung sowie solche in Betrieben mit einem niedrigeren Leistungslevel mit einem BVDV-Lebendimpfstoff (Bovela<sup>®</sup>, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH) geimpft und nachfolgend die Entwicklung der Antikörper-Titer erfasst werden. Zugrunde lag dabei die auf Literaturangaben basierende Arbeitshypothese, dass sich eine sehr hohe Milchleistung auf die Bildung derartiger Antikörper negativ auswirken dürfte (DETILLEUX et al. 1995, ROSSOW 2002, PLATT et al. 2017).

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Milchproduktion in Deutschland

Aus dem Jahresbericht der Arbeitsgemeinschaft Deutscher Rinderzüchter e.V. geht hervor, dass im Jahr 2015 der Produktionszweig Milcherzeugung 42,3 % der tierischen Erzeugung ausmachte. Hinsichtlich der Betriebsstruktur sind jedoch auch auf diesem Sektor deutliche Veränderungen zu erkennen. Umfasste ein deutscher Durchschnittsbestand im Jahr 2005 noch ca. 38 Milchkühe, so ist innerhalb von 10 Jahren die Bestandsgröße um fast 22 Kühe angestiegen. Dabei ist bemerkenswert, dass sich die durchschnittlichen Betriebsgrößen zwischen den neuen und den alten Bundesländern um mehr als 120 Kühe unterscheiden. Hessen liegt im Bundesdurchschnitt mit 47 Milchkühen pro Betrieb im unteren Viertel. Führend war im Jahr 2015 Mecklenburg-Vorpommern mit durchschnittlich 223 Kühen pro Betrieb (ARBEITSGEMEINSCHAFT DEUTSCHER RINDERZÜCHTER E.V. 2017).

Nicht nur die Betriebsgröße, sondern auch die Milchleistung konnte im Kontrolljahr 2015 weiter gesteigert werden. Im Vergleich zum Vorjahr stieg die Milchleistung aller Kühe in Deutschland von 7.541 kg Milch/Kuh/Jahr auf 7.600 Milch/Kuh/Jahr. Im europaweiten Vergleich liegt Deutschland damit im oberen Drittel. Bemerkenswert ist die hohe Durchschnittleistung der Milchkühe und der Betriebe in Dänemark mit 9.333 kg Milch/Kuh/Jahr. Damit überschreitet es als einziges Land in Europa die 9.000 kg Marke.

Die Milchleistungssteigerung innerhalb eines Jahres, von 2014 auf 2015, entspricht dem Trend der letzten Jahrzehnte, in denen dieses Ziel durch systematische Zucht erreicht werden konnte. So lag im Jahr 1950 die durchschnittliche Milchleistung in Deutschland noch bei 2.500 kg pro Kuh und Jahr. Bis 1985 konnte diese bereits auf 4.629 kg gesteigert werden (ARBEITSGEMEINSCHAFT DEUTSCHER RINDERZÜCHTER E.V. 2017).

Die dominierende Milchviehrasse in Deutschland ist mit knapp 2,2 Millionen Kühen die Deutschen Holsteins, Farbrichtung schwarzbunt. Die Kühe dieser Rasse erreichten bei der Milchleistungsprüfung im Jahr 2016 eine Durchschnittsleistung von 9.224 kg.

Bei der Diskussion der Nutzungsdauer und der Remontierungsraten ist außerdem der Einfluss des fluktuierenden Milcherzeugerpreises zu berücksichtigen. Bekam beispielsweise ein Landwirt im Jahre 2014 in Deutschland für ein Kilogramm Milch noch durchschnittlich 37,58 Cent, so sank der Preis 2015 um etwa 8 Cent auf 29,10 Cent (ARBEITSGEMEINSCHAFT DEUTSCHER RINDERZÜCHTER E.V. 2017). Lassen sich bei einer derartigen Marktlage Färsen und Jungrinder schlecht oder nur zu einem niedrigen Preis verkaufen, werden sie stattdessen zur Remontierung verwendet. Dies bedeutet aber, dass ältere Kühe eher aus dem Bestand ausscheiden

müssen. Weiterhin kann bei niedrigen Milchpreisen der Sparzwang dazu führen, dass die Landwirte weniger in die Tiergesundheit investieren (WANGLER et al. 2009).

Zusammenfassend ist also festzustellen, dass sich nicht nur spezielle, oftmals mit der Leistung assoziierte Krankheiten, sondern ebenso eine Vielzahl weiterer Faktoren auf die Nutzungsdauer der Kühe auswirken können. Im Kapitel Nutzungsdauer wird dieses Thema nochmals umfassender dargestellt.

## **2.2 Was versteht man unter einer „Hochleistungskuh“?**

Im allgemeinen Sprachgebrauch, insbesondere in der politischen Diskussion, wird der Terminus „Hochleistungskühe“ für jene Tiere verwendet, die mit ihrer Milchleistung deutlich über dem Landesdurchschnitt der letzten Jahrzehnte liegen, das heißt mittlerweile in der Nähe von 10.000 kg oder darüber. In den USA liegt der Rekord inzwischen bei einer 365-Tage-Leistung von 35.457 kg, gehalten von der 5-jährigen Holstein-Kuh `Aftershok 3918` (HOLSTEIN ASSOCIATION USA 2017). In Deutschland lag der Durchschnitt der an der Milchleistungsprüfung teilnehmenden Tiere im Jahr 2015 bei 8.997 kg Milch, mit einem Fettgehalt von 4,01 % und einem Eiweißgehalt von 3,39 % (ARBEITSGEMEINSCHAFT DEUTSCHER RINDERZÜCHTER E.V. 2017). Im Bundesland Hessen lag die durchschnittliche Milchleistung im Kontrolljahr 2016 bei 8.295 kg. Ein Problem in der heutigen Milchproduktion wird darauf zurückgeführt, dass das genetische Potential der Tiere in den meisten Fällen nicht komplett ausgeschöpft werden kann. So liegt die Nutzungsdauer bei Milchkühen zurzeit im Mittel bei 3 Jahren, wenn auch seit einigen Jahren mit steigender Tendenz. Zählt man die Aufzuchtphase von 2,4 Jahren hinzu, erreicht eine Kuh im Durchschnitt ein Lebensalter von 5,4 Jahren (WANGLER et al. 2009). Neben der kurzen Nutzungsdauer muss beachtet werden, dass eine Jungkuh ihre AufzuchtKosten zunächst wieder verdienen muss, bevor sie gewinnbringend Milch produzieren kann. Bei dem derzeitigen Milchpreis sind die AufzuchtKosten erst in der Mitte der 2. Laktation gedeckt. Der physiologische Höhepunkt der Milchleistung liegt jedoch in der 3. bzw. in der 4. Laktation. Diese Laktationen werden jedoch aufgrund der derzeitigen Nutzungsdauer von der Hälfte der Tiere gar nicht erreicht (WANGLER et al. 2009).

Die Milchleistung ist zum großen Teil genetisch determiniert, entsprechend besteht für dieses Merkmal eine hohe Heritabilität sowohl auf mütterlicher als auch auf väterlicher Seite. Kühe mit hoher Leistung unterscheiden sich nach Aberhard et al. (1997) durch bestimmte körperliche Eigenschaften von solchen mit niedrigerer Leistung. So erwiesen sich Kühe mit Milchleistungen über 10.000 kg im direkten Gruppenvergleich gegenüber solchen mit einer Milchleistung von ca. 8.300 kg als signifikant größer. Außerdem hatten sie eine signifikant höhere Körpermasse und eine signifikant höhere Trockenmasseaufnahme in kg pro Tag (ABERHARD et al. 1997).

Spitzenkühe können Dauerleistungen erbringen, welche Energieumsätze in Höhe von nahezu dem 8-fachen des Grundumsatzes erfordern. Dies ist nur unter Einbindung und Mobilisation von Körperreserven möglich (STANGASSINGER 2007). Des Weiteren zeichnen sich solche Kühe dadurch aus, dass sie dazu in der Lage sind, die Milchleistung bis zum Laktationsgipfel bis zu 25 % aus körpereigenen Energiereserven zu bestreiten (ROSSOW 2007). Bei einer Tages-Milchleistung von 50 kg werden gleichzeitig 2 kg Milchfett, 1,6 kg Milcheiweiß, 2,5 kg Laktose, 65 g Kalzium, 50 g Phosphor und 8 g Magnesium über die Milch abgegeben (INGVARTSEN & MOYES 2013). Um diese Leistungen zu erbringen, benötigen die Kühe ausreichend Futter entsprechender Qualität. Eine gesunde Kuh frisst in der Hochlaktation durchschnittlich eine Trockenmasse von 25 kg. Dabei handelt es sich um ca. 30 bis 40 kg strukturiertes Futter, wie Gras- oder Maissilage und 5 bis 7 kg Kraffutter, etwa Getreide- oder Sojaschrot.

### **2.3 Politische Diskussion**

Gemäß § 11 Absatz 8 des deutschen Tierschutzgesetzes müssen gewerbliche Nutztierhalter seit dem 01.02.2014 betriebliche Eigenkontrollen durchführen. Vom Tierhalter sollen bestimmte Tierschutzindikatoren erhoben und bewertet werden (DEUTSCHER BUNDESTAG Deutscher Bundestag 1972).

Die Diskussion über die moderne Nutztierzucht bewegt sich derzeit im Spannungsfeld zwischen Leistung, Tiergesundheit, Ökonomie und Wissenschaft. Aufgrund des öffentlichen Interesses an diesem Thema hat deshalb die Projektgruppe „Ökonomie und Tiergesundheit“ der Deutschen Gesellschaft für Züchtungskunde e.V. (DGfZ) eine umfangreiche Stellungnahme zur gegenwärtigen Situation in der Rinderzucht verfasst. In diesem Positionspapier werden Handlungsempfehlungen und der noch ausstehende Forschungsbedarf im Bereich der Rinderzucht herausgestellt. Es sollen praxisrelevante Merkmale identifiziert werden, die durch eine leicht umsetzbare Diagnostik, zum Beispiel durch Analysen aus der Milch, die Lebensfektivität der Kühe erhöhen und eine Verbesserung des Managements ermöglichen. Demzufolge seien viele der sogenannten leistungsbezogenen Krankheiten und deren Ursachen, wie beispielsweise negative Energiebilanz (NEB), Ketose, subakute Pansenazidose (SARA) oder die Insulinresistenz bisher nicht ausreichend untersucht. Insofern gäbe es in diesen Bereichen weiterhin hohen Forschungsbedarf (DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ZÜCHTUNGSKUNDE E.V. 2013).

Doch nicht nur die DGfZ beschäftigt sich mit dem Bereich Nutztierzucht. Im Oktober 2014 wurde vom Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft der Kompetenzkreis „Tierwohl“ für die Dauer von zwei Jahren einberufen. Vertreten sind darin neben dem Ministerium auch Experten aus Praxis, Wissenschaft und berufsständischen Organisationen. Das Anliegen

des Kompetenzkreises war es, Impulse für die komplexen Prozesse der viel diskutierten Tierschutzfragen zu geben, deren Lösungen nur langfristig in enger Zusammenarbeit erreicht werden können.

Im Frühjahr 2016 wurde auf der Tagung der Agrar- und Veterinär-Akademie (AVA) die „Göttinger Erklärung zur Milchproduktion 2016“ verabschiedet, in der ebenfalls auf Missstände in der Milchleistungszucht hingewiesen wird. Unter anderem wurde festgestellt, dass Tiere mit einem genetischen Potenzial für hohe Leistung nur durch ein perfektes Management erfolgreich und gesund gehalten werden können. Nach Meinung der Autoren sollte es jedoch nicht das Ziel sein, die behaupteten Fehlentwicklungen in der Nutztierzucht durch das Management zu kompensieren. Das gegenwärtige Zuchtziel der Rasse Deutsche Holsteins wird insgesamt kritisch beurteilt (BRADE et al. 2016, BRADE et al. 2016).

Nachfolgend sahen sich neben der DGfZ auch der Informationsdienstleister Vereinigte Informationssysteme Tierhaltung w.V. (VIT) und der Deutsche Holstein Verband e.V. (DHV) veranlasst, zu den Aussagen der Göttinger Erklärung Stellung zu nehmen. Ihrer Auffassung nach kommen deren Autoren in Bezug auf das Zuchtziel zu falschen Schlussfolgerungen. Laut der Göttinger Erklärung läge das Hauptaugenmerk der züchterischen Selektion weiterhin auf hoher Milchleistung und vernachlässige dabei die Selektion auf Nutzungsdauer und Gesundheit, was sich an der Gewichtung des relativen Gesamtzuchtwertes widerspiegele. In einem eigenen Positionspapier versuchen die genannten Organisationen diese Aussagen richtigzustellen, indem sie deutlich herausstellen, dass die Gewichtung der Milchleistung am Gesamtzuchtwert bereits auf 45 % reduziert und ein Fitness-Index in der deutschen Holsteinzucht bereits 2010 eingeführt worden sei (DEUTSCHER HOLSTEIN VERBAND E.V. & VEREINIGTE INFORMATIONSSYSTEME TIERHALTUNG W.V. 2016).

Die Projektgruppe der DGfZ beteiligte sich ebenfalls mit einer Stellungnahme zur Göttinger Erklärung an dieser Diskussion. Dabei sahen die Autoren es als ihre Aufgabe an, die von ihnen als inkorrekt betrachteten Aussagen der Göttinger Erklärung zu korrigieren. Sie weisen ausdrücklich darauf hin, dass die „Kernfrage“ sei, warum manche Milchkühe und Herden in der Lage sind, hohe Milchleistungen mit einer langen Nutzungsdauer und einer besseren Persistenz in der Laktation als der Durchschnitt zu leisten (DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ZÜCHTUNGSKUNDE E.V. 2016).

Im April 2016 verabschiedete die Delegiertenversammlung der Bundestierärztekammer eine Resolution, in der das BMEL aufgefordert wird, erblich bedingte Krankheitsrisiken in der Nutztierzucht näher zu bestimmen und die tierbezogenen Tierschutzindikatoren gemäß § 11, Absatz. 8 TierSchG zu konkretisieren.

Im Endeffekt kommen diese Gremien zu dem Schluss, dass noch hoher Forschungsbedarf vorliegt und die Indikatoren für eine hohe Leistungsfähigkeit der Milchkühe noch nicht genau und ausreichend bestimmt sind. Ziel sollte deshalb eine enge Zusammenarbeit zwischen den Bereichen Zucht, Haltung, Physiologie und Klinik sein (DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ZÜCHTUNGSKUNDE E.V. 2016).

Aufgrund der gesellschaftlichen Diskussion und der politischen Forderungen haben Zuchtverbände und wissenschaftliche Einrichtungen mittlerweile verschiedene Projekte zur Klärung der umstrittenen Sachfragen initiiert.

Das Projekt „KuhVision“ ist ein Programm des DHV vom März 2016. Hauptsächliches Augenmerk wird dabei auf die Online-Datenerfassung durch die einzelnen Zuchtverbände gelegt. Optimierte Anpaarungsplanung und die Ermittlung des genomischen Zuchtwertes der weiblichen Nachzucht sollen den teilnehmenden Betrieben einen deutlichen Zuchtfortschritt ermöglichen. Des Weiteren verfügt das Programm über die Möglichkeit zur umfassenden Erfassung von Gesundheitsdaten mit dem Ziel, durch Rückmeldung an die Betriebe das Gesundheitsmonitoring und –management der Herde zu verbessern.

Das BMEL fördert seit Sommer 2016 das Projekt „PraeRi: Tiergesundheit, Hygiene und Biosicherheit in deutschen Milchviehbetrieben – eine Prävalenzstudie“. Dieses ist ein Verbundprojekt der Universitäten Hannover, München und Berlin. Gegenstand ist die Erfassung der Tiergesundheitsdaten in deutschen Milchkuhbeständen. In einem Zeitraum von 3,5 Jahren sollen stichprobenartig ausgewählte Betriebe ausführlich analysiert und die Tiere zur Ermittlung von Herdenindikatoren untersucht werden. Ziel dieser Studie soll es sein, Handlungsempfehlungen für die Milchkuhhaltung zu entwickeln, die allen darin beschäftigten Berufsgruppen Hilfestellung geben sollen (PraeRi – Eine Prävalenzstudie zum Thema Tiergesundheit, Hygiene und Biosicherheit in deutschen Milchkuhbetrieben).

### **2.4 Krankheiten durch hohe Milchleistung**

Vielfach wird die Behauptung aufgestellt, dass eine hohe Milchleistung die Krankheitsanfälligkeit erhöht (ERB et al. 1981, GRÖHN et al. 1995, RAJALA & GRÖHN 1998, FLEISCHER et al. 2001). Zahlreiche Wissenschaftler beschäftigen sich bereits seit vielen Jahren mit der Fragestellung, inwiefern sich die hohe Milchleistung auf die Gesundheit der Kühe auswirkt. Die große Anzahl an Literatur, Arbeiten und groß angelegten Studien aus unterschiedlichen Ländern und von verschiedenen Organisationen verdeutlichen die Bedeutung dieses Themas. Die publizierten Ergebnisse sind allerdings sehr unterschiedlich und teilweise widersprüchlich.

Bei den Variablen in diesen Studien handelt es sich oft um einzelne Krankheiten oder auch um die Behandlungshäufigkeit der Tiere in Abhängigkeit von der Laktationsleistung.

Anhand ihrer Untersuchungen in Praxisbetrieben Mecklenburg-Vorpommerns über die Häufigkeit von Behandlungen bei Milchkühen in Bezug auf deren Milchleistung kommen Wangler und Sanftleben (2007) zu dem Ergebnis, dass Kühe mit einer hohen 305-Tage-Leistung nicht häufiger erkrankten als Tiere mit geringerer Leistung. Durchschnittlich wurden alle Kühe 3,2-mal je Laktation behandelt, unabhängig davon, ob die Laktationsleistung 6.000 oder 12.000 kg Milch betrug.

Im Gegensatz dazu schätzen Fleischer et al. (2001) anhand ihrer Auswertungen, dass die Chance einer Mastitiserkrankung bei einer Kuh mit einer 305-Tage-Leistung von 12.000 kg Milch in der dritten Laktation 2,5-fach höher ist als bei einer Kuh mit 6.000 kg Milch.

In einem ausführlichen Positionspapier von Ingvarsen et al. (2003) findet sich eine Zusammenstellung der meisten bis dahin auf diesem Gebiet durchgeführten Studien. Die Ergebnisse epidemiologischer Studien, die überwiegend in den Jahren 1980 bis 2000 durchgeführt wurden, beziehen sich zum Teil auf die Milchleistung der vorangegangenen Laktation und auf die Laktationsinzidenz verschiedener Krankheiten.

Es wurden hauptsächlich die „leistungs- und produktionsbedingten Erkrankungen“ in Zusammenhang mit der Milchleistung evaluiert. In der Arbeit werden die Krankheitskomplexe Dystokie, Gebärparese, Ketose, Labmagenverlagerung, Nachgeburtsverhaltung, ovarielle Zysten, Mastitis, Metritis und Lahmheit betrachtet (INGVARTSEN et al. 2003). Nach Auswertung der Literatur kommen diese Autoren in ihrer Übersichtsarbeit zu dem Ergebnis, dass ausschließlich zwischen dem Auftreten von Mastitis und hoher Milchleistung eine signifikante Korrelation nachgewiesen werden konnte. Sie versuchen diesen Zusammenhang damit zu begründen, dass neben allen systemischen Effekten, die indirekte Auswirkungen aufeinander haben können, ein direkter Einfluss der hohen Milchleistung auf die Mastitisanfälligkeit besteht. Verantwortlich hierfür seien zwei anatomische Gegebenheiten des Euters, zum einen der Sphinktermuskel und zum anderen der Kreatinpfropf, welche die erste Infektionsbarriere gegen mam-märe Infektionen darstellen. Große Milchvolumina führen zu verlängerten Melkzeiten. Somit steigt die Gefahr, dass der Sphinktermuskel dabei verletzt wird und dadurch außerdem die Zitzenzisterne länger geöffnet bleibt. In dieser längeren Öffnungsphase können vermehrt Keime in das Euter eindringen. Des Weiteren könne eine höhere Milchabgabe zu einer Art „wash out“ der schützenden und bakterio-statischen Keratinschicht im Strichkanal führen. Aus den Schlussfolgerungen von Ingvarsen et al. (2003) wird deutlich, dass die bisherigen Forschungsergebnisse noch nicht ausreichen, um einen sicheren Zusammenhang zwischen Milchleistung und Produktionskrankheiten zu erklären. Weitere Forschung dahingehend wäre notwendig (INGVARTSEN et al. 2003).

Es ist sehr schwierig, eine einzelne Krankheit zu erfassen, da diese häufig weitere Sekundärerkrankungen nach sich zieht. Außerdem besteht das Problem, dass mit Auftreten einer Krankheit in der Regel die Milchleistung abnimmt (FLEISCHER et al. 2001). Damit werden dann nicht die hohen Leistungen erfasst, die eine hochleistende Kuh ausmacht. Gröhn et al. (1995) weisen darauf hin, dass die meisten dieser Krankheiten zu Beginn einer Laktation auftreten. Um eine individuelle, leistungsabhängige Beziehung herstellen zu können, müssen die Tiere bereits eine vorangegangene Laktation durchlaufen haben. Damit werden jedoch die Jungkühe, welche bereits in der ersten Laktation erkranken, meist aus diesen leistungsabhängigen Studien ausgeschlossen (GRÖHN et al. 1995).

Des Weiteren kann das Merzungsmanagement der Tierhalter bei Feldstudien zur Verzerrung der Datenbasis führen. Kühe mit geringerer Leistung werden schneller gemerzt als solche mit einem hohen genetischen Potential und einer höheren Leistung. Eine Kuh mit Mastitis und einer geringen Milchleistung wird eher aus dem Bestand selektiert als eine Kuh mit Mastitis und einer hohen Milchleistung. Diese Kuh wird dann vom Tierarzt behandelt. Dies könne dann den Anschein erwecken, dass hochleistende Tiere eher krank werden. Auch hier haben ökonomische Überlegungen Einfluss auf die Entscheidungen des Landwirtes (GRÖHN et al. 1995).

Eine weitere Schwierigkeit stellt die Zusammenarbeit zwischen Tierhaltern und Tierärzten dar. So können mangelnde Aufzeichnungen eine Verzerrung bei der Datenerhebung bedingen. Beispielsweise erfolgte in den Studien von Fleischer et al. (2001) und auch von Wangler und Sanftleben (2007) die Datenerhebung auf konventionell bewirtschafteten Betrieben, welche ihre Unterlagen dafür zur Verfügung stellten. Teilweise werden jedoch die Tiere auch vom Landwirt selbst behandelt, sodass manche Erkrankungen nicht vom Hoftierarzt registriert werden und daher auch nicht in den offiziellen Aufzeichnungen erscheinen (GRÖHN et al. 1995, FLEISCHER et al. 2001, WANGLER & SANFTLEBEN 2007).

Sowohl das Milchleistungsniveau als auch die Futteraufnahmekapazität und die Mobilisation von Körperreserven können einen Effekt auf das Krankheitsrisiko haben. Eine krankheitsbedingte Verminderung der Futteraufnahme geht meist einher mit einem Rückgang der Milchleistung und einer erhöhten Mobilisation von Körperreserven. Daraus ergibt sich die Schwierigkeit, die Krankheiten ausschließlich in Relation zur Milchleistung zu betrachten (INGVARTSEN et al. 2003). Auch Fleischer et al. (2001) sind der Auffassung, dass die Milchleistung nicht den einzigen Risikofaktor für das Auftreten von Krankheiten darstellt. Daneben müssen auch das Management und die Haltungsbedingungen mit dem Auftreten von Erkrankungen in Zusammenhang gestellt werden. Von entscheidender Bedeutung, ob eine Kuh erkrankt oder nicht, sind insbesondere das Herdenmanagement, die prophylaktischen Maßnahmen und das frühzeitige

Erkennen von Krankheitssymptomen. Unter diesen Voraussetzungen sind bei günstigen Umwelt- und Haltungsbedingungen die Kühe in der Lage hohe Milchleistungen zu erreichen und dabei gesund zu bleiben (WANGLER & SANFTLEBEN 2007, MULLIGAN & DOHERTY 2008).

## **2.5 Das Immunsystem**

Ein gut funktionierendes Immunsystem zeichnet sich durch folgende drei Punkte aus: 1. Das Immunsystem ist in der Lage, fremdes Material, wie Bakterien, Viren und Parasiten zu erkennen und zu eliminieren; 2. Es erkennt körpereigenes Gewebe und greift dieses nicht an und 3. Im Hinblick auf die Fortpflanzung wird fremdes Spermium toleriert und die Entwicklung eines Fetus im Uterus erlaubt eine erfolgreiche Reproduktion und grundsätzlich die Erhaltung der Art (GOFF 2006). Ingvarsen et al. (2003) definieren die Immunkompetenz als die Fähigkeit, Infektionen durch Aktivierung des angeborenen und erworbenen Immunsystems zu widerstehen. In erster Linie ist das Immunsystem dafür da, das Eindringen von Mikroorganismen zu verhindern, bestehende Infektionen und andere Zellschäden zu eliminieren und geschädigtes Gewebe zur normalen Funktion zu reorganisieren. Die Fähigkeit der Milchkühe, das Entstehen von Krankheiten, speziell im peripartalen Zeitraum, zu verhindern, ist zum Teil abhängig von der Effektivität ihres Immunsystems (SORDILLO 2016).

Das Immunsystem lässt sich in das angeborene oder unspezifische und das erworbene bzw. das spezifische Immunsystem unterteilen.

Das angeborene Immunsystem ist der vorherrschende Verteidigungsmechanismus während des Frühstadiums einer Infektion. Binnen Sekunden wird es am Ort der Gewebeschädigung gegenwärtig und aktiviert (SORDILLO 2016). Es ist überall im Körper gegenwärtig und wird durch diverse Stimuli aktiviert. Es stellt die erste Verteidigungsbarriere dar und kann so schnell und effizient reagieren, dass es unter Umständen erst gar nicht zu wahrnehmbaren physiologischen Veränderungen im Organismus kommt. Die Immunantwort wird reguliert durch neutrophile Granulozyten, Makrophagen, dendritische Zellen, Killerzellen (WEBER 2020) und weitere im Blut gelöste Stoffe. Dabei handelt es sich insbesondere um Komplementfaktoren, Akute-Phase-Proteine, Lysozyme (INGVARTSEN et al. 2003) und Zytokine (SORDILLO 2016).

Die Makrophagen erkennen und detektieren zum einen unspezifische fremde Pathogene und produzieren zum anderen Zytokine wie Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6 und Tumornekrosefaktor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Zytokine aktivieren sowohl das angeborene als auch das erworbene Immunsystem, bewirken ein Zusammenkommen der neutrophilen Granulozyten am Ort der Infektion und tragen entscheidend zu proinflammatorischen Vorgängen bei. Das Netzwerk der Zytokine besteht aus diversen Proteingruppen, die von Immunzellen, aber auch von anderen Zellen und Geweben gebildet werden (WEBER 2020). Des Weiteren phagozytieren die Makrophagen die eingedrungenen Pathogene und zerstören diese. Außerdem fungieren die Makrophagen als

eine Art Brücke zwischen angeborenem und erworbenem Immunsystem, indem sie durch Antigenpräsentation über Major Histocompatibility Complexes MHC-Klasse-II-Moleküle die T-Zellen aktivieren. Nach Beginn der Entzündungsreaktion sind am Ort der Infektion hauptsächlich polymorphkernige Granulozyten vorhanden. Diese migrieren aus dem Blutgefäßsystem zu der Stelle des eingedrungenen Organismus. Auch die neutrophilen Granulozyten sind in der Lage, phagozytierte Partikel, wie virale Proteine, an T-Zellen zu präsentieren (WEBER 2020). Die Kommunikation in solcher Art gereiztem Gewebe funktioniert über Chemokine (SORDILLO et al. 2009).

Die Zerstörung der Pathogene erfolgt über Phagozytose durch Makrophagen und Polymorphkernige Neutrophile Granulozyten (PMN). Innerhalb dieser Zellen entwickelt sich der „respiratory Burst“. Intrazelluläre Enzyme produzieren unter energieabhängigen Vorgängen das reaktive Wasserstoffperoxyd, welches spontan zu freien Sauerstoffradikalen reduziert wird. Diese freiwerdenden Sauerstoffradikale zerstören die aufgenommenen Antigene. Die verdauten Überreste werden durch Exozytose wieder aus den Zellen ausgeschleust (SORDILLO et al. 2009, SORDILLO 2016).

Bei der antiviralen Immunabwehr spielen neben den Makrophagen dendritische Zellen eine entscheidende Rolle. Sie sind in der Lage, große Mengen an antiviralen Typ-I-Interferonen zu bilden (BRACKENBURY et al. 2003, REID et al. 2011). Die Ausdifferenzierung der dendritischen Zellen zu Antigen-präsentierenden Zellen wird durch Zytokine im umliegenden Gewebe stimuliert. Je nach Aufenthaltsort dieser Zellen im Gewebe werden sie in myeloische und plasmatische dendritische Zellen unterschieden (REID et al. 2011, WEBER 2020). Besonders die plasmatischen dendritischen Zellen produzieren nach deren Aktivierung viel Typ-I-Interferon. Außerdem übernehmen diese Zellen eine Schlüsselfunktion in der Antigenpräsentation für B- und T-Zellen in den sekundären lymphatischen Organen und stellen somit den Zusammenhang zwischen angeborenem und erworbenem Immunsystem her (WEBER 2020).

Die Typ-I-Interferone stellen die erste Barriere gegen virale Infektionen dar (WEBER 2020). Nicht nur die bereits erwähnten dendritischen Zellen sind in der Lage, diese antiviralen Zytokine zu bilden, alle Zellen können nach Erkennung eines viralen Pathogens Interferone produzieren. Durch die Interferone wird eine weitere Virusvermehrung verhindert. Sie führen zu einer vermehrten Expression von Genen, welche für antivirale Proteine codieren (WEBER 2020). Interferone sind außerdem für das Ausmaß der adaptiven Immunantwort verantwortlich. Entgegen der Annahme, dass das Ausmaß der angeborenen Immunantwort bei wiederholter Exposition eines Pathogens immer gleich bleibt (SORDILLO et al. 2009), sind Interferone in der Lage, auf einen bekannten Reiz mit erhöhter Interferonantwort zu reagieren (WEBER 2020).

Ist die unspezifische Abwehr nicht hinreichend dazu in der Lage, die Pathogene zu eliminieren, sodass die Infektion weiterhin besteht, wird das spezifische Immunsystem aktiviert (INGVARTSEN & MOYES 2013).

Das erworbene Immunsystem auf der anderen Seite erkennt spezifische Antigene und führt zu einer selektiven Elimination von Pathogenen. Es ist in der Lage, unzählige individuelle Antigene zu erkennen und darauf zu reagieren. Ein intaktes Immunsystem besitzt außerdem die Fähigkeit, körpereigene von körperfremden Antigenen zu differenzieren. Im Gegensatz zum angeborenen benötigt das spezifische Immunsystem Zeit für eine adäquate Immunantwort. Durch den Gedächtniseffekt ist die Immunantwort jedoch stärker, länger anhaltend und effektiver in der Elimination von eingedrungenen Pathogenen (SORDILLO et al. 2009).

Die Hauptkomponenten des erworbenen Immunsystems sind die T-Lymphozyten, die Makrophagen und die Antikörper produzierenden B-Lymphozyten. B- und T-Lymphozyten stammen von pluripotenten Stammzellen aus dem Knochenmark. Die T-Zellen können unterteilt werden in TH-Zellen (T-Helferzellen), T-Suppressorzellen und in zytotoxische T-Zellen. Die TH-Zellen lassen sich zusätzlich in TH<sub>1</sub>- und TH<sub>2</sub>-Zellen unterscheiden. TH<sub>1</sub>-Zellen produzieren vornehmlich Zytokine, wie IL-2 und Interferon  $\gamma$  sowie den Tumornekrosefaktor  $\alpha$  und sind damit besonders wichtig für die zelluläre Immunantwort. Die TH<sub>2</sub>-Zellen sind entscheidend für die Aktivierung von B-Zellen durch die Produktion von IL-4, IL-5, IL-10 und IL-13. Die zytotoxischen T-Zellen erkennen und eliminieren mit Pathogenen infizierte Zellen. Des Weiteren zerstören sie alte und geschädigte Immunzellen (SORDILLO 2016).

Die B-Lymphozyten entwickeln sich aus Vorläuferzellen zu spezifischen B-Lymphozyten. Diese verfügen über eigene antigenspezifische Rezeptoren an der Oberfläche. Damit können fremde immunogene Strukturen gebunden und erkannt werden. Diese Oberflächenrezeptoren bestehen aus in der Membran verankerten Antikörpern. Während der Entwicklung reifen diese Vorläuferzellen in tierartspezifischen Reifungsorganen. Beim Vogel ist dieses Reifungsorgan die Bursa fabricii, bei den meisten Säugetieren ist es das Knochenmark und beim Wiederkäuer sind es zusätzlich die Peyerschen Platten des Ileums (BUTLER 1998). Vor Antigenkontakt ruht die B-Zelle, sie ist dementsprechend nicht teilungsaktiv. Nach einem Kontakt und Bindung des membranständigen Antikörpers mit einem entsprechenden Antigen kommt es zur Interaktion. In dem Moment der Bindung zwischen Rezeptor und Antigen kommt es zur Teilung und endgültigen Ausdifferenzierung der B-Zelle zur reifen Plasmazelle. Zur Proliferation der B-Zelle ist die Interaktion mit einer T<sub>FH</sub>-Zelle notwendig. Nach der Bindung der T-Zell-Rezeptoren an den Antigen-präsentierenden MHC-II-Rezeptor der B-Zelle werden Cytokine aus der T<sub>FH</sub>-Zelle freigesetzt, welche die Proliferation der B-Zelle anregen. Große Mengen an Immunglobulinen werden aus der aktivierten Plasmazelle sezerniert. Nur Antikörper mit betreffender Antigen-

spezifität werden gebildet. Es findet eine klonale Selektion der Plasmazellen statt, welche Antikörper mit entsprechender Antigen-spezifität produzieren. Dabei kommt es zur Produktion dieses spezifischen Antikörpers im rauen endoplasmatischen Retikulum. Zentrales Merkmal des adaptiven, antigenspezifischen Immunsystems ist, dass es bei wiederholter Exposition mit dem gleichen Agens mit einer beschleunigten und verbesserten Immunantwort reagiert (INGVARTSEN et al. 2003). Dieser Vorgang wird als immunologisches Gedächtnis des Immunsystems bezeichnet. Einige der bereits aktivierten B- und auch T-Lymphozyten kehren nach der Reaktion wieder in einen Ruhezustand zurück und werden zu Gedächtniszellen.

Bei Erstkontakt zwischen Antigen und B-Zelle werden überwiegend Antikörper der Klasse IgM produziert, die eine geringere Spezifität und niedrigere Affinität zum Antigen besitzen. Im Verlauf der Immunantwort verändert sich jedoch die produzierte Antikörperklasse. Es werden nach längerem Bestehen der Infektion anschließend überwiegend Antikörper der Klasse IgG produziert, welche sich über eine starke Antigenaffinität auszeichnen. (MURPHY & WEAVER 2018). Bei erneutem Antigenkontakt mit dem gleichen Antigen können dann schneller spezifische Antikörper der Klasse IgG sezerniert werden. Dadurch ist die Zweitreaktion wesentlich effektiver und wirkungsvoller. Es kommt zu einem Booster-Effekt (FREDRIKSEN et al. 1999).

Speziell bezogen auf Rinder ist es wichtig zu erwähnen, dass die Kälber bei der Geburt zwar immunkompetent sind, jedoch während der Trächtigkeit keinerlei Antikörper von der Mutter übertragen bekommen haben. Auf Grund der Plazentastruktur ist ein Überschreiten von Immunglobulinen über die Blut-Plazentaschranke nicht möglich. Um dieses Defizit auszugleichen, wird vor der Geburt Kolostrum in der Milchdrüse des Muttertieres gebildet, welches große Mengen an Immunglobulinen, insbesondere IgG-Antikörper enthält. Unmittelbar nach der Geburt ist die Darmschranke des Kalbes in der Lage, die Immunglobuline unverdaut in den Blutkreislauf aufzunehmen. Somit wird ein direkter passiver Schutz des Kalbes vor Bakterien und Viren, besonders auch vor Septikämieerregern, sichergestellt (GOFF 2006).

### **2.5.1 Immunglobuline**

Immunglobuline sind Glykoproteine, die grundsätzlich eine gemeinsame Grundstruktur haben. Sie setzen sich aus vier Polypeptidketten zusammen. Dabei teilen sie sich auf in zwei identische schwere Ketten (H-Ketten) und zwei leichte Ketten (L-Ketten). Diese Ketten unterscheiden sich in ihrem Molekulargewicht. Die H-Ketten haben ein Molekulargewicht von 50-77 kDa, während es bei den L-Ketten 25 kDa beträgt. Die L-Ketten können als  $\lambda$ - und  $\kappa$ -Typ vorliegen. Bemerkenswert ist an dieser Stelle, dass beim Wiederkäuer fast ausschließlich die L-Kette vom  $\lambda$ -Typ vorhanden ist (BUTLER 1998). Die H-Ketten hingegen kommen in fünf verschiedenen Varianten vor. Sie werden in die  $\gamma$ -,  $\alpha$ -,  $\epsilon$ -,  $\delta$ - und  $\mu$ -Typen unterteilt. Anhand dieser Typen können die Antikörper in Antikörperklassen eingeteilt werden. Zu denen zählen allgemein die IgA, IgE, IgD, IgM und IgG. Auch hier gibt es einen artspezifischen Unterschied. Antikörper

der Klasse IgD kommen beim Wiederkäuer und Schwein nicht vor (BUTLER 1998). Die Verbindung der einzelnen Ketten besteht aus Disulfidbrücken, den sogenannten kovalenten Bindungen, und aus nicht-kovalenten Bindungen, die auf Grund von polaren Wechselwirkungen miteinander Verbindungen eingehen. Durch die spezielle Bindung der Proteinketten kommt die typische Y-Struktur der Antikörper zustande, die für alle Antikörperklassen gleich ist (BUTLER 1998). Die Bindung des Antigens erfolgt über die variable Region des Fab-Teils. Dieses verbindet sich an den Endstücken der H- und der L-Kette mit dem Antigen über Wasserstoffbrückenbindungen (BRÖKER et al. 2019).

### **2.5.2 Immunglobulin G**

Das Immunglobulin G wird nochmals unterteilt in IgG1 und IgG2a und b. Diese unterscheiden sich in ihrer Größe und somit im Laufverhalten in der Gelelektrophorese. Die IgG1-Fraktion läuft damit schneller in Richtung Anode als IgG2.

Das IgG ist das im Serum am häufigsten vorkommende Immunglobulin. Über 80 % der Immunglobuline sind IgG (BRANDON et al. 1971).

Die IgG sind in der Lage, das Gefäßsystem zu verlassen und in das extravasal gelegene Gewebe zu gelangen. Die Immunglobuline liegen somit zu gleichen Teilen sowohl intra- als auch extravasal vor (BUTLER 1983).

Die Aufgaben des IgGs bestehen darin, Antigene zur Erkennung für weitere Immunzellen zu opsonieren, bakterielle Toxine oder Viruspartikel zu neutralisieren und körperfremde Mikroorganismen sowie geschädigte körpereigene Zellen zu agglutinieren. Des Weiteren führen sie zur Aktivierung des Komplementsystems. Antigen-Antikörper-Komplexe werden im Blut durch Makrophagen phagozytiert (BRÖKER et al. 2019).

## **2.6 Immunologische Auswirkungen einer Impfung in Abhängigkeit von der Art des Impfstoffes**

Impfungen dienen zur Prophylaxe von Infektionskrankheiten. Die Auswirkungen einer Impfung auf das Immunsystem werden im Folgenden dargestellt: Ziel ist es, das Immunsystem auf die Abwehr eines möglichen infektiösen Antigens vorzubereiten. Als eine Reaktion auf eine Impfung werden je nach Art und Zusammensetzung des Impfstoffes unterschiedliche Immunreaktionen ausgelöst.

Ein Totimpfstoff zeichnet sich dadurch aus, dass er abgetötete Erreger oder nicht vermehrungsfähige Proteine/Fragmente des Erregers enthält, die als Antigene fungieren. Diese Antigene werden von den Antigen-präsentierenden Zellen des unspezifischen Immunsystems, von dendritischen Zellen, Makrophagen, Monozyten und B-Zellen erkannt und phagozytiert. Im Zytoplasma werden sie unter anderem durch das Proteasom in Peptide aufgespalten. Peptide

viraler Antigene werden in der Zelle an den MHC-I-Rezeptor gebunden und als MHC-I/Peptid-Komplex an die Oberfläche der Zelle gebracht und weiteren Immunzellen präsentiert (BRÖKER et al. 2019). Für eine verstärkte Immunantwort bei Totimpfstoffen wird ein Adjuvans hinzugefügt, welche zudem eine lokale Entzündung hervorruft. In einer Reaktionskaskade werden dann Antikörper-produzierende B-Zellen aktiviert. Deshalb zeichnet sich eine Impfung mit einem Totimpfstoff im Wesentlichen durch eine Induktion der Antikörperproduktion aus. Durch die fehlende T-Zell-Antwort muss für eine ausreichende Immunität bei den meisten Impfstoffen mehrfach geimpft werden. Auch die Dauer des Impfschutzes ist in der Regel bei Totimpfstoffen geringer (MURPHY & WEAVER 2018). Im Gegensatz dazu löst eine modifizierte Lebendvakzine (MLV) eine Reaktion aus, die in etwa der einer natürlichen Infektion entspricht (DOWNEY-SLINKER et al. 2016). Ein vermehrungsfähiges Agens, beispielsweise ein Virus, wird in den Organismus eingebracht. Bei der Differenzierung der B-Zellen kommt es mit Beteiligung der  $T_{FH}$ -Zellen zur Antikörperproduktion und es bilden sich langlebige B-Gedächtniszellen aus. Diese sind für den langanhaltenden Impfschutz bei Lebendimpfstoffen ausschlaggebend. Die B-Gedächtniszellen zeichnen sich durch eine hohe spezifische Antigen-Affinität aus und können bei einer Sekundärantwort mit hoher Frequenz antigenspezifische B-Zellen produzieren. Neben den B-Zellen sind zudem bei Lebendimpfstoffen zytotoxische T-Zellen an der Immunantwort beteiligt.

Vergleichende Studien zu BVD-Totimpfstoffen und attenuierten BVD-Lebendimpfstoffen ergaben dementsprechend, dass die Applikation von Lebendimpfstoffen zu höheren Antikörpertitern führt (DUBOVI et al. 2000, KÖNIG et al. 2006, REBER et al. 2006, RIDPATH 2013, DOWNEY-SLINKER et al. 2016). Es zeigte sich, dass Tiere, die mit einer MLV geimpft wurden, auch ohne nachweisbare oder mit nur geringen Antikörpertitern besser geschützt waren als solche, denen ein Totimpfstoff verabreicht worden war (DOWNEY-SLINKER et al. 2016). Des Weiteren kommen sie zu dem Ergebnis, dass nicht unbedingt die Höhe der Antikörpertiter entscheidend ist für die Immunität gegenüber einem Pathogen, sondern vielmehr die Art und Weise der Immunantwort wichtig ist. Deshalb könnte das Zusammenwirken der humoralen Immunantwort durch B-Zellen und die zellulär vermittelte Immunantwort durch zytotoxische T-Zellen, welche eher durch die Vakzinierung mit einem Lebendimpfstoff generiert wird, bei einer Infektions-Challenge einen größeren Schutz gewährleisten (DOWNEY-SLINKER et al. 2016). Kimman und seine Kollegen (2007) weisen darauf hin, dass die Wirksamkeit einer Impfung häufig anhand der Höhe der Antikörper-Titer beurteilt wird, diese jedoch, wie oben diskutiert, nicht zwangsläufig mit dem Impfschutz korrelieren, da die zelluläre Immunantwort ebenfalls beteiligt ist.

Unabhängig von der Art des Impfstoffes kann das Ausmaß der Antikörperbildung auch auf genetisch bedingten Unterschieden beruhen (KIMMAN et al. 2007). Dadurch können bei ver-

schiedenen Tieren, trotz gleiche Umwelt- und Fütterungsbedingungen, unterschiedliche Titerergebnisse auftreten. Es scheint eine große Erbllichkeit bezüglich des Ausmaßes der Antikörper-Antwort zu geben (KIMMAN et al. 2007).

## **2.7 Negative Energiebilanz**

Eine negative Energiebilanz (NEB) findet sich vor allem in dem Zeitraum von der Kalbung bis zum Leistungspk der Laktation (DRACKLEY 1999). Sie ist ein physiologisches Phänomen, welches sich aus der Stoffwechselsituation der Milchkühe in der postpartalen Phase ergibt (MARTENS 2012a). Im peripartalen Zeitraum zeichnet sich die Milchkuh aus durch eine reduzierte Futteraufnahme, eine negative Energiebilanz, eine gesteigerte Lipolyse verbunden mit einer Insulinresistenz und einen Gewichtsverlust in der frühen Laktation (LEBLANC 2010). Des Weiteren kommt es nach der Kalbung zu einer mehr oder weniger ausgeprägten Hypocalcämie sowie zu einer bakteriellen Besiedlung des Uterus (LEBLANC 2010). Die peripartale Phase sei die Zeit mit der höchsten Wahrscheinlichkeit für die Milchkuh, an Produktionskrankheiten zu erkranken (GRÖHN et al. 1995, INGVARTSEN 2006, LEBLANC 2010).

Aus evolutionären Gründen kommt es nach der Geburt trotz geringerer Futteraufnahme zu einer gesteigerten Milchproduktion. Dies garantiert dem Kalb auch in Mangelsituationen der Mutter eine Versorgung mit Milch (STANGASSINGER 2007). Die Energie für die Milchproduktion wird unter anderem aus Körperreserven der Kuh bereitgestellt (GRÖHN et al. 1995). Aus physiologischer Sicht kommt es also zu einer katabolen Stoffwechselsituation im Gesamtorganismus und zum Stoffwechselanabolismus im Euter (ROSSOW 2002). Bei der Zucht auf höhere Milchleistungen hat man sich diese Veranlagung zu Nutze gemacht. Es kommt zu einer gesteigerten Milchproduktion, obwohl die aufgenommene Energie nicht ausreicht, den Bedarf der Kuh zu decken (GRÖHN et al. 1995). Die Milchsekretion ist durch die homeorhetische Regulation bestimmt. Das bedeutet, dass der Milchproduktion während der Laktation die höchste Priorität zukommt und diese dabei den anderen Körperfunktionen übergeordnet wird (INGVARTSEN 2006, MARTENS 2012a).

Studien haben gezeigt, dass in Folge der homeorhetischen Regulation des Energiestoffwechsels die Milchleistung von der Futteraufnahme entkoppelt werden kann und mithin auch der Energiebedarf unabhängig von der Energieaufnahme verläuft. Hohe Milchleistungen zu Beginn der Laktation und ein rascher Anstieg zum Leistungspk können als prädisponierende Faktoren für eine NEB verstanden werden (INGVARTSEN 2006, MARTENS 2012b).

Eine Milchkuh, die zu Beginn der Laktation eine Leistung von 50 kg Milch pro Tag hat, müsste bei einer Körpermasse von 700 kg ca. 30 kg Futter-Trockenmasse mit einer Energiedichte von 7 MJ NEL/kg (Nettoenergie Laktation) aufnehmen (ROSSOW 2007). Bei einer Milchleistung von

50 kg werden ca. 2 kg Milchfett und 1,6 kg Milchprotein sezerniert (INGVARTSEN & MOYES 2013).

Folglich kommt es zu Beginn der Laktation zu einer Energiemangelsituation, der negativen Energiebilanz (NEB). Zu den limitierenden Faktoren der Energiebereitstellung aus dem Futter gehören sowohl die Futterraufnahmekapazität als auch die Futterverwertung im Pansen und im Dünndarm. Um dennoch diese Leistungen bereitstellen zu können, kommt es zur Mobilisation körpereigener Reserven durch eine Steigerung der Glukoneogenese, zur Verwertung freier unveresteter Fettsäuren sowie zur Gewinnung von Energie aus den gebildeten Ketonkörpern (HERDT 2000).

Bereits bei einer ausgeglichenen Energiebilanz ist die Glukoneogenese eine der wichtigsten StoffwechsellLeistungen des Wiederkäuers. Im Vergleich zu den Monogastriern nimmt hier das Vormagensystem der Wiederkäuer eine wichtige Rolle ein. Die mit dem Kraftfutter aufgenommenen Poly- und Oligosaccharide werden im Vormagen überwiegend zu kurzkettigen Fettsäuren abgebaut. Dabei handelt es sich zu etwa 60 % um Azetat, zu 20 % um Propionat, ca. zu 15 % Butyrat und zu 5 % um andere kurzkettige Fettsäuren. Daher stehen im Dünndarm nur in sehr begrenztem Umfang resorbierbare Kohlenhydrate für eine direkte Aufnahme zur Verfügung. Um dem Wiederkäuerorganismus trotzdem Glukose bereitstellen zu können, ist die Glukoneogenese in den Mitochondrien der Leber von großer Bedeutung. Das aus dem Pansen stammende Propionat stellt dabei die wichtigste Ausgangssubstanz für die Glukoneogenese dar. Zusätzlich können Laktat, glukogene Aminosäuren und Glycerin zur Energiegewinnung verwendet werden (HERDT 2000).

Leicht erhöhte Konzentrationen an NEFAs (unveresterte Fettsäuren) und BHBA (Beta-Hydroxybutyrat) gelten als normal und beschreiben physiologische Vorgänge in der Adaptation an die NEB in der frühen Laktation. Stark erhöhte Konzentrationen sind jedoch ein Zeichen für eine übersteigerte und unkontrollierte NEB, was mit geschwächter Gesundheit und verminderter Produktionsleistung in Zusammenhang steht (MCART et al. 2013). Postpartale Messungen von NEFAs in einer Herde sollen die beste Auskunft über das Ausmaß der NEB in einem Betrieb ermöglichen (OETZEL 2004, MCART et al. 2013, MCART et al. 2013).

Die hormonelle Regulation während der energetischen Unterversorgung führt zu einem ungünstigen Verhältnis von GH zu Insulin im Blut. Dabei liegen hohe Konzentrationen von GH vor, bei gleichzeitig niedrigen Blutinsulinspiegeln. Dies stimuliert wiederum den Abbau von langkettigen Fettsäuren aus dem Fettgewebe. Die Triglyceride des Fettgewebes werden zu Glycerin und Fettsäuren gespalten. Freie Fettsäuren aus dem Fettgewebe zirkulieren als unveresterte Fettsäuren (NEFAs) im Blut (INGVARTSEN 2006). Dieses Phänomen führt zu einem

dazu, dass sich zu Beginn der Laktation der Fettgehalt in der Milch erhöht, und zum anderen dienen die NEFAs der Bereitstellung benötigter Energie.

Das massive Auftreten von NEFAs in der Leber kann mittels kompletter Oxidation zur Energiebereitstellung genutzt werden, oder es ergeben sich je nach Stoffwechsellage die zwei Krankheitsbilder Ketose und / oder Fettleber. Die Phase der NEB ist dann beendet, wenn ein Gleichgewicht zwischen Lipolyse und Lipogenese wiederhergestellt ist. Eine positive Energiebilanz soll sich meist erst in der zweiten Laktationshälfte wieder einstellen (BRADE 2016, BRADE & BRADE 2016). Außerdem dauert die negative Energiebilanz bei Kühen mit geringer Futtermittelaufnahme länger. Bemerkenswert ist jedoch, dass Tiere, die nach dem Kalben reproduktionsbedingte Erkrankungen erlitten, durch eine geringere Milchleistung schneller wieder in das Stadium der positiven Energiebilanz kamen (COLLARD et al. 2000). Eine hohe Trockenmasseaufnahme sei der wirksamste Weg, die negative Energiebilanz gesunder Milchkühe in Dauer und Intensität zu reduzieren (ROSSOW 2003, ALERI et al. 2016, SCHIRMANN et al. 2016). Ziel sollte es sein, dass eine langsam einsetzende Lipolyse zu Beginn der Laktation erreicht wird. Entscheidend dabei ist nicht zwangsläufig die absolute Fettmenge, die abgebaut wird, sondern der Zeitraum, in dem dies geschieht. Je langsamer der Abbau des Fettgewebes ausfällt, desto geringer sind die Risiken für Gesundheit und Fruchtbarkeit (INGVARTSEN & MOYES 2013).

### **2.7.1 Ketose**

Die Ketose ist eine Stoffwechselstörung, welche mit sehr hohen Konzentrationen von Ketonkörpern, wie Azetoacetat,  $\beta$ -Hydroxy-Butyrat und Aceton, im Blut einhergeht bei gleichzeitig niedrigen bis mittleren Blutglukosespiegeln (INGVARTSEN 2006). In der Leber werden die Fettsäuren zunächst zu Acetyl-CoA abgebaut. Im Rahmen der Gluconeogenese kommt es durch die Energiemangelsituation zu einer unvollständigen Oxidation des Acetyl-CoA. In der Regel wird das Acetyl-CoA mit dem Oxalacetat aus dem Citratzyklus kondensiert. Oxalacetat ist jedoch in Energiemangelsituationen als Reaktionspartner nicht ausreichend vorhanden und es kommt zur Bildung von Acetoacetat. Als weitere Ketonkörper werden über enzymatische Reaktionen Beta-Hydroxybutyrat und Aceton gebildet. Ketonkörper dienen als wertvolle Energielieferanten in der Skelettmuskulatur, in der Niere und auch im laktierenden Euter (ROSSOW 2003) sowie im Herz und im Gehirn (HERDT 2000). Übersteigen jedoch die Ketonkörper die Verwertungskapazität im Gewebe, kommt es zur Anreicherung im Blut (Azetonämie). Diese überschüssigen Ketonkörper werden mit dem Urin (Azetonurie), der Milch und der Ausatemluft ausgeschieden. Das Krankheitsbild der Ketose kann sowohl subklinisch als auch in klinischer Form auftreten. Bei einer subklinischen Ketose sind lediglich die Konzentrationen der Ketonkörper im Blut erhöht, ohne dass dabei eine klinische Symptomatik auftritt. Aus der Studie von Suthar (2013) geht hervor, dass 20 % der Kühe auf den in Deutschland untersuchten Betrieben

(117 Betriebe mit insgesamt 947 untersuchten Tieren) im peripartalen Zeitraum an einer subklinischen Ketose litten, jedoch nur 2 % eine klinische Ketose aufwiesen. Im Gegensatz dazu lag in den Untersuchungen von Schoof (2005) in hessischen Holstein-Herden mit hoher Milchleistung der Prozentsatz an Kühen mit subklinischer Ketose während der ersten beiden Laktationswochen knapp unter fünf Prozent (Erstkalbende) beziehungsweise bei knapp unter 10 Prozent bei den Kühen ab der zweiten Laktation. Klinische Ketosen waren überhaupt nicht zu verzeichnen. Bereits ab der 4. Woche nach der Kalbung wiesen über 95 Prozent der Tiere trotz hoher Milchleistung wieder eine ausgeglichene Energiebilanz auf.

Im Allgemeinen werden Konzentrationen von 1,2 – 1,4 mmol/L BHBA im Blut als subklinische Ketose definiert (OETZEL 2004, MCART et al. 2013, SUTHAR et al. 2013). Entwickelt sich aus einer subklinischen eine klinische Ketose, mit BHBA-Konzentrationen von >1,4 mmol/l, kann sich diese in Verdauungsstörungen oder in einer Beeinträchtigung des Nervensystems äußern. Die Verdauungsproblematik geht einher mit einer reduzierten Futteraufnahme und einem massiven Abbau von Körpersubstanz und einer verminderten Milchleistung (MCART et al. 2013). Aus der Studie von Ötzel (2004) geht hervor, dass eine Kuh, welche eine klinische Ketose aufweist, in der Regel BHBA-Werte von über 3,0 mmol/l aufweist. Weiterhin gilt die subklinische Ketose als Wegbereiter für weitere Erkrankungen. Somit erhöht sich die Wahrscheinlichkeit für die Kuh besonders zwischen dem 2. und 15. Tag nach der Kalbung, zusätzlich an einer Mastitis, einer Metritis oder einer Labmagenverlagerung zu erkranken (CHAPINAL et al. 2012b, MCART et al. 2013) oder eine Lahmheit zu entwickeln (SUTHAR et al. 2013).

Für die NEFA-Konzentrationen werden in der Literatur unterschiedliche physiologische Grenzwerte angegeben; eine Zusammenstellung findet sich in dem Übersichtsartikel von McAart et al. (2013). Für den Zeitraum post partum wird darin ein Grenzwert von 0,7-1,0 mmol/l angegeben. Bei der Auswertung vieler Studien wird deutlich, dass sich das Risiko für die Entwicklung einer Labmagenverlagerung, einer Metritis oder auch zum frühen Ausscheiden zu Beginn der Laktation bei hohen NEFA-Werten (über 0,7 mmol/l) erhöht gegenüber Kühen mit Werten innerhalb des Referenzbereiches (CHAPINAL et al. 2012b, MCART et al. 2013).

### **2.7.2 Fettleber**

Die zweite Verwertungsmöglichkeit der anfallenden NEFAs besteht in dem Abbau über Triglyceride. In den Hepatozyten werden die Fettsäuren zu VLDLs oxidiert und aus den Zellen wieder ausgeschleust. Wird auch hier die Verarbeitungskapazität der Zellen überschritten, kommt es zur Verfettung der Hepatozyten und somit zum klinischen Bild der Fettleber (ROSSOW 2003, MCART et al. 2013). Zu beachten ist, dass eine Leberverfettung meist subklinisch auftritt, dabei jedoch eine Prädisposition für das Tier darstellt, an weiteren Produktionskrankheiten zu er-

kranken (ROSSOW 2008). Fettvakuolen in den Leberzellen beeinträchtigen diese in ihrer Funktion und können sie in so großem Maße schädigen, dass es zur Zerstörung und zum Untergang der Zellen kommt (INGVARTSEN & MOYES 2013).

### **2.7.3 Pansenazidose**

Um einer unzureichenden Futteraufnahme vorzubeugen wird versucht, durch Erhöhung der Nährstoff- und Energiedichte in der Ration sowie einer Maximierung der Futteraufnahme das Ausmaß der NEB zu verringern (ROSSOW 2002, INGVARTSEN & MOYES 2013). Große Beachtung sollte dabei auf die Fermentationskapazität der Vormägen gelegt werden (KRUIF et al. 2008). Hohe Mengen an Raufutter mit ausreichendem Strukturwert bieten die Grundlage einer guten Verdauungskapazität bei Wiederkäuern. Da das Grundfutter jedoch eine geringere Energiedichte hat, muss die Ration mit energie- und proteinreichen Konzentraten ergänzt werden (HAYIRLI 2006). Dabei kommt es zur Grundfuttermverdrängung. Je mehr Kraftfutter die Kuh frisst, desto weniger Grundfutter wird aufgenommen. Bei der Umstellung von der Trockenstehperiode auf die Laktation muss sich die Mucosa des Pansens erst auf die veränderten Anforderungen einstellen. Dieser Vorgang benötigt Zeit. Die Papillen sind noch kurz und damit ist die Oberfläche zu klein, um die anfallenden Mengen an kurzkettigen Fettsäuren vollständig resorbieren zu können. Entsprechende Fütterungsregime in der Trockenstehperiode können das Wachstum der Pansenzotten und somit die Oberfläche zur Aufnahme der flüchtigen Fettsäuren fördern (HAYIRLI 2006).

Die kohlenhydratreichen Rationen werden im Pansen zu kurzkettigen flüchtigen Fettsäuren abgebaut, welche den pH-Wert in der Pansenflüssigkeit senken. Es kommt zu einer raschen Vermehrung der amylolytischen und saccharolytischen Bakterien und zur Abnahme der zellolytischen Infusorien, welche strukturiertes Grundfutter verwerten. Demzufolge wird das Grundfutter weniger schnell abgebaut und es verweilt länger im Pansen. Bei zu geringer Struktur des Futters muss der Futterbissen weniger lange wiedergekaut werden und damit wird weniger Speichel produziert. Der alkalische Speichel dient in der Regel dazu, ausreichend Puffersubstanzen in die Vormägen einzubringen. Zu wenig Speichelproduktion führt ebenfalls zum Absinken des pH-Wertes im Pansen und damit zur Entwicklung einer subakuten Pansenazidose (SARA) (ROSSOW 2007). Die klinischen Symptome der SARA können sehr unterschiedlich sein und sind oftmals sehr unspezifisch (OETZEL 2004). Ungleichmäßige Futteraufnahmen, Durchfall, plötzliche Todesfälle sowie viele lahme Kühe und Milchfettdepression können Anzeichen einer SARA sein. Zudem kann das Vorliegen einer SARA zu Immunsuppressionen führen. Neutrophile Granulozyten werden in ihrer Migration beeinträchtigt und Makrophagen in ihrer Phagozytosefähigkeit gehemmt, zudem kann die Leber in ihrer Funktion gestört werden (ENEMARK 2008). Obwohl es für die SARA bisher keine verbindliche Definition gibt, werden pH-Werte im Pansen von  $<5,50$  über einen Zeitraum von mehr als 3 Stunden als subakute

Pansenazidose angesehen (OETZEL 2004, INGVARTSEN 2006, ENEMARK 2008, MARTENS 2012a).

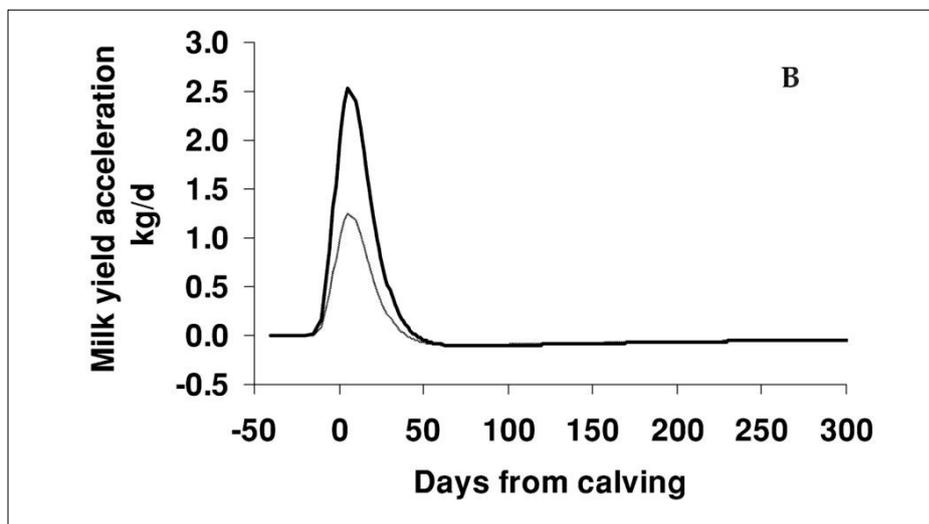
Neben der direkten pH-Wert Messung im Pansen liefert außerdem die Bestimmung und Berechnung der Netto-Säure-Base-Ausscheidung (NSBA) im Harn Hinweise auf das Vorliegen einer SARA. Beim Vorliegen von subakuten Pansenazidosen kommt es zu einer kompensatorischen metabolischen Azidose mit einer Erhöhung der Protonenkonzentration im Urin (ENEMARK 2008). Enemark (2008) erwähnt in seinem Übersichtsartikel eine unveröffentlichte Studie, der zufolge sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem pH-Wert im Pansen und der NSBA feststellen lasse. Ermittelt wird die Netto-Säure-Base-Ausscheidung an denen im Harn ausgeschiedenen Säuren- und Basenanteilen. Besonders niedrige Werte weisen zum einen auf eine reduzierte Futteraufnahme hin, zum anderen auf eine akute Pansenazidose bzw. eine SARA oder aber auch auf einen fütterungsbedingten Anionenüberschuss (BENDER 2002, MORITZ 2014). In der Literatur werden unterschiedliche Referenzwerte für die NSBA im Harn bei frischlaktierenden Milchkühen angegeben (BENDER 2002, MORITZ 2014).

### **2.8 Auswirkungen der NEB auf das Immunsystem**

Wie alle lebenden Zellen benötigen auch Immunzellen ausreichend Energie zur Aufrechterhaltung ihrer Funktionen. Spezifische immunologische Funktionen verwenden ATP oder andere energiereiche Phosphatverbindungen. Die bereitgestellte Energie ist essentiell für die Vorgänge wie Antigenerkennung und -präsentation sowie ausführende immunologische Vorgänge. Dadurch wird bei energetischer Unterversorgung die Immunantwort deutlich beeinträchtigt (BUTTGEREIT et al. 2000). Ein aktiviertes Immunsystem benötigt mehr Energie als ein Immunsystem, welches ruht. Zellen, die aus einem ruhenden Stadium aktiviert werden, durchlaufen einen hoch energetischen Prozess (CALDER 2013). Dies erfordert eine Bereitstellung von Energie in Form von Glucose oder Fettsäuren. Bei Energiemangel muss das Energiefordernde aktivierte Immunsystem um essentielle Nährstoffe kompetieren, die sonst für Wachstum, Muskelaufbau und Milchproduktion genutzt werden könnten (SORDILLO 2016). Auch Moyes et al. (2009) vermuten, dass möglicherweise die niedrigen Blutglucosekonzentrationen zusammen mit einer Glukokortikoidumstellung und weiteren, bisher unbekanntem Faktoren, Ursache für eine verminderte Immunantwort im peripartalen Zeitraum sind.

Während der Transitperiode ist das Immunsystem der Kuh geschwächt und die immunologischen Funktionen sind vermindert (KEHRLI et al. 1989a, KEHRLI et al. 1989b, DETILLEUX et al. 1995, ZERBE et al. 2000, STER et al. 2012, ALERI et al. 2016). Dadurch sei die Kuh besonders anfällig gegenüber Infektionskrankheiten (MCART et al. 2013). Eine Immunsuppression während der Trächtigkeit und Geburt konnte bereits, außer bei Kühen, auch bei vielen anderen Spezies nachgewiesen werden (KEHRLI et al. 1989b). Während der peripartalen Phase hat die

Kuh ein höheres Risiko, an verschiedenen Krankheiten und Stoffwechselstörungen zu erkranken. Häufige Krankheiten in diesem Zusammenhang sind Milchfieber, Mastitis, Ketose, Nachgeburtsverhalten, Lahmheiten und Labmagenverlagerungen (INGVARTSEN et al. 2003, DRACKLEY et al. 2005, INGVARTSEN 2006, SUTHAR et al. 2013, ESPOSITO et al. 2014, ALERI et al. 2016). Die verringerte Fähigkeit des Immunsystems, adäquat auf infektiöse Reize zu reagieren, ist möglicherweise der Grund für die hohe Inzidenz von Mastitis mit Umweltkeimen vor allem nach der Kalbung (MALLARD et al. 1998, MOYES et al. 2009, ALERI et al. 2016). Es hat den Anschein, dass die metabolischen Herausforderungen zu Beginn der Laktation und die Kalbung einen deutlichen Effekt auf das Immunsystem haben (GOFF 2006). Auch Ingvarlsen und Moyes (2012) und Aleri et al. (2016) sind der Auffassung, dass die Anpassung an die veränderte Stoffwechselsituation in der frühen Laktation entscheidenden Einfluss auf das Immunsystem hat (INGVARTSEN & MOYES 2013, INGVARTSEN & MOYES 2015).



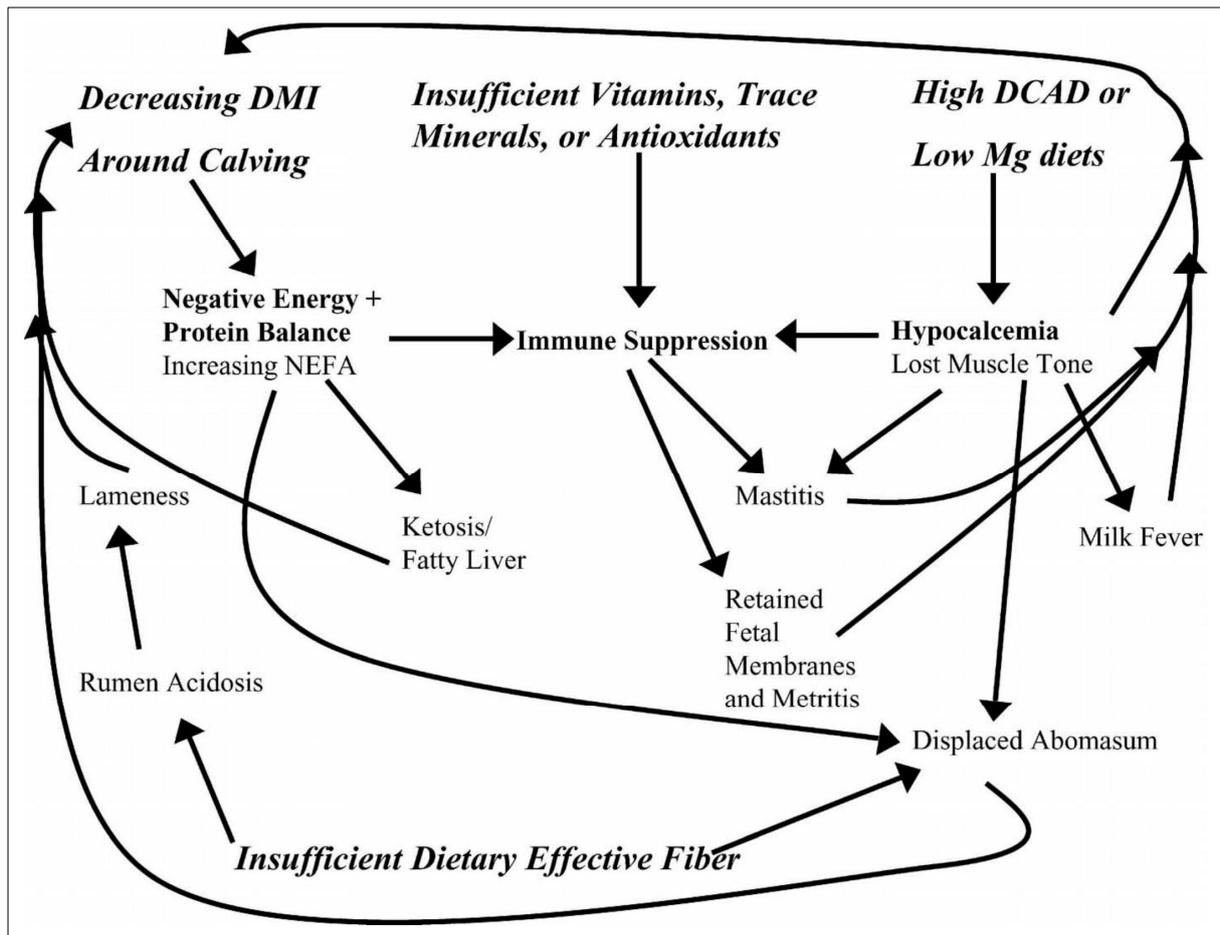
**Abb. 1:** Milchleistungsanstieg bei Kühen mit einer durchschnittlichen Milchleistung von 30 kg Milch/Tag (feine Linie) und Kühen mit einer Milchleistung von 60 kg Milch/Tag (dicke Linie) (INGVARTSEN et al. 2003)

Der schnelle Anstieg der Milchleistung zu Beginn der Laktation (Abb. 1) stellt eine physiologische Herausforderung dar, welche zur Beeinträchtigung der Gesundheit der Kuh führen kann (INGVARTSEN et al. 2003).

Fütterungsbedingte und -induzierte NEB-Modelle in Studien, auch wenn sie in Länge und Ausprägung vergleichbar sind, konnten in den experimentellen Studien von Perkins et al. (2001) nicht auf die NEB bei Milchkühen im peripartalen Zeitraum direkt übertragen werden (PERKINS et al. 2001). Möglicherweise sind niedrige Glukosekonzentrationen, zusammen mit der Glukokortikoidumstellung und anderen bisher unbekanntem Faktoren, Ursache für die verminderte Immunantwort im peripartalen Zeitraum (PERKINS et al. 2001, MOYES et al. 2009, INGVARTSEN & MOYES 2013).

Die Ursachen und Folgen der Immunsuppression sind vielfältig, stehen häufig in direktem Zusammenhang und treten in Abhängigkeit voneinander auf. Neben anderen Faktoren spielt die Belastung der Tiere durch die Umwelt eine Rolle. Stress wird in den Studien von Drackley und Mitarbeitern (1999) als ein wesentlicher Faktor angesehen, der die tägliche Futteraufnahme reduziert und somit einen Anstieg der NEFA-Konzentration zur Folge hat. Allgemeine Beobachtungen zeigen außerdem, dass die Kühe, die durch ernährungsbedingte und Umgebungsfaktoren am meisten gestresst sind, auch die höchste Wahrscheinlichkeit haben zu erkranken (DRACKLEY 1999).

In seinem Schaubild (Abb. 2) rückt Goff (2006) die Immunsuppression in den Mittelpunkt der im peripartalen Zeitraum auftretenden Probleme der Milchkuh. Verschiedenen Studien zufolge sei dies Resultat und Ursache für viele weitere Folgeerkrankungen, wie Mastitis und Metritis (MOYES et al. 2009, SUTHAR et al. 2013). Außerdem wird der Circulus vitiosus bei NEB mit einer immer weiter sinkenden Futteraufnahme beim Auftreten von Erkrankungen deutlich, wie von LeBlanc (2010) und anderen beschrieben (ROSSOW 2002, LEBLANC 2010). Auch die Hypocalcämie habe direkten und indirekten Einfluss auf das Immunsystem. Die Muskulatur verliert bei Calciummangel an Reaktionsmetaboliten. Die Beeinträchtigung der quergestreiften Muskulatur, die zur Bewegungsreduktion und damit zur verminderten Futteraufnahme mit darauffolgender Ausweitung der NEB führen kann, stellt zum einen ein Risiko dar (ROSSOW 2002). Andererseits bietet die glatte Muskulatur, welche bei Calciummangel zu einem mangelhaften Schluss des Sphinkters des Strichkanals führt, ein Risikopotential für eine aufsteigende Infektion entlang des Strichkanals in das Euter (INGVARTSEN et al. 2003, GOFF 2006, MOYES et al. 2009, SUTHAR et al. 2013).



**Abb. 2:** Wechselwirkungen zwischen der Ernährung und Krankheiten bei der Milchkuh im peripartalen Zeitraum. Ernährungsbedingte Schlüsselfaktoren sind kursiv, die wesentlichen metabolischen Funktionen in Fettschrift abgedruckt (GOFF 2006)

Als ein wichtiger Parameter für die Messung der Gesundheit und der Immunkompetenz der Tiere wird häufig die Menge der Immunglobuline im Blut angegeben (GOFF 2006, HERR et al. 2011, MÖSCH 2011). In Studien an gesunden Kühen über die Konzentration von IgM und IgG vor und nach der Geburt zeigte sich eine bemerkenswerte Reduktion der Antikörperkonzentration im Blut. Der Rückgang der IgG1-Konzentration im Serum kann teilweise durch den Transport von IgG1 in die Kolostralmilch erklärt werden (MÖSCH 2011). Diese Reduktion der Immunglobuline im Blut war ebenfalls signifikant mit einer Abnahme der zirkulierenden Lymphozyten korreliert (HERR et al. 2011). Mösch (2011) konnte in ihren Arbeiten zeigen, dass auch die NEFA-Konzentrationen einen Einfluss auf die IgG-Konzentrationen post partum haben und dass beide negativ korreliert sind (MÖSCH 2011).

In einem In-vivo-Modell wurde von van Kneysel et al. (2007) die Beziehung zwischen der Energiebilanz und Plasmametaboliten und dem angeborenen Immunsystem untersucht. Dafür diente die Messung natürlicher Antikörper. Diese natürlichen Antikörper sind charakterisiert als Antigen-bindende Antikörper, welche in nicht-immunisierten Organismen vorkommen und als humoraler Part des angeborenen Immunsystems angesehen werden können. Bei Säugtieren handelt es sich überwiegend um Untergruppen der Ig-M-Antikörper (VAN KNEGSEL et al.

2007). Sie sollten Hinweise darauf geben, inwiefern die NEB zu einer Immunsuppression des angeborenen Immunsystems in der frühen Laktation bei Milchkühen führt. Dabei stellte sich heraus, dass eine Beziehung zwischen der Konzentration der natürlichen Antikörper und der Energiebilanz, der täglichen Futteraufnahme und der Milchleistung besteht, da sich diese Parameter als negativ korreliert erwiesen (VAN KNEGSEL et al. 2007). Die Konzentration der natürlichen Antikörper nahm mit zunehmenden Laktationen zu. Des Weiteren waren die NEFA-Konzentrationen im Plasma positiv korreliert mit den Konzentrationen von natürlichen Antikörpern in der Milch (VAN KNEGSEL et al. 2007).

Inwiefern Ketose einen hemmenden Effekt auf die Immunfunktion hat, versuchten Franklin et al. (1990) und Nonnecke et al. (1992) anhand von In-vitro-Modellen nachzuvollziehen (FRANKLIN et al. 1990, NONNECKE et al. 1992). Nach Inkubation der Lymphozyten mit Ketonkörpern in verschiedenen Konzentrationen und darauffolgender mitogener Stimulation kamen Franklin et al. (1990) zu dem Ergebnis, dass lediglich Acetat bei pathophysiologischen Zuständen in Form der Ketose Konzentrationen erreicht, die sich hemmend auf die Lymphozytenproliferation auswirken können (FRANKLIN et al. 1990). Mitogene Stimulation durch einzelne Ketonkörper hatten keine inhibitorische Wirkung auf die IgM-Sekretion in den Studien von Nonnecke (1992), sondern erst die gleichzeitige Inkubation mit BHBA und Acetoacetat bewirkte einen hemmenden Effekt. Diese Forscher ziehen eher in Betracht, dass niedrige Glucosekonzentrationen im Plasma den hemmenden Effekt auf die Antikörpersekretion haben, bei gleichzeitigem Vorliegen von Ketonkörpern (NONNECKE et al. 1992). Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse von Lacetera (2003). Auch diese Studie untersuchte die Reaktion der Lymphozyten in einem In-vitro-Versuch. In diesem Fall wurden die Lymphozyten mit unterschiedlichen Konzentrationen von NEFAs inkubiert und mitogen stimuliert. Als positive Reaktion wurde gesteigerte DNA-Synthese, die vermehrte IgM-Sekretion und die Interferon  $\gamma$ -Sekretion gewertet. Bei NEFA-Konzentrationen von 1,0 mmol/l, wie sie auch in ketotischen Situationen bei Milchkühen vorkommen, wurde festgestellt, dass diese Funktionen der Lymphozyten gehemmt waren (LACETERA et al. 2003). Obwohl der Einfluss der gesteigerten Lipolyse auf die Proliferation von B-Zellen bisher nicht ganz geklärt ist, besteht der Verdacht, dass unter der Lipolyse vermehrt zirkulierende B-Zellen vorhanden sind (CONTRERAS et al. 2018). Der Effekt, den die erhöhten B-Zellen haben sollen, ist noch unklar, da ihre Immunglobulinbildung Studien zufolge nach mitogener Stimulation in der Transitphase reduziert ist (LACETERA et al. 2003).

Vergleichende Studienergebnisse zeigen, dass eine immense Lipomobilisation mit hohen NEFA-Werten eventuell verantwortlich für die peripartale Immunsuppression sein kann. In einer In-vitro-Studie von Ster et al. (2011) wird der Effekt verschiedener NEFA-Konzentrationen bei Kühen 2, 5 und 61 Tage nach der Kalbung auf die Funktionalität der bovinen Immunzellen,

wie Monozyten und Lymphozyten untersucht. Dazu wurden aus dem Blut von klinisch gesunden Kühen aus der Mitte der Laktation Monozyten separiert und diese dann mit dem Serum von Transitzühen, mit entsprechend unterschiedlichen NEFA-Konzentrationen inkubiert und im Anschluss mitogen stimuliert. Durch die Blutentnahme bei den Testkühen am Tag 2, 5 und 61 post partum ergaben sich unterschiedliche Konzentrationen an ungesättigten Fettsäuren im Serum. Die NEFA-Konzentrationen hatten in der Auswertung vor allem Einfluss auf die Zellproliferation und die IFN- $\gamma$ -Produktion. Folglich geht aus dieser Studie hervor, dass zirkulierende NEFAs die Funktion der Immunzellen schwächen. Zusätzlich wurden in der Studie zwei Testgruppen unterschieden, indem manche Tiere nur einmalig, andere zweimal täglich gemolken wurden. Es stellte sich heraus, dass die NEFA-Konzentration in der einmal gemolkenen Gruppe deutlich niedriger war. Die Autoren äußern demzufolge die Empfehlung, die NEFA-Spiegel im Blut durch niedrige Melkfrequenz zu senken (STER et al. 2012).

Obwohl die genauen Mechanismen für den Zusammenhang zwischen NEB und beeinträchtigtem Immunsystem noch nicht geklärt sind, spielen hohe Plasmakonzentrationen von NEFAs mindestens eine Teilrolle bei der Beeinträchtigung des Immunsystems (SORDILLO 2016). Wie bereits oben erwähnt, können hohe NEFA-Konzentrationen zu einer massiven Speicherung von Fettvakuolen mit Beeinträchtigung der Leberfunktionen führen (INGVARTSEN 2006). Hohe Konzentrationen an Triglyceriden in den Hepatozyten verringern die humorale und zelluläre Immunantwort (WENTINK et al. 1997). Nach experimentell induzierter Fettleber bei Milchkühen post partum konnte in vitro eine verminderte humorale und zelluläre Immunantwort nach Vakzination mit einem Tetanusserum festgestellt werden (WENTINK et al. 1997). Des Weiteren unterdrückt eine Fettleber die Sekretion von wichtigen Immunmediatoren, besonders die der Akute-Phase-Proteine (INGVARTSEN et al. 2003, MCCARTHY et al. 2016). Drackley et al. (2005) konnten einen Zusammenhang zwischen verfetteten Kühen und einer Immunsuppression herstellen. Mitogen stimulierte Lymphozyten von verfetteten Kühen sezernierten demnach weniger IgM nach der Kalbung und weniger Interferon- $\gamma$  vor der Kalbung im Vergleich zu Zellen von schlankeren Kühen. Eine weitere Studie beschäftigt sich mit der Rolle der Milchsekretion in Bezug auf die Immunologie. Dafür wurde der Testgruppe „tragende Kühe“ die Milchdrüse entfernt. So erfolgte nach der Geburt des Kalbes keine Milchsekretion bei gleicher hormoneller Situation. Bemerkenswert war, dass die mastektomierten Tiere geringere Konzentrationen von NEFAs ausbildeten im Vergleich zu den intakten, laktierenden Tieren. In diesen Studien kam man gemeinhin zu der Überzeugung, dass es eher die metabolischen Anforderungen der frühen Laktation sind als die hormonellen Umstellungen der Geburt, die den wesentlichen Einfluss auf die Immunsuppression haben (KIMURA et al. 2002).

Die Ergebnisse einer Studie von Kehrl et al. (1989) weisen darauf hin, dass Färsen nach der Geburt des Kalbes eine verringerte Lymphozytenproliferation nach mitogener Stimulation in

vitro haben, verglichen zu Spitzenwerten der Proliferation 2 bis 3 Wochen vor der Kalbung (KEHRLI et al. 1989a). Die Forscher kommen in ihren Studien zu dem Ergebnis, dass 2 bis 3 Wochen ante partum die immunologischen Funktionen maximale Leistungen erreichen. Die Funktion der Neutrophilen, gemessen am oxidative Burst und an der Phagozytosefähigkeit, war nach der Kalbung deutlich vermindert (KEHRLI et al. 1989b). In der Studie konnte eine zwar nicht signifikant, aber tendenziell reduzierte Produktion an Sauerstoffradikalen, eine schwächere antikörper- und zellvermittelte Zytotoxizität und auch eine geringere bakterielle intrazelluläre Verdauung nachgewiesen werden. In einer weiterführenden Studie von KehrlI et al. (1989) konnten signifikante Beziehungen zwischen der verminderten Neutrophilenfunktion und einer reduzierten lymphozytären Blastogenese festgestellt werden. Jedoch konnte nicht vollständig geklärt werden, ob die Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten durch den Stress und die neuroendokrinen Veränderungen der Geburt beeinflusst waren, oder ob nicht die eingeschränkte Neutrophilenreaktion von Lymphokinen aktiviert wird und damit von den Lymphozyten abhängig ist (KEHRLI et al. 1989a, KEHRLI et al. 1989b, KEHRLI et al. 1989b).

Van Kampen und Mallard (1997) haben erstmals die Lymphozytenprofile von Kühen im peripartalen Zeitraum mit nicht-tragenden, nicht-laktierenden Tieren verglichen. Sie stellten die These auf, dass die Untereinheiten der Lymphozyten sich auf Grund der physiologischen Veränderungen um den Kalbezeitpunkt im Blut verschieben. Diese Veränderungen haben möglicherweise Einfluss auf die geschwächte zelluläre Immunantwort, entweder systemisch oder lokal, zum Beispiel in der Milchdrüse, weshalb die Chance erhöht ist, an Mastitis zu erkranken. Im peripartalen Zeitraum gilt dies gleichfalls für die Wahrscheinlichkeit anderer Erkrankungen. Es konnte dabei eine T-Zell-Depression im peripartalen Zeitraum festgestellt werden. Es wird diskutiert, ob die T-Zell-Unterschiede eher auf Laktation und Trächtigkeit zurückzuführen sind als auf spezielle Gesundheitsprobleme. Die Autoren kommen letztendlich zu dem Ergebnis, dass die T-Lymphozyten-Verteilungen variieren, die B-Zellen sich jedoch nicht signifikant verändern. Die T-Zell-Veränderungen legen den Verdacht auf eine Art Dysregulation im Zeitraum um die Kalbung nahe. Auch andere Faktoren, die während der Kalbung und Laktation eine Rolle spielen, werden in Betracht gezogen. Die These, dass der Gesundheitsstatus einen signifikanten Einfluss auf die Lymphozytenverteilung hat, konnte nicht bestätigt werden (VAN KAMPEN & MALLARD 1997).

Bisher ist es den Forschern nicht gelungen, die Komplexität der Transitphase experimentell nachzubilden. Die Auswirkungen, die NEFAs auf das Immunsystem haben, sind vielschichtig und bisher kaum verstanden (INGVARTSEN & MOYES 2013). Alleiniger Futterentzug während der Laktation mit darauffolgender Mastitis-Infektion-Challenge zeigte eine relativ unbeeinträchtigte Immunkompetenz der Tiere (MOYES et al. 2009). Es konnte jedoch beobachtet werden,

dass Seruminsulin und Glukosekonzentrationen nach der Infektion anstiegen. Es wird vermutet, dass in Fällen einer Infektion mehr Glukose bereitgestellt wird, entweder durch verringerte Aufnahme von Glukose in die Zellen oder durch vermehrte Gluconoegenese in der Leber. Die Glucose soll den Makrophagen zur Phagozytose zur Verfügung stehen, die während der Infektion aktiviert sind und Energie benötigen (MOYES et al. 2009). Eine ausreichende Glukoseaufnahme durch die Immunzellen ist wesentlich für die Aufrechterhaltung zellulärer Funktionen und somit für einen optimalen Schutz des Wirtes gegenüber eindringenden Erregern (NONNECKE et al. 1992, INGVARTSEN & MOYES 2013). Auch weitere derartige Versuche führten zu dem Ergebnis, dass trotz NEB und der starken Fettmobilisation in der peripartalen Phase fütterungsbedingte Defizite alleine nicht ausreichen, um die Unausgewogenheit im Nährstoffhaushalt und im Stoffwechsel um die Kalbung herum vollständig zu erklären (SORDILLO 2016). Diese These vertreten auch Perkins et al. (2001), wonach die NEB nicht alleine zur reduzierten Expression von Adhäsionsmolekülen oder MHC von neutrophilen Granulozyten führt. Diese Beobachtung basiert auf einer Studie mit Bullen der Rasse Holstein Friesian, bei denen eine NEB durch Futterentzug erzeugt wurde. Aufgrund der Ergebnisse sind die Autoren der Auffassung, dass eine NEB alleine nicht ausreicht, um eine Immunsuppression zu bewirken.

### **2.9 Zucht auf Krankheitsresistenz**

Einige Studien zeigen, dass es hoch-immunkompetente Tiere gibt, bei denen weniger Infektions- und Stoffwechselerkrankungen auftreten (MALLARD et al. 1997, THOMPSON-CRISPI et al. 2012a). Mallard et al (1997) konnten in einem Immunisierungsmodell Zusammenhänge zwischen der Immunkompetenz und dem Auftreten von Krankheiten, speziell Mastitis, im peripartalen Zeitraum feststellen. In dieser Studie wurden Tiere mit Ovalbumin und einem Escherichia-coli-Stamm ante partum vakziniert und es wurde nachfolgend die Immunglobulinkonzentration im Plasma gemessen. Die Tiere konnten dann je nach Antikörperantwort in drei Gruppen aufgeteilt werden. Auffällig war hier, dass die Tiere mit der höchsten Antikörperantwort die geringsten Krankheitsinzidenzen, speziell Mastitis, hatten (MALLARD et al. 1997).

Mittels geeigneter genetischer Variablen könnte eine züchterische Selektion auf Krankheitsresistenz erfolgen (STOOP et al. 2016). Die Heritabilität der antikörpervermittelten Immunantwort beträgt 0,29 und diejenige der zellulär vermittelten Immunantwort 0,19, was ausreichen würde diesbezüglich einen genetischen Fortschritt zu erzielen (THOMPSON-CRISPI et al. 2012b).

Einige Überlegungen gehen jedoch dahin, dass ein gutes Immunsystem mit einer verminderten Produktionsleistung in Verbindung steht, da in diesem Fall die Milchkühe ihre körperlichen Ressourcen sowie Nährstoffe dem Immunsystem zukommen lassen würden. Diese Befürchtungen, dass die Krankheitsresistenz negativ mit der Milchleistung korreliert sei, konnte in Studien von Thompson-Crispi et al. (2012b) und Stoop et al. (2016) nicht bestätigt werden. So hat

ein robustes Immunsystem einen positiven Einfluss auf die Milchleistung (THOMPSON-CRISPI et al. 2012b, STOOP et al. 2016).

Etwas im Kontrast dazu stehen jedoch die Ergebnisse von Wagter et al. (2003). Diese zeigen, dass Kühe aus der untersuchten Gruppe mit den höchsten Antikörper-Reaktionen erst ab der 3. Laktation die höchste Milchleistung hatten, während vor allem in der ersten Laktation die Färsen aus der Gruppe mit der niedrigsten Antikörper-Antwort die höchste Milchleistung hatten (WAGTER et al. 2003). Es kann somit nicht unbedingt kurzfristig ausschließlich auf High-Responder ohne Einschränkungen in der Milchleistung selektiert werden. Jedoch bleibt festzuhalten, dass langfristig die Selektion auf sehr immunkompetente Tiere die Krankheitsinzidenz minimiert, Behandlungskosten senkt und dabei auch im Rahmen des Tierwohls gehandelt wird (MULLIGAN & DOHERTY 2008, THOMPSON-CRISPI et al. 2012a).

## **2.10 Kuhkomfort**

Der Kuhkomfort hat einen wesentlichen Einfluss auf die Gesundheit der Kühe, vor allem auf die Klauengesundheit (COOK 2008). Bei höherem Kuhkomfort erhöht sich auch die Milchleistung (KRAWCZEL & GRANT 2009). Eine Studie von Cook (2004) hat ergeben, dass die Kühe lieber in Sandboxen liegen als auf Matten (COOK et al. 2004). In dieser Studie wurde auch deutlich, dass in Ställen mit Sandboxen weniger lahme Kühe vorkommen. Es besteht die Vermutung, dass vermehrt stehende Kühe ihre Klauen mehr belasten und es darum zu mehr Lahmheiten kommt. Cook (2008) definiert die Kriterien eines schlechten Kuhkomforts. Dazu gehören unnötig verlängerte Melkzeiten, Überbelegung mit dem Wettstreit um Liegeplätze, schlechte Liegeboxenqualität, schlechte Luft und unnötige lange Zeit, in der die Kühe im Fressgitter fixiert sind.

## **2.11 Körperkondition (Body Condition Score)**

Eine Hochleistungskuh zeichnet sich dadurch aus, dass sie ihre Körperfettreserven langsam und über einen längeren Laktationszeitraum hinweg mobilisiert (ROSSOW 2003). Um dies zu erreichen, sollte die Milchkuh zum Zeitpunkt der Kalbung einen möglichst optimalen Fettansatz aufweisen. Zur Überprüfung des Fettansatzes und der Körperkondition hat sich bei Milchkühen international mittlerweile das Schema nach Edmunson et al. (1989) durchgesetzt. Dieses Schema besteht aus einer Skala von 1 (kachektisch) bis 5 (stark verfettet). Zum Trockenstehtzeitpunkt sollten die Kühe einen Body Condition Score (BCS) von 3,5, mindestens jedoch von 3,0 aufweisen. (EDMONSON et al. 1989). Grundsätzlich wird zurzeit in der Literatur ein BCS von 3,25 als optimal angesehen. Bei Werten in diesem Bereich kann der Körper ausreichend Energie aus Reserven bereitstellen, ohne dabei exzessiv Gewebe zu mobilisieren mit daraus folgenden Fettsäureansammlungen in der Leber, verbunden mit der Gefahr des Auftretens von Krankheiten in der frühen Laktation (INGVARTSEN & MOYES 2013). Diese „Optimalkondition“ gilt

es, über die Trockenstehphase hinaus bis zum Beginn der Laktation aufrecht zu erhalten. In der Früh-laktation ist dann darauf zu achten, dass die BCS-Note nicht weiter als auf einen Wert von 2,5 absinkt (COLLARD et al. 2000).

Kühe mit einem hohen BCS in der Transitphase entwickeln post partum deutlich höhere Konzentrationen an NEFAs bei übermäßiger Fettmobilisation (COLLARD et al. 2000, SORDILLO 2016). Überkonditionierte Tiere fressen nach der Geburt weniger und haben post partum mehr Probleme mit einer erhöhten Gewebemobilisation (DRACKLEY et al. 2005, SCHIRMANN et al. 2016).

### **2.12 Beurteilung der Stoffwechselsituation anhand verschiedener Blutparameter**

Wie bereits in oberen Abschnitten ausgeführt, eignet sich die Bestimmung der NEFAs und der Ketonkörper im Blut, um eine Einschätzung über die Stoffwechselsituation bei Milchkühen zu bekommen (DRACKLEY 1999, SUTHAR et al. 2013). Da große Mengen an anfallenden NEFAs einen Einfluss auf die Funktion und den Stoffwechsel der Leber haben (WENTINK et al. 1997, REHAGE et al. 1999, DRACKLEY et al. 2005, MCCARTHY et al. 2016), kann es außerdem zu einem Anstieg von AST, GLDH, GGT, Gesamtbilirubin und Cholesterin kommen.

#### Gesamtbilirubin

Störungen im Bilirubinstoffwechsel können in prä-, intra- und posthepatisch, je nach zugrundeliegender Ursache, eingeteilt werden. Prähepatische Ursachen sind vermehrte Hämolysen im Körperkreislauf, was zu einem vermehrten Anfall von Bilirubin durch den Abbau führt. Intrahepatisch steigt das Bilirubin an, wenn eine Leberzellschädigung vorliegt. Ein posthepatischer Anstieg erfolgt bei einer Verlegung der Gallenwege (MORITZ 2014). Dirksen et al. (2012) und Moritz (2014) sehen Grenzwerte des Gesamtbilirubins im Blut bei 8,5 mmol/l. Liegt der Wert oberhalb, spricht dies für eine Leberfunktionsstörung oder aber für vermehrte haemolytische Prozesse.

#### Aspartat-Aminotransferase (AST)

Die AST ist vor allem in den Leberzellen vorhanden. Zusätzlich befindet sie sich in der Herz- und Skelettmuskulatur und in den Erythrozyten. Eine Indikation zur Bestimmung der AST liegt dann vor, wenn der Verdacht auf einen Leber- oder Muskelzellschaden besteht (MORITZ 2014). Zur weiteren Differenzierung wird der CK-Wert hinzugezogen (DIRKSEN et al. 2012). Dieser steigt nur bei einem Muskelschaden zusätzlich an. Die alleinige AST-Bestimmung lässt sich nicht eindeutig interpretieren, vielmehr eignet sich die Enzymmessung als Ergänzung bei Untersuchungen auf Leberschäden zusammen mit anderen Parametern (GONZÁLEZ et al. 2011, MORITZ 2014). In der Studie von González et al. (2011) kommen die Autoren zu dem Ergebnis,

dass die AST ein wesentlich sensitiverer Indikator zur Überwachung der hepatischen Lipidose ist als die GGT.

### Glutamat-Dehydrogenase (GLDH)

Bei der Bestimmung der GLDH-Aktivität handelt es sich um eine Enzymaktivitätsmessung. Diese dient der prognostischen Abklärung von akuten Leberschäden. GLDH kommt fast ausschließlich in den Mitochondrien der Leberzellen vor und ist damit sehr organspezifisch (MORITZ 2014). Kalazakis et al. (2010) kommen in ihren Studien zu dem Ergebnis, dass ein erhöhter GLDH-Wert bei Kühen auf einen erhöhten Triglyceridgehalt in der Leber hinweist (KALAITZAKIS et al. 2010, GONZÁLEZ et al. 2011). Dem entgegen stehen die Aussagen von Rehage et al. (1999). Dabei kommen die Autoren zu dem Ergebnis, dass keine Korrelation zwischen dem Leber-Fettgehalt und der GLDH-Aktivität besteht (REHAGE et al. 1999).

### Gammaglutamyl-Transferase (GGT)

Bei der GGT handelt es sich ebenfalls um ein leberspezifisches Enzym, welches für die Einschätzung der Leberbelastung verwendet wird (MORITZ 2014). Es ist ein Cholesterase-anzeigendes Enzym, welches mit dem Grad der Leberverfettung korreliert. González et al. (2010) weisen darauf hin, dass die GGT als Indikator nicht so gut geeignet sei. Der Grenzwert liegt dabei unter 50 IU/l.

### Cholesterin

Cholesterin reflektiert die Resorptionsleistung aus dem Darm und korreliert mit der Futteraufnahme und der Milchleistung. Es ist ein guter Indikator bei schwerwiegenden Krankheitszuständen und peripartalen Belastungen, aber auch als Hinweis für das Vorliegen von Enteritiden. Cholesterin steigt in der Regel zu Beginn der Laktation systematisch an. Hohe Konzentrationen deuten somit auf eine gute Verdauung und auf eine gute Futteraufnahme hin, weshalb die Festlegung einer Obergrenze nicht sinnvoll erscheint (MORITZ 2014). Dirksen et al. (2012) sehen jedoch die Beeinflussung dieses Parameters durch zu viele Faktoren als einen Nachteil in der Verwendung. Aufgrund der Schwankungen des Cholesterins je nach Trächtigkeits- und Laktationsstadium sei der diagnostische Aussagewert beim Rind gering (DIRKSEN et al. 2012). Schoof (2005) kommt in seinen Untersuchungen zu dem Ergebnis, dass durch die Messung des Cholesterins ein Energiemangel in der Früh-laktation erkannt werden kann. Sind die NE-FAs sehr stark erniedrigt, dann sinken auch die Cholesterinwerte. In der Literatur werden die Referenzwerte auf die Wochen nach der Kalbung bezogen (SCHOOF 2005). Somit liegt der untere Referenzbereich in der ersten Woche p.p. bei  $>2$  mmol/l, bis zur 4. Woche p.p.  $>3$  mmol/l und ab der achten Laktationswoche bei  $>4$  mmol/l (MORITZ 2014).

### **2.13 Nachweis von Entzündungsreaktionen**

Für eine Beurteilung des Vorliegens möglicher entzündlicher Prozesse eignen sich die Glutaraldehydprobe und die Bestimmung des Gesamteiweißgehaltes (DIRKSEN et al. 2012). Beide Parameter sind jedoch nur ein Indikator für das Vorhandensein eines entzündlichen Geschehens und sind somit nicht sehr spezifisch.

#### Glutaraldehydprobe

Glutardialdehyd verbindet sich sehr gut mit basischen und aromatischen Aminosäuren. Diese sind besonders im Fibrinogen und den  $\gamma$ -Globulinen enthalten. Es kommt zur Gelbildung bei besonders hohem Vorkommen dieser Proteine. Damit können sowohl akute als auch chronische Entzündungsprozesse mit einer systemischen inflammatorischen Reaktion (SIR) nachgewiesen werden (MORITZ 2014). Der Test zeichnet sich durch seine besondere Sensitivität aus, jedoch ist er nicht sehr spezifisch. Es kann bei positivem Test nicht unmittelbar auf die Erkrankung eines speziellen Organsystems geschlossen werden. Gelbildungszeiten von 3 Minuten und weniger weisen immer auf eine deutliche Erhöhung von Globulinen hin (MORITZ 2014).

### **2.14 Prävalenz und Bedeutung von BVD/MD in Deutschland**

Die Bovine Virusdiarrhoe ist weltweit eine der wirtschaftlich bedeutsamsten Infektionskrankheiten beim Rind (PETERHANS et al. 2003, LANYON et al. 2014, FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT 2016). Gemeinsam mit dem Virus der Klassischen Schweinepest und dem Border Disease Virus gehört das Virus zum Genus Pestivirus aus der Familie der Flaviviridae. Das Genom der Flaviviridae besteht grundsätzlich aus einer einzelsträngigen RNA mit positiver Polarität, dabei handelt es sich um ein behülltes Virus. Das BVD-Virus wird in zwei Genotypen als selbstständige Spezies unterschieden, der BVD-Typ 1 und der BVD-Typ 2. Diese Genotypen lassen sich wiederum in zytopathogene (zp) und nicht-zytopathogene (nzp) Biotypen differenzieren. Die Bezeichnung nzp und zp bezieht sich dabei auf die Eigenschaften in der Zellkultur. Der zp-Biotyp induziert im Gegensatz zum nzp-Biotyp eine Apoptose in den Zellen der Zellkultur. Allen zp-Biotypen ist gemeinsam, dass sie das nicht-Strukturprotein NS3 besitzen, während sich das nzp durch die ungespaltene Untereinheit des NS2/3 auszeichnet (PETERHANS et al. 2003). Während offensichtlich nur die nzp-Biotypen beider BVD-Genotypen eine persistente Infektion verursachen können, können sowohl die nzp-Biotypen als auch die zp-Biotypen bei akuten, transienten Infektionen nachgewiesen werden (PETERHANS et al. 2003). Das Virus kann über diverse Körperflüssigkeiten wie Nasenausfluss, Urin, Milch, Tränen, Sperma, Speichel und Fruchtwasser übertragen werden (MEYLING et al. 1990).

### 2.14.1 Ätiologie und Pathogenese

Anders als beispielsweise sporenbildende Bakterien sind Viren nicht oder nur schlecht in der Lage, außerhalb des Wirtes zu überdauern (PETERHANS et al. 2003). Darum haben sie spezielle Strategien entwickelt, um in der Wirtspopulation weitergetragen zu werden. Das BVD-Virus ist als einziges bisher bekanntes Virus in der Lage, sowohl die „hit & run“ als auch die „infect & persist“ Strategie zu verfolgen (PETERHANS et al. 2006). Bei der Virusvermehrung und –ausbreitung nach der „hit & run“ Strategie kommt es in der Regel zu seuchenhaften Ausbrüchen mit einer Infektion der Wirte, in welchen sich das Virus vermehren kann. Es kommt zu einer massiven, relativ kurzzeitigen Ausscheidung und anschließend zu einer weiteren Infektion empfänglicher Wirte. Der Nachteil dieser Ausbreitungsstrategie ist, dass zum Zeitpunkt der Virusausscheidung potentiell empfängliche Wirte vorhanden sein müssen. Dieses Phänomen lässt sich auf den akuten, transienten Verlauf einer Erkrankung mit BVD übertragen (PETERHANS et al. 2006).

Zusätzlich ist das Virus in der Lage, sich über die „infect & persist“ Strategie weiter auszubreiten. Tiere werden, wie folgend im Text erklärt, zu einem bestimmten Zeitpunkt vor Ausbildung des Immunsystems bereits intrauterin infiziert und scheiden dann, nach zunächst unauffälliger, symptomloser Entwicklung, lebenslang das Virus aus. Somit steigt die Wahrscheinlichkeit für das Virus, an einen potentiell empfänglichen Wirt zu gelangen (PETERHANS et al. 2006). Anhand dieser Strategie gelingt es dem Virus, die Infektionskette auch bei einer sehr niedrigen Prävalenz in der Population aufrecht zu erhalten (BROWNLIE et al. 1998, PETERHANS et al. 2010).

Im Rahmen der Pathogenese müssen beim BVD-Virus zwei Arten der Infektionswege des BVD-Virus unterschieden werden. Zum einen die akute Infektion nicht-tragender, nicht-immuner Rinder, welche zu einer transienten Virämie führt (MEYLING et al. 1990). Die Inkubationszeit wird mit drei Tagen angegeben; innerhalb von zwei Wochen kommt es zur Ausbildung einer Immunität und Eliminierung des Virus (MEYLING et al. 1990). Der Hauptübertragungsweg ist dabei der Nase-zu-Nase Kontakt, teilweise kann auch eine sexuelle Übertragung stattfinden. Durch den CD46-Rezeptor auf Makrophagen und Lymphozyten gelangt das Virus in den Wirt. Dies kann während einer virämischen Phase sowohl zu einer Immunsuppression in Folge einer Leukopenie, einer Thrombopenie, zu einer Apoptose von Thymuszellen als auch zu einer vorübergehenden Diarrhoe führen. Des Weiteren wird die Immunsuppression durch das Anheften des Virus an zirkulierenden B- und T-Zellen noch zusätzlich verstärkt und es entsteht die Gefahr einer Sekundärinfektion für den Wirt. Die Diarrhoe entsteht durch die Infektion der myenterischen und submukosalen Ganglien, wodurch die Innervation der Darmmotorik gestört wird (LANYON et al. 2014).

Große Bedeutung in der Ausbreitung des Virus hat die fetale Infektion in Abhängigkeit vom Trächtigkeitsstadium. Vor Nidation des Embryos an die Plazenta hat eine Infektion des Muttertieres kaum Auswirkungen auf die Frucht. Wird das naive Muttertier ab dem 25. Tag der Trächtigkeit, bis etwa zum ca. 90. Tag mit dem nzp-BVD-Biotyp infiziert, wird meist ein mit BVDV persistent infiziertes (PI) Kalb geboren (BROWNLIE et al. 1998). Die Infektion des Kalbes ist charakterisiert durch eine Immuntoleranz, welche spezifisch für den jeweiligen Virusstamm ist (PETERHANS et al. 2003, BACHOFEN et al. 2013). Der Fetus verliert in diesem Zeitraum der Trächtigkeit die Fähigkeit, virale- von körpereigenen Proteinen zu erkennen, woraufhin es nicht zur Elimination des Virus kommt (RIDPATH 2013). Nzp-Biotypen besitzen gegenüber den zp-Biotypen die Fähigkeit, die Induktion des Typ-I-Interferon in Makrophagen und sowohl an B- als auch an T-Zellen, jedoch auch an allen weiteren infizierten Zellen zu blockieren, sodass das Virus im Fetus persistieren kann und sich daraus PI-Tiere entwickeln können (PETERHANS et al. 2006, PETERHANS et al. 2010). PI-Tiere reagieren nicht mit einer erwarteten Antikörperproduktion gegen das Virus, es wird also nicht vom Immunsystem versucht, den Erreger zu eliminieren, sondern dieses wird vom Immunsystem toleriert (LIEBLER-TENORIO et al. 2004, PETERHANS et al. 2006, PETERHANS et al. 2010). Des Weiteren besitzt das Virus die Möglichkeit, die Apoptose infizierter Zellen zu verhindern (PETERHANS et al. 2003). Somit ist ein PI-Tier immuntolerant gegen BVDV und scheidet zeitlebens große Mengen an Virus aus. Die Virusausscheidung erfolgt über diverse Körperflüssigkeiten, wie Milch, Speichel, Blut, Nasensekret, Urin und Sperma, ebenso ist eine Übertragung auch über die Ausatemluft möglich (MEYLING et al. 1990, BROWNLIE et al. 1998). Des Weiteren findet das Virus eine Verteilung in den Lymphknoten, den Epithel- und lymphoiden Zellen des Gastrointestinaltraktes sowie in der Lunge, der Haut und den Haarwurzeln als auch im Thymus und Gehirn (LIEBLER-TENORIO et al. 2004, PETERHANS et al. 2010).

Die weitere Entwicklung der PI-Kälber ist sehr unterschiedlich. Manche weisen über lange Zeit keinerlei Symptomatik auf, andere zeigen leichtgradige Symptome mit intermittierendem Durchfall oder Pneumonien und Kümern. Dies lässt die Vermutung zu, dass diese Tiere eine Immunsuppression zeigen und im Wachstum zurück bleiben (PETERHANS et al. 2010). Einige PI-Kälber entwickeln sich jedoch völlig unauffällig und werden auch in der Zucht eingesetzt. Werden Kälber aus PI-Kühen geboren, so sind die Kälber ebenfalls persistent infiziert (PETERHANS et al. 2010).

Das Auftreten eines zp-Biotyps bei einem persistent mit nzp-Virus-infizierten Tier führt zwangsläufig zum Entstehen der stets tödlich verlaufenden Mucosal Disease (MD). Der zp-Biotyp kann entweder durch Mutationen und genomische Veränderungen des nzp-Biotyps entstehen, was dann zum Ausbruch der Krankheit führt, oder durch eine Superinfektion mit einem zp-Biotyp aus einem virämischen Tier. Zusammen ergibt sich aus einem nzp-Biotyp und einem

zp-Biotyp ein Viruspaar (BROWNLIE 1990). PI-Tiere untereinander sind in der Lage, durch den Austausch von homologen nzp-Stämmen MD zu entwickeln (BROWNLIE 1990, BECHER et al. 1999). Allen zp-Biotypen ist gemeinsam, dass sie das Nicht-Strukturprotein N3 exprimieren, während sich das nzp durch die alleinige Existenz des ungespaltenen Vorläuferproteins N2/3 auszeichnet (PETERHANS et al. 2003).

Intrinsische Abläufe, die über das Entlassen von Cytochrom C aus den Mitochondrien gesteuert werden, induzieren dann die Apoptosefaktoren. Extrazelluläre Faktoren bewirken die Up-Regulation vom Tumor-Nekrosefaktor- $\alpha$ . Diese Veränderungen sind vor allem in den Peyerschen Platten zu finden. Dies führt zu einer Atrophie der Mikrovilli sowie zu einer lymphoiden Depletion. Diese Zellschädigungen führen zum klinischen Bild der MD. Zu den Hauptsymptomen der MD zählen (blutiger) Durchfall, Fieber und auch Läsionen in der Maulschleimhaut und im Zwischenklauenspalt (PETERHANS et al. 2010).

### **2.14.2 Bekämpfung**

Die BVD-Bekämpfung stellt Forschungseinrichtungen und Regierungen weltweit vor große Herausforderungen. Auch bei einer sehr niedrigen Prävalenz ist das Virus in der Lage, sich weiter auszubreiten und an potentiell empfängliche Wirte zu gelangen. Grund dafür sind die PI-Tiere, die als Hauptquelle sowohl für die Ausbreitung als auch für die Aufrechterhaltung der Infektion in der Population dienen. Demnach sind die PI-Tiere das wichtigste Ziel in der Bekämpfung dieser Krankheit (STÄHL & ALENIUS 2012, SCHIRRMIEIER 2014). Lindberg und Alenius (1999) zeigen, dass die Viruszirkulation wesentlich gesenkt wird, sobald PI-Tiere aus der Herde entfernt sind (LINDBERG & ALENIUS 1999).

Die konsequente Bekämpfung von BVD ist europaweit nicht einheitlich geregelt. Verschiedene Bekämpfungsprogramme werden von den Mitgliedstaaten unterschiedlich strikt verfolgt. Das skandinavische Modell der BVD-Bekämpfung gilt als sehr erfolgreich (STÄHL & ALENIUS 2012) und hat zur Freiheit bzw. fast kompletten Eradikation in den skandinavischen Ländern geführt. Dieses Modell basiert auf einer Vorauswahl von Tankmilchproben, der darauffolgenden individuellen Beprobung der Einzeltiere und einer sofortigen Eliminierung detektierter PI-Tiere. Durch ein striktes Impfverbot und weiteres Monitoring in den Herden, um Neuinfektionen zu erkennen, konnte innerhalb von zehn Jahren eine annähernde Antikörperfreiheit erreicht werden (LINDBERG & ALENIUS 1999, STÄHL & ALENIUS 2012). Nachdem sich dieses Modell als erfolgreich erwiesen hat, folgten andere Staaten wie Österreich mit einer Bekämpfung nach diesem Modell.

In Deutschland hingegen wird eine etwas andere Strategie verfolgt, die sich vor allem in solchen Ländern eignet, die eine anfänglich hohe BVD-Prävalenz aufweisen, von einem hohen

Tiertransport und internationalem Handel geprägt sind und in denen Impfprogramme als zusätzliche Biosicherheitsmaßnahmen zulässig sind (SCHIRRMIEIER 2014). Seit 2004 ist BVD in Deutschland eine anzeigepflichtige Tierseuche. Seit dem 01.01.2011 existiert ein landesweites verpflichtendes Bekämpfungsprogramm auf der Grundlage der BVD-Verordnung vom 11.12.2008, neugefasst durch Bekanntmachung vom 27.06.2016. Kernpunkte dieses Programms sind die verpflichtende Untersuchung aller Kälber bis Ende des ersten Lebensmonats auf BVD-Virus, die entsprechende Untersuchung aller Aborte, Totgeburten und verendeten Rinder auf diesen Erreger, Bestandssperren bei Feststellung von PI-Tieren im Bestand sowie das Verbot des Verbringens trächtiger Rinder, sofern diese nicht vor der Belegung geimpft oder noch nach dem 150. Tag der Trächtigkeit seronegativ sind.

Risikofaktoren für die Ausbreitung des BVDV in Deutschland bestehen jedoch weiterhin. Tiere, die positiv auf das Virus getestet wurden, verblieben in den ersten Jahren dieses Bekämpfungsprogrammes zunächst noch längere Zeit im Bestand, obwohl eine sofortige Merzung vorgeschrieben ist. Des Weiteren kommt es zum Verkauf und Handel von Tieren, die noch nicht getestet waren, zum Beispiel junger männlicher Kälber. Außerdem ermöglichen Ausstellungen, Auktionen und internationale Verladestationen den Kontakt verschiedener Tiere. Fehler im Management, in der Biosicherheit und in der Beachtung des akuten Risikos der Einschleppung von BVD erschweren zusätzlich die Eradikation (SCHIRRMIEIER 2014). Seit Einführung des verpflichtenden nationalen Bekämpfungsprogramms gegen BVDV im Jahr 2011 sank die Prävalenz der PI-Tiere in Deutschland von 0,48 % auf 0,02 % im Jahr 2016. Dies geht aus der Statistik zur BVD-Bekämpfung in Deutschland hervor, die vom Friedrich-Löffler-Institut (FLI) zusammengestellt wird und sich auf die Angaben in der HIT-Datenbank bezieht (WERNIKE 2017). Der Status als anzeigepflichtigen Tierseuche führt zu einem guten Monitoring über die Gesamtprävalenz der Krankheit in Deutschland. Das Sanierungsprogramm sieht vor, dass ein stabiler unverdächtiger Status in Deutschland erreicht wird. Anders als bei den Bekämpfungsprogrammen gegen BHV-1 wird derzeit noch nicht die komplette Antikörperfreiheit angestrebt. In diesem Fall sind Antikörper bei Tieren gestattet. Erfasst werden nur PI-Tiere und solche, die aktiv Antigen ausscheiden. Daraus ergibt sich die Möglichkeit der Impfung mit nicht speziell markierten Impfstoffen. Da BVD-Markervakzinen bislang noch nicht zur Verfügung stehen, ist eine einfache Unterscheidung zwischen natürlich infizierten und geimpften Tieren bislang noch nicht möglich (RIDPATH 2013).

Hessenweit sank die kumulative Prävalenz der PI-Tiere von anfänglich 0,26 % im Jahre 2011 auf 0,02 %. Im Jahr 2016 wurden Anhand der Ohrstanzproben in Hessen 33 Tiere detektiert (WERNIKE 2017).

### 2.14.3 BVD-Impfstoffe

Impfstoffe gegen BVD werden bereits seit 1960 entwickelt. Dennoch ist es bisher nicht gelungen, die Krankheit komplett auszurotten beziehungsweise die BVD-bedingten Verluste signifikant zu reduzieren (RIDPATH 2013). Dies liegt zum einen an der Heterogenität der Virusfeldstämme und zum anderen an der Fähigkeit des Virus, PI-Tiere entstehen zu lassen (RIDPATH 2013).

In Deutschland sind sowohl Tot- als auch Lebendimpfstoffe zugelassen. Beide führen zu einer humoralen und zellulären Immunreaktion, wobei die Lebendvakzinen größere Wirkung auf die T-Zell-vermittelte Immunantwort haben (RIDPATH 2013, PLATT et al. 2017). In der Literatur werden deshalb die Lebendimpfstoffe als besonders wirksam diskutiert (KÖNIG et al. 2006, RIDPATH 2013). Jedoch besteht ein Risiko, dass es durch die Impfung mit vermehrungsfähigem Virus zur diaplazentaren Übertragung und zur Virusausscheidung kommt (KÖNIG et al. 2006). Um dies zu verhindern, wurden in der Vergangenheit Impfschemata angewendet, welche zuerst eine Immunisierung mit einem Totimpfstoff empfehlen und eine anschließende Boostierung mit einer Lebendvakzine.

Seit 2014 ist ein Impfstoff, „Bovela<sup>®</sup>“ der Firma Böhlinger Ingelheim Vetmedica GmbH zugelassen, mit dem Rinder in allen Trächtigkeitsstadien geimpft werden können (EUROPEAN MEDICINES AGENCY 2014).

Dieser Impfstoff enthält als Antigen modifiziertes, nicht zytopathogenes Virus des Serotyps BVD-1 (Typ KE-9) und BVD-2 (Typ NY-93). In der Vaccine liegen beide Stämme in derselben Konzentration mit  $10^4$  -  $10^6$  GKID<sub>50</sub> vor. Nicht zytopathogene Virusstämme führen bei horizontaler Infektion zu einer starken und schnellen Antikörperreaktion und zeichnen sich durch eine Tropismus für Zellen der Lymphgewebe aus (LAMBOT et al. 1997). Beide Virustypen besitzen die gleiche genetische Modifikation, eine Deletion der codierenden Gene für das E<sup>rns</sup> und das N<sup>pro</sup>-Protein. In der Studie von Meyers et al. (2007) konnte festgestellt werden, dass durch diese Veränderung der codierenden Gene eine transplantare Übertragung des Virus verhindert werden kann (MEYERS et al. 2007). Das E<sup>rns</sup>-Protein ist ein Oberflächenprotein, welches entscheidend für die Produktion infektiöser Viruspartikel beteiligt ist. Des Weiteren hat das E<sup>rns</sup> eine intrinsische RNase-Aktivität, welche eine wichtige Rolle in der Virulenz und Pathogenität des Virus spielt. Eine Punktmutation des kodierenden Gens führt zu einem vermehrungsfähigen Virus, welches wesentlich in seiner Virulenz geschwächt ist (MEYERS et al. 2007). Das N<sup>pro</sup>-Protein hemmt die Interferon-Induktion in der infizierten Zelle. Eine Deletion des kodierenden Gens hat zur Folge, dass eine gesteigerte Interferon-Produktion erfolgt und eine sehr immunogene Reaktion induziert wird.

### **3 Tiere, Material und Methoden**

#### **3.1 Auswahl der Betriebe**

Die Untersuchungen erfolgten auf 16 hessischen Milchviehbetrieben im Zeitraum von Oktober 2017 bis Mai 2018. Es wurden Betriebe ausgewählt, die an der Milchkontrolle des hessischen Verbandes für Leistungs- und Qualitätsprüfung in der Tierzucht e.V. (HVL) teilnehmen. Dies sind etwa 2000 Betriebe mit ca. 100.000 Milchkühen in Hessen. Anhand der HVL-Listen wurden diese Betriebe auf Grundlage ihrer Milchleistung in Quartile eingeteilt. Hierfür standen die Daten des Kontrolljahres 2015/16 zur Verfügung. Das oberste (vierte) Quartil umfasste eine Milchleistung von 9.957 kg Milch bis 12.702 kg Milch/ Jahr. Das zweite Quartil umfasste die Milchleistungen von 8.016 kg bis 8.983 kg Milch/ Jahr. Sowohl aus dem obersten als auch aus dem 2. Quartil wurden randomisiert je zehn Betriebe mit Hilfe der Randomisierungsfunktion von Microsoft Excel ausgewählt. Diese Betriebe wurden zunächst in anonymisierter Form vom HVL zur Verfügung gestellt. Eine erste Kontaktaufnahme fand durch eine Mitarbeiterin des HVL statt. Nach fernmündlichem Einverständnis der Landwirte erfolgte eine persönliche Kontaktaufnahme, und detaillierte Informationen über die Studien wurden besprochen. Dieses gesamte Auswahlprocedere erwies sich als sehr langwierig (November 2016 bis Januar 2018), da 12 der per Zufallsprinzip ausgewählten Betriebe nicht an einer Teilnahme interessiert waren. Schließlich mussten noch zwei die Einschlusskriterien erfüllende Betriebe, Nr. 8 und Nr. 14, abweichend von dieser Vorgehensweise zusätzlich ausgewählt werden, um bis zum Erreichen der vorgesehenen Betriebsanzahl zeitlich nicht noch mehr in Verzug zu geraten. Die Umstände der Betriebsauswahl werden im Diskussionsteil ausführlicher beleuchtet.

Bei der Auswahl der Betriebe galten zusätzlich folgende Einschlusskriterien: Tiere der Rasse Deutsche Holsteins, Haltung in einem Boxenlaufstall (BLS), eine Herdengröße von mindestens 60 Milchkühen und ein BVD-unverdächtiger Status (mindestens innerhalb der letzten 5 Jahre) und bislang keine Impfungen gegen BVD. Weidegang wurde nicht als Ausschlusskriterium gewertet.

Einige Daten zu den in diese Studie aufgenommen Betrieben finden sich in den nachfolgenden Tabelle 1 und Tabelle 2 . Diese beziehen sich auf das Kontrolljahr 2015/16.

**Tabelle 1:** Übersicht der teilnehmenden Betriebe aus der Hochleistungsgruppe (Testgruppe, Gruppe 1)

Betrieb	Anzahl Kühe	Jahres-Milchleistung kg	Fett %	Eiweiß %
1	226,4	10169	3,92	3,42
2	130	11309	3,99	3,46
3	91,5	10416	3,81	3,29
4	148	10230	3,83	3,51
5	87	10728	3,89	3,35
6	143	11473	3,64	3,4
7	229,5	11224	3,83	3,41
8	259	12702	3,83	3,41

**Tabelle 2:** Übersicht der teilnehmenden Betriebe aus der Gruppe mit niedrigerer Leistung (Kontrollgruppe, Gruppe 2)

Betrieb	Anzahl Kühe	Jahres-Milchleistung kg	Fett %	Eiweiß %
9	83,1	8882	4,28	3,5
10	85,4	8244	4,1	3,34
11	84	8036	4,19	3,43
12	69,4	9080	4,27	3,34
13	70,2	8209	4,18	3,45
14	201	7746	4,27	3,51
15	133,8	8769	3,98	3,43
16	83,4	8961	4,04	3,41

Aus Tabelle 1 und Tabelle 2 geht hervor, dass die Tiere repräsentativ für den jeweiligen Betrieb ausgewählt worden waren. Die durchschnittliche Milchleistung der Probanden liegt jedoch bei allen Betrieben unterhalb des Betriebsdurchschnitts. Dies lässt sich damit erklären, dass sich die Milchleistungen der Probanden zum größten Teil aus deren Erstlaktationen zusammensetzen. Der Gruppenunterschied bleibt jedoch erhalten. So sind die Durchschnittswerte der Betriebe 1 bis 8 deutlich höher als die der Betriebe 9 bis 16.

### 3.2 Auswahl der Probanden (Einzeltiere)

Pro Bestand wurden jeweils 10 Tiere in die Studie einbezogen. Die Auswahl der Probanden erfolgte durch Zufall, da die Tiere ausgewählt wurden, welche voraussichtlich als nächste kalben würde. Es wurden vor allem Tiere innerhalb eines Betriebes ausgewählt, die innerhalb von 7 Tagen zur Kalbung anstanden. Insgesamt konnten in diesen 16 Betrieben 157 Kühe in diese Studie aufgenommen werden. Drei Tiere wiesen bei der allgemeinen Untersuchung eine erhöhte Rektaltemperatur auf und erfüllten somit die Ausschlusskriterien.

Die Untersuchungen erstreckten sich über den Zeitraum von Oktober 2017 bis Mai 2018. Zwischen dem 14. und 21. Tag post partum wurde bei den ausgewählten Kühen zunächst eine Allgemeinuntersuchung durchgeführt, mit Messung der Rektaltemperatur, Herz- und Lungenauskultation, Beurteilung der Schleimhäute sowie adspektorische Beurteilung des Bewegungsapparates. Falls keine Ausschlusskriterien vorlagen (Körpertemperatur  $>39,3$  °C und/oder eine Erkrankung mit Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens) wurden die Tiere in die Studie aufgenommen.

Am Tag dieser Erstuntersuchung erfolgte auch die Entnahme von Blut-, Harn-, Kot- und Milchproben sowie die BVD-Schutzimpfung. Hierzu wurden die Tiere im Fressfanggitter fixiert. Auf einem Betrieb waren keine Fressfanggitter vorhanden; dort wurden die Kühe zur Entnahme der Kot- und Urinproben in einer Liegebox fixiert und die Milch- und Blutproben wurden im Melkstand entnommen. Die Blutprobenentnahme erfolgte aus der gestauten Jugularvene (5 ml EDTA-Blut und 3 x 7,5 ml Blut zur Serumgewinnung). Zur Harngewinnung wurde versucht, die Kühe durch Massage der Vulva zum Harnabsatz zu veranlassen. In den 10 Fällen, in denen dies nicht gelang, wurde Katheterharn entnommen. Die Urinproben wurden unmittelbar nach der Entnahme auf Trockeneis verbracht und bis zur weiteren Verarbeitung bei  $-26$  °C gelagert.

Unmittelbar nach diesen Untersuchungen wurde diesen Kühen einmalig eine Dosis (2 ml) des BVD-Lebendimpfstoff „Bovela<sup>®</sup>“ (Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH) gemäß Herstellerangaben in die Ankonäen-Muskulatur verabreicht (Näheres hierzu unter 3.8).

### **3.3 Milchkontrolldaten**

Die Milchkontrolldaten der Einzeltiere wurden von Vereinigte Informationssysteme für Tierhaltung w. v. (VIT) zusammengestellt und zur Verfügung gestellt. Sie wurden im Rahmen der monatlichen Milchkontrolle routinemäßig durch den hessischen Landeskontrollverband (HVL) erfasst.

Aus dem Vergleich zwischen der Milchleistung der in diese Studie einbezogenen Probanden und der Herdenleistung der jeweiligen Betriebe wird ersichtlich, dass diese Tiere durchaus repräsentativ sind für den betreffenden Bestand (Tabelle 3). Die durchschnittliche Milchleistung der Probanden lag jedoch in allen Betrieben unterhalb des jeweiligen Betriebsdurchschnitts. Dies lässt sich damit erklären, dass Kühe der zweiten Laktation, von denen gemäß dem Auswahlprinzip die erste Laktation als Vergleichsmaßstab gewählt wurde, in dieser Stichprobe etwas überrepräsentiert waren. Die Unterschiede zwischen Test- und Kontrollgruppe bleiben jedoch erhalten. So sind die Durchschnittswerte der Betriebe 1 bis 8 (Testgruppe) deutlich höher als die der Betriebe 9 bis 16 (Kontrollgruppe mit niedrigerer Milchleistung).

**Tabelle 3:** Vergleich zwischen der Jahresmilchleistung der Probanden in deren Vorlaktation und der durchschnittlichen Leistung des Betriebes im Jahr 2016/17

Betrieb	Milchleistung der Probanden [kg]		Jahresherdenleistung im Jahr 2016/17 [kg]
	$\bar{x}$	X <sub>min</sub> – X <sub>max</sub>	
<b>1</b>	9960	5348 – 11207	10196
<b>2</b>	10268	6897 - 12494	11309
<b>3</b>	9435	6576 - 10972	10416
<b>4</b>	9052	6487 - 11213	10230
<b>5</b>	10312	6550 - 12311	10728
<b>6</b>	10023	7725 - 14596	11473
<b>7</b>	11879	8134 - 15615	11224
<b>8</b>	11344	3907 - 15416	12702
<b>1 - 8</b>	9652	3907 - 15615	$\bar{x} = 11035$
<b>9</b>	8377	6785 - 12708	8882
<b>10</b>	7936	3048 - 10263	8244
<b>11</b>	7351	3807 - 8954	8036
<b>12</b>	8775	7712 - 11976	9080
<b>13</b>	8524	7532 - 12010	8209
<b>14</b>	7855	4322 - 12583	7746
<b>15</b>	8669	5621 - 10679	8769
<b>16</b>	7361	7034 - 9857	8961
<b>9 - 16</b>	8204	3048 - 12583	$\bar{x} = 8491$

### 3.4 Kuhkomfortindex

Im Sommer 2017 fand die Begehung der Betriebe statt. Die Beurteilung der einzelnen Milchkuhhaltungen wurde mittels einer selbst erstellten Checkliste durchgeführt. Darin eingeschlossen waren Kriterien für die Haltung der Milchkühe, inklusive Bauhülle, Liegeboxen, Laufbereich, Futtertisch und Tränke. Des Weiteren wurden die Abkalbe- und Krankenboxen beurteilt sowie die Aufstallung der Trockensteher und Kälber bis 6 Monate. Außerdem wurden die Fütterung und das Management eines jeden Betriebes bewertet. Im Anhang befindet sich die ausführliche Liste mit allen Kriterien. Zum Teil sind Schulnoten vergeben worden, von 1 = sehr gut bis 6 = ungenügend, zum Teil wurde auch lediglich festgestellt, ob ein Merkmal vorhanden war (= Zahl 1) oder nicht (= Zahl 0). Die Tabelle 20 gibt die Kriterien mit Checkliste an, nach denen die Liegeboxenlaufställe bewertet wurden. Die Bewertung der Bauhülle und der Liegeboxenqualität erfolgten ebenfalls subjektiv anhand von Schulnoten. Das Melksystem, die Bodenbeschaffenheit, die Fütterungsgruppen und das Fütterungsmanagement wurden anhand von zugeordneten Zahlen beschrieben. Der Lahmheitsscore wurde als Durchschnittswert für

jeden Betrieb angegeben; ermittelt wurde er anhand einer zufälligen Stichprobe aus 10 aufgetriebenen und 10 stehenden Tieren des Bestandes im Laufstall. Die BCS-Note beschreibt einen subjektiven Durchschnittswert der Herde. Es wurde dabei das Bewertungsschema nach Edmonson verwendet (EDMONSON et al. 1989). Der Betrieb Nr. 16 ist mit sehr vielen sehr mageren Tieren aufgefallen, während die Betriebe Nr. 2,4,6 und 14 auffällig viele sehr gut und teilweise überkonditionierte Kühe in der Herde besaßen. Die beste Liegeboxenqualität hatte der Betrieb Nr. 9, und auch der Betrieb Nr. 8 hatte sehr gut gestaltete Liegeboxen.

In der Tabelle 20 im Anhang sind die Ergebnisse dieser Bewertungen für die einzelnen Betriebe aufgelistet. Um einen einheitlichen Kuhkomfortindex zu bestimmen, mussten alle Beobachtungen zusammengefasst werden. Dieser wurde mittels folgender Formel bestimmt:

$$y = \frac{Max.-x}{R}$$

Max. = der mögliche Maximalwert

x = der gemessene Wert

R = Range, Spanne in dem sich die Werte bewegen

Für den Kuhkomfortindex wurden folgende Werte aus der Tabelle 20 einbezogen: Die Bauhülle, der Boden, das Tier-Liegeplatzverhältnis, das Tier-Fressplatzverhältnis und die Liegeboxenqualität. Da das Tier-Liegeplatzverhältnis und die Liegeboxenqualität einen entscheidenderen Einfluss haben (COOK 2008), wurden diese Werte mit dem Faktor 3 multipliziert. Da auch das Tier-Fressplatzverhältnis von größerer Bedeutung ist, wurde dies mit dem Faktor 2 bewertet. Die Bauhülle und der Boden wurden einzeln gewertet (Liegeplatzverhältnis x3; Liegeboxenqualität x3; Tier-Fressplatzverhältnis x2; Bauhülle x1; Boden x1). In den drei Betrieben (Betrieb Nr. 6, 14 und 16) hatten die Kühe Weidegang, jedoch wurde dies nicht bei Kuhkomfortindex berücksichtigt, da keiner der Betriebe einen speziellen Vertrag über die Produktion von Weidemilch mit seiner Molkerei abgeschlossen hatte und somit Art und Umfang des Weidegangs erheblich variierten.

### **3.5 Analysemethoden und Aufbereitung der Proben**

Nach der Blutentnahme wurden die Seren für mindestens 4 bis maximal 24 Stunden im Kühlschrank bei 7 °C gekühlt. Anschließend wurden sie in einer Zentrifuge der Firma Hettich bei 4000 Umdrehungen / Minute für 10 Minuten abzentrifugiert. Das Serum wurde direkt im Anschluss in beschriftete 2 ml Safe-Lock Tubes der Firma Eppendorf® (Hamburg) abpipettiert. Das Serum wurde bei -26 °C bis zur weiteren Bearbeitung tiefgefroren gelagert.

Die für die Untersuchung in externen Labors vorgesehenen Proben wurden gefroren auf Trockeneis verschickt. Im Labor der Klinik für Rinder der Stiftung Tierärztliche Hochschule Han-

nover wurden am ABX Pentra 400 HORIBA Medical spektrophotometrisch folgende Parameter im Serum bestimmt: NEFA, BHBA, Gesamteiweiß, Gesamtbilirubin, AST, GLDH, GGT und Cholesterin.

Die Bestimmung der Netto-Säure-Basen-Ausscheidung erfolgte mittels Titration auf Farbumschlag eines zugesetzten Indikators, wobei der Gesamtwert der NSBA ermittelt wird. Diese Messung wurde ebenfalls im Labor der Klinik für Rinder an der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover durchgeführt. Dort wurde auch der Natrium-Gehalt der Urinproben mit Hilfe eines Flammenphotometers bestimmt.

Die entnommenen EDTA-Blutproben wurden noch am Tag der Entnahme im Labor der Klinik für Wiederkäuer der Justus-Liebig-Universität untersucht. Für den Glutartest wurde jeweils 1 ml einer 25 %igen Glutardialdehyd-Lösung (Firma SIGMA-ALDRICH G 6257) in Reagenzgläser vorgelegt, danach wurde 1 ml EDTA-Blut zugegeben und beides durch Kippen gemischt. Die Zeit bis zur Gerinnung wurde mittels Stoppuhr bestimmt.

### 3.6 Auswertung der Antikörperproben

**Tabelle 4:** Anzahl beprobter Tiere und auswertbarer Blutproben je Bestand

Betrieb	Anzahl beprobter Tiere	auswertbare Proben	Tiere mit vorhandenen Ak vor der Impfung	Tiere bei der 2. Beprobung nicht mehr im Bestand
1	10	10	0	0
2	10	8	2	0
3	10	10	0	0
4	10	10	0	0
5	10	10	0	0
6	10	10	0	0
7	10	10	0	0
8	10	10	0	0
9	10	8	1	1
10	10	10	0	0
11	9*	8	0	1
12	10	10	0	0
13	9*	7	1	1
14	10	8	2	0
15	10	1	9	0
16	9*	0	9	0
<b>Σ</b>	<b>157</b>	<b>130</b>	<b>24</b>	<b>3</b>

\* Tiere wurden wegen Fieber, Körpertemperatur von >39,5°C nicht geimpft.

In der Tabelle 4 ist die Anzahl der beprobten Tiere je Bestand aufgeführt. Drei Tiere haben den Bestand in dem Zeitraum zwischen der Impfung und der zweiten Blutprobe nach Ermessen des Landwirtes verlassen (1 x Ausgrätschen, 1 x Mastitis nach Verletzung des Strichkanals, 1 x Krankheit unbekannter Ursache). Grundsätzlich wurde das Vorhandensein von Antikörpern vor der Impfung als ein Ausschluss-Kriterium angesehen. Da der SNT jedoch erst nach Ablauf des Tierversuchs durchgeführt wurde, sind BVDV-Antikörper-positive Tiere erst danach aufgefallen. Tiere mit positivem Titer zum Zeitpunkt der Impfung sind nicht bzw. gesondert in die Bewertung eingegangen.

### **3.7 Impfung**

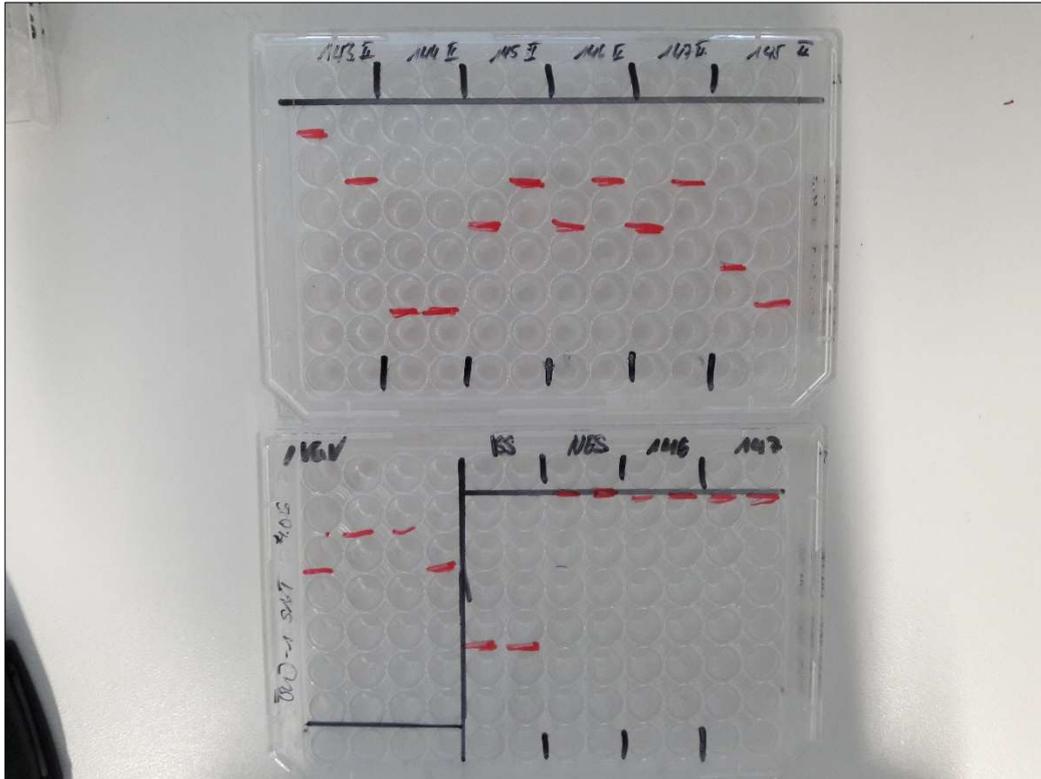
Die Impfung erfolgte mit dem BVD-Lebendimpfstoff Bovela® der Firma Böhrringer Ingelheim Vetmedica GmbH. Anwendungsgebiet des Impfstoffes ist die aktive Immunisierung von Rindern ab einem Alter von 3 Monaten gegen die Auswirkungen einer BVD bedingten Virusinfektion, insbesondere zur Verhinderung der Geburt von PI-Kälbern, verursacht durch eine transplantare Infektion.

Nach Herstellerangaben wurden je 2 ml des Impfstoffs einmalig in die Ankonäenmuskulatur injiziert. Zur Beurteilung des Antikörpertiter-Anstiegs wurde im Zeitraum 26 bis 30 Tage nach dieser Impfung eine zweite Blutprobe (zwei 7,5-ml-Serumröhrchen) aus der Vena jugularis entnommen.

### **3.8 Antikörper-Bestimmung, Testdurchführung des SNT**

Diese Untersuchungen erfolgten im Labor des Instituts für Virologie (Veterinärmedizin) der Justus-Liebig-Universität in Gießen. Mittels Serum-Neutralisationstest (SNT) wurden die BVDV-1-Antikörpertiter gemäß der hierfür geltenden hausinternen Standarduntersuchungsvorschriften quantitativ bestimmt. Dies geschah in jeweils 4 Ansätzen an 4 verschiedenen Tagen.

Der SNT wird dabei auf 96-Well Platten vorgenommen (Abb. 3), welche im Vorhinein entsprechend beschriftet wurden. Die ersten vier Reihen der ersten Platte werden für eine Virus-Gebrauchsverdünnung (VGV) verwendet, in die nächsten folgen die ISS (internes Standardserum) und NES (Negativserum) im Doppelansatz. Folgend werden die nächsten Reihen für das Testserum verwendet und über die nächsten Platten fortlaufend beschriftet.



**Abb. 3:** 96-Well Testplatten mit Virusgebrauchsverdünnung, Positiv- und Negativserum, sowie der Testseren

Im ersten Schritt wird das Zellkulturmedium, Medium CCM 34 ohne Fötales Bovines Serum (FBS) in alle Wells vorgelegt. Die ersten vier Reihen für die Rücktitration der VGV werden mit 150 µl Medium befüllt. In alle weiteren Vertiefungen, auch in die der nächsten Platten, wird mit einer Mehrkanalpipette 100 µl Medium vorgelegt.

Im nächsten Schritt erfolgen das Auftragen und die Verdünnung der Seren. Zunächst werden die Kontrollseren, ISS, internes Standardserum und NES, negatives Standardserum mit je 50 µl in die Vertiefungen der 2. Reihe pipettiert. Eine Toxizitätskontrolle der Standardseren ist dabei nicht notwendig, weshalb die obere Reihe ausbleibt. Von den Testseren werden je 50 µl in die dafür vorgesehenen und nummerierten Vertiefungen hinein pipettiert. Es werden die oberen beiden Reihen aufgefüllt, während die erste Reihe als Toxizitätskontrolle dient und die 2. Reihe der Beginn der Verdünnungsreihe ist. Ab der zweiten Reihe wird mit einer Mehrkanalpipette durch mehrfaches Aufziehen und Ausstoßen (8-mal) das Serum gut vermischt. Anschließend werden 50 µl Serum in die folgende Vertiefung pipettiert. Der Vorgang wiederholt sich bis zum Ende der Reihe. Am Ende werden die überschüssigen 50 µl verworfen.

Die Verdünnung der Testviren wird durch das Herstellen einer VGV gewährleistet, wobei eine 100 TCID 50/50 µl im Zellkulturmedium angestrebt wird. Dazu werden 50 µl Virus in die erste Reihe der VGV gegeben. Die VGV wird durch 6-maliges Aufziehen und Ausstoßen einer Pipette gemischt und in die folgende Vertiefung umgesetzt. Dies wird für die nächsten Reihen

genauso durchgeführt. Nach jedem Mischen und Umsetzen werden die Pipettenspitzen gewechselt.

Im folgenden Schritt wird das Testvirus hinzugefügt. Dabei handelt es sich um den Virusstock BVDV-1, Stamm Osloss #6 WVS\_091195 (G. Meyer, Tübingen), gelagert in Aliquots á 100 µl bei -70°C. Eine Verdünnung von 1:3000 wird angestrebt. Es wird wiederum Fötale Bovines Serum verwendet. Die Konzentration des Virus in der Verdünnung ergibt sich dann aus der Virus-Verdünnungsreihe, entsprechend einer Virusdosis von 100 GKID<sub>50</sub>/Vertiefung (Gewebe- kultur infektiöse Dosis). In die Vertiefungen, mit Ausnahme der ersten Reihe, wird mit einer automatischen Dispensierpipette je 50 µl Virusverdünnung aufgetragen und anschließend zwei Stunden bei 37 °C in einem Gewebekulturinkubator inkubiert.

Nach der Inkubation werden die Indikatorzellen hinzugefügt. Dabei handelt es sich um MDBK-Zellen (Madin Darby Bovine Kidney-Zellen). Die Qualität dieser Zellen wird mikroskopisch beurteilt. Anschließend wird der Überstand des Nährmediums abgenommen und die Zellen werden mit 10 ml einer Trypsin-/ EDTA-Lösung gewaschen. Die Lösung wird wieder abgenommen, 1 ml neues Trypsin wird aufgetragen und für die Ablösezeit für einige Minuten in den befeuchteten Inkubator gestellt. Die Zellen werden durch leichte Stöße gegen die Platte vom Boden abgelöst, resuspendiert und in 2 ml Zellkulturmedium mit 15 % fötalem Kälberserum gegeben. Nach der Zugabe von weiteren 8 ml Zellkulturmedium wird die Suspension in ein Röhrchen überführt. Die Zellzahl pro ml wird mittels der Trypanblauexklusion bestimmt. Dazu wird eine Zellsuspension von 20 µl Zellsuspension mit 180 µl Trypanblau hergestellt und auf eine Fuchs-Rosenthal-Zählkammer aufgetragen und nach 3 Minuten unter dem Mikroskop ausgezählt.

Anschließend werden alle Wells mit je 100 µl Zellsuspension beschickt und für 3 Tage bei 37 °C inkubiert.

Die Auswertung des Tests erfolgt gemäß der amtlichen Methodensammlung für die BVD (FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT 2014) mit einem Immunfluoreszenstest.

Das Medium wird dazu von den inkubierten Platten abgenommen und zweimal mit 50 µl/Well PBS gewaschen. Im Anschluss wird 50 µl Fixans in alle Vertiefungen gegeben und die Platte 20-30 Minuten zur Fixierung bei 5°C zurückgestellt. Nach der Fixierung wird das Fixans wieder abgegossen und die Platte erneut zweimal mit PBS gewaschen.

Im nächsten Schritt wird in jede Vertiefung 50 µl Triton X 100 pipettiert und bei Raumtemperatur für 5 Minuten inkubiert. Nach Ablauf der Inkubation wird die Lösung abgegossen und 50 µl des ersten Antikörpers, Mak-Code 1-4-7 (in der entsprechenden Gebrauchsverdünnung

des Primär-Antikörpers) werden aufgetragen. Der Primär-Antikörper wird zwei Stunden bei feuchter Atmosphäre inkubiert.

Nach der Inkubation wird erneut dreimal mit PBS gewaschen und anschließend der Detektions-Antikörper aufgetragen. Dieser ist ein Ziege  $\alpha$  Mouse -Cyp3 Antikörper. Es werden je 50  $\mu$ l aufgetragen. Erneut wird der Test für eine Stunde bei 37 °C inkubiert. Nach einer Stunde wird letztlich dreimal mit PBS gewaschen und der Überstand abgossen.

Das Ablesen der Platten erfolgt unter einem inversen Fluoreszenzmikroskop mit Grünanregung ca. 552 nm und einer 100fachen Vergrößerung. Das Vorliegen eines zpE in der Immunfluoreszenz wird im Testprotokoll eingetragen (Abb. 4).



**Abb. 4:** Vorliegen eines zpE in der Immunfluoreszenz

Die Auswertung erfolgt nach der Berechnung von Spearman-Kärber mit folgender Formel:

$$\text{Titer} = D^{-(R+0,5)}$$

$$\text{Dosis} = \log_{10} D^{(R+0,5)} [\log_{10} \text{ND}_{50}]$$

R = Reaktionskonstante

D = Verdünnungsfaktor

Der Verdünnungsfaktor beträgt im Fall der Seren 3 und zur Berechnung der VGV liegt eine Verdünnung von Faktor 4 vor. Die Titer der neutralisierenden Antikörper werden als  $\log_{10} \text{ND}_{50}$  angegeben. Dies bezieht sich auf den dekadischen Logarithmus der höchsten Verdünnungsstufe, bei der in 50 % der Replikate eine Neutralisation des vorgelegten Virus auftrat.

Eine Serokonversion liegt dann vor, wenn bei gepaarten Serumproben ein Anstieg des Titers um wenigstens 2 Titerstufen (Faktor 9) beobachtet wird.

Da zwischen den BVD-Typ 1 und 2 keine deutlichen Unterschiede in den Titeranstiegen erwartet wurden, da sie beide in derselben Konzentration im Impfstoff vorliegen, wurden ausschließlich die Antikörpertiter vom BVD-Typ 1 gemessen. Im folgenden Text wird zur besseren Übersicht dennoch nur von einem BVD-Antikörpertiter geschrieben, welcher dem gemessenen BVD-Typ-1 Antikörper entspricht.

### **3.9 Tierversuchsgenehmigung**

Vor Beginn der Versuchsdurchführungen wurde beim Regierungspräsidium Gießen ein Antrag zur Durchführung vom Tierversuch „Immunkompetenz bei Milchkühen“ gestellt. Es erfolgte eine Genehmigung des Tierversuches gemäß § 8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes durch das zuständige Regierungspräsidium am 18. September 2017. Die Genehmigungsnummer des Tierversuches lautet: G 58/2017. Die Universitäts-interne Versuchsnummer lautet: 871\_GP. Die Genehmigung war befristet bis zum 22. März 2018. Als abzusehen war, dass dieser Termin nicht eingehalten werden kann, wurde eine Verlängerung bis Ende Mai 2018 beantragt, der auch stattgegeben wurde.

### **3.10 Statistische Auswertung**

Die erhobenen Daten wurden in das Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel® Version 2010 eingegeben. Die statistischen Auswertungen erfolgten in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung der Justus-Liebig-Universität Gießen (Dr. K. Failing) unter Verwendung des Programmpakets BMDP (BMDP Statistical Software, Inc.).

Zum Teil wurden die berücksichtigten Parameter bei der Datenauswertung für eine bessere Darstellung und Annäherung an eine Normalverteilung logarithmiert. Die Prüfung auf Zusammenhänge zwischen der Höhe der Antikörpertiter und den Nebenzielkriterien erfolgte mittels multipler logistischer Regressionsanalyse.

Für den Test auf Zusammenhänge zwischen dem Hauptzielkriterium und den weiteren erhobenen Daten wurde der Zusammenhang mittels Korrelationsanalyse ermittelt. Eine multiple Regressionsanalyse sollte den Zusammenhang der abhängigen Variablen zu den unabhängigen darstellen. Für die Berechnung des Zusammenhangs zwischen dem Antikörpertiter und dem Glutartest wurde der Rangkorrelationstest nach Spearman verwendet.

Für den Test auf Gruppenunterschiede, bezogen auf das Hauptzielkriterium „Antikörpertiter“ wurde der Wilcoxon-Mann-Whitney Test und der T-Test verwendet. Berechnungen mittels des T-Tests wurden bei Variablen verwendet, welche als normalverteilt angenommen wurden. Der Wilcoxon-Mann-Whitney Test wurde dementsprechend bei nicht normalverteilten Variablen angewendet.

Die Ergebnisse der Blut- und Urinwerte wurden in Bezug auf die Leistungsgruppen mit dem Chi-Quadrat Test nach Pearson auf Signifikanz geprüft.

Zur Beschreibung des Signifikanzniveaus wurden folgende Bezeichnungen verwendet:

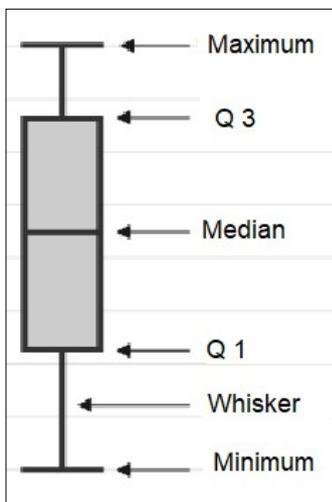
$p \leq 0,001$ : hochsignifikant

$p \leq 0,01$ : signifikant

$p \leq 0,05$ : schwach signifikant

$p \geq 0,05$ : nicht signifikant

Die Verteilung der Antikörpertiter in den Leistungsgruppen und auf den Betrieben wurde mittels Box-and-Whisker-Plot dargestellt (Abb. 5). Dazu wurden der Median, die Quartile 1 und 3 sowie die Maximal- und Minimalwerte bestimmt, aus denen die Spannweite resultiert.

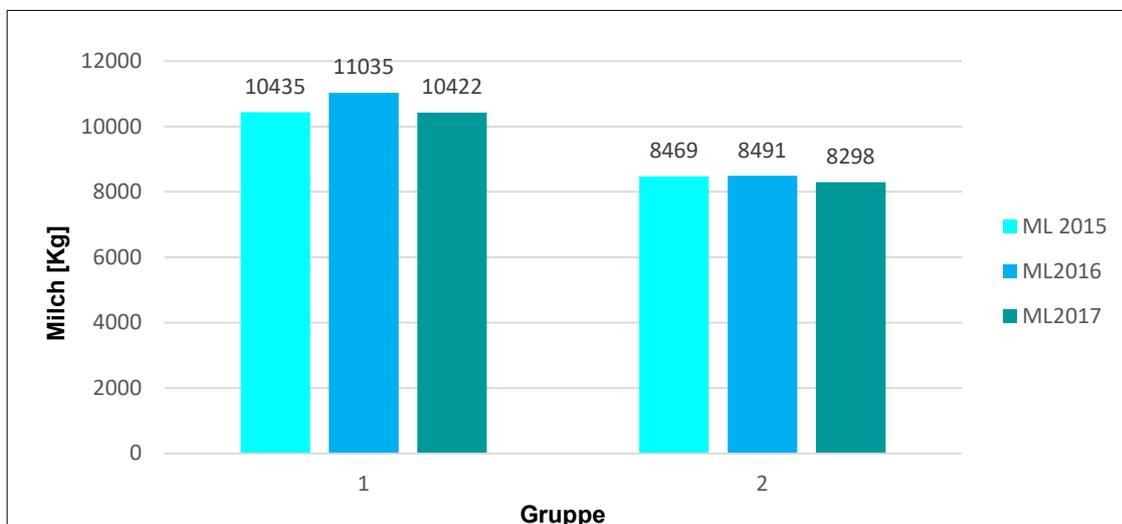


**Abb. 5:** Darstellung der Daten mit Hilfe eines Box-and-Whisker-Plots

## 4 Ergebnisse

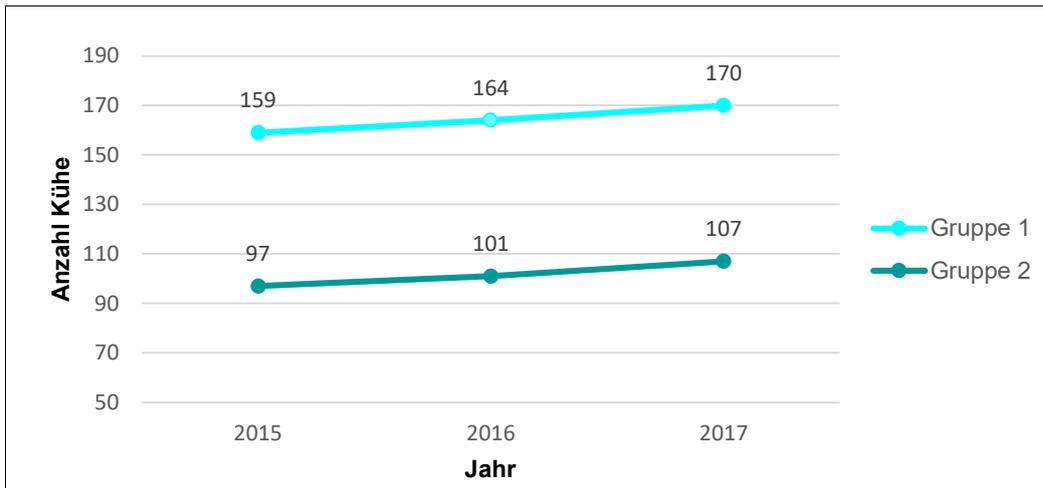
### 4.1 Betriebskennzahlen

In den 16 untersuchten Betrieben lag die durchschnittliche Jahresmilchleistung der hochleistenden Betriebe (Gruppe 1) im Jahr 2016 bei 11035 kg Milch mit einem Fettgehalt von 3,84 % und einem prozentualen Eiweißgehalt von 3,45 % (Abb. 6). In der Kontrollgruppe (Gruppe 2) betrug diese im selben Jahr 8491 kg mit einem Fettgehalt von 4,16 % und einem Eiweißgehalt von 3,43 %. Damit liegen die Betriebe der Gruppe 1 in diesem Kontrolljahr mit 2580 kg Milch pro Kuh und Jahr über dem hessischen Landesdurchschnitt vom 2016, welcher bei 8455 kg Milch mit 4,09 % Fett und 3,41 % Eiweiß lag (ARBEITSGEMEINSCHAFT DEUTSCHER RINDERZÜCHTER E.V. 2017). Die Gruppe 2 lag mit ca. 45 kg Milch auch knapp oberhalb des Landesdurchschnitts. Dies ergibt sich aus der Auswahl der Betriebe nach den Quartilen und anhand des Medians. Dieser lag bei 8983 kg Milch, wodurch die mittlere Milchleistung der unteren Gruppe auch höher als der Landesdurchschnitt liegt. Entscheidend war in diesem Fall das Kontrolljahr 2016, da die Betriebe anhand dieser Jahresleistungen aufgeteilt und ausgewählt wurden. In beiden Gruppen haben die Betriebe im Jahr 2016 die meiste Milch der drei beobachteten Jahre produziert. In diesem Jahr lag die Milchleistung sowohl in den Betrieben der Testgruppe als auch in denen der Kontrollgruppe höher als in dem Jahr davor und danach (Abb. 6).



**Abb. 6:** Entwicklung der Jahresmilchleistung über die drei Kontrolljahre 2015 - 2017

Bezogen auf das Kontrolljahr 2017 war der kleinste beprobte Betrieb der Betrieb Nr. 14 mit 71 Milchkühen, der größte mit 264 Milchkühen der Betrieb Nr. 8. Die Zahl der gehaltenen Kühe betrug im Jahr 2017 in der Gruppe 1 durchschnittlich 170, in der Gruppe 2 waren es 107 Tiere. Die Entwicklung der Kuhzahlen zeigt für die Jahre 2015 bis 2017 in beiden Gruppen steigende Tendenz, doch konnte für diesen Trend – vermutlich wegen zu geringer Fallzahlen – keine Signifikanz nachgewiesen werden ( $p = 0,976$ ; Abb. 7).



**Abb. 7:** Entwicklung der Kuhzahlen über die drei Jahre mit steigender Tendenz ( $p = 0,98$ ); die Gruppe 1 entspricht der Hochleistungsgruppe, Gruppe 2 die durchschnittlich leistende

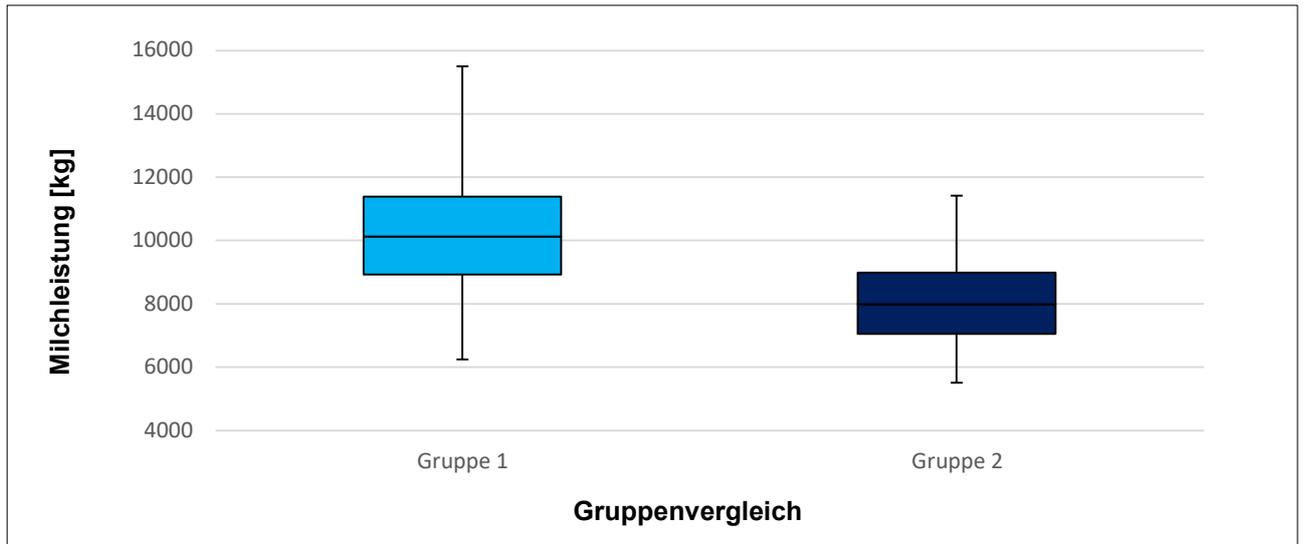
Insgesamt befanden sich 37 % der beprobten Tiere in der 2. Laktation, während der Anteil der Tiere in der 2. bis 4. Laktation 72 % entsprach. Die Verteilung der Kühe auf die Laktationen war in beiden Leistungsgruppen ähnlich ( $p = 0,91$ ) (Tabelle 5).

**Tabelle 5:** Übersicht über die Verteilung der Probanden auf die Laktationen

Laktationsnummer	Gruppe 1 (n = 80)	Gruppe 2 (n = 79)	$\Sigma$ (n = 159)	$\Sigma$ % (100 %)
2	35	31	66	37
3	19	23	42	23
4	10	11	21	12
5	7	7	14	8
6	6	7	13	7
7	1	0	1	0,6
8	1	0	1	0,6
9	1	0	1	0,6
$\Sigma$	80	80	160	100

## 4.2 Milchleistung im Gruppenvergleich

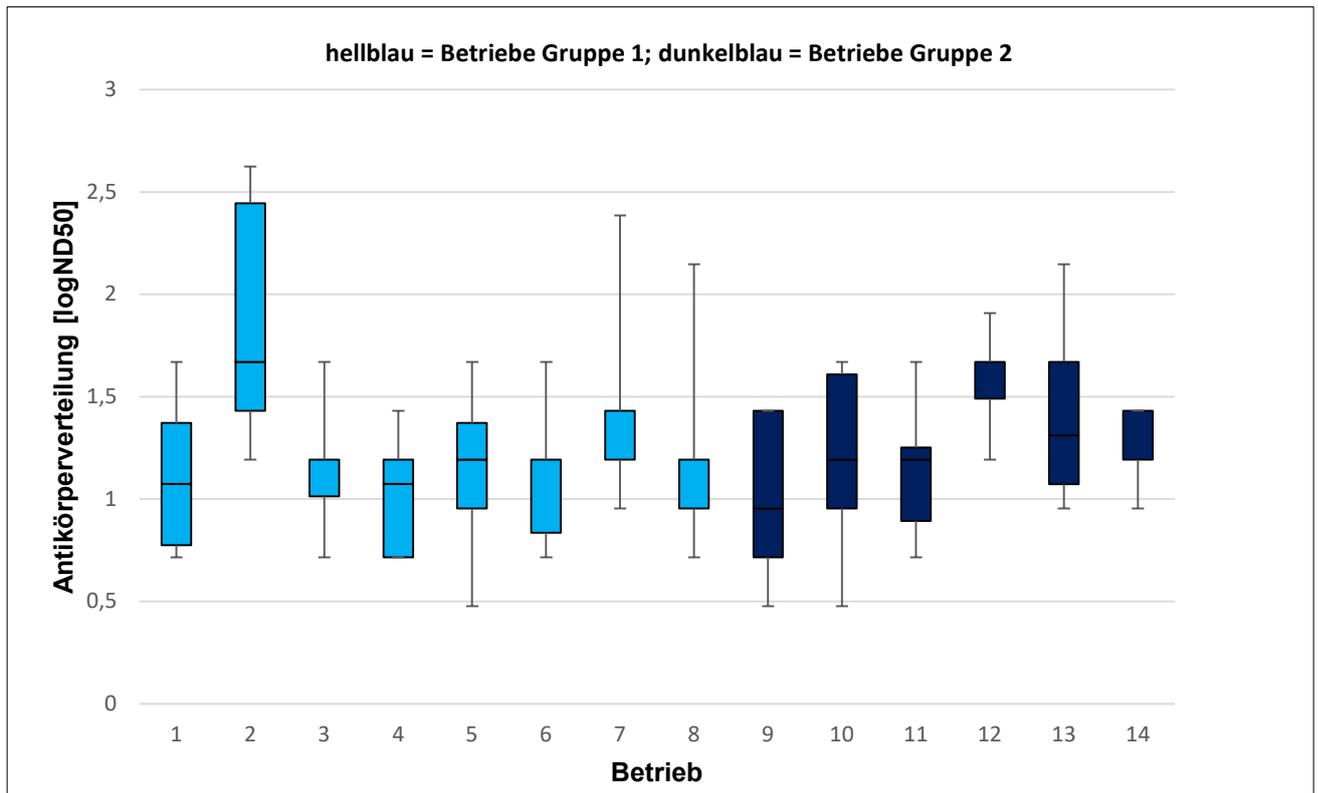
Im Betrieb 15 besaßen vor der Impfung bereits 9 von 10 Tieren einen positiven BVDV-Typ-1-Antikörpertiter, im Betrieb 16 waren alle 10 Tiere positiv. Aus diesem Grund werden die Betriebe 15 und 16 im Folgenden separat betrachtet. Auffällig ist, dass im Betrieb Nr. 15 ein Tier keine Antikörper vor der Impfung besaß, während alle anderen beprobten Tiere des Bestandes bereits Antikörper hatten.



**Abb. 8:** Verteilung der 305-Tage-Milchleistung der Einzeltiere in beiden Gruppen ( $p < 0,001$ ); die Gruppe 1 entspricht der Hochleistungsgruppe, Gruppe 2 die durchschnittlich leistende

Die Abb. 8 zeigt die Verteilung der 305-Tage-Milchleistungen in einer Box-and-Whisker-Darstellung beider Leistungsgruppen. Der Median der Gruppe 1 liegt bei 10.124 kg, derjenige der Gruppe 2 bei 7.992 kg. Beide Gruppen unterscheiden sich in der Milchleistung signifikant voneinander ( $p < 0,001$ ).

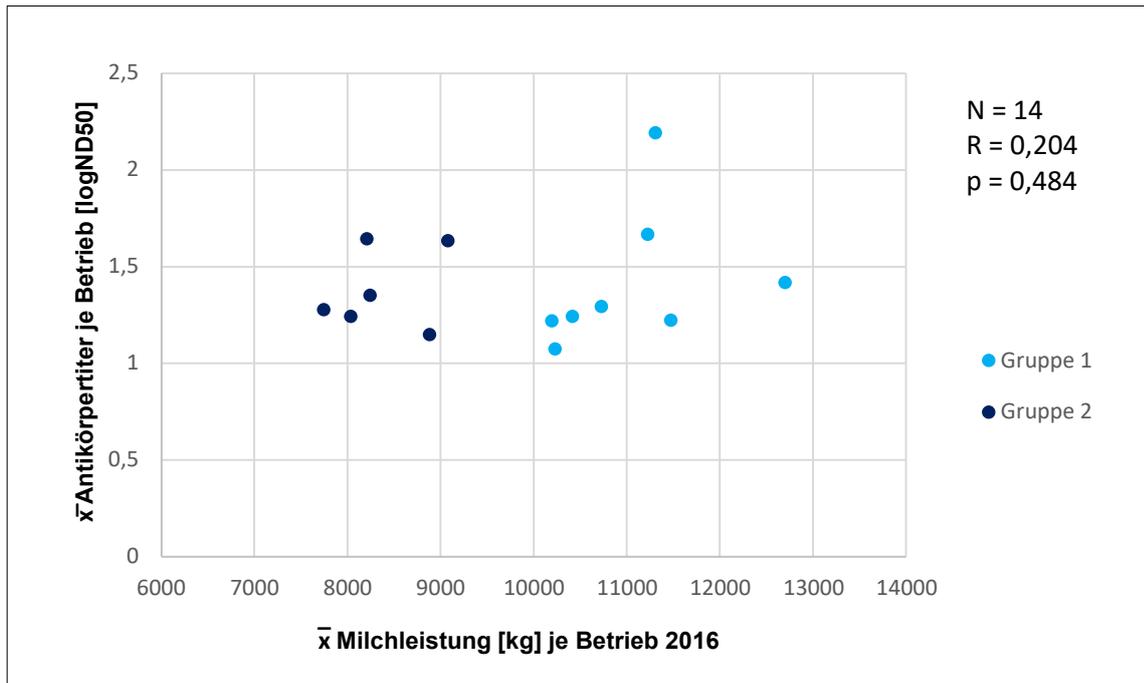
### 4.3 Die Verteilung der Antikörpertiter



**Abb. 9:** Box-Plot-Darstellung der Verteilung der Antikörpertiter je Betrieb, welche vorher keinen Antikörpertiter gegen BVD besaßen; in hellblau sind die Betriebe der Gruppe 1 und in dunkelblau die Betriebe der Gruppe 2 gekennzeichnet

Die Abb. 9 zeigt die durchschnittliche Verteilung der Antikörpertiter je Betrieb in der Darstellung eines Box-and-Whisker-Plots. Der Betrieb 2 hat zwei Tiere mit sehr hohen Antikörpertitern. Es konnte ausgeschlossen werden, dass diese bereits vor der Impfung einen positiven Titer hatten. In dieser Auswertung und Darstellung sind diejenigen Tiere mit einem bereits zum Impfzeitpunkt positiven BVD-Antikörpertiter nicht enthalten. Dabei handelte es sich um jeweils ein Tier in den Betrieben 9 (4,6 Jahre alt) und 13 (4,1 Jahre alt) und um jeweils zwei Tiere in den Betrieben 2 (4 und 5,6 Jahre) und 14 (3,4 und 6,3 Jahre alt).

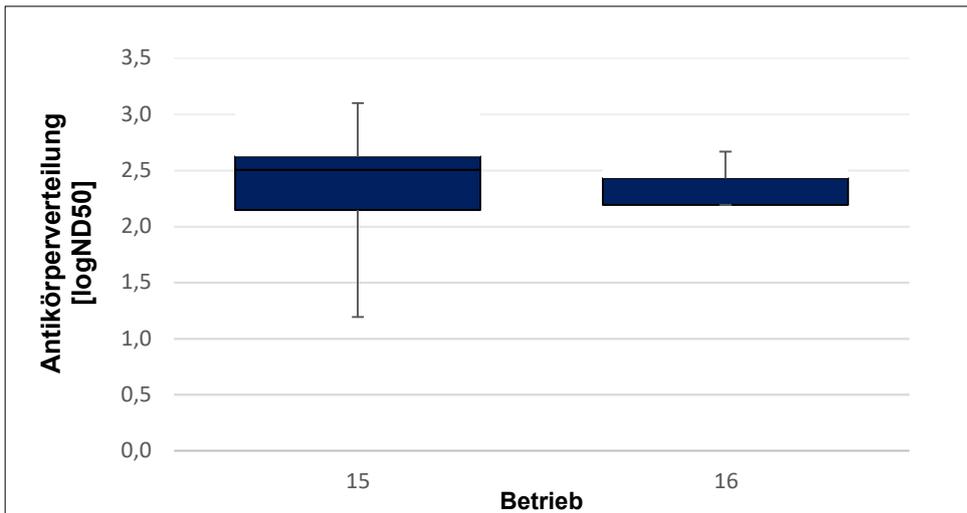
Insgesamt bewegten sich die Titerhöhen nach Impfung bei den zuvor seronegativen Kühen zwischen 0,5 logND50 und 2,6 logND50.



**Abb. 10:** Korrelationsanalyse zwischen den Jahresmilchleistungen der Betriebe aus dem Jahr 2016 und den durchschnittlichen Antikörpertitern ( $p = 0,484$ ;  $R = 0,204$ ); die Gruppe 1 entspricht der Hochleistungsgruppe, Gruppe 2 die durchschnittlich leistende

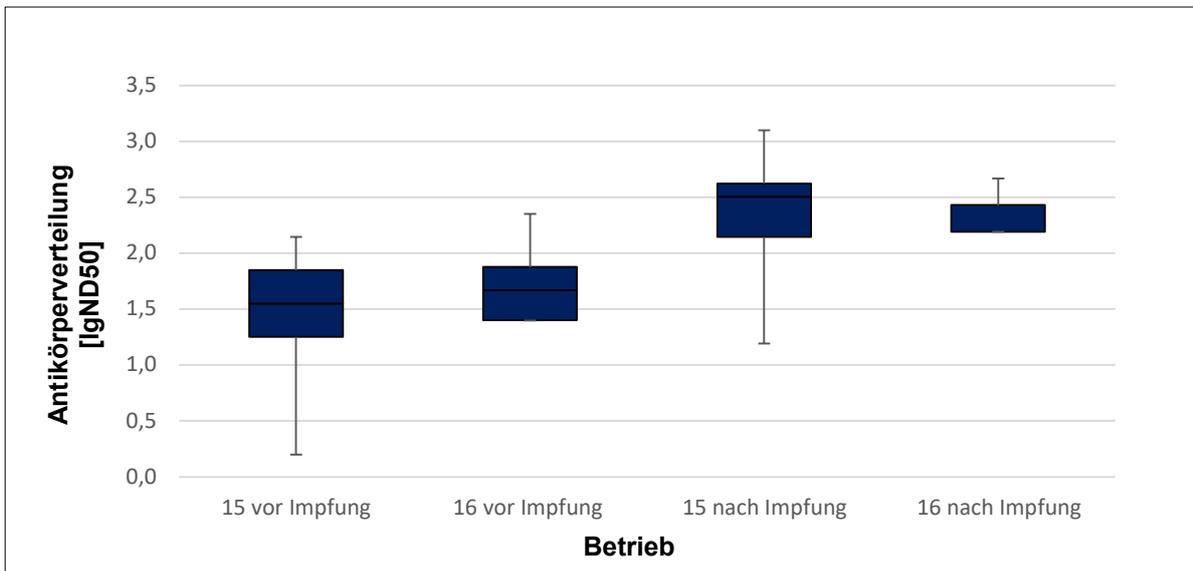
In der Abb. 10 ist der Zusammenhang zwischen den durchschnittlichen Milchleistungen der Betriebe aus dem Jahr 2016 und den kalkulierten durchschnittlichen Antikörpertitern beider Gruppen dargestellt. In die Korrelationsanalyse gingen alle Betriebe mit ein, in welchen bis auf ein- bis zwei Ausnahmen alle in diese Studie einbezogenen Tiere bei der Erstbeprobung keinen positiven BVD-Antikörpertiter aufgewiesen hatten, somit alle 8 Betriebe aus der Gruppe 1 und 6 Betriebe aus der Gruppe 2. Auch bei der Berechnung der durchschnittlichen BVD-Antikörper wurden nur die Werte derjenigen Probanden mit zuvor negativem BVD-Antikörpertiter ( $\log\text{ND}50 < 0,5$ ) berücksichtigt. Daraus ergab sich eine Korrelation  $R = 0,204$ . Bezüglich der BVD-Antikörpertiter der Betriebe nach Impfung in Zusammenhang mit der Milchleistung fanden sich keine statistisch signifikanten Unterschiede ( $p = 0,484$ ).

Bei den Tieren der Betriebe 15 und 16 (Abb. 11) waren vor der Impfung bereits Antikörper gegen BVDV vorhanden. Sie zeigen nach der Impfung insgesamt einen höheren Antikörpertiter als die Betriebe 1 bis 14. Eine Ausnahme besteht hier jedoch, da ein Tier des Betriebes Nr. 15 zuvor keinen BVD-Antikörpertiter hatte. Dies erklärt den großen Wertebereich in diesem Betrieb, erkenntlich an dem langen Whisker (Abb. 11).



**Abb. 11:** Verteilung der BVD-Antikörpertiter in den Betrieben 15 und 16, vier Wochen nach Impfung. In diesen Betrieben waren bereits vor der Impfung 9 von 10 bzw. 9 von 9 untersuchten Kühen seropositiv (Box-and-Whisker-Plots).

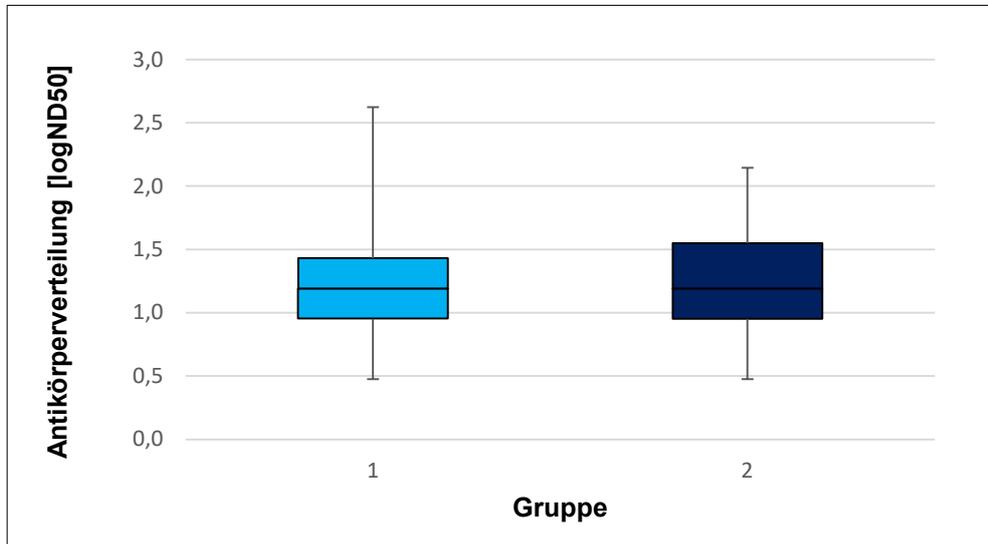
Die Abb. 11 zeigt, dass die Titerhöhen im Gruppenvergleich ähnlich sind. Der Median der Antikörper des Betriebes Nr. 15 liegt bei 2,5 logND50, während der des Betriebes Nr. 16 mit 2,4 logND50 nur gering darunter liegt. In der folgenden Abbildung wird der Booster-Effekt deutlich Abb. 12. Auch dieser ist bei Betrieb 15 und 16 ähnlich. Der Median der Antikörpertiter vor der Impfung bei Betrieb 15 lag bei 1,6 logND50, bei Betrieb 16 lag dieser bei 1,7 logND50.



**Abb. 12:** Vergleiche des Antikörpertiteranstiegs der Betriebe 15 und 16 mit einem erkennbaren Booster-Effekt

Aus der Gruppe 1 gingen 78 Proben in die Auswertung ein, welche sich in einem Bereich zwischen 0,5 – 2,6 logND50 bewegen. Aus der Gruppe 2 waren es insgesamt 52 Proben, im Bereich zwischen 0,5 – 2,1 logND50. Hier zählten wiederum ausschließlich die Tiere, welche keine Antikörper vor der Impfung besaßen. Daraus ergeben sich die unterschiedlichen Stich-

probenzahlen. Da in beiden Gruppen die Verteilung der Antikörpertiter annähernd einer Normalverteilung glich, wurde für die Auswertung ein t-Test verwendet. Mit einer Zufallswahrscheinlichkeit von  $p = 0,618$  unterscheiden sich die Höhen der Titer in beiden Gruppen nicht signifikant voneinander (Abb. 13).



**Abb. 13:** Box-Plot-Darstellung der Verteilung der Antikörpertiter beider Gruppen ( $p = 0,618$ ); die Gruppe 1 entspricht der Hochleistungsgruppe, Gruppe 2 die durchschnittlich leistende

Insgesamt besaßen 24 Tiere bereits vor der Impfung einen positiven BVD-Antikörpertiter, mit Titerhöhen zwischen 1,2 logND50 und 3,3 logND50. Diese hatten einen mittleren Antikörpertiter-Anstieg nach der Impfung von 1,64 logND50.

130 Tiere waren zum Zeitpunkt der Impfung seronegativ. Sie haben einen durchschnittlichen Antikörpertiter-Anstieg von 2,13 logND50. Kühe, die anlässlich der Impfung offensichtlich zum ersten Mal Kontakt zu dem BVD-Antigen hatten, zeigten mit einem p-Wert von 0,024 im t-Test einen signifikant höheren Titeranstieg, als solche, bei denen durch die Impfung ein Boostereffekt bewirkt wurde (Abb. 14). Mittels Wilcoxon-Mann-Whitney-Test ergab sich dabei ein Signifikanzniveau von  $p = 0,0063$ . Absolut gesehen hatten jedoch die schon zuvor seropositiven Tiere nach der Impfung deutlich höhere BVD-Antikörpertiter. Dies ließ sich auch im t-Test mit einem p-Wert von  $< 0,001$  bestätigen.

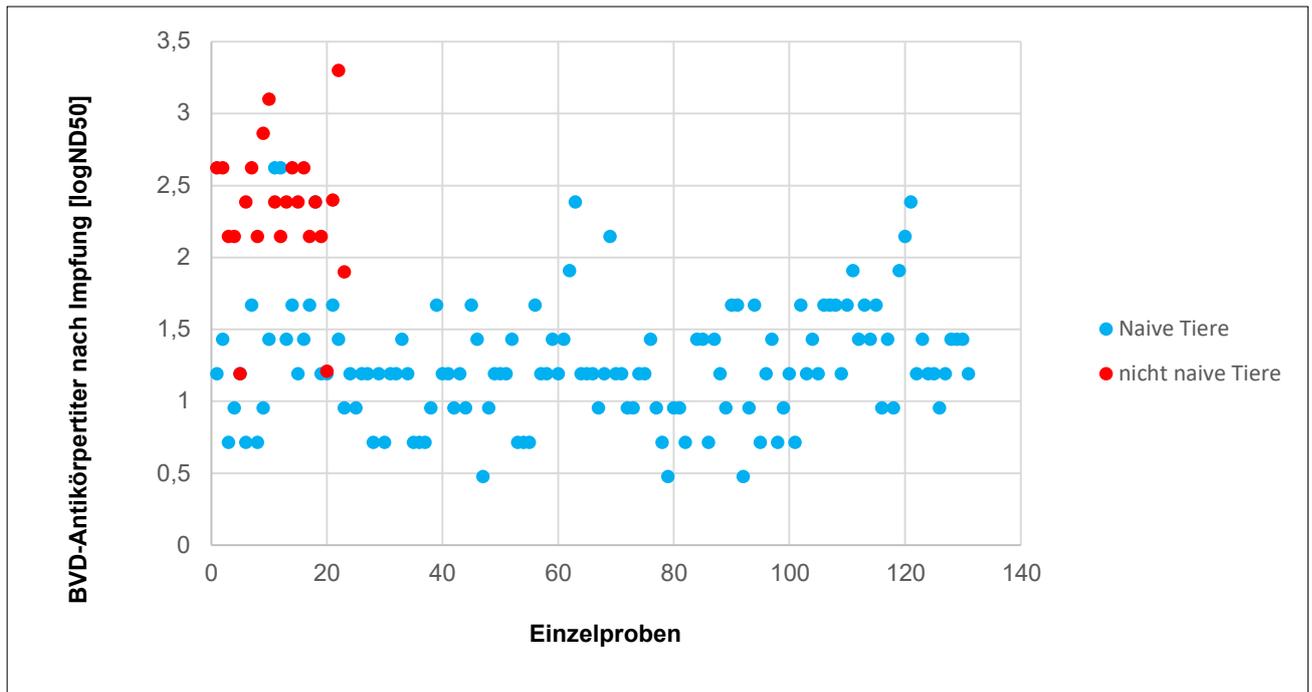


Abb. 14: Streuung der BVD-Antikörpertiter vier Wochen nach Impfung bei den zuvor BVD-seronegativen und bei den zuvor schon seropositiven Tieren

#### 4.4 Zusammenhang zwischen den Blut-, Urin- und Leistungsparametern und den Antikörpertitern (Einzeltierebene)

Die Datenauswertung mittels Korrelationsanalyse ergab keine signifikante Korrelation zwischen der Milchleistung der einzelnen Kühe und den Antikörper-Titern ( $r = 0,029$ ;  $p > 0,05$ ). Die Abb. 15 zeigt den linearen Zusammenhang zwischen den Milchleistungsdaten und den BVD-Antikörpertitern als Reaktion auf die Impfung.

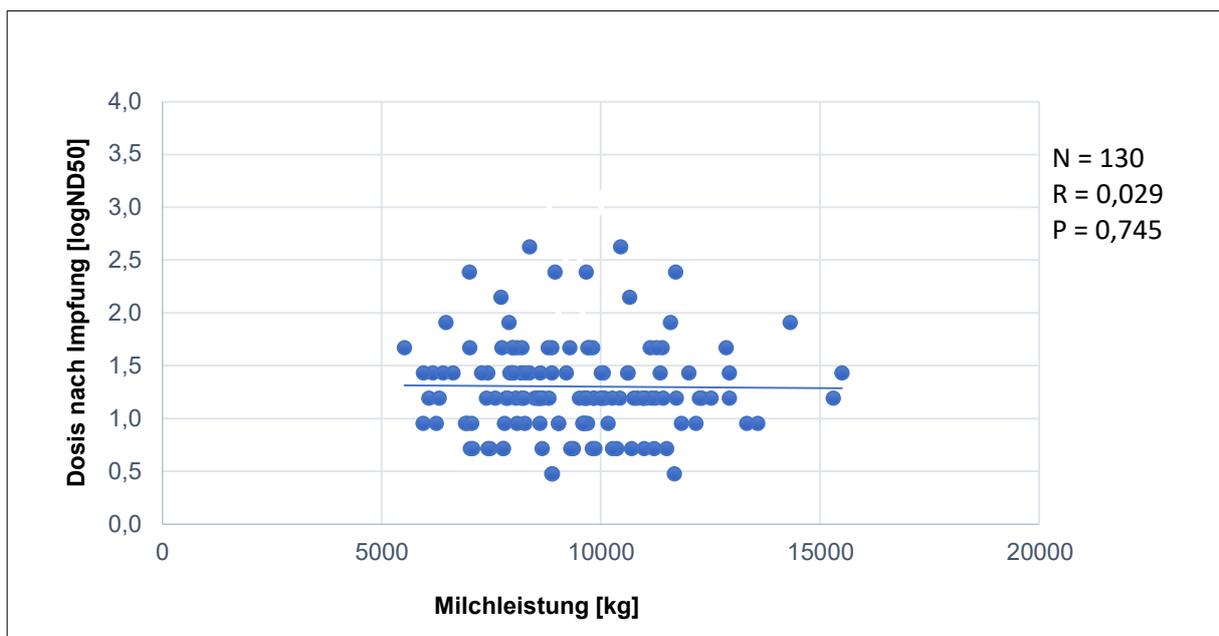


Abb. 15: Verteilung der BVD-Antikörper nach Impfung in Abhängigkeit von der Jahresmilchleistung

Der Auswertung der Laborparameter wurden die Werte der ersten Probenentnahme zugrunde gelegt. Auch zwischen den untersuchten Blut- und Harnwerten und der Höhe der BVD-Antikörpertiter nach Impfung ergaben sich keine signifikanten Beziehungen (Tabelle 6). Die NEFA-Werte, die NSBA-Werte und die logarithmierten Natrium- und GLDH-Aktivitäten waren mit der Höhe der 305-Tage-Milchleistung schwach negativ, jedoch nicht signifikant korreliert. Wegen einer deutlichen linksschiefen Verteilung der BHBA-, NEFA- und GLDH-Werte wurde zusätzlich eine Berechnung mit den logarithmierten Werten durchgeführt. Dadurch konnten die Korrelationen genauer dargestellt werden, doch ergaben sich auch dabei keine Signifikanzwerte von  $p \leq 0,05$ . Die Glutartest-Ergebnisse beziehen sich nur auf 129 Tiere, da eine der EDTA-Blutproben nicht auswertbar war.

**Tabelle 6:** Beziehungen zwischen den klinisch-chemischen Laborwerten und den BVD-Antikörpertitern nach Impfung auf Einzeltierebene

Ergebnis	BHBA	log BHBA	NEFA	log NEFA	log Na	NSBA	log GLDH	Glutartest
Anzahl n	130	130	130	130	130	130	130	129
Korrelation R	0,082	0,126	-0,034	0,033	-0,029	-0,011	-0,015	-0,041
Signifikanzniveau (p)	0,325	0,154	0,698	0,711	0,743	0,9	0,864	0,642

Auch zwischen der Milchleistung der Kühe (305-Tage-Milchleistung), deren Alter und der Anzahl der Abkalbungen (Laktationsnummer) und den Antikörpertitern vier Wochen nach Impfung ergaben sich keine statistisch signifikanten Korrelationen (Tabelle 7).

**Tabelle 7:** Korrelation zwischen den Leistungsparametern (305-Tage-Milchleistung, Alter und Anzahl Kälber) und den Antikörpertitern auf Einzeltierebene

Ergebnis	ML	Alter	Parität
Anzahl N	130	130	130
Korrelation R	0,002	0,007	0,018
Signifikanz P	0,982	0,933	0,838

Mit Hilfe der multiplen Regressionsanalyse sollte zusätzlich zu den oben dargestellten Ergebnissen der linearen Korrelationsberechnungen geprüft werden, ob ein Zusammenhang besteht zwischen den Variablen: Alter, 305-Tage-Milchleistung, logarithmierte NEFA-Werte, logarithmierte BHBA-Werte, Glutartest, Anzahl der Kalbungen, NSBA, logarithmierten Natrium Werte und den BVD-Antikörpertitern nach Impfung. Aufgrund der ermittelten Daten ist jedoch eine Beziehung zwischen den Antikörpertitern [logND50] und den untersuchten potentiellen Einflussfaktoren statistisch nicht nachweisbar ( $p = 0,95$ ). Alle p-Werte der Einzelparameter der Korrelationsanalyse sind größer als 0,01 (Tabelle 8). Zusätzlich zur Regressionsanalyse

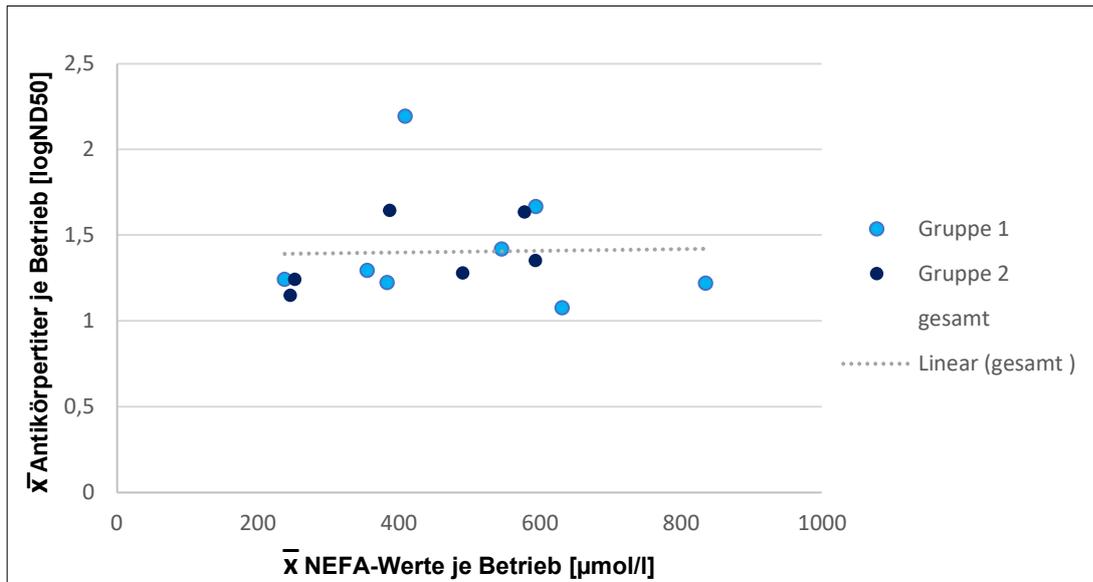
wurde für den Glutartest eine Rangkorrelation nach Spearman erstellt. Auch hier errechnete sich eine Korrelation von 0,0207 mit einem p-Wert von 0,8163.

**Tabelle 8:** Multiple Regressionsanalyse der Blutwerte und Leistungswerte mit p-Wert

Variable	Mean	Standardabweichung	Variationskoeffizient	Minimum	Maximum	P-Wert
Log AK	1,26	0.41	0.32600	0.48	2,62	-
Alter	4,63	1,80	0.38900	2,50	11,40	0,45
ML305	9.403	1.993	0.21192	5.518	15.501	0,36
Log NEFA	2,5951	0.2702	0.10412	1,8274	3,2494	0,97
Log BHBA	-0.1979	0.2200	-1,1113	-0.60206	0.43297	0,16
GLUT	15,1	6,7	0.44287	1,0	20,0	0,66
Parität	3,2	1,5	0.48174	2,00	9,00	0,63
NSBA	146,4	73,1	0,50	-51,00	291	0,85
Log Na	1,42	0,65	0,4	-0,52	2,34	0,85

#### 4.5 Zusammenhang zwischen den Blut-, Urin- und Leistungsparametern und den Antikörpertitern (Herdenebene)

In Abb. 16 sind die Beziehungen zwischen den durchschnittlichen ( $\bar{x}$ ) NEFA-Werten und den durchschnittlichen BVD-Antikörpertitern nach Impfung für die Betriebe 1 – 14 dargestellt. Dabei ergibt sich keine statistisch signifikante Korrelation ( $p = 0,922$ ;  $R = 0,029$ ). Des Weiteren wurden für die Milchleistung sowie für die BHBA-, GLDH-, NSBA- und Natriumwerte Korrelationsanalysen durchgeführt. Die errechneten Ergebnisse sind in der Tabelle 9 aufgeführt. Auch hinsichtlich der weiteren ermittelten Blutparameter wurde keine statistisch signifikante Korrelation festgestellt.



**Abb. 16:** Zusammenhang zwischen den durchschnittlichen NEFA-Werten und den durchschnittlichen BVD-Antikörpertitern nach Impfung für die Betriebe 1 – 14 mit Darstellung der Regressionsgeraden ( $p = 0,922$ ;  $R = 0,029$ )

**Tabelle 9:** Korrelationstabelle zwischen den Blutwerten und den Antikörpertitern auf Herdenebene

Ergebnis	Jahresmilchleistung (kg)	NEFA ( $\mu\text{mol/l}$ )	BHBA (mmol/l)	GLDH (U/l)	NSBA (mmol/l)	Natrium Harn (mmol)
Anzahl n	14	14	14	14	14	14
Korrelation R	0,204	0,029	0,272	0,483	0,084	0,015
Signifikanz P	0,488	0,922	0,346	0,08	0,774	0,959

#### 4.6 Vergleich zwischen Test- und Kontrollgruppe bezüglich der ermittelten Blut- und Harnparameter

Zur Klärung der Frage, ob sich die beiden Leistungsgruppen anhand ihrer Blut- und Urinwerte unterscheiden, wurde für die NEFA, BHBA, GLDH, NSBA und Natrium ein T-Test durchgeführt. Mit einer Anzahl von 8 Betrieben in der Gruppe 1 und insgesamt 6 Betrieben in Gruppe 2 lagen zwei unterschiedliche Gruppengrößen vor, sodass zusätzlich mit einem Wilcoxon-Mann-Whitney Test gerechnet wurde. Die Werte für die einzelnen Betriebe ergaben sich aus den errechneten Mittelwerten ( $\bar{x}$ ) der Einzeltiere. Beide Leistungsgruppen unterschieden sich im Hinblick auf diese gemessenen Werte nicht signifikant voneinander. In der Tabelle 10 sind die Auswertungen beider Tests unter Angabe der Zufallswahrscheinlichkeiten aufgeführt.

**Tabelle 10:** Bestands-Mittelwerte der ermittelten Laborparameter und Ergebnisse der statistischen Auswertung im Vergleich beider Leistungsgruppen

	Gruppe 1		Gruppe 2		T-Test	WMW-Test
	n = 8		n = 6			
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s		
NEFA [ $\mu\text{mol/l}$ ]	500	190	425	159	0,62	0,52
BHBA [ $\text{mmol/l}$ ]	0,67	0,15	0,81	0,27	0,11	0,3
GLDH [ $\text{U/l}$ ]	18,2	6,4	16,1	3,8	0,08	0,61
NSBA [ $\text{mmol/l}$ ]	148,6	57,3	143,6	60,3	0,98	0,52
Natrium [ $\text{mmol/l}$ ]	59,4	40,1	40,4	29	0,5	0,37

#### 4.7 Einfluss der Holstein-Farbrichtung auf die Antikörpertiter

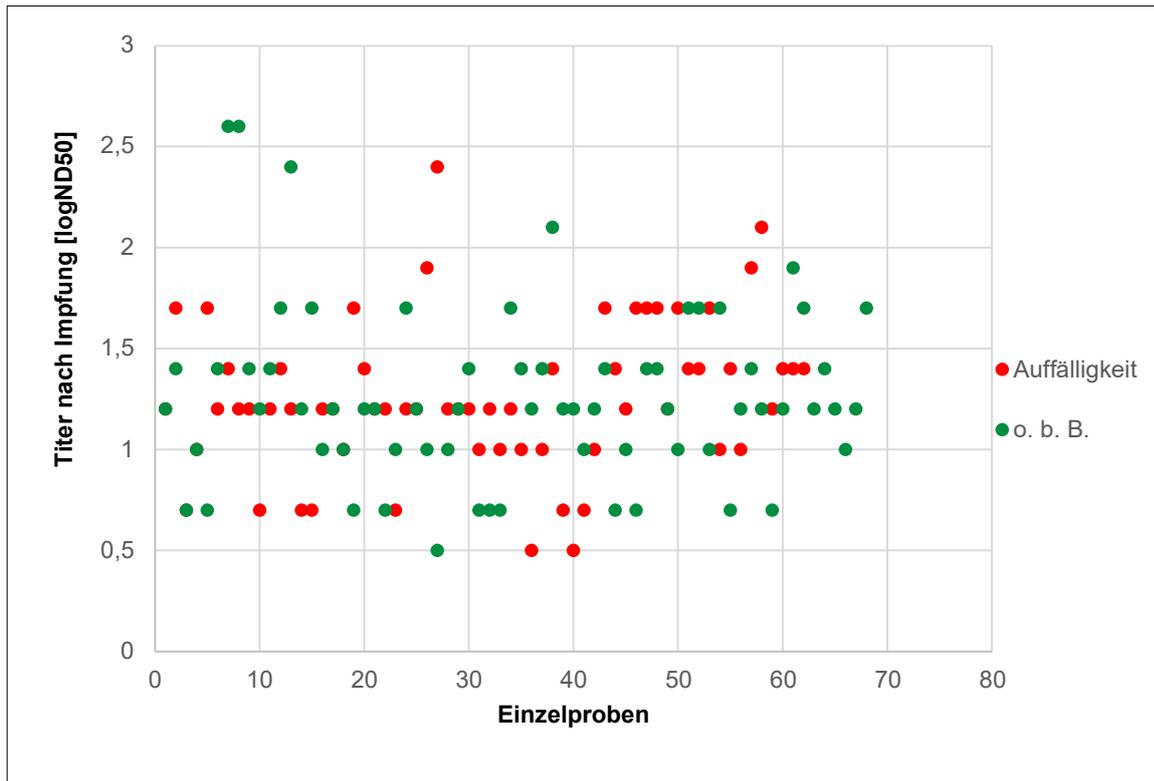
Bei insgesamt 111 Studientieren handelte sich um solche der Rasse Deutsche Holsteins, Farbrichtung „Schwarzbunt“, 19 Kühe wurden gemäß Angaben in der HIT-Datenbank der Farbrichtung „Rotbunt“ (n = 17) oder einer anderen Rasse (Deutsche-Holsteins, „Schwarzbunt“ x Fleckvieh; n = 2) zugeordnet.

Der Mittelwert der BVDV-1-Antikörpertiter lag bei den Schwarzbunten bei 1,25 [logND50], bei den anderen Tieren im Durchschnitt bei 1,31 [logND50] lag (t-Test: p = 0,548; Wilcoxon-Mann-Whitney-Test: p = 0,513, beides nicht signifikant).

#### 4.8 Beziehung zwischen den Ergebnissen der Allgemeinuntersuchung und den Antikörpertitern

Insgesamt waren 68 Kühe in der klinischen Allgemeinuntersuchung unmittelbar vor der Impfung ohne besonderen Befund (o. b. B.), 62 Tiere dagegen waren in einem oder mehreren Punkten klinisch auffällig. Dabei wurden folgende Hauptbefunde erhoben: in- und expiratorisch verschärfte Atmung (n = 25), Lahmheiten (n = 19), eitriger Vaginalausfluss (n = 10), Herzgeräusch (n = 5), Ektoparasitenbefall (n = 7), verdickte Bursae (n = 2), Abszess (n = 3), Nachgeburtshaltung (n = 6), Durchfall (n = 5), Körpertemperatur > 39,5 °C (n = 3).

In Abb. 17 sind die BVD-Antikörpertiter in Abhängigkeit von dem Kriterium „o.b.B.“ und „klinisch auffällig“ dargestellt. Der durchschnittliche Antikörper-Titer der Kühe ohne besonderen Befund lag mit 1,26 [logND50] nur knapp über der des entsprechenden Titers der klinisch auffälligen Tiere ( $\bar{x}$  = 1,25 logND50). Die Werte beider Gruppen waren annähernd normalverteilt. Für die Berechnung wurde ein gepaarter und separierter t-Test angewendet. Mit einem p-Wert von 0,9400 im gepaarten t-Test konnte auch hier kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden, gleiches galt für den Wilcoxon-Mann-Whitney-Test (p = 0,7729). Eine Übersicht über die Ergebnisse dieser Auswertungen findet sich in Tabelle 11.



**Abb. 17:** Verteilung der Antikörper-Titer in Abhängigkeit von dem Ergebnis der klinischen Allgemeinuntersuchung vor Impfung

**Tabelle 11:** BVD-Antikörpertiter in Abhängigkeit von dem Ergebnis der klinischen allgemeinen Untersuchung vor Impfung (t-Test und Wilcoxon-Mann-Whitney-Test)

	Allgemeine Untersuchung						T-Test			WMW-Test
	o. b. B.			Klinischer Befund			T	df	p	p
	n	$\bar{x}$	s	n	$\bar{x}$	s				
<b>Ak-Titer</b>	68	1,26	0,43	62	1,25	0,38	0,08	128	0,94	0,7729

Aus der multiplen Regressionsanalyse geht hervor, dass anhand der ermittelten Daten keine signifikante Beziehung besteht zwischen den Befunden der klinischen Allgemeinuntersuchung und den gebildeten BVD-Antikörpertitern ( $p = 0,2051$ , F-Wert = 1,379). In der Betrachtung der Einzelbefunde wird deutlich, dass der Befall mit Ektoparasiten zu einem signifikant geringeren Anstieg der Antikörpertiter führt ( $p = 0,01$ ). Dabei handelte es sich vorwiegend um Schwanzräude ( $n = 0$  in den Beständen der Testgruppe und  $n = 7$  Tiere in 2 Beständen der Kontrollgruppe). Außerdem wurden noch Fliegenbefall als weitere Ektoparasiten festgestellt. Die einzelnen p-Werte sind zusammen mit der Häufigkeit des Auftretens in der Tabelle 12 aufgelistet.

**Tabelle 12:** Ergebnisse der multiplen Regressionsanalyse bezüglich einer Beziehung zwischen den Befunden der allgemeinen Untersuchung und den gebildeten BVD-Antikörpertitern

	Anzahl	p-Wert
Lunge <sup>1</sup>	25	0,49
Klaue <sup>2</sup>	19	0,34
Ausfluss <sup>3</sup>	10	0,41
Herzgeräusch <sup>4</sup>	5	0,8
Parasit <sup>5</sup>	7	0,01*
Gelenk <sup>6</sup>	2	0,38
Abszess <sup>7</sup>	3	0,83
Ret.Sec. <sup>8</sup>	6	0,48
Durchfall	5	0,4

1) Lungensymptomatik bei Auskultation der Lunge; 2) Deutlich sichtbare Klauenveränderungen oder Lahmheiten bei Adspektion; 3) Vaginalausfluss; 4) Herzgeräusch oder Arrhythmie bei Auskultation; 5) Ektoparasitenbefall, besonders Schwanzräude; 6) Gelenkschwellung, vermehrte Füllung; 7) adspektroskopisch sichtbarer Abszess, z. B.: Hüfthöcker; 8) Nachgeburtsverhaltung nach Aussage des Tierbesitzers (\* = signifikanter Unterschied)

#### 4.9 Häufigkeitsverteilungen der Referenzwertüberschreitungen

In den folgenden 4-Felder-Tafeln sind die Blutwerte aufgetragen in Abhängigkeit der Zugehörigkeit der Leistungsgruppe, in Klammern stehen die Angaben in Prozent. Mit einem Ergebnis von  $p = 0,88$  im Chi-Quadrat Test nach Pearson konnte keine Signifikanz der NEFA-Werte bezüglich der Leistungsgruppen berechnet werden. In der Hochleistungsgruppe hatten 27 % der Tiere erhöhte NEFA-Werte im Blut, während in der Gruppe 2 28 % oberhalb des Referenzwertes lagen (Tabelle 13).

**Tabelle 13:** Verteilung der NEFA-Werte auf die beiden Gruppen ( $p = 0,8827$ )

Gruppe	NEFA-Werte		gesamt
	≤ 600 µmol/l	>600 µmol/l	
	n (%)	n (%)	n (%)
<b>Gruppe 1</b>	57 (73,1)	21 (26,9)	78 (100)
<b>Gruppe 2</b>	41 (71,9)	16 (28,1)	57 (100)
<b>Summe</b>	98 (72,6)	37 (27,4)	135 (100)

Der Vergleich der Ketonkörper-Konzentrationen im Chi-Quadrat Test ergab keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen den beiden Leistungsgruppen. Auch die Konzentration von  $\beta$ -Hydroxybutyrat ist nicht höher bei Tieren aus der Hochleistungsgruppe ( $p = 0,2263$ ) als bei denen der Gruppe 2 (Tabelle 14). Die gleiche Berechnung wurde für die GLDH- Werte (Tabelle 15) sowie die NSBA- (Tabelle 16) und Natrium-Werte (Tabelle 17) im Harn durchgeführt.

## Ergebnisse

Auch bei den anderen Werten konnte keine statistisch signifikante Beziehung der Werte zwischen den Leistungsgruppen festgestellt werden. Berücksichtigt wurden sowohl die Tiere, die bei der zweiten Probenentnahme nicht mehr im Bestand waren als auch diejenigen, bei denen bereits in der Null-Probe ein positiver Antikörpertiter vorgelegen hatte.

**Tabelle 14:** Verteilung der BHBA-Werte auf die beiden Gruppen ( $p = 0,2263$ )

Gruppe	BHBA-Werte		gesamt
	$\leq 1,0$ mmol/l	$>1,0$ mmol/l	
	n (%)	n (%)	n (%)
<b>Gruppe 1</b>	71 (91)	7 (9)	78 (100)
<b>Gruppe 2</b>	48 (84,2)	9 (15,8)	57 (100)
<b>Summe</b>	119 (88,1)	16 (11,9)	135 (100)

**Tabelle 15:** Verteilung der GLDH-Werte auf die beiden Gruppen ( $p = 0,9069$ )

Gruppe	GLDH-Werte		gesamt
	$\leq 14,0$ U/l	$>14,0$ U/l	
	n (%)	n (%)	n (%)
<b>Gruppe 1</b>	43 (55,1)	35 (44,9)	78 (100)
<b>Gruppe 2</b>	32 (56,1)	25 (43,9)	57 (100)
<b>Summe</b>	75 (55,6)	60 (44,4)	135 (100)

**Tabelle 16:** Verteilung der NSBA im Harn beider Gruppen ( $p = 0,7708$ )

Gruppe	NSBA-Werte			gesamt
	$\leq 80$ mmol/l	80-200 mmol/l	$>200$ mmol/l	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
<b>Gruppe 1</b>	16 (20,5)	40 (51,3)	22 (28,2)	78 (100)
<b>Gruppe 2</b>	12 (21,1)	32 (56,1)	13 (22,8)	57 (100)
<b>Summe</b>	28 (20,7)	72 (53,3)	35 (25,9)	135 (100)

**Tabelle 17:** Verteilung der Natriumkonzentrationen im Harn beider Gruppen ( $p = 0,8889$ )

Gruppe	Natrium-Werte		gesamt
	$\leq 10,0$ mmol/l	$>10,0$ mmol/l	
	n (%)	n (%)	n (%)
<b>Gruppe 1</b>	17 (21,8)	61 (78,2)	78 (100)
<b>Gruppe 2</b>	13 (22,8)	44 (77,2)	57 (100)
<b>Summe</b>	30 (22,2)	105 (77,8)	135 (100)

#### **4.10 Einfluss des Kuhkomforts auf den Antikörpertiter**

Für jeden einzelnen Betrieb wurde anhand der Auswertungen der Stallbegehung ein Index für den Kuhkomfort berechnet. Die genaue Zusammensetzung wird im Methodenteil dieser Arbeit genauer erläutert. Mit Hilfe der Korrelationsanalyse wurde der Zusammenhang zu der Höhe der durchschnittlichen Antikörpertiter untersucht. Die Korrelationsanalyse ergab jedoch keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen diesen beiden Parametern ( $p = 0,685$ ). Mit einem Korrelationskoeffizienten  $R = -0,119$  konnte sich ein geringer negativer Zusammenhang feststellen lassen, welcher sich jedoch statistisch nicht absichern lässt.

Zusätzlich wurde untersucht, ob die Betriebe mit der höheren Milchleistung, also diejenigen der Gruppe 1, einen höheren Kuhkomfort erreichten als Betriebe mit einer durchschnittlichen Milchleistung. Für diese Fragestellung konnten alle 16 Betriebe mit in die Auswertung einbezogen werden. Der entsprechende Zwischengruppenvergleich erfolgte mittels t-Test. Der Betrieb mit dem höchsten Kuhkomfortindex (9,2 Einheiten) war der Betrieb Nr. 9 aus der Gruppe 2. Die Betriebe Nr. 1 und 4 aus der Gruppe 1 erreichten jeweils 9,0 Einheiten. Zwischen den Betrieben gab es hinsichtlich des Kuhkomforts deutliche Unterschiede, jedoch waren die Unterschiede zwischen beiden Gruppen nicht signifikant ( $p = 0,40$ ). Mit einem Mittelwert und einer Standardabweichung von  $7,0 \pm 2,1$  und einer Spannweite von 2,25 bis 9 in der Gruppe 1 (Testgruppe) und entsprechenden durchschnittlichen Werten in der Gruppe 2 (Kontrollgruppe) von  $7,7 \pm 0,9$  (Spannweite 6,35 bis 9,2) wird deutlich, dass die Schwankungen in der Gruppe 1 wesentlich größer sind.

#### **4.11 Body Condition Score**

Der BCS wurde während der Betriebsbegehung durchschnittlich für die ganze Herde ermittelt. Ob ein Zusammenhang zwischen dem BCS und den durchschnittlichen Antikörpertitern besteht, wurde mit einer Korrelationsanalyse untersucht. Ein Zusammenhang konnte statistisch nicht bestätigt werden. Mit einem p-Wert von 0,31 und einem Korrelationskoeffizienten  $R = 0,29$  besteht anhand dieser Daten kein Zusammenhang zwischen diesen beiden untersuchten Parametern. Es wurde dabei berücksichtigt, dass in den bereits vor der Impfung seropositiven Betrieben 15 und 16 nach der Impfung höhere Antikörpertiter gemessen wurden. Aus diesem Grund wurden die beiden Betriebe nicht in die Berechnungen mit aufgenommen.

Mit Hilfe eines t-Tests wurde weiterhin untersucht, ob sich die Leistungsgruppen in der Körperkondition signifikant unterschieden. Da hier der Antikörpertiter nicht relevant ist, wurden alle 16 Betriebe in diese Berechnung aufgenommen. Es ließ sich jedoch auch hier, wie bereits beim Kuhkomfort beschrieben, kein statistisch signifikanter Unterschied berechnen ( $p = 0,8$ ). Im Mittel besaß die Gruppe 1 (Testgruppe) einen BCS von  $3,5 \pm 0,21$  mit einer Spannweite von 3,25 – 3,75. Die Gruppe 2 (Kontrollgruppe) lag im Mittel bei einem BCS von  $3,25 \pm 0,23$

## Ergebnisse

und einer Spannweite von 3,0 – 3,75. In den Tabellen 18 und 19 sind die Indexwerte für den Kuhkomfort und der BCS für die Test- und die Kontrollgruppe aufgelistet.

**Tabelle 18:** Übersicht über die Indexwerte für Kuhkomfort und Body Condition Score in den 8 untersuchten Milchviehbeständen der Testgruppe, mit Angabe der BVDV-1-Antikörpertiter vier Wochen nach Impfung

Bestand / Kriterium	1	2	3	4	5	6	7	8
Kuhkomfort	9	6,95	2,25	9	7,5	7	7,65	6,75
BCS	3,25	3,75	3,25	3,75	3,5	3,75	3,5	3,5
BVDV-1-AK-Titer (logND50)	1,07	1,67	1,19	1,07	1,19	1,19	1,19	1,19

**Tabelle 19:** Übersicht über die Indexwerte für Kuhkomfort und Body Condition Score in den 8 untersuchten Milchviehbeständen der Kontrollgruppe, mit Angabe der BVDV-1-Antikörpertiter vier Wochen nach Impfung

Bestand / Kriterium	9	10	11	12	13	14	15*	16*
Kuhkomfort	9,2	6,35	7,05	7,1	7,1	7,75	8,5	8,2
BCS	3,5	3,25	3,25	3,25	3,75	3,25	3	3,5
BVDV-1-AK-Titer (logND50)	0,95	1,19	1,19	1,67	1,31	1,19	2,5	2,39

\*In diesen beiden Beständen waren bereits vor Impfung 9 / 10 Tieren bzw. 9 / 9 Tieren BVDV-seropositiv

## 5 Diskussion

### 5.1 Material und Methoden

#### 5.1.1 Betriebe

Die Auswahl der Betriebe erfolgte per Zufallsprinzip aus den Listen des HVL. Damit sollte eine gleichmäßige Verteilung der in die Studie aufgenommenen Betriebe über das Bundesland Hessen erreicht werden. So sollten standortbezogene Einflüsse ausgeglichen werden. Dieses Auswahlverfahren führte jedoch dazu, dass kein Betrieb aus der Region Südhessen einbezogen wurde. Die Mehrheit der Betriebe befand sich im Raum Nordwest- und Mittelhessen. Ein Betrieb lag im Vogelsberg und zwei Betriebe befanden sich im Raum Osthessen, an den Ausläufern der Rhön.

Hinsichtlich Fütterung und Fütterungsstrategie gab es zwischen den 16 Betrieben erhebliche Unterschiede. Dies galt weniger für die Haltungsbedingungen, da aufgrund der Einschlusskriterien eine Bestandsgröße von mindestens 60 Kühen und die Haltung im Liegeboxenlaufstall Voraussetzung waren.

Die Einteilung der Betriebe gemäß ihrer Jahresmilchleistung in Quartile erfolgte anhand der Daten des Kontrolljahres 2016/17 des Hessischen Verbandes für Leistungs- und Qualitätsprüfungen in der Tierzucht e.V. Im obersten (4.) Quartil findet sich somit eine Zufallsauswahl aus den 25 % der Betriebe mit den höchsten Milchleistungen im Jahr 2016/17. Die als Vergleich (Kontrollgruppe) dienenden Betriebe aus dem zweiten Quartil lagen hinsichtlich ihrer Milchleistung unterhalb des Medians aller der Milchkontrolle angeschlossenen Betriebe, so dass sich Test- und Kontrollgruppe hinsichtlich ihrer Milchleistung signifikant unterschieden. Betriebe aus dem ersten Quartil kamen als Kontrollgruppe nicht in Frage. Deren Milchleistungen liegen zwar noch deutlicher unter dem Landesdurchschnitt, es handelt sich dabei aber eher um kleine Betriebe mit meist weniger als 60 Milchkühen unterschiedlichster Rassen, welche sich auch hinsichtlich Haltungsbedingungen, Fütterung und Betriebsmanagement noch deutlicher unterscheiden.

Nicht alle angefragten Betriebsleiter waren mit einer Teilnahme an der Studie einverstanden. Zum Teil waren sie von der Impfung abgeschreckt, insbesondere aus der Befürchtung heraus, dass sie Probleme aufgrund von Handelsrestriktionen beim Verkauf von Zuchttieren bekommen könnten. Ein zufällig ausgewählter „Naturland“ Bio-Betrieb zeigte Interesse, jedoch handelt es sich gemäß den Bestimmungen dieses Naturland-Verbandes bei der Impfung um einen antragspflichtigen Eingriff. Damit hätte für jede einzelne zu impfende Kuh ein separater Antrag gestellt werden müssen. Da die Kontrollstelle dieses Verbandes für die Bearbeitung eines solchen Antrages jedoch meistens mindestens vier Wochen benötigt, hätte dies den zeitlichen

Ablauf dieser Studie erheblich verzögert. Anderen Betriebsleitern erschien der mit den Untersuchungen und Beprobungen verbundene zeitliche Aufwand zu groß. Ein Betrieb hatte nicht die Möglichkeit, die Tiere zur Beprobung in einem Fressgitter oder im Melkstand zu fixieren. Eine Teilnahme an der Studie hielt der Betriebsleiter daher nicht für möglich. Ein weiterer Betriebsleiter war zunächst bereit, mit seinem Betrieb teilzunehmen und ein Stallrundgang hatte bereits stattgefunden, als er kurz vor Beginn der Probenentnahmen aus gesundheitlichen Gründen die Teilnahme an der Studie absagte. Drei weitere Betriebe sind nach erfolgtem Stallcheck ausgefallen, da sich herausstellte, dass die Milchleistung im entsprechenden Kontrolljahr zu hoch war, um in die untere Leistungsgruppe eingeordnet zu werden

Es wurden nur Kühe beprobt, die bereits eine oder mehr Vorlaktationen hatten. Damit ist ein Abschätzen der individuellen Milchleistung möglich. Da die Untersuchungen zu Beginn der Laktation durchgeführt wurden, war eine Aussage über die Milchleistung in der laufenden Laktation noch nicht möglich.

Verglichen mit anderen Impfstudien ist die Fallzahl von 160 geimpften Tieren im Mittelfeld einzuordnen, Walz et al. (2015) impften in ihren Untersuchungen 690 Kühe, Dubovi et al. (2000) 163 Kühe, Platt et al. (2017) 36 Kühe. Gemäß Tierversuchsantrag war ursprünglich die Impfung von 200 Kühen in 20 Beständen vorgesehen. Diese Zahl ließ sich jedoch aufgrund der bereits geschilderten Schwierigkeit, genügend teilnahmebereite Tierhalter zu finden, leider in dem gegebenen zeitlichen Rahmen nicht realisieren.

### **5.1.2 Analysemethode**

Der Serumneutralisationstest zur Bestimmung und Quantifizierung von BVD-spezifischen Antikörpern gilt, gemäß der Methodensammlung des Friedrich-Loeffler-Instituts als der Goldstandard (FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT 2014). Die Vorteile dieses Testverfahrens sind die hohe Spezifität und Sensitivität (DUBOVI 2013). Jedoch besteht eine schlechte Standardisierbarkeit zwischen verschiedenen Labors, da die Auswertung vom jeweiligen Testsystem abhängig ist. Dabei spielen der verwendete Virusstamm und das Zellkultursystem eine wichtige Rolle, da diese von Labor zu Labor unterschiedlich sein können (DUBOVI 2013). Auch der hohe personelle und materielle Arbeitsaufwand verhindert oft die Verwendung dieses Testverfahrens in der Routinediagnostik. Anders als im Antikörper-ELISA werden im SNT keine neutralisierenden Antikörper direkt detektiert (DUBOVI 2013, LANYON et al. 2014), sondern der ZPE in der Immunfluoreszenz bewertet. Bei der Auswertung des SNT sollte erfahrenes Personal die Durchführung kontrollieren. Im Rahmen dieser Doktorarbeit hat die Verfasserin, nach ausreichender Übung, ohne diesbezüglich jedoch besondere Vorerfahrungen nachweisen zu können, den SNT durchgeführt. Es wurde versucht, eine sichtliche „Lernkurve“ in der Auswertung

der Serumproben durch ausreichende Unterweisung zu vermeiden. Mögliche Ungenauigkeiten könnten somit auf die mangelnde Erfahrung der ausführenden Person zurückzuführen sein (DUBOVI 2013).

Des Weiteren muss beachtet werden, dass nicht alle Proben am gleichen Tag, zur gleichen Tageszeit und zum gleichen Abstand der Fütterung genommen worden sind. Dies ließ sich aus logistischen Gründen nicht realisieren, muss aber beim Vergleich der Ergebnisse zwischen den Betrieben und den Einzeltieren berücksichtigt werden. Dies gilt insbesondere für die Ergebnisse der NSBA-Bestimmung im Urin, da diese besonders durch die Fütterung und die Art des eingesetzten Leistungsfutters beeinflusst werden. Auch die BHBA-Werte schwanken im Tagesverlauf. Diese seien in der Zeit 4 bis 5 Stunden vor der Fütterung am höchsten (OETZEL 2004). Der Abstand der Probenentnahmen zur Fütterung war in dieser Arbeit nicht immer gleich. Eher fanden die Untersuchungen vor der Morgenfütterung, beziehungsweise vor der einmal täglichen Fütterung statt.

### **5.1.3 Begründung für den gewählten Impfzeitpunkt**

Das Ziel war es, die Auswirkungen der Milchleistung und insbesondere des Milchleistungsanstiegs zu Beginn der Laktation auf die Immunkompetenz dieser Kühe zu untersuchen. Als Kriterium hierfür wurde die Fähigkeit zur Antikörperbildung nach Impfung gewählt, dabei sollte auch das Ausmaß und der Einfluss einer negativen Energiebilanz berücksichtigt werden. Dubovi und Mitarbeiter (2000) schreiben in ihrer Studie von einem hohen Antikörpertiter-Anstieg zwei Wochen nach erfolgter Impfung. Eine zweite Messung wurde fünf Wochen nach der Impfung durchgeführt, wobei die Titer zu dem Zeitpunkt schon wieder gefallen sind (DUBOVI et al. 2000). Entsprechend zu diesen Beobachtungen wurde der Zeitpunkt zur Entnahme der Antikörperproben auf vier Wochen nach der Impfung gewählt. Auch Walz et al. (2015) haben sich in ihren Untersuchungen auf die Aussagen von Dubovi et al. (2000) gestützt und entsprechend die Blutuntersuchungen an Tag 14 und 27 nach der Vakzinierung durchgeführt. Beobachtungen von Herr et al. (2011) zeigen, dass es vor der Kalbung zu einem Abfall der Immunglobuline kommt und erst post partum wieder ein Anstieg zu verzeichnen ist (HERR et al. 2011). Bei einer Impfung relativ kurz nach dem Kalben würde der tiefste Punkt der Antikörperspiegel erreicht werden und es könnte ein maximaler Anstieg daraufhin beobachtet werden. Dies lässt die Überlegung zu, dass, infolge des bereits aktivierten Immunsystems, die Impfung im peripartalen Zeitraum zu höheren Antikörpertitern führen könnte als zu einem späteren Zeitpunkt in der Laktation.

## 5.2 Ergebnisse

### 5.2.1 Betriebsauswertungen

Die durchschnittliche Bestandsgröße lag in beiden Leistungsgruppen (Testgruppe 170 Kühe pro Betrieb, Kontrollgruppe 107 Kühe je Betrieb), nicht zuletzt aufgrund des Einschlusskriteriums „ $\geq 60$  Kühe“, weit oberhalb des hessischen Betriebsdurchschnitts von 47 Milchkühen im Jahr 2017 (ARBEITSGEMEINSCHAFT DEUTSCHER RINDERZÜCHTER E.V. 2017).

Der Rückgang der Milchleistung in den Jahren 2015 bis 2017 in allen Betrieben könnte mit dem zu der Zeit sehr niedrigen Milchpreis in Zusammenhang stehen (BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG UND LANDWIRTSCHAFT 2018). Nach Aussagen der Landwirte haben sie in diesem Zeitraum weniger teures Leistungsfutter eingesetzt und insgesamt das Futter reduziert, um Kosten einzusparen. Das dürfte sich auch auf die Milchleistung ausgewirkt haben.

### 5.2.2 Antikörpertiter-Entwicklung im Überblick

Die BVDV-Typ-1 Antikörpertiter liegen in dieser Studie zwischen 0,5 bis 2,6 [logND50] bei den Tieren, die vor der Impfung seronegativ waren. Alle Tiere haben nach der Impfung serokonvertiert. Dies stimmt mit den Zulassungsstudien des Impfstoffes überein, bei denen am 28. Tag nach der Impfung alle Tiere seropositiv waren (EUROPEAN MEDICINES AGENCY 2014). Die tatsächlichen Titerhöhen, die im Rahmen der Studien für die Zulassung durchgeführt wurden, wurden nicht veröffentlicht und können daher nicht für einen Vergleich hinzugezogen werden. Verglichen mit anderen Impfstudien gegen BVDV scheinen hier die Antikörpertiter sehr niedrig. In der Studie von Detilleux et al. (1995) und in der Dissertation von Herr (2009) wird beschrieben, dass die Tiere im peripartalen Zeitraum verminderte Immunglobulinkonzentrationen im Serum aufweisen. Es ist grundsätzlich nicht auszuschließen, dass diese Tiere bei Impfung zu einem späteren Zeitpunkt der Laktation höhere Antikörpertiter gebildet hätten. Dies könnte man nur anhand einer derartigen Vergleichsstudie abklären. Die Fragestellung der eigenen Studie zielte jedoch auf einen Vergleich der BVD-Antikörperbildung zwischen Kühen mit hoher und solchen mit niedrigerer Milchleistung in den ersten Wochen nach der Kalbung, also in dem Zeitraum ausgeprägter negativer Energiebilanz. Anhand der vorliegenden Daten wird allerdings deutlich, dass es hinsichtlich der Antikörperproduktion tierindividuelle Unterschiede gibt und dass offensichtlich nicht alle Tiere während der peripartalen Phase mit einer verminderten Immunantwort auf einen Reiz reagieren. Entsprechendes wurde in der Arbeit von Mallard et al. (1997) festgestellt (MALLARD et al. 1997).

In der eigenen Studie wurde zur Prüfung der Immunkompetenz auf einen BVD-Impfstoff zurückgegriffen, da aufgrund der niedrigen Prävalenz der persistent mit dem BVD-Virus infizierten Kälber von 0,038 % im Jahr 2016 und der damit einhergehenden vermuteten niedrigen BVD-Seroprävalenz (WERNIKE et al. 2017) angenommen wurde, rasch und einfach an BVD-

freie Betriebe zu kommen. Durch das Monitoring von PI-Tieren ist die Prävalenz seit Beginn des deutschen Bekämpfungsprogramms im Jahr 2011 deutlich zurückgegangen (SCHIRRMAYER & FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT 2015). Landesweite repräsentative Studien über die BVD-Antikörperprävalenz in Deutschland liegen bislang nicht vor, da hier – im Gegensatz etwa zu den skandinavischen Ländern und Österreich (STAHL & ALENIUS 2012) – im Rahmen des Bekämpfungsprogramms der serologische Status bislang nicht berücksichtigt wird. Es wird jedoch vermutet, dass die Seroprävalenz zwischen 10 bis 25 % liegen könnte und regional in Abhängigkeit von Impfmaßnahmen etwas variiert (WERNIKE et al. 2017). Zur Ermittlung der BVD-Antikörpersituation in einer Milchviehherde können Herdenchecks über die Tankmilch in Form eines Antikörper-ELISAs durchgeführt werden. Oftmals verläuft eine Infektion mit BVD bei nicht tragenden Tieren entweder symptomlos oder mit nur schwach ausgeprägter Klinik (LANYON et al. 2014), sodass eine Durchseuchung nicht immer vom Landwirt bemerkt wird. Auch eine schlechte Biosicherheit begünstigt die Weiterverbreitung des Virus. Der Betrieb Nr. 16 hält seine Rinder, aber auch seine Kühe, zum Teil auf der Weide. Hier besteht die Möglichkeit einer unbemerkten Infektion durch andere Rinder (MEYLING et al. 1990). Der Betrieb Nr. 15 hat neben der Milchviehherde außerdem Masttiere, deren Fleisch ab Hof verkauft wird. Auch hier ist eine Einschleppung des Virus durch mangelhafte Biosicherheit denkbar. In vier Betrieben wurden vereinzelt BVDV-antikörperpositive Tiere ermittelt. In dem Betrieb Nr. 2 und Nr. 14 waren zwei Tiere bereits vor der Impfung seropositiv, bei den Betrieben 9 und 13 jeweils eine Kuh. Falsch positive Ergebnisse durch den SNT können wegen der hohen Spezifität nahezu ausgeschlossen werden (FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT 2014). Der Landwirt des Betriebes Nr. 2 bestätigte, dass seines Wissens keine PI-Kälber in den letzten 5 Jahren auf dem Betrieb geboren wurden. Die seropositiven Tiere waren in der dritten bzw. vierten Laktation. Im Betrieb Nr. 9 war eine Kuh in der zweiten Laktation seropositiv. Der Betrieb stockt zurzeit seinen Bestand von 50 auf 150 Kühe auf. Möglicherweise handelt es sich bei dem Tier ebenfalls um ein zugekauftes Tier aus einem anderen Bestand, oder schlechte Biosicherheit während der Baumaßnahmen könnte zu einer Infektion geführt haben. Wie bereits erwähnt, werden die Rinder des Betriebs Nr. 16 auf der Weide gehalten, was eine unentdeckte Infektion möglich machen könnte. Die gleichen Argumente gelten für den Betrieb Nr. 13, auf dem eine Kuh in der dritten Laktation und den Betrieb Nr. 14, auf welchem eine Kuh in der dritten und eine Kuh in der vierten Laktation vor der Impfung BVDV-Antikörper hatten. Auch hier sind mangelnde Biosicherheit (RIDPATH 2013), Zukauf und unbemerkte, transiente Infektion nicht auszuschließen. In diesem Zusammenhang wäre es von Interesse gewesen, durch Beprobung einer repräsentativen Zahl von Tieren die tatsächliche BVD-Seroprävalenz innerhalb dieser Betriebe zu ermitteln, doch war dies nicht Gegenstand dieser Untersuchungen.

### 5.2.3 Antikörpertiter infolge einer BVD-Feldinfektion oder einer Impfung

Die Kühe, die vor der Impfung bereits einen positiven Antikörpertiter gegen BVDV hatten, lassen die Vermutung zu, dass sie sich auf natürlichem Weg mit dem Virus infiziert hatten oder vor Zukauf in ihrem Herkunftsbestand geimpft worden waren. Die Titer vor der Impfung lagen bei diesen Tieren im Bereich zwischen 1,4 und 2,4 logND50. Vergleicht man diese Titer mit dem Titer der Tiere, die erst nach der Impfung mit Bovela<sup>®</sup> einen Antikörpertiter entwickelten, lässt sich eine Ähnlichkeit zwischen Antikörpertitern nach Feldinfektion und Impfung feststellen. Die BVD-Antikörpertiter lagen in dieser Studie vier Wochen nach der Impfung zwischen 0,5 und 2,6 logND50. Diese Beobachtung deckt sich mit denen der Studie von Platt et al. (2017). Diesen Autoren zufolge gab es in der 5. und 6. Woche nach der Infektion mit einem BVD-Feldvirus-Stamm bzw. Injektion des Impfstoffes mit Bovela<sup>®</sup> keine signifikanten Titerunterschiede. Jedoch waren nach der 7. Woche die Titer in der mit Bovela<sup>®</sup> geimpften Gruppe signifikant höher.

In der eigenen Studie kann eine bei den mit einem positiven BVDV-Antikörpertiter aufgefallenen Tieren vorausgegangene Infektion oder Impfung nicht auf einen bestimmten Zeitpunkt festgelegt werden. Da den Tierhaltern keine BVD-Infektionen in ihren Beständen aufgefallen waren und die Untersuchung der neugeborenen Kälber keine PI-Tiere ergab, lässt dies den Schluss zu, dass eine Infektion schon einige Zeit vorher stattgefunden hatte.

In den anderen Betrieben mit nur einzelnen seropositiven Kühen ist eine Bestandsinfektion (z. B. über Weidekontakte) als Ursache der Serokonversion mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit auszuschließen. Nach Eintrag eines BVD-Virus in einen seronegativen Bestand kommt meist zur Serokonversion nahezu aller vorhandener Rinder. Vermutlich handelt es sich deshalb in den eigenen Fällen um zugekaufte Tiere (Infektion oder Impfung im Herkunftsbestand) oder um Tiere, deren Aufzucht in einen Färsenaufzuchtbetrieb ausgelagert war und die sich dort infiziert hatten oder dort geimpft worden waren.

Möglicherweise könnten demnach die Titer im Zeitraum um die Infektion oder Impfung noch höher gewesen sein können, haben aber über die Zeit schon wieder abgenommen. In der Studie von Fredriksen et al. (1999) waren auch nach drei Jahren nach einer Infektion noch ähnlich hohe Antikörpertiter vorhanden (FREDRIKSEN et al. 1999). Platt et al. (2017) vermuten, dass sich die Ähnlichkeit der Höhe zwischen Impftiter und Feldvirus-Titer aus der Heterologie des verwendeten Virus im Serum-Neutralisationstest ergibt. In dieser Studie wurde für alle Titerbestimmungen derselbe hausinterne BVDV-1, Stamm Osloss #6 verwendet, sodass auch hier eine ähnliche Titerhöhe dadurch möglich sein dürfte.

#### 5.2.4 Boostereffekte

Der verwendete Impfstoff enthält nzp-BVDV-Stämme. Aus verschiedenen Studien geht hervor, dass naive Rinder nach einer Infektion mit nzp-Stämmen einen deutlich höheren Antikörpertiter-Anstieg entwickelten als solche, die mit einem zytopathogenen Stamm infiziert worden sind (LAMBOT et al. 1997, KÖNIG et al. 2006). Wenn die Tiere zuvor mit zp-Stämmen in Kontakt gekommen sind, haben sich im Gegensatz dazu jedoch signifikant mehr Lymphozyten an der Reaktion beteiligt, welche schneller mehr Antikörper nach Superinfektion generierten (LAMBOT et al. 1997). Es ist davon auszugehen, dass die Tiere in dieser Studie, welche bereits vor der Impfung einen positiven Antikörpertiter besaßen, bereits zuvor mit nzp-BVDV Stämmen in Kontakt gekommen waren und aus diesem Grund nach der Impfung einen Booster-Effekt entwickelten. Zu beachten ist, dass die absoluten Antikörpertiter bei den zuvor seropositiven Tieren signifikant höher waren als bei denen, die zuvor noch keinen Kontakt zu dem Antigen hatten. Der Anstieg der Antikörpertiter war jedoch bei den naiven Tieren signifikant höher. Dies stimmt auch mit den Aussagen von Walz et al. (2015) überein, die die Vermutung äußern, dass die Tiere ihrer Studie deshalb einen relativ geringen Antikörpertiter-Anstieg erlebten, weil es sich um eine geboosterte Reaktion handelte (WALZ et al. 2015).

Dubovi et al. (2000) führten ebenfalls eine BVD-Vakzine-Studie durch, um die unterschiedlichen Titerhöhen bei verwendetem, einmalig injiziertem Lebend- bzw. Totimpfstoff zu untersuchen. Alle Tiere dieser Studie waren jedoch bereits vor der Impfung BVDV seropositiv und erlebten somit einen Boostereffekt bei erneuter Impfung. Reber et al. (2006) führten ihre Studie mit zweimaliger Injektion eines Impfstoffes durch. Eine Gruppe wurde zweimal mit einer Lebendvakzine geimpft, eine weitere Gruppe zweimal mit einem Totimpfstoff und in der Gruppe 3 wurde zunächst ein Lebendimpfstoff und dann ein Totimpfstoff verwendet. Diese Tiere waren bei Beginn der Studie seronegativ (REBER et al. 2006). Dennoch ist auch hier ein Booster-Effekt zu erkennen. Platt et al. (2017), die in ihrer Studie ebenfalls mit Bovela<sup>®</sup> arbeiteten, haben auch einmalig geimpft. Hier waren die Höhen der Antikörpertiter vergleichbar mit denen in dieser Studie gemessenen Titern. Dies ist der Vorteil der modifizierten Lebendvakzinen, wie bereits im Literaturteil erwähnt, dass ein Impfschutz auch nach einmaliger Injektion gegeben sein kann (KIMMAN et al. 2007). Da der generierte Impfschutz nach einer Vakzinierung mit Lebendimpfstoff nicht ausschließlich aus den vorhandenen Antikörpern, sondern auch aus der Beteiligung der T-Helferzellen resultiert, könnte es dazu führen, dass die Antikörpertiter, trotz bestehendem Impfschutz niedriger bleiben.

In der Betrachtung des Betriebes Nr. 15 fiel auf, dass neun von zehn untersuchten Tieren bereits vor der Impfung einen positiven Antikörpertiter besaßen. Bemerkenswerterweise war ein Tier von den zehn untersuchten zum Zeitpunkt der Impfung seronegativ. Laut Lanyon et al. (2014) bedeutet ein negatives Antikörperergebnis im SNT nicht zwangsläufig, dass das Tier

naiv gegenüber BVD sei. Weitere Untersuchungen müssten angestrebt werden, ob es sich bei diesem Tier um ein PI-Tier handelt. Diese Tatsache konnte jedoch dahingehend weitestgehend ausgeschlossen werden, da bei dem Kalb, welches zuvor geboren worden war, die Untersuchung der Ohrstanzprobe zu einem negativen BVD-Ergebnis geführt hatte. Wäre das untersuchte Tier ein PI-Tier gewesen, hätte das Kalb zwangsläufig auch ein PI-Tier sein müssen (BACHOFEN et al. 2013). Eine nicht geimpfte seropositive Herde lässt vermuten, dass die Population Kontakt mit dem Virus hatte und dass irgendwo ein PI-Tier in der Herde vorhanden sein könnte (LANYON et al. 2014). In Betrieben, in denen nur vereinzelt seropositive Tiere auftreten, wie hier in den Betrieben Nr. 2, 9, 13 und 14, ist es unwahrscheinlich, dass sich ein PI-Tier im Bestand befindet.

### **5.2.5 Titerunterschiede im Vergleich zu anderen Studien**

Verglichen mit bisherigen Studien fielen die Antikörper-Titer insgesamt hier niedrig aus. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass diese Antikörpertiter bereits 4 Wochen nach Impfung bestimmt wurden, die Titer danach aber noch über mindestens 8 Wochen weiter ansteigen (RIDPATH 2013). In der Dissertation von Wenzel (2014) besaßen geimpfte Milchkühe einen Antikörpertiter von 3,3 bis 5 [ $\log_{10}$ ND50] (WENZEL 2014), während sie in der vorliegenden Studie deutlich unterhalb lagen und sich zwischen 0,5 bis 2,6 [ $\log_{10}$ ND50] bewegen. Im Unterschied zu der vorgelegten Studie wurden die Tiere bei Wenzel (2014) über mindestens 3 Jahre wiederholt mit dem inaktivierten BVD Typ 1 Impfstoff PregSure® BVD der Firma Pfizer geimpft. Vermutlich hatte der Booster-Effekt die hohen Antikörpertiter verursacht. Zusätzlich ist bei der Verwendung des Impfstoffes PregSure® BVD das sehr effektive Adjuvans zu berücksichtigen.

Auch in einer anderen Studie von Walz et al. (2015) fielen bei einer Impfstudie die Antikörpertiter niedriger aus als erwartet (WALZ et al. 2015). Studientiere waren in diesem Fall Färsen, die vor der ersten Kalbung bereits dreimal mit einer kombinierten Vakzine, unter anderem gegen BVDV-Typ 1 und 2, geimpft wurden. Zwischen dem 21. und 28. Tag nach der Kalbung wurden diese Färsen je nach Gruppenzugehörigkeit entweder mit einer modifizierten Lebendvakzine oder mit einem Totimpfstoff geimpft. Auffallend war, dass unabhängig von der Art des Impfstoffes der Anstieg der BVD-spezifischen Antikörper weniger als 50 % betrug, bezogen auf den normalerweise zu erwartenden Titeranstieg. Daher kommen Walz et al. (2015) zu dem Entschluss, dass eine Impfung im Zeitraum bis vier Wochen nach der Kalbung nicht ausreichend effizient ist. Hohe energetische Anforderungen und Stress sind nach Ansicht der Autoren dafür verantwortlich (WALZ et al. 2015). Diese Aussage bezieht sich jedoch nur auf Kühe in der ersten Laktation, multipare Kühe wurden nicht in die Studie mit aufgenommen. Die Autoren vermuten, dass bei einer Impfung 35 Tage nach der Kalbung die Titer deutlich höher ausfallen würden.

Eine vergleichbare Studie von Platt et al. (2017) beschreibt die Antikörpertiterentwicklung ebenfalls nach einer Impfung mit Bovela®. Die Titer wurden auch mittels SNT bestimmt, jedoch im Logarithmus zu Basis 2 angegeben. Es ergeben sich damit jedoch ähnliche Antikörpertiter von 5 [ $\log_2$ ND50] 5 Wochen, bis hin zu 6 [ $\log_2$ ND50] 7 Wochen nach der Impfung (PLATT et al. 2017). Dabei wurde die Immunreaktion und die Höhe der Antikörper nach einer Impfung mit Bovela® erst nach 5, 6 und 7 Wochen gemessen. In der Studie konnte eine weitere Zunahme der Titer bis zur 7. Woche beobachtet werden (PLATT et al. 2008, PLATT et al. 2017). In der eigenen Studie wäre eine weitere Blutentnahme 6 Wochen nach der Impfung von Interesse gewesen.

Im Rahmen der Studie von Dubovi et al. (2000) wurden ebenfalls BVD-Antikörper-Titer nach Impfung mit einer multivalenten Lebendvakzine (Pyramid® MLV4, Fort Doge) gemessen. Geimpft wurden die Tiere am Tag 35 nach der Kalbung, die Antikörper-Entwicklung wurde am Tag 49 und 70 gemessen. Es zeigte sich hier im Gegensatz zu Platt et al. (2017), dass die Titer bereits 5 Wochen nach der Impfung im Vergleich zu 2 Wochen nach der Impfung schon wieder deutlich abgenommen hatten (DUBOVI et al. 2000). In den Zulassungsstudien des Impfstoffes wird beschrieben, dass ein Impfschutz 3 Wochen nach der Impfung gegeben ist (EUROPEAN MEDICINES AGENCY 2014), sodass ein ausreichenden Schutz mit entsprechend hohen Titern gewährleistet ist. Letztendlich kommen die Autoren Downey-Slinker et al. (2016) zu dem Ergebnis, dass die Höhe der Antikörpertiter nicht so entscheidend ist für den Schutz vor einer Erkrankung, sodass auch hier nicht gesagt, dass Tiere mit niedrigen Ak-Titern eine geringere Immunkompetenz haben und anfälliger gegenüber der Krankheit sind (DOWNEY-SLINKER et al. 2016).

In einer Studie von König et al. (2006) wurden gleichermaßen BVDV-Antikörpertiter nach zweistufigem Impfverfahren gemessen. Für die Messung der Titer gegen BVD-1b wurde der gleiche Virusstamm wie in der vorliegenden Studie („Osloss“) verwendet. Dieser zeigte in der Auswertung signifikant niedrigere Titer als die Messung gegen BVD-1a. Zum Nachweis der BVD-1a-Antikörper wurde der Stamm „Oregon C24“ genutzt (KÖNIG et al. 2006). Ob sich bei der Messung der BVD-1a-Antikörper nach der Impfung mit Bovela® höhere Titer dargestellt hätten, bleibt spekulativ.

Mit einer mitgeführten Kontrollgruppe, welche die Antikörpertiter bei Tieren in der ausgeglichenen oder positiven Energiebilanz gemessen hätte, hätte ein Vergleich zur negativen Energiebilanz bei den Frischkalbenden hergestellt werden können. In der Studie von Wenzel (2004) wurden die Tiere in der Trockenstehphase geimpft, bei Platt et al. (2017) und bei Downey-Slinker et al. (2016) wurden Bullenkälber zwischen 5 Monaten und einem Jahr geimpft, auch diese befinden sich in einer positiven Energiebilanz.

Laut Kuchen et al. (2007) kommt es um die Geburt zu einer Reduktion der T- und B-Zellen im Blut (KUCHEN et al. 2007). Um eine adäquate Immunantwort leisten zu können, ist das Immunsystem auf zusätzliche Hilfe von antigenspezifischen T-Helferzellen angewiesen. Diese führen zur Aktivierung, Proliferation und Ausdifferenzierung der B-Zellen zu antikörperproduzierenden Plasmazellen (KUCHEN et al. 2007). Bezogen auf die vorliegende Studie könnte dies bedeuten, dass bei der Impfung zwei bis drei Wochen nach der Kalbung die Konzentrationen der B- und T-Zellen noch reduziert sind und infolgedessen die Antikörperantwort geringer ausfällt.

### **5.2.6 Beziehung zwischen der Milchleistung und den BDV-Antikörpertitern**

Ziel dieser Studie war es, Hinweise über die leistungsabhängige Immunkompetenz von Milchkühen in den ersten Wochen nach der Kalbung zu erlangen, also im Zeitraum mit einer insbesondere für Hochleistungskühe postulierten ausgeprägten negativen Energiebilanz (INGVARTSEN et al. 2003). Als Kriterium hierfür wählten wir die Fähigkeit zur Bildung neutralisierender Antikörper nach BVD-Impfung. Bezugsmaßstab war die individuelle Milchleistung der vorhergehenden Laktation, da diese zum einen das genetische Leistungspotenzial der Tiere widerspiegeln dürfte und zum anderen bis zum Ende des praktischen Teils dieser Studie noch nicht alle laufenden Laktationen abgeschlossen waren.

Nach diesen Impfungen wurden keinerlei Komplikationen beobachtet, insbesondere kam es nach Angabe der Tierhalter auch nicht zu einem Rückgang der Milchleistung. Dabei handelt es sich jedoch um eine teilweise subjektive Aussage, da nicht alle Landwirte über eine automatische Milchmengenerfassung verfügen, sondern die Leistungsergebnisse anhand der Auswertungen der monatlichen Milchleistungskontrolle beobachten. Die Daten über den Verlauf des Milchleistungsanstiegs der Einzeltiere nach der Impfung konnten der Studie jedoch vom HVL nicht zur Verfügung gestellt werden

Ein möglicher Kritikpunkt an dieser Studie könnte darin bestehen, dass die Jahresleistung der Kontrollgruppe mit 8.016 kg bis 8.983 kg Milch/ Jahr mit Herdendurchschnitten von 7746 kg bis 8961 kg (7746 kg als zusätzlich ausgewählter Betrieb) ebenfalls recht hoch war, zumindest im Vergleich zu früheren Jahrzehnten. Dabei muss man sich allerdings vergegenwärtigen, dass es sich hierbei, bezogen auf die Herdenebene, um Betriebe mit unterdurchschnittlicher Leistung handelt, das bedeutet 50 Prozent der kontrollierten hessischen Milchviehbetriebe liegen mit ihrer Leistung über den Betrieben dieser Kontrollgruppe.

Auch Leistungen von 8.000 kg Milch in einer Laktation sind Ergebnisse züchterischen Fortschrittes und überschreiten die physiologische Milchmenge, welche Kühe ohne züchterische Selektion geben würden. Martens (2016) beschreibt, dass es bisher nicht gelungen ist, eine physiologische Obergrenze für die Milchleistung festzulegen (MARTENS 2016). Eine Möglichkeit diesen Effekt auszugrenzen wäre, dass man eine Kontrollgruppe aus Mutterkühen in der

Studie mitführt, welche nicht auf gesteigerte Milchleistung gezüchtet wurden. Allerdings ist hierbei zu beachten, dass wiederum der Einfluss einer anderen Rasse zu genetischen Unterschieden führen kann. Um den Effekt der NEB auf den Antikörpertiteranstieg auszugrenzen, wären weitere Untersuchungen in der zweiten Hälfte der Laktation von Interesse gewesen.

In der Doktorarbeit von Horn (2013) sollte festgestellt werden, ob es einen Zusammenhang zwischen einer ausgeprägten NEB und einem verstärkten Abfall der Immunglobulintiter im peripartalen Zeitraum gibt (HORN 2013). Einige Autoren beschreiben den Einfluss der NEB auf die Zellen des Immunsystems in der peripartalen Phase (KEHRLI et al. 1989a, KIMURA et al. 2002, GOFF 2006). Die Auswirkungen eines Glukosemangels auf die B-Zellen wurden bisher wenig untersucht. Aus der Arbeit von Horn (2013) geht hervor, dass zu keinem der in der Studie untersuchten Zeitpunkte das Ausmaß der NEB mit den Antikörperkonzentrationen im Plasma korrelierte.

Zu einer ähnlichen Aussage kommen Mallard et al. (1997). Es sei eine erhebliche Variation in der Immunantwort der Kühe während der peripartalen Phase zu erkennen und nicht alle Kühe in diesem Zeitraum zeigten eine verminderte Antikörperantwort (MALLARD et al. 1997). Dies deckt sich mit den Beobachtungen in der hier vorgelegten Arbeit. Es konnten ebenfalls keine Zusammenhänge zwischen der NEB, bestimmt anhand der Höhe der NEFA-Konzentrationen und den Antikörpertitern, hergestellt werden. Weder erhöhte Konzentrationen von NEFAs noch ein erhöhter Anfall von BHBA im Blut hatten einen signifikanten Einfluss auf die Höhe der Antikörpertiter.

In der Arbeit von Moyes et al. (2009) sollten ebenfalls die Einflüsse der NEB auf das Immunsystem untersucht werden. Ähnlich wie in der eigenen Studie konnten zwischen den Tieren mit einer positiven Energiebilanz und Tieren in einer energetischen Mangelsituation keine gravierenden Unterschiede festgestellt werden. Vielmehr kommen die Autoren zu der Vermutung, dass niedrige Glukosekonzentrationen zusammen mit einem plötzlichen Anstieg der Glukokortikoidkonzentration im peripartalen Zeitraum zu verminderten Immunfunktionen führen. Interessant wäre in diesem Zusammenhang die Konzentration des Cortisols im Blut der Tiere zum Zeitpunkt der Impfung zu messen.

Der Gedanke, dass sich eine gesteigerte Immunantwort in der peripartalen Phase negativ auf die Milchleistung auswirken könnte, weil dabei mehr Energiereserven an das Immunsystem abgegeben werden, konnte in der Studie von Stoop et al. (2016) widerlegt werden. Kühe wurden nach einer Immunisierung (bestehend aus zwei Antigentypen und einem Adjuvanz in PBS gelöst, hergestellt in einem kanadischen Labor) anhand ihrer Immunreaktion in drei Gruppen eingeteilt. Die Gruppe, die die höchste Immunantwort (sowohl zellulär als auch humoral) aufwies, hatte zudem auch die höchste Milchleistung (STOOP et al. 2016). Diese Aussage stimmt

soweit mit den Ergebnissen der hier vorgelegten Arbeit überein, da auch hier nicht der Schluss gezogen werden kann, dass mit höherer Milchleistung die Antikörperantwort auf den Reiz der Impfung geringer ausfällt. Im Gegensatz jedoch konnte hier auch keine höhere Antikörperantwort bei höherer Milchleistung, wie bei Stoop et al. (2016) beschrieben, festgestellt werden.

Ähnlich wie in der zuvor beschriebenen Studie, wurden auch in den Arbeiten von Wagter et al. (2003) die Reaktionen der Kühe auf eine Antikörperantwort herangezogen, um diese in hohe, mittlere und niedrige Antworttypen einzuordnen. Einbezogen wurden zudem Milchleistungsparameter und die Anzahl der Laktationen. Die Autoren kamen zu dem Ergebnis, dass die Eiweißleistung je nach Zugehörigkeit zu der Immunantwortgruppe zusätzlich von der Anzahl der Laktationen abhängt. Signifikante Unterschiede konnten bei Erstkalbinnen festgestellt werden.

### **5.2.7 Beziehungen zwischen den NEFA-Konzentrationen und den BVD-Antikörpertitern**

Der Schweregrad und die Dauer der NEB spiegeln sich im Anstieg von zirkulierenden NEFA- und BHBA-Konzentrationen im Blut wieder (DRACKLEY 1999, MCART et al. 2013, SUTHAR et al. 2013). Ster et al. (2012) gelangen zu der Überzeugung, dass erhöhte NEFA-Werte einen negativen Einfluss auf die Immunzellfunktionen, insbesondere auf die polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten (PMNL), haben, da die freien Fettsäuren die Interferon-Ausscheidung in vitro beeinflussen. Diese Aussage wird durch die Studie von Lacetera et al. (2003) bestätigt. Die Sekretion von IgM-Globulinen von in vitro stimulierten Plasmazellen wurde bei NEFA-Konzentrationen ab 0,25 mmol/l gehemmt (LACETERA et al. 2003). Zusätzlich wird laut Ster et al. (2017) der oxydative Burst ab NEFA-Werten oberhalb von 0,5 mmol/l gehemmt (STER et al. 2012). In der eigenen Arbeit wurde für die NEFA-Konzentrationen im Blut der Grenzwert 0,6 mmol/l gewählt, obwohl sich in der Literatur dazu auch andere Angaben finden. Dieser Wert stimmt mit den angegebenen Referenzwerten von Ospina et al. (2010) und von Moritz (2014) überein (OSPINA et al. 2010, MORITZ 2014). Dies legt die Vermutung nahe, dass bei Kühen, welche diesen Grenzwert überschreiten, die Produktion der spezifischen Antikörper nach der Impfung gehemmt sein könnte. Bezogen auf die Höhe der Antikörpertiter konnte bei den vorliegenden Daten jedoch keine Korrelation zu den NEFA-Werten im Blut nachgewiesen werden. Es wurde an dem hier durchgeführten In-vivo-Modell nicht untersucht, ob die erhöhten NEFA-Konzentrationen eine hemmende Wirkung auf die Proliferation der antikörperproduzierenden Plasmazellen haben. Zu beachten ist in der eigenen Studie, dass 37 Tiere (27 %) erhöhte NEFA-Konzentrationen von mehr als 600  $\mu\text{mol/l}$  aufwiesen, welche nicht signifikant einer Milchleistungsgruppe zugeordnet werden konnten. Aus weiteren Studien geht hervor, dass bei einer Herdenprävalenz von > 15 % NEFA-Konzentrationen von >0,6 mmol/l innerhalb der ersten 14 Tage post partum ein größeres Risiko besteht, Krankheiten zu entwickeln (CHAPINAL et

al. 2012a, MCART et al. 2013). Der Zeitraum der Beprobung in der Studie von Ster et al. (2012) unterschied sich ebenfalls von denen in der eigenen Studie. Die NEFA-Konzentrationen am Tag 2 und 5 nach der Kalbung waren signifikant höher als die am Tag 61. Die Messung der NEFA-Werte dieser Arbeit wurde zwischen Tag 14 und 21 durchgeführt. Möglich ist, dass sich die Konzentration der frei zirkulierenden NEFAs zu dem Zeitpunkt bereits wieder verringert hat.

In den Studien von Chapinal et al. (2012a) und McArt et al. (2013) waren hohe NEFA-Konzentrationen mit einer geringeren Milchleistung zu Beginn der Laktation assoziiert, insbesondere innerhalb der ersten dreißig Tage der Laktation (CHAPINAL et al. 2012a, MCART et al. 2013). Daraus könnte man folgern, dass Kühe mit hohen NEFA-Werten sowohl eine geringere Immunantwort haben (KEHRLI et al. 1989a, DETILLEUX et al. 1995, LACETERA et al. 2003) als auch eine geringere Milchleistung. Somit hätten Kühe mit NEFA-Werten in der Norm eine höhere Milchleistung und höhere Antikörpertiter. Dies stünde jedoch im Gegensatz zu der Aussage, dass hochleistende Milchkühe in ihrer Immunantwort supprimiert wären. In der vorliegenden Arbeit konnte dies in direktem Zusammenhang nicht bestätigt werden. Kühe mit höherer Milchleistung hatten weder einen signifikant höheren Antikörpertiter noch hatten Kühe mit erhöhten NEFAs einen signifikant niedrigen Antikörpertiter. Zu berücksichtigen ist, dass der Antikörpertiter auf die Milchleistung aus der Vorlaktation der Tiere bezogen wurde. Ein direkter Vergleich zwischen den Antikörpern und der Milchleistung zum Zeitpunkt der erhöhten NEFA-Werte ist somit nicht gegeben. McArt et al. (2013) äußern außerdem die Überlegung, dass Kühe, die zu Beginn der Laktation zu viele freie Fettsäuren im Blut haben und dadurch eine geringere Milchleistung aufweisen, dieses Milchleistungsdefizit im Verlauf der Laktation noch aufholen können. Es sei denkbar, dass hochleistende Kühe mehr Körperreserven mobilisieren müssen, um ihre energetischen Anforderungen auszugleichen, woraufhin die Milchleistung über kurze Zeit verringert wird. Sobald diese Tiere sich den veränderten Leistungsansprüchen post partum angepasst haben, sind sie in der Lage, ihr ML-Potential während der verbleibenden Laktation voll auszuschöpfen (MCART et al. 2013). Zu einer ähnlichen Aussage kommen auch Capinal et al. (2012): Tiere mit hohen NEFA- und BHBA-Werten zu Beginn der Laktation zeigen zunächst einen Abfall in der Milchleistung, können diesen jedoch während der Laktation wieder aufholen (CHAPINAL et al. 2012a). Für einen Vergleich zu diesen Daten wäre die Milchleistung der laufenden Laktation, in der die Blutwerte und die Antikörpertiter gemessen wurden, von Interesse. Diese Laktationen waren aber am Ende des praktischen Teils dieser Studie noch nicht abgeschlossen, sodass diese Daten nicht mit aufgenommen werden konnten.

Bezüglich eines signifikanten Milchleistungsabfalls beim Vorliegen von erhöhten NEFA- und BHBA-Konzentrationen gibt es in der Studie von Chapinal et al. (2012) deutliche Unterschiede

in Abhängigkeit vom Entnahmezeitpunkt. Erhöhte NEFA-Werte in der ersten und zweiten Woche nach der Kalbung waren mit einer signifikant niedrigeren Milchleistung am ersten Milchkontrolltermin assoziiert, während sich keine statistisch signifikante Beziehung zwischen den NEFA-Konzentrationen in der dritten Woche post partum und der Milchleistung der ersten Milchkontrolle absichern ließ. (CHAPINAL et al. 2012a). Verglichen mit der eigenen durchgeführten Studie muss demnach beachtet werden, dass die Entnahmen im Zeitraum 14 – 21 Tage nach der Kalbung stattfanden. Zu überlegen wäre dahingehend, ob in der dritten Woche post partum die NEFA-Werte bereits wieder gesunken waren, nachdem sie zuvor erhöht waren mit entsprechenden negativen Auswirkungen auf das Immunsystem und die Antikörperproduktion. Studien darüber, wie rasch sich das Immunsystem, speziell die beeinträchtigten B-Zellen, nach Exposition erhöhter NEFA-Konzentrationen wieder regenerieren, sind nicht bekannt.

Sordillo (2016) spricht von einer Konkurrenz um Nährstoffe während der NEB (SORDILLO 2016). Das Immunsystem steht im Wettkampf mit der Milchproduktion, dem Wachstum und dem Muskelaufbau um die nur gering vorhandenen Energiemetaboliten. Dadurch kommt es bei energetischer Unterversorgung zu einer verringerten Immunantwort (BUTTGEREIT et al. 2000). Steigen in der Energiemangelsituation die NEFA-Werte an und sinkt damit die Milchproduktion, liegt die Überlegung nahe, ob dann für das Immunsystem mehr Energie zur Verfügung steht. Demnach müssten Kühe mit einer geringer ausgeprägten NEB und mit niedrigeren NEFA-Konzentrationen einen höheren Antikörpertiter haben. Dies könnte auch mit den Überlegungen von Franklin et al. (1990) übereinstimmen, dass, wenn mehr Glukose bereit steht, die Plasmazellen besser proliferieren können (FRANKLIN et al. 1990). Doch kann auch diese These nicht endgültig bestätigt werden, da die vorliegenden Daten keine Hinweise auf Unterschiede in Höhe der Antikörpertiter in Abhängigkeit von der Höhe der NEFA-Konzentrationen geben.

### **5.2.8 Beziehungen zwischen der BHBA-Konzentration und den BVD-Antikörpertitern**

Dass nur insgesamt 12 % der beprobten Tiere BHBA-Konzentrationen  $>1,0$  mmol/l besaßen, deutet auf eine insgesamt stabile Stoffwechselsituation in beiden Gruppen hin. Suthar et al. (2013) beobachteten in einer Prävalenzstudie, dass 21,8 % der frischabgekalbten Tiere subklinische Ketosen (BHBA-Konzentration 1,2 – 1,4 mmol/l) entwickeln. Die Untersuchungen wurden in zehn europäischen Staaten in insgesamt 528 Herden durchgeführt (SUTHAR et al. 2013). Chapinal et al. (2012b) kommen zu einem Ergebnis von 15 % subklinischen Ketosen innerhalb der ersten zwei Wochen der Laktation in einer Herde (CHAPINAL et al. 2012b). Beachtet werden muss dabei jedoch, dass sich diese Prävalenz auf den Zeitraum zwischen dem zweiten bis fünfzehnten Melktag bezieht, während die eigenen Daten im Zeitraum 14 bis 21 Tage post partum ermittelt wurden. Aus der Übersichtsarbeit von McArt et al. (2013) wird deutlich, wie

schnell die Konzentration der Ketonkörper im Blut sinkt und wie rasch die Inzidenz der subklinischen Ketosen innerhalb der ersten 16 Tage abnimmt (MCART et al. 2013).

Laut einer Studie von Mösch (2011) haben die BHBA-Konzentrationen keinen signifikanten Einfluss auf die IgG-Konzentrationen im Plasma bei Kühen im peripartalen Zeitraum. LeBlanc (2010) gibt in seinem Übersichtsartikel die Referenzwerte für BHBA-Konzentrationen im Blut mit 1,2 bis 1,4 mmol/l an (LEBLANC 2010). Tiere, die höhere Konzentrationen aufweisen, haben ein deutlich höheres Risiko, metabolische oder infektiöse Erkrankungen zu entwickeln. In ihrer In-vitro-Studie kamen Ster et al. (2012) zu dem Ergebnis, dass die BHBA-Konzentrationen keinen Einfluss auf die peripheren Blutmonozyten haben (STER et al. 2012).

Weitere Literatur über den Einfluss der BHBA auf die Antikörpertiter-Entwicklung ist kaum zu finden. Da die NEFA-Werte zu Beginn der Laktation und auch vor der Kalbung eine größere Aussage haben, ist auch hier eher entscheidend, welchen Einfluss die NEFAs auf den Antikörpertiter haben könnten als die BHBA-Konzentrationen (OETZEL 2004, CHAPINAL et al. 2012a).

### **5.2.9 Beziehungen zwischen der Netto-Säure-Basen-Ausscheidung und den BVD-Antikörpertitern**

Die Auswertung der Harnproben ergab, dass ca. 21 % der Tiere ein zu niedriges Basen-Säuren-Verhältnis aufwiesen. Eine NSBA von  $\leq 80$  mmol/l könnte einen Hinweis auf das Vorliegen einer subakuten Pansenazidose (SARA) geben. Selbst wenn diese Form der Pansenazidose meist klinisch unauffällig verläuft (OETZEL 2004), soll sie mit einer Immunsuppression einhergehen, indem die Leberfunktionen eingeschränkt und Neutrophile Granulozyten und Makrophagen gehemmt werden (ENEMARK 2008). Enemark (2008) zitiert in seiner Übersichtsarbeit Studien über die Häufigkeit des Auftretens von SARA. Eine Studie aus den USA beschreibt das Vorkommen einer SARA von ca. 19 % in amerikanischen Milchkuhherden zu Beginn der Laktation (GARRETT et al. 1999). Holländische und deutsche Studien schätzen die Häufigkeit auf 11 % bis 18 % (KLEEN et al. 2004). Die Ergebnisse der eigenen Arbeit stimmen damit in etwa überein. Die vorliegenden Daten weisen jedoch nicht darauf hin, dass auch die Antikörperproduktion beim Vorherrschen von sauren Zuständen im Harn vermindert ist. Mit einer Zufallswahrscheinlichkeit von  $p = 0,9$  und einer Korrelation von  $R = -0,011$  scheint es anhand dieser Werte keinen statistischen Zusammenhang zu geben. In der Literatur sind unterschiedliche Angaben über die Referenzwerte für die NSBA bei frischlaktierenden Kühen zu finden. Diese werden übersichtlich in der Dissertation von Bender (2002) aufgeführt (BENDER 2002). Dies könnte bedeuten, dass bei den beprobten Tieren durchaus ein Protonenüberschuss im Harn vorhanden war, was jedoch zu unterschiedlichen klinischen Ausprägungen der SARA führen kann (OETZEL 2004). Weiterhin ist es möglich, dass einzelne Tiere besser mit dem sauren Milieu im Pansen umgehen können als andere und sich

somit kein Unterschied in der Antikörperproduktion feststellen lässt. Des Weiteren muss beachtet werden, dass die NSBA tageszeitlichen und fütterungsbedingten Schwankungen unterliegt (BENDER 2002, MORITZ 2014). Die meisten Harnproben konnten vormittags gewonnen werden. Das Management der unterschiedlichen Betriebe hat dazu geführt, dass einige Tiere vor der Morgenfütterung und einige Tiere bereits drei Stunden nach der Fütterung beprobt wurden. Dies könnten auch die zum Teil sehr hohen Werte im alkalischen Bereich bei einigen Tieren erklären. Im Gegensatz zu den Aussagen von Enemark (2008) stehen die Ergebnisse der Studie von Kricziokat et al. (2009). Auch Ötzel (2004) ist der Ansicht, dass die Pansensaftuntersuchung für eine Herdenübersicht über das Vorliegen einer SARA besser geeignet ist als die Bestimmung der NSBA. Kricziokat et al. (2009) fanden keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Pansen-pH-Wert und der NSBA (KRICZIOKAT et al. 2009). Dabei wird betont, dass die Fütterung und insbesondere die Zugabe von sauren Salzen und die Kationen-Anionen-Balance (DCAB) im Futter bei der Bestimmung der NSBA berücksichtigt werden müssen. Die unterschiedlichen Rationen der Betriebe zu Beginn der Laktation wurden im Rahmen dieser Untersuchungen nicht erfasst. Somit wird die Auswertbarkeit der NSBA-Werte wiederum in Frage gestellt.

Sordillo (2016) fasst in einer Übersichtsarbeit zusammen, dass ein geschwächtes Immunsystem aus den ernährungsbedingten und metabolischen Anforderungen zu Beginn der Laktation resultiere. Auch Imbalancen der Spuren- und Mengenelemente werden als ein wesentlicher Faktor für die Beeinträchtigung der Immunfunktionen in Betracht gezogen. Dies wurde in dieser Arbeit anhand des Natrium-Haushaltes untersucht. Insgesamt wiesen 22,2 % der beprobten Tiere einen Natriummangel auf, davon aus der Gruppe 1 insgesamt 21,2 % und aus der zweiten Gruppe 22,8 %. Anhand dieser vorliegenden Daten konnte jedoch nicht bestätigt werden, dass ein Zusammenhang zwischen einem Natriummangel und der Antikörperantwort besteht.

### **5.2.10 Beziehungen zwischen der GLDH-Aktivität und den BVD-Antikörpertitern**

Die Aktivität der GLDH wird in dieser Studie als ein Indikator für den Zustand der Leber bei den frischlaktierenden Kühen angesehen. Durch eine massive Anflutung der Fettsäuren in der Leber kann es zum Zellschaden kommen. So kann der GLDH-Wert eine Aussage über den Grad des Leberzellschadens geben (KALAITZAKIS et al. 2010, MORITZ 2014). Wie bereits in der Literaturübersicht erwähnt, gibt es auch Untersuchungen, die keine Korrelation zwischen dem Grad des Leberzellschadens und der GLDH-Aktivität feststellen konnten (REHAGE et al. 1999). Folglich muss die Aussagekraft der GLDH-Aktivität kritisch hinterfragt werden.

Wentink et al. (1997) fanden in einer Studie heraus, dass vermehrte Fetteinlagerungen in der Leber zu einer Immunsuppression in Form einer verminderten Antikörperproduktion führten (WENTINK et al. 1997). In den eigenen Untersuchungen konnte ein Zusammenhang zwischen

erhöhten GLDH-Werten und reduzierter Antikörperproduktion bei den beprobten Tieren nicht bestätigt werden ( $p = 0,084$  und  $R = -0,015$ ). In der Studie von Wille et al. (2010) wird diskutiert, dass die individuellen GLDH-Werte auch bei klinisch gesunden Tieren sehr stark variieren (WILLE et al. 2010). In den vorliegenden Daten ist ebenfalls auffällig, dass sehr viele Tiere einen erhöhten GLDH-Wert von  $>14$  U/l haben. In der Leistungsgruppe 1 lagen 45 % oberhalb dieses Grenzwertes und in der Gruppe 2 waren es 44 %. Dabei stellt sich die Frage nach der Verwendbarkeit des GLDH-Wertes als Indikator überhaupt und ob die hier gemessenen hohen Werte eine Aussage über den Zustand des Tieres geben können (WILLE et al. 2010, MORITZ 2014). Dies könnte bedeuten, dass die GLDH-Werte und der darauf zurückgeführte Leberschaden nicht groß genug ist, um eine eingeschränkte Immunantwort zu verursachen. Die gemessenen GLDH-Werte unterscheiden sich zudem nicht signifikant zwischen den beiden Leistungsgruppen ( $p = 0,91$ ). Auch dies wird in der Studie von Wille et al. (2010) bestätigt (WILLE et al. 2010). Ein Zusammenhang zwischen der Höhe der Milchleistung und den GLDH-Werten konnte in den eigenen Untersuchungen somit nicht festgestellt werden. Mit einem  $p$ -Wert von 0,91 unterscheiden sich beide Gruppen nicht signifikant voneinander.

GLDH-Werte  $>16$  U/l betrachten Kalaitzakis et al. (2010) als einen Hinweis für einen erheblichen Leberschaden (KALAITZAKIS et al. 2010). Ungeachtet der Tatsache, dass die erhöhten GLDH-Werte im Rahmen dieser Arbeit keinen nachweisbaren Einfluss auf die Antikörpertiter-Entwicklung hatten, lagen jedoch 44 % der beprobten Kühe oberhalb des Referenzbereiches von  $>14$  U/l.

### **5.2.11 Beziehungen zwischen den BVD-Antikörpertitern und der Laktationsnummer**

In der durchgeführten Studie konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Höhe der BVD-Antikörpertiter und der Anzahl der Laktationen festgestellt werden. Sowohl das Alter in Jahren ( $p = 0,933$ ) als auch die Anzahl der Kalbungen ( $p = 0,838$ ) hatten keinen Einfluss auf die Höhe der Titer nach der Impfung.

Andere Studien zeigten, dass insbesondere bei multiparen Tieren eine geringere Immunantwort nach einer Impfung als bei Erstkalbenden (DUBOVI et al. 2000) erreicht wurde. Dabei ist zu beachten, dass in der Studie von Dubovi et al. (2000) die Tiere durch eine BVD-Zweitimpfung geboostert wurden und dieser Unterschied erst nach der zweiten Impfung festgestellt wurde. Des Weiteren wurden in der beschriebenen Studie multipare und erstkalbende Kühe miteinander verglichen. In die eigene Studie wurden nur Kühe ab der zweiten Kalbung einbezogen. Da Dubovi et al. (2000) zwischen den Laktationsnummern der multiparen Tiere nicht weiter differenzieren, besteht die Möglichkeit, dass diese sich im Hinblick auf die Impfreaktion ebenfalls nicht unterscheiden haben. In der eigenen Studie befanden sich insgesamt 72 % der Probanden in der 2. bis 4. Laktation. Ob eine signifikant andere Antikörpertiter-Entwicklung bei deutlich älteren Tieren stattfinden würde, müsste mit Hilfe eines älteren Probandenkollektives

herausgefunden werden. Jedoch entspricht die Verteilung der Kühe auf die Laktationen in etwa derjenigen in den deutschen Milchviehherden mit ungefähr zwei Drittel der Kühe eines Bestandes in der 2. bis 4. Laktation (ARBEITSGEMEINSCHAFT DEUTSCHER RINDERZÜCHTER E.V. 2017).

Im Gegensatz zu dieser Studie stehen die Aussagen von van Kneysel et al. (2007). In ihrer Studie mit 76 Kühen nimmt die Konzentration der natürlichen Antikörper mit steigender Laktationsnummer zu. Die Autoren versuchen dies damit zu begründen, dass die Empfindlichkeit gegenüber exogenen Einflüssen zu einer erhöhten Autoreaktivität der B-Zellen in höherem Alter zunimmt. Die Aussagen beziehen sich jedoch auf die Produktion der natürlichen Antikörper, deren Ursprung noch nicht vollständig geklärt ist (VAN KNEGSEL et al. 2007).

### **5.2.12 Beziehungen zwischen der Körperkondition und den BVD-Antikörpertitern**

Bei der allgemeinen Untersuchung der Tiere am Tag der Impfung und zusätzlich am Tag der 2. Blutentnahme wäre die Bestimmung des Body Condition Score (BCS) sehr sinnvoll gewesen. Dies ist jedoch leider aus mangelnder Absprache und schlechter Planung im Vorfeld nicht geschehen. Erst bei fortgeschrittenen Überlegungen während der Studie ist deutlich geworden, dass der Körperfettgehalt Einfluss auf die Entstehung von erhöhten NEFA-Werten hat und dass dies einen Einfluss auf die Antikörperentwicklung haben könnte. Es bleibt allerdings zu berücksichtigen, dass eine Beurteilung des Gewichtsverlaufes nicht gegeben war. Die Tiere wurden zwei Wochen nach der Kalbung das erste Mal vorgestellt. Wichtig ist bei der Beurteilung der Körperkondition jedoch, dass sie am Ende der Laktation und noch einmal am Ende der Trächtigkeit durchgeführt werden sollte (SCHIRMANN et al. 2016). Um eine Übersicht über die Tiere der Gruppen zu bekommen, wurde eine stichprobenartige Beurteilung der Körperkondition von je 10 Tieren bei der Bestandsbegehung auf jedem Betrieb vorgenommen.

Mittels Korrelationsanalyse wurde geprüft, ob ein Zusammenhang besteht zwischen dem mittleren BCS der Kühe in diesen untersuchten Betrieben und den BVD-Antikörpertitern der Probanden nach Impfung. Anhand der vorliegenden Daten konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen diesen beiden Kriterien festgestellt werden ( $p = 0,31$ ;  $R = 0,29$ ). Bei der Betrachtung dieser Ergebnisse ist zu berücksichtigen, dass hier viele Daten zusammengefasst wurden. Zunächst wurde bei Kühen der jeweiligen Herde der BCS bestimmt und dann daraus für diesen Betrieb der Mittelwert berechnet. Wenn man bei dieser Auswertung nur den BCS der beprobten Tiere zugrunde gelegt hätte, hätte dies möglicherweise zu einer genaueren Aussage geführt. Zusätzlich wurden beide Leistungsgruppen im t-Test miteinander verglichen. Auch dabei ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied ( $p = 0,8$ ).

Ob die Körperkondition der Tiere einen direkten Einfluss auf die Antikörpertiter-Entwicklung hat oder ob der Zusammenhang über erhöhte BHBA- und NEFA-Werte im Blut hergestellt

werden kann, ist bisher unklar. Dass ein Zusammenhang zwischen der Entwicklung subklinischer Ketosen und einem zu hohen BCS ante partum besteht, konnte in einigen Studien festgestellt werden (COLLARD et al. 2000, SORDILLO 2016).

Viel wichtiger als der BCS zum Zeitpunkt der Kalbung sei die Veränderung der Körperkondition in Bezug auf das Krankheitsrisiko post partum (RATHBUN et al. 2017). Aus der Studie von Rathbun et al. (2017) geht hervor, dass auch Kühe mit einem hohen BCS gut in die Laktation starten können. Andere Kühe mit einem Körpermasseverlust von  $> 0,5$  BCS-Punkten im Zeitraum von der Kalbung bis zur Mitte der Laktation waren demgegenüber viel krankheitsgefährdeter, unabhängig ihres BCS bei der Kalbung. Unter diesen Gesichtspunkten wären weiterführende Verlaufsstudien von Interesse, das heißt, wie sich der Antikörpertiter im Vergleich zur Körperkondition entwickelt. Dazu wäre eine Impfung, beziehungsweise die Setzung eines Reizes zum Zeitpunkt der besten Körperkondition, am Ende der Laktation, sinnvoll.

### **5.2.13 Beziehungen zwischen klinischen Befunden und den BVD-Antikörpertitern**

In der allgemeinen Untersuchung der Tiere vor der Impfung war die Hälfte der Tiere in einigen Punkten auffällig. Es konnte ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Ektoparasiten, im überwiegenden Fall Schwanzräude, und der Höhe der Antikörpertiter nach der Impfung festgestellt werden. Tiere mit Schwanzräude hatten in der durchgeführten Studie einen signifikant niedrigeren Antikörpertiter entwickelt als die Tiere ohne Ektoparasiten. Dies sollte aber aufgrund der geringen Fallzahl ( $n=7$ ; Prävalenz = 4,4 %) nicht überbewertet werden. Bezüglich aller weiterer klinischer Befunde ergab sich kein signifikanter Zusammenhang mit den BVD-Antikörpertitern. In einigen Studien wird ein Zusammenhang zwischen der Höhe der Antikörpertiter und dem vermehrten Auftreten von Krankheiten beschrieben. Mallard et al. (1997) haben die Höhe der Antikörper nach Immunisierung mit einem Protein und einem E.-coli-Stamm gemessen und dabei festgestellt, dass die Kühe, die eine verringerte Immunantwort auf den Reiz zeigten, auch häufiger erkrankten. Es besteht die Überlegung, dass auch in diesem Fall Kühe mit einer geringeren Immunantwort anfälliger gegenüber Parasiten sind als Kühe, die eine stärkere Immunreaktion zeigen.

### **5.2.14 Beziehungen zwischen dem Kuhkomfort in den Betrieben und den BVD-Antikörpertitern**

Der Kuhkomfort der Betriebe war sehr unterschiedlich. Durch Verwendung eines einheitlichen Score-Systems sollte der Vergleich zwischen den Betrieben möglichst objektiviert werden. Mit Hilfe des t-Tests konnte eine signifikante Beziehung zwischen Kuhkomfort und Leistungsgruppe nicht nachgewiesen werden ( $p = 0,44$ ). Krawczel und Grant (2009) gelangen zu der Überzeugung, dass die Kühe bei besserem Kuhkomfort eine höhere Milchleistung haben (KRAWCZEL & GRANT 2009). Die Ergebnisse der eigenen Arbeit weisen allerdings daraufhin,

dass die Milchleistung durch weitere Faktoren beeinflusst wird, da auch in den Betrieben der Kontrollgruppe teilweise ein sehr hoher Kuhkomfort festgestellt wurde.

Ob der Kuhkomfort direkten Einfluss auf das Immunsystem hat, ist nach ausführlicher Sichtung der Literatur nicht bekannt. Dass mangelnder Kuhkomfort die Tiergesundheit jedoch beeinträchtigt, wurde in unterschiedlichen Studien festgestellt (COOK 2008, KRAWCZEL & GRANT 2009). Insbesondere beeinflusst der Kuhkomfort das Liegeverhalten der Kühe. Bei verkürzten Liegephasen wird die Klauengesundheit maßgeblich beeinträchtigt (COOK et al. 2004). Dass jedoch die Antikörpertiter-Entwicklung vom Kuhkomfort abhängig ist, konnte anhand der eigenen durchgeführten Arbeit nicht nachgewiesen werden ( $p = 0,69$ ;  $R = -0,12$ ). Ähnlich wie bei der Bestimmung des BCS sind hier viele Faktoren zusammengefasst. Eine ausführliche Studie mit Liegezeiterfassung und Antikörpertiter-Entwicklung auf Einzeltierebene könnten hier weitere Ergebnisse liefern.

## 6 Zusammenfassung

Die Zucht auf hohe Milchleistung wird vielfach für eine erhöhte Krankheitsanfälligkeit der Kühe und für eine Verkürzung der Nutzungsdauer verantwortlich gemacht. Im Rahmen einer kontrollierten klinischen Studie sollte deshalb geprüft werden, ob sich hinsichtlich der Bildung neutralisierender Antikörper nach Impfung mit einem kommerziellen BVD-Lebendimpfstoff Unterschiede nachweisen lassen zwischen Kühen mit überdurchschnittlich hoher Milchleistung (Testgruppe) und solchen mit signifikant niedrigerer Milchleistung (Kontrollgruppe).

Hierzu wurden aus dem Datenmaterial des Kontrolljahres 2016/17 des Hessischen Verbandes für Leistungs- und Qualitätsprüfungen in der Tierzucht e.V. (HVL) acht Holstein-Milchviehbestände mit hoher Milchleistung und acht Betriebe mit niedriger Leistung ausgewählt, in denen – neben einer Bestandsanalyse – detaillierte klinische und labordiagnostische Untersuchungen sowie Impfungen (Bovela<sup>®</sup>, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH) zur Ermittlung der Antikörperbildung durchgeführt wurden. Dieser Impfstoff enthält als Antigen lebendes, nicht zytopathogenes BVDV-1 und BVDV-2.

Pro Bestand wurden jeweils 10 Kühe in diese Studie einbezogen. Zwischen dem 14. und 21. Tag post partum wurden die für die Studie vorgesehenen Kühe einer Allgemeinuntersuchung unterzogen. Falls keine Ausschlusskriterien vorlagen (erhöhte Körpertemperatur, Erkrankungen mit Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens), wurden die Kühe in die Studie aufgenommen, beprobt und noch am selben Tag geimpft. Anlässlich der Erstuntersuchung wurden folgende Laborparameter bestimmt: Antikörpertiter gegen BVDV-Typ 1 (Serumneutralisationstest), NEFA-,  $\beta$ -HBA-Gehalt und GLDH-Aktivität im Serum, Glutaraldehyd-Testzeit, Netto-Säure-Basen-Ausscheidung sowie die Natriumkonzentration im Harn. Im Rahmen der Folgeuntersuchung (28 bis 32 Tage später) wurde der Antikörpertiter gegen BVDV-Typ 1 (Serumneutralisationstest) nochmals ermittelt.

Trotz des vorberichtlich zu vermutendem BVD-seronegativen Status dieser Bestände erwiesen sich in zwei Herden 9/10 bzw. 9/9 der untersuchten Kühe bereits zum Zeitpunkt der Impfung als BVD-Antikörper positiv. Die Ergebnisse dieser beiden Herden wurden daher separat ausgewertet. In vier weiteren Betrieben waren einzelne Kühe (n = 1 oder 2) Tiere seropositiv; auch diese wurden daher separat ausgewertet.

Obwohl sich die Kühe mit hoher Milchleistung (Jahresmilchleistung 10284 kg  $\pm$  1849 kg) von denjenigen mit niedrigerer Leistung (8106 kg  $\pm$  1294 kg) hinsichtlich dieses Kriteriums signifikant unterschieden, gab es im Hinblick auf die Titer an neutralisierenden BVD-Antikörpern nach Impfung zwischen beiden Leistungsgruppen keine signifikanten Unterschiede ( $p = 0,62$ ). Die Antikörpertiter bewegten sich bei den Einzeltieren der hochleistenden Testgruppe in einem Bereich von 0,5 – 2,6 ( $\bar{x} = 1,42$ ) logND50 und bei denjenigen der Kontrollgruppe zwischen

0,5 und 2,1 ( $\bar{X} = 1,38$ ) logND50. Dabei konnte mittels Korrelationsanalyse kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Höhe der Milchleistung und der Höhe der BVD-Antikörpertiter ermittelt werden ( $p = 0,75$ ;  $R = 0,03$ ). Gleiches galt hinsichtlich des BVD-Antikörpertitervergleichs auf Bestandesebene ( $p = 0,48$ ).

Bei den insgesamt 24 bereits schon BVD-seropositiven Kühen führte die Impfung zu einem Booster-Effekt, wobei die nachfolgenden BVDV-Typ1-Antikörpertiter signifikant höher waren als bei den zuvor BVD-seronegativen Tieren ( $p < 0,001$ ).

Weiterhin fanden sich bei den untersuchten Kühen keinerlei signifikante Beziehungen zwischen den Ergebnissen der klinisch-chemischen Untersuchungen (NEFA-Werte, NSBA-Werte, Natriumkonzentrationen, BHBA-Werte, Glutartest) und der Höhe der BVD-Typ-1-Antikörpertiter. Auch gab es keine nachweisbaren Unterschiede zwischen beiden Leistungsgruppen - weder auf Herden- noch auf Einzeltierebene - in der Prävalenz subklinischer Ketosen (NEFA-Werte, Serum- $\beta$ -HBA-Konzentration), noch bestanden signifikante Korrelationen zwischen der Höhe der Milchleistung und einer Reihe anderer Laborparameter (NSBA, Natriumkonzentrationen, GLDH-Werten). Darüber hinaus hatten weder das Alter der Tiere noch die Laktationsnummer einen signifikanten Einfluss auf die Entwicklung der Antikörpertiter nach der Impfung.

Die in dieser Studie ermittelten Ergebnisse ergaben keinen Hinweis auf eine Beziehung zwischen hoher Milchleistung und humoraler Immunabwehr. Insofern können Leistungen über 10.000 kg und die für solche Kühe postulierte negative Energiebilanz in den ersten Wochen nach der Kalbung offensichtlich nicht pauschal für eine verminderte Immunkompetenz mit erhöhter Krankheitsanfälligkeit verantwortlich gemacht werden.

## 7 Summary

Breeding for high milk yield is often blamed for the increased susceptibility of cows to disease and for shortening their service life. A controlled clinical study should therefore be conducted to determine whether there are differences in the formation of neutralizing antibodies after vaccination with a commercial live BVD vaccine between cows with above-average milk yield (test group) and those with significantly lower milk yield (control group).

For this purpose, data of the control year 2016/17 of the Hessian Association for Performance and Quality Tests in Animal Breeding (Hessischer Verband für Leistungs- und Qualitätsprüfungen in der Tierzucht e.V.) was used to calculate eight Holstein dairy farms with high milk yield and eight farms with low yield. In addition to a herd analysis, detailed clinical and laboratory diagnostic tests and vaccinations (Bovela®, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH) were performed to determine antibody production. This vaccine contains living, non-cytopathogenic BVDV-1 and BVDV-2 as antigen.

Per herd 10 cows were included in this study. Between the 14th and 21st day post partum, the cows intended for the study were subjected to a general examination. If there were no exclusion criteria (elevated body temperature, diseases affecting the general condition), the cows were included in the study, sampled and vaccinated on the same day. The following laboratory parameters were determined during the initial examination: Antibody titres against BVDV type 1 (serum neutralisation test), NEFA, concentrations of  $\beta$ HBA and GLDH activity in serum, glutaraldehyde test time, net acid-base excretion and the sodium concentration in urine. In the follow-up test (28 to 32 days later) the antibody titer against BVDV type 1 (serum neutralization test) was determined again.

Despite the presumed BVD-seronegative status of these herds, in two herds 9/10 and 9/9 of the tested cows were already positive for BVD antibodies at the time of vaccination. The results of these two herds were therefore evaluated separately. In four other farms, individual cows ( $n = 1$  or  $2$ ) were seropositive; these were also evaluated separately.

Although the cows with high milk yield (annual milk yield  $10284 \text{ kg} \pm 1849 \text{ kg}$ ) differed significantly from those with lower yield ( $8106 \text{ kg} \pm 1294 \text{ kg}$ ) with respect to this criterion, there were no significant differences between the two performance groups with respect to the titers of neutralizing BVD antibodies after vaccination ( $p = 0.62$ ). Antibody titers ranged from 0.5 - 2.6 ( $\bar{x} = 1.42$ ) logND50 in the individual animals of the high performance test group and from 0.5 - 2.1 ( $\bar{x} = 1.38$ ) logND50 in the control group. No significant correlation between milk yield and BVD antibody titers was found by correlation analysis ( $p = 0.75$ ;  $R = 0.03$ ). The same applied to the BVD antibody titer comparison at the results at herd level ( $p = 0.48$ ).

In the 24 already BVD-seropositive cows, the vaccination led to a booster effect, whereby the subsequent BVDV type 1 antibody titers were significantly higher than in the previously BVD-seronegative animals ( $p < 0.001$ ).

Furthermore, no significant relationships were found between the results of the clinical chemistry tests (NEFA values, NSBA values, sodium concentrations, BHBA values, glutar test) and the level of BVD type 1 antibody titers in the cows examined. There were also no detectable differences between the two performance groups - either at herd or individual animal level - in the prevalence of subclinical ketosis (NEFA values, serum  $\beta$  HBA concentration), nor were there significant correlations between milk yield and a number of other laboratory parameters (NSBA, sodium concentrations, GLDH values). Furthermore, neither the age of the animals nor the lactation number had a significant influence on the development of antibody titers after vaccination.

## 8 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Milchleistungsanstieg bei Kühen mit einer durchschnittlichen Milchleistung von 30 kg Milch/Tag (feine Linie) und Kühen mit einer Milchleistung von 60 kg Milch/Tag (dicke Linie) (INGVARTSEN et al. 2003).....	23
Abb. 2:	Wechselwirkungen zwischen der Ernährung und Krankheiten bei der Milchkuh im peripartalen Zeitraum. Ernährungsbedingte Schlüsselfaktoren sind kursiv, die wesentlichen metabolischen Funktionen in Fettschrift abgedruckt (GOFF 2006).....	25
Abb. 3:	96-Well Testplatten mit Virusgebrauchsverdünnung, Positiv- und Negativserum, sowie der Testseren .....	46
Abb. 4:	Vorliegen eines zpE in der Immunfluoreszenz.....	48
Abb. 5:	Darstellung der Daten mit Hilfe eines Box-and-Whisker-Plots .....	50
Abb. 6:	Entwicklung der Jahresmilchleistung über die drei Kontrolljahre 2015 - 2017.....	51
Abb. 7:	Entwicklung der Kuhzahlen über die drei Jahre mit steigender Tendenz ( $p = 0,98$ ); die Gruppe 1 entspricht der Hochleistungsgruppe, Gruppe 2 die durchschnittlich leistende .....	52
Abb. 8:	Verteilung der 305-Tage-Milchleistung der Einzeltiere in beiden Gruppen ( $p < 0,001$ ); die Gruppe 1 entspricht der Hochleistungsgruppe, Gruppe 2 die durchschnittlich leistende .....	53
Abb. 9:	Box-Plot-Darstellung der Verteilung der Antikörpertiter je Betrieb, welche vorher keinen Antikörpertiter gegen BVD besaßen; in hellblau sind die Betriebe der Gruppe 1 und in dunkelblau die Betriebe der Gruppe 2 gekennzeichnet.....	54
Abb. 10:	Korrelationsanalyse zwischen den Jahresmilchleistungen der Betriebe aus dem Jahr 2016 und den durchschnittlichen Antikörpertitern ( $p = 0,484$ ; $R = 0,204$ ); die Gruppe 1 entspricht der Hochleistungsgruppe, Gruppe 2 die durchschnittlich leistende .....	55
Abb. 11:	Verteilung der BVD-Antikörpertiter in den Betrieben 15 und 16, vier Wochen nach Impfung. In diesen Betrieben waren bereits vor der Impfung 9 von 10 bzw. 9 von 9 untersuchten Kühen seropositiv (Box-and-Whisker-Plots). .....	56
Abb. 12:	Vergleiche des Antikörpertiteranstiegs der Betriebe 15 und 16 mit einem erkennbaren Booster-Effekt.....	56
Abb. 13:	Box-Plot-Darstellung der Verteilung der Antikörpertiter beider Gruppen ( $p = 0,618$ ); die Gruppe 1 entspricht der Hochleistungsgruppe, Gruppe 2 die durchschnittlich leistende .....	57
Abb. 14:	Streuung der BVD-Antikörpertiter vier Wochen nach Impfung bei den zuvor BVD-seronegativen und bei den zuvor schon seropositiven Tieren.....	58
Abb. 15:	Verteilung der BVD-Antikörper nach Impfung in Abhängigkeit von der Jahresmilchleistung.....	58
Abb. 16:	Zusammenhang zwischen den durchschnittlichen NEFA-Werten und den durchschnittlichen BVD-Antikörpertitern nach Impfung für die Betriebe 1 – 14 mit Darstellung der Regressionsgeraden ( $p = 0,922$ ; $R = 0,029$ ) .....	61
Abb. 17:	Verteilung der Antikörper-Titer in Abhängigkeit von dem Ergebnis der klinischen Allgemeinuntersuchung vor Impfung.....	63

## 9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht der teilnehmenden Betriebe aus der Hochleistungsgruppe (Testgruppe, Gruppe 1).....	40
Tabelle 2: Übersicht der teilnehmenden Betriebe aus der Gruppe mit niedrigerer Leistung (Kontrollgruppe, Gruppe 2) .....	40
Tabelle 3: Vergleich zwischen der Jahresmilchleistung der Probanden in deren Vorlaktation und der durchschnittlichen Leistung des Betriebes im Jahr 2016/17 .....	42
Tabelle 4: Anzahl beprobter Tiere und auswertbarer Blutproben je Bestand.....	44
Tabelle 5: Übersicht über die Verteilung der Probanden auf die Laktationen .....	52
Tabelle 6: Beziehungen zwischen den klinisch-chemischen Laborwerten und den BVD-Antikörpertitern nach Impfung auf Einzeltierebene.....	59
Tabelle 7: Korrelation zwischen den Leistungsparametern (305-Tage-Milchleistung, Alter und Anzahl Kälber) und den Antikörpertiter auf Einzeltierebene.....	59
Tabelle 8: Multiple Regressionsanalyse der Blutwerte und Leistungswerte mit p-Wert .....	60
Tabelle 9: Korrelationstabelle zwischen den Blutwerten und den Antikörpertitern auf Herdenebene .....	61
Tabelle 10: Bestands-Mittelwerte der ermittelten Laborparameter und Ergebnisse der statistischen Auswertung im Vergleich beider Leistungsgruppen .....	62
Tabelle 11: BVD-Antikörpertiter in Abhängigkeit von dem Ergebnis der klinischen allgemeinen Untersuchung vor Impfung (t-Test und Wilcoxon-Mann-Whitney-Test).....	63
Tabelle 12: Ergebnisse der multiplen Regressionsanalyse bezüglich einer Beziehung zwischen den Befunden der allgemeinen Untersuchung und den gebildeten BVD-Antikörpertitern .....	64
Tabelle 13: Verteilung der NEFA-Werte auf die beiden Gruppen ( $p = 0,8827$ ).....	64
Tabelle 14: Verteilung der BHBA-Werte auf die beiden Gruppen ( $p = 0,2263$ ) .....	65
Tabelle 15: Verteilung der GLDH-Werte auf die beiden Gruppen ( $p = 0,9069$ ) .....	65
Tabelle 16: Verteilung der NSBA im Harn beider Gruppen ( $p = 0,7708$ ).....	65
Tabelle 17: Verteilung der Natriumkonzentrationen im Harn beider Gruppen ( $p = 0,8889$ ).....	65
Tabelle 18: Übersicht über die Indexwerte für Kuhkomfort und Body Condition Score in den 8 untersuchten Milchviehbeständen der Testgruppe, mit Angabe der BVDV-1-Antikörpertiter vier Wochen nach Impfung.....	67
Tabelle 19: Übersicht über die Indexwerte für Kuhkomfort und Body Condition Score in den 8 untersuchten Milchviehbeständen der Kontrollgruppe, mit Angabe der BVDV-1-Antikörpertiter vier Wochen nach Impfung.....	67
Tabelle 20: Beurteilung der 16 untersuchten Betriebe (Nr. 1 – 8 = Testgruppe, Nr. 9 – 16 = Kontrollgruppe).....	CVI
Tabelle 21: Checkliste zur Bestandsführung besuchter Betriebe .....	CVII
Tabelle 22: Übersicht über die BVD-Antikörpertiter bei den 157 darauf untersuchten Kühen .....	CXII
Tabelle 23: Übersicht über die erhobenen Parameter.....	CXIII

## 10 Literaturverzeichnis

- ABERHARD, K., BRUCKMAIER, R. & BLUM, J. (1997): Hochleistungskühe in der Schweiz. *Agrarforschung* 4: 277–280.
- ALERI, J. W., HINE, B. C., PYMAN, M. F., MANSELL, P. D., WALES, W. J., MALLARD, B. & FISHER, A. D. (2016): Periparturient immunosuppression and strategies to improve dairy cow health during the periparturient period. *Res Vet Sci* 108: 8–17.
- ARBEITSGEMEINSCHAFT DEUTSCHER RINDERZÜCHTER E.V. (2017): Rinderproduktion in Deutschland 2016.
- BACHOFEN, C., STALDER, H., VOGT, H.-R., WEGMÜLLER, M., SCHWEIZER, M., ZANONI, R. & PETERHANS, E. (2013): Bovine Virusdiarrhoe (BVD): von der Biologie zur Bekämpfung. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr* 126: 452–461.
- BECHER, P., ORLICH, M., KÖNIG, M. & THIEL, H.-J. (1999): Nonhomologous RNA recombination in Bovine Viral Diarrhea Virus: Molecular characterization of a variety of subgenomic RNAs isolated during an outbreak of fatal Mucosal Disease. *J Virol* 73: 5646–5653.
- BENDER, S. (2002): Einsatz der Harnuntersuchung zur Beurteilung des Säure-Base- und Mineralstoffhaushaltes im Rahmen der prophylaktischen Bestandsbetreuung von Milchviehherden. *Vet. med. Diss. Berlin*.
- BRACKENBURY, L. S., CARR, B. V. & CHARLESTON, B. (2003): Aspects of the innate and adaptive immune responses to acute infections with BVDV. *Vet. Microbiol.* 96 (4): 337–344.
- BRADE, W. (2016): Kritische Bewertung der aktuellen Zuchtzielsetzung bei Holstein-Rindern. *Prakt Tierarzt* 97: 810–815.
- BRADE, W. & BRADE, E. (2016): Die Futteraufnahme von hochleistenden Milchkühen im ersten Laktationsdrittel aus der Sicht der Züchtung und des Tierwohles. *Berichte über Landwirtschaft* 94.
- BRADE, W., HUBER K., MARTENS, H. & HELLWIG, E.-G. (März 2016): GÖTTINGER ERKLÄRUNG 2016 zur Milchproduktion. AVA Tagung Göttingen 2016: Priorität für Gesundheit der Milchkühe. 3 pp.
- BRANDON, M. R., WATSON, D. L. & LASCELLES, A. K. (1971): The mechanism of transfer of immunoglobulin into mammary secretion of cows. *The Australian journal of experimental biology and medical science* 49 (6): 613–623.

BRÖKER, B., SCHÜTT, C. & FLEISCHER, B. (2019): Grundwissen Immunologie. – Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. 339 pp.

BROWNLIE, J. (1990): Pathogenesis of mucosal disease and molecular aspects of bovine virus diarrhoea virus. *Vet Microbiol* 23: 371–382.

BROWNLIE, J., HOOPER, L.B., THOMPSON, I. & COLLINS, M.E. (1998): Maternal recognition of foetal infection with bovine virus diarrhoea virus (BVDV)—the bovine pestivirus. *Clin Diagn Virol* 10: 141–150.

BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG UND LANDWIRTSCHAFT: optiKuh.

BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG UND LANDWIRTSCHAFT (2018): Verlauf der Milchpreise der letzten 36 Monate. <https://www.bmel-statistik.de/preise/preise-milch/> (20.09.2018).

BUNDESTIERÄRZTEKAMMER (2016): Resolution. Zuchtziele der Nutztierzucht unter Tierschutzaspekten.

BUNDESVERBAND RIND UND SCHWEIN E. V. (2018): Holstein KuhVision. <https://www.rind-schwein.de/brs-rind/brs-kuhvision.html> (25.10.2018).

BUTLER, J. E. (1983): Bovine immunoglobulins: An augmented Review. *Vet Immun Immunopathol (Veteri4)*: 43–152.

BUTLER, J. E. (1998): Immunoglobulin diversity, B-cell and antibody repertoire development in large farm animals. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 17: 43–70.

BUTTGEREIT, F., BURMESTER, G.-R. & BRAND, M. D. (2000): Bioenergetics of immune functions: Fundamental and therapeutic aspects. *Immunol Today* 21: 194–199.

CALDER, P. C. (2013): Feeding the immune system. *Proc Nutr Soc* 72: 299–309.

CHAPINAL, N., CARSON, M. E., LEBLANC, S. J., LESLIE, K. E., GODDEN, S., CAPEL, M., SANTOS, J.E.P., OVERTON, M. W. & DUFFIELD, T. F. (2012a): The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. *J Dairy Sci* 95: 1301–1309.

CHAPINAL, N., LEBLANC, S. J., CARSON, M. E., LESLIE, K. E., GODDEN, S., CAPEL, M., SANTOS, J. E. P., OVERTON, M. W. & DUFFIELD, T. F. (2012b): Herd-level association of serum metabolites in the transition period with disease, milk production, and early lactation reproductive performance. *J Dairy Sci* 95: 5676–5682.

COLLARD, B. L., BOETTCHER, P. J., DEKKERS, J.C.M., PETITCLERC, D. & SCHAEFFER, L. R. (2000): Relationships between energy balance and health traits of dairy cattle in early lactation. *J Dairy Sci* 83: 2683–2690.

- CONTRERAS, G. A., STRIEDER-BARBOZA, C. & KOSTER, J. de (2018): Symposium review. Modulating adipose tissue lipolysis and remodeling to improve immune function during the transition period and early lactation of dairy cows. *J Dairy Sci* 101: 2737–2752.
- COOK, N. B. (2008): Time budgets for dairy cows: How does cow comfort influence health, reproduction and productivity? Penn State Dairy Cattle Nutrition Workshop. 8 pp.
- COOK, N. B., BENNETT, T. B. & NORDLUND, K. V. (2004): Effect of free stall surface on daily activity patterns in dairy cows with relevance to lameness prevalence. *J Dairy Sci* 87: 2912–2922.
- DETILLEUX, J. C., KEHRLI, M. E., STABEL, J. R., FREEMAN, A. E. & KELLEY, D. H. (1995): Study of immunological dysfunction in periparturient Holstein cattle selected for high and average milk production. *Vet Immun Immunopathol* 44: 251–267.
- DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ZÜCHTUNGSKUNDE E.V. (Mai 2013): „Die Tierzucht im Spannungsfeld von Leistung und Tiergesundheit - interdisziplinäre Betrachtungen am Beispiel der Rinderzucht“. Stellungnahme der DGfZ-Projektgruppe „Ökonomie und Tiergesundheit“. 17 pp.
- DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ZÜCHTUNGSKUNDE E.V. (10.05.2016): Stellungnahme der DGfZ zur Göttinger Erklärung 2016 zur Milchproduktion. 6 pp.
- DEUTSCHER HOLSTEIN VERBAND E.V. & VEREINIGTE INFORMATIONSSYSTEME TIERHALTUNG W.V. (Mai 2016): Stellungnahme zur „Göttinger Erklärung 2016 zur Milchproduktion“. 4 pp.
- DIRKSEN, G., GRÜNDER, H. D. & STÖBER, M. (Edit.) (2012): Die klinische Untersuchung des Rindes. 76 Tabellen. 4. Aufl., unveränd. Nachdr. d. 3. Aufl. – Enke, Stuttgart. XXII, 718 S.
- DOWNEY-SLINKER, E. D., RIDPATH, J. F., SAWYER, J. E., SKOW, L. C. & HERRING, A. D. (2016): Antibody titers to vaccination are not predictive of level of protection against a BVDV type 1b challenge in *Bos indicus* - *Bos taurus* steers. *Vaccine* 34: 5053–5059.
- DRACKLEY, J. K. (1999): Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J Dairy Sci* 82: 2259–2273.
- DRACKLEY, J. K., DANN, H. M., DOUGLAS, N., GURETZKY, N. A. J., LITHERLAND, N. B., UNDERWOOD, J. P. & LOOR, J. J. (2005): Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. *Ital J Anim Sci* 4: 323–344.
- DUBOVI, E. J. (2013): Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhea virus. *J Biol Stand* 41: 8–13.

- DUBOVI, E. J., GRÖHN, Y. T., BRUNNER, M. A. & HERTL, J.A. (2000): Response to modified live and killed multivalent viral vaccine in regularly vaccinated, fresh dairy cows\*. *Vet Ther* 1: 49–58.
- EDMONSON, A. J., LEAN, I. J., WEAVER, L. D., FARVER, T. & WEBSTER, G. (1989): A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 72: 68–78.
- ENEMARK, J. M. D. (2008): The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA). A review. *Vet J* 176: 32–43.
- ERB, H. N., MARTIN, S. W., ISON, N. & SWAMINATHAN, S. (1981): Interrelationships between production and reproductive diseases in Holstein cows. *Path Analysis. J Dairy Sci* 64: 282–289.
- ESPOSITO, G., IRONS, P. C., WEBB, E. C. & CHAPWANYA, A. (2014): Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. *Anim Reprod Sci* 144: 60–71.
- EUROPEAN MEDICINES AGENCY (2014): CVMP assessment report for Bovela (EMA/V/C/003703/0000).
- FLEISCHER, P., METZNER, M., BEYERBACH, M., HOEDEMAKER, M. & KLEE, W. (2001): The relationship between milk yield and the incidence of some diseases in dairy cows. *J Dairy Sci* 84: 2025–2035.
- FRANKLIN, S. T., YOUNG, J. W. & NONNECKE, B. J. (1990): Effects of ketones, acetate, butyrate, and glucose on bovine lymphocyte proliferation. *J Dairy Sci* 74: 2507–2514.
- FREDRIKSEN, B., SANDVIK, T., LOKEN, T. & ODEGAARD, S. A. (1999): Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine virus diarrhoea virus. *Vet Rec* 144: 111–114.
- FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT (Mai 2014): Amtliche Methodensammlung: Bovine Virus Diarrhoe (BVD). 18 pp.
- FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT (Februar 2016): Steckbrief: Bovine Virus Diarrhoe. 2 pp.
- GARRETT, E. F., M.N.PEREIRA, M. N., NORDLUND, K. V., .ARMENTANO, L. E., W.J.GOODGER, W. J. & OETZEL, G. R. (1999): Diagnostic methods for the detection of subacute ruminal acidosis in dairy cows. *J Dairy Sci* 82: 1170–1178.
- GOFF, J. P. (2006): Major advances in our Understanding of nutritional influences on bovine health. *J Dairy Sci* 89: 1292–1301.

- GONZÁLEZ, F. D., MUIÑO, R., PEREIRA, V., CAMPOS, R. & BENEDITO, J. L. (2011): Relationship among blood indicators of lipomobilization and hepatic function during early lactation in high-yielding dairy cows. *J Vet Sci* 12: 251–255.
- GRÖHN, Y. T., EICKER, S. W. & HERTL, J. A. (1995): The association between previous 305-day milk yield and disease in New York State dairy cows. *J Dairy Sci* 78: 1693–1702.
- HAYIRLI, A. (2006): The role of exogenous insulin in the complex of hepatic lipidosis and ketosis associated with insulin resistance phenomenon in postpartum dairy cattle. *Vet Res Commun* 30: 749–774.
- HERDT, T. H. (2000): Ruminant adaptation to negative energy balance. *Vet Clin N Am - Food A* 16: 215–230.
- HERR, M., BOSTEDT, H. & FAILING, K. (2011): IgG and IgM levels in dairy cows during the periparturient period. *Theriogenology* 75: 377–385.
- HOLSTEIN ASSOCIATION USA (2017): Wisconsin registered Holstein® cow sets new national single-lactation milk production record.
- HORN, J. (2013): Konzentrationen der Immunglobuline IgG1, IgG2 und IgM im peripartalen Zeitraum bei Hochleistungsmilchkühen unter Berücksichtigung der Energiebilanz sowie der Fütterung mit konjugierten Linolsäuren. *Vet. med. Diss. Hannover*. 117 pp.
- INGVARTSEN, K. L. (2006): Feeding- and management-related diseases in the transition cow. *Anim Feed Sci Tech* 126: 175–213.
- INGVARTSEN, K. L., DEWHURST, R.J. & FRIGGENS, N.C. (2003): On the relationship between lactational performance and health. Is it yield or metabolic imbalance that cause production diseases in dairy cattle? A position paper. *Live Prod Sci* 83: 277–308.
- INGVARTSEN, K. L. & MOYES, K. (2013): Nutrition, immune function and health of dairy cattle. *Animal* 7: 112–122.
- INGVARTSEN, K. L. & MOYES, K. M. (2015): Factors contributing to immunosuppression in the dairy cow during the periparturient period. *Jap J Vet Res* 63: S15-S24.
- JAHRESABSCHLUSS LANDESKONTROLLVERBAND 2015: Jahresabschluss MLP LKV 2015.
- KALAITZAKIS, E., PANOUSIS, N., GIADINIS, N., KALDRYMIDOU, E., GEORGIADIS, M. & KARATZIAS H. (2010): Clinicopathological evaluation of downer dairy cows with fatty liver. *Canad Vet J* 51: 615–622.
- KEHRLI, M. E., NONNECKE, B. J. & ROTH J. A. (1989a): Alterations in bovine lymphocyte function during the peripartum period. *Am J Vet Res* 50: 215–220.

- KEHRLI, M. E., NONNECKE B. J. & ROTH J. A. (1989b): Alterations in bovine neutrophil function during the periparturient period. *Am J Vet Res* 50: 207–214.
- KIMMAN, T. G., VANDEBRIEL, R. J. & HOEBEE, B. (2007): Genetic variation in the response to vaccination. *Community Genet* 10: 201–217.
- KIMURA, K., GOFF, J. P., KEHRLI, M. E., HARP, J. A. & NONNECKE, B. J. (2002): Effects of mastectomy on composition of peripheral blood mononuclear cell populations in periparturient dairy cows. *J Dairy Sci* 85: 1437–1444.
- KLEEN, J. L., HOOIJER, G. A., REHAGE, J. & NOORDHUIZEN, J. P. T. M. (2004): Rumenocentesis (rumen puncture). A viable instrument in herd health diagnosis. *Dt. Tierärztl. Wschr.* 111 (12): 458–462.
- KOMPETENZKREIS TIERWOHL BEIM BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG UND LANDWIRTSCHAFT (September 2016): Abschlussbericht des Kompetenzkreises Tierwohl. 34 pp.
- KÖNIG, M., JÖNS-ANDERS, L., FÖRSTER, C., FAILING, K., HECKERT, H.-P. & THIEL, H.-J. (2006): Impfung gegen BVD/MD: direkter Vergleich verschiedener Impfstoffe und Impfgeme. *Tierärztl Prax* 34 (G): 281–288.
- KRAWCZEL, P. & GRANT, R. (2009): Effects of cow comfort on milk quality, productivity and behavior. *Annual Meeting Proceedings*. 10 pp.
- KRICZIOKAT, J., WITTEK, T. & FÜRLI, M. (2009): Untersuchungen zum Säure-Basen-Haushalt in Pansen und Harn beim Milchrind. *Tierärztl Prax* 37 (G): 229–235.
- KRUIF, A. de, LEROY, J. & OPSOMER, G. (2008): Reproductive performance in high producing dairy cows: practical implications. *Tierärztl Prax* 36: S29-S33.
- KUCHEN, S., ROBBINS, R., SIMS, G. P., SHENG, C., PHILLIPS, T. M., LIPSKY, P. E. & ETTINGER, R. (2007): Essential role of IL-21 in B cell activation, expansion, and plasma cell generation during CD4+ T cell -B cell collaboration. *J Immunol* 179: 5886–5896.
- LACETERA, N., SCALIA, D., FRANCI, O., BERNABUCCI U., RONCHI, B. & NARDONE, A. (2003): Short communication: Effects of nonesterified fatty acids on lymphocyte function in dairy heifers. *J Dairy Sci* 87: 1012–1014.
- LAMBOT, M., DOUART, A., JORIS, E., LETESSON, J. J. & PASTORET, P. P. (1997): Characterization of the immune response of cattle against non-cytopathic and cytopathic biotypes of bovine viral diarrhoea virus. *J Gen Virol* 78: 1041–1047.
- LANYON, S. R., HILL, F. I., REICHEL, M. P. & BROWNLIE, J. (2014): Bovine viral diarrhoea: pathogenesis and diagnosis. *Vet J* 199: 201–209.

- LEBLANC, S. (2010): Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *J Reprod Dev* 56: 29-S35.
- LIEBLER-TENORIO, E. M., RIDPATH, J. E. & NEILL, J. D. (2004): Distribution of viral antigen and tissue lesions in persistent and acute infection with the homologous strain of noncytopathic bovine viral diarrhoea virus. *J Vet Diagn Invest* 16: 388–396.
- LINDBERG, A. L.E. & ALENIUS, S. (1999): Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. *Vet Microbiol* 64: 197–222.
- MALLARD, B. A., DEKKERS, J. C., IRELAND, M. J., LESLIE, K. E., SHARIF, S., LACEY VANKAMPEN, C., WAGTER, L. & WILKIE, B. N. (1998): Alteration in immune responsiveness during the peripartum period and its ramification on dairy cow and calf health. *J Dairy Sci* 81: 585–595.
- MALLARD, B. A., WAGTER, L. C., IRELAND, M. J. & DEKKERS, J. C.M. (1997): Effects of growth hormone, insulin-like growth factor-I, and cortisol on periparturient antibody response profiles of dairy cattle. *Vet Immun Immunopathol* 60: 61–76.
- MARTENS, H. (2012a): Unsere Milchkuh: Leistungen und Leistungsgrenzen aus der Sicht des Physiologen. *Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft DVG Forum* 9: 26–32.
- MARTENS, H. (April 2012b): Die Hochleistungskuh: Wenn die Leistung zur Last wird! Bericht LFZ-Raumberg-Gumpenstein. *Raumberg-Gumpenstein/Österreich*. 9 pp.
- MARTENS, H. (2016): Leistung und Gesundheit von Milchkühen: Bedeutung von Genetik (Ursache) und Management (Wirkung). *Tierarztl Prax Ausg G* 44.
- M CART, J. A.A., NYDAM, D. V., OETZEL, G. R., OVERTON, T. R. & OSPINA, P. A. (2013): Elevated non-esterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance. *Vet J* 198: 560–570.
- MCCARTHY, M. M., YASUI, T., FELIPPE, M. J. B. & OVERTON, T. R. (2016): Associations between the degree of early lactation inflammation and performance, metabolism, and immune function in dairy cows. *J Dairy Sci* 99: 1–21.
- MEYERS, G., EGE, A., FETZER, C., FREYBURG, M. von, ELBERS, K., CARR, V., PRENTICE, H., CHARLESTON, B. & SCHÜRMAN, E.-M. (2007): Bovine viral diarrhoea virus: prevention of persistent fetal infection by a combination of two mutations affecting Erns RNase and Npro protease. *Journal of virology* 81: 3327–3338.
- MEYLING, A., HOUE, H. & JENSEN, A. M. (1990): Epidemiology of bovine virus diarrhoea virus. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 9: 75–93.

- MORITZ, A. (Edit.) (2014): *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. 7., vollst. überarb. u. erw. Aufl. – Schattauer, Stuttgart. XXI, 934 S.
- MÖSCH, A. (2011): *Parameter des Energiestoffwechsels und Immunglobulin G im Blut von Milchkühen im peripartalen Zeitraum*. Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2011. – mbv Mensch-und-Buch-Verl., Berlin. 128 pp.
- MOYES, K. M., DRACKLEY, J. K., SALAK-JOHNSON, J. L., MORIN, D. E., HOPE, J. C. & LOOR, J. J. (2009): Dietary-induced negative energy balance has minimal effects on innate immunity during a *Streptococcus uberis* mastitis challenge in dairy cows during midlactation. *J Dairy Sci* 92: 4301–4316.
- MULLIGAN, F. J. & DOHERTY, M. L. (2008): Production diseases of the transition cow. *Vet J* 176: 3–9.
- MURPHY, K. & WEAVER, C. (2018): *Janeway Immunologie*. 9. Aufl.
- NONNECKE, B. J., FRANKLIN, S. T. & YOUNG, J. W. (1992): Effects of ketones, acetate, and glucose on in vitro immunoglobulin secretion by bovine lymphocytes. *J Dairy Sci* 75: 982–990.
- OETZEL, G. R. (2004): Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Vet Clin N Am - Food A* 20: 651–674.
- OSPINA, P. A., NYDAM, D. V., STOKOL, T. & OVERTON, T. R. (2010): Evaluation of nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States. Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *J Dairy Sci* 93: 546–554.
- PERKINS, K. H., VANDEHAAR, M. J., TEMPELMAN, R. J. & BURTON, J. L. (2001): Negative energy balance does not decrease expression of leukocyte adhesion or antigen-presenting molecules in cattle. *J Dairy Sci* 84: 421–428.
- PETERHANS, E., BACHOFEN, C., STALDER, H. & SCHWEIZER, M. (2010): Cytopathic bovine viral diarrhoea viruses (BVDV): emerging pestiviruses doomed to extinction. *Vet Res* 41: 44.
- PETERHANS, E., JUNGI, T. W. & SCHWEIZER, M. (2003): BVDV and innate immunity. *Biologicals* 31: 107–111.
- PETERHANS, E., JUNGI, T. W. & SCHWEIZER, M. (2006): Wie das BVD-Virus das Immunsystem überlistet. *Dt Tierärztl Wschr* 113: 124–129.
- PLATT, R., COUTU, C., MEINERT, T. & ROTH, J. A. (2008): Humoral and T cell-mediated immune responses to bivalent killed bovine viral diarrhoea virus vaccine in beef cattle. *Vet Immun Immunopathol* 122: 8–15.

- PLATT, R., KESL, L., GUIDARINI, C., WANG, C. & ROTH, J. A. (2017): Comparison of humoral and T-cell-mediated immune responses to a single dose of Bovela® live double deleted BVDV vaccine or to a field BVDV strain. *Vet Immunol Immunopathol* 187: 20–27.
- PraeRi – Eine Prävalenzstudie zum Thema Tiergesundheit, Hygiene und Biosicherheit in deutschen Milchkuhbetrieben. <https://ibi.tiho-hannover.de/praeeri/pages/1> (07.11.2018).
- RAJALA, P. J. & GRÖHN, Y. T. (1998): Effects of dystocia, retained placenta, and metritis on milk yield in dairy cows. *J Dairy Sci* 81 (12): 3172–3181.
- RATHBUN, F. M., PRALLE, R. S., BERTICS, S. J., ARMENTANO, L. E., CHO, K., DO, C., WEIGEL, K. A. & WHITE, H. M. (2017): Relationships between body condition score change, prior mid-lactation phenotypic residual feed intake, and hyperketonemia onset in transition dairy cows. *J Dairy Sci* 100 (5): 3685–3696.
- REBER, A. J., TANNER, M., OKINAGA, T., WOOLUMS, A. R., WILLIAMS, S., ENSLEY, D. T. & HURLEY, D. J. (2006): Evaluation of multiple immune parameters after vaccination with modified live or killed bovine viral diarrhoea virus vaccines. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 29: 61–77.
- REHAGE, J., QUALMANN, K., MEIER, C., STOCKHOFE-ZURWIEDEN, N., HOELTERSHINKEN, M. & POHLENZ, J. (1999): Total serum bile acid concentrations in dairy cows with fatty liver and liver failure. *Dt. Tierärztl. Wschr.* 106 (1): 26–29.
- REID, E., JULEFF, N., GUBBINS, S., PRENTICE, H., SEAGO, J. & CHARLESTON, B. (2011): Bovine plasmacytoid dendritic cells are the major source of type I interferon in response to foot-and-mouth disease virus in vitro and in vivo. *J Virol* 85 (9): 4297–4308.
- RIDPATH, J. F. (2013): Immunology of BVDV vaccines. *J Biol Stand* 41: 14–19.
- ROSSOW, N.: Stößt die Leistung der Milchkühe an ihre Grenzen? 14 pp.
- ROSSOW, N. (2002): Die Hochleistungskuh – eine krankheitsanfällige und medikamentenabhängige Produktionsmaschine? [http://www.praxis-bootz.de/fileadmin/tierarztpraxis-bootz/redakteur/PDFs\\_\\_Dokumente/RindST\\_01\\_000.pdf](http://www.praxis-bootz.de/fileadmin/tierarztpraxis-bootz/redakteur/PDFs__Dokumente/RindST_01_000.pdf) (08.11.2018).
- ROSSOW, N. (2003): Ketose der Milchkuh- Wesen der Erkrankung und Bekämpfungsstrategie. Data Service Paretz GmbH. [http://www.praxis-bootz.de/fileadmin/tierarztpraxis-bootz/redakteur/PDFs\\_\\_Dokumente/Ketose\\_01.pdf](http://www.praxis-bootz.de/fileadmin/tierarztpraxis-bootz/redakteur/PDFs__Dokumente/Ketose_01.pdf) (08.11.2018).
- ROSSOW, N. (2008): Stoffwechselstörungen der Hochleistungskuh. <https://docplayer.org/24132731-Stoffwechselstoerungen-der-hochleistungskuh.html> (08.11.2018).

- SCHIRMANN, K., WEARY, D. M., HEUWIESER, W., CHAPINAL, N., CERRI, R. L. A. & VON KEYSERLINGK, M. A. G. (2016): Short communication: Rumination and feeding behaviors differ between healthy and sick dairy cows during the transition period. *J Dairy Sci* 99: 9917–9924.
- SCHIRRMEIER, H. (2014): Three years of mandatory BVDV control in Germany – lessons to be learned - In: Proc. XXVIII World Buiatric Congress, Cairns, Australia, 27 July – 1 August 2014. Cairns, Australia. 4 pp.
- SCHIRRMEIER, H. & FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT (2015): BVD-Bekämpfung in Deutschland. Stendal. 26 pp.
- SCHOOF, S. (2005): Auswirkungen tierspezifischer Faktoren auf den Stoffwechsel von Hochleistungskühen. Vet. med. Diss. Gießen.
- SIMIANER, H., SOLBU, H. & SCHAEFFER, L. R. (1991): Estimated genetic correlations between disease and yield traits in dairy cattle. *J Dairy Sci* 74: 4358–4365.
- SORDILLO, L. M. (2016): Nutritional strategies to optimize dairy cattle immunity. *J Dairy Sci* 99: 4967–4982.
- SORDILLO, L. M., CONTRERAS, G. A. & AITKEN, S. L. (2009): Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. *Animal health research reviews* 10 (1): 53–63.
- STÄHL, K. & ALENIUS, S. (2012): BVDV control and eradication in Europe - an update. *Jap J Vet Res* 60: 31–39.
- STANGASSINGER, M. (2007): Gibt es für Milchkühe eine Leistungsgrenze? Anmerkungen aus physiologische Sicht. *Tierarztl Prax Ausg G* 39: 253–261.
- STAUFENBIEL, R. (November 2013): Zusammenhänge zwischen Milchleistungshöhe, Fruchtbarkeit, Tiergesundheit und Zuchtfortschritt in Milchkuhherden. 88 pp.
- STER, C., LOISELLE, M.-C. & LACASSE, P. (2012): Effect of postcalving serum nonesterified fatty acids concentration on the functionality of bovine immune cells. *J Dairy Sci* 95: 708–717.
- STOOP, C. L., THOMPSON-CRISPI, K. A., CARTWRIGHT, S. L. & MALLARD, B. A. (2016): Short communication: Variation in production parameters among Canadian Holstein cows classified as high, average, and low immune responders. *J Dairy Sci* 99: 4870–4874.
- SUTHAR, V. S., CANELAS-RAPOSO, J., DENIZ, A. & HEUWIESER, W. (2013): Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *J Dairy Sci* 96: 2925–2938.

- THOMPSON-CRISPI, K. A., HINE, B., QUINTON, M., MIGLIOR, F. & MALLARD, B. A. (2012a): Short communication: Association of disease incidence and adaptive immune response in Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 95: 3888–3893.
- THOMPSON-CRISPI, K. A., SEWALEM, A., MIGLIOR, F. & MALLARD, B. A. (2012b): Genetic parameters of adaptive immune response traits in Canadian Holsteins. *J Dairy Sci* 95: 401–409.
- (24.07.1972): Tierschutzgesetz. TierSchG.
- VAN KAMPEN, C. & MALLARD, B. A. (1997): Effects of peripartum stress and health on circulating bovine lymphocyte subsets. *Vet Immun Immunopathol* 59: 79–91.
- VAN KNEGSEL, A. T. M., VRIES REILINGH, G. de, MEULENBERG, S., VAN DEN BRAND, H., DIJKSTRA, J., KEMP, B. & PARMENTIER, H. K. (2007): Natural antibodies related to energy balance in early lactation dairy cows. *J Dairy Sci* 90: 5490–5498.
- WAGTER, L. C., MALLARD, B. A., WILKIE, B. N., LESLIE, K. E., BOETTCHER, P. J. & DEKKERS, J. M.C. (2003): The relationship between milk production and antibody response to ovalbumin during the peripartum period. *J Dairy Sci* 86: 169–173.
- WALZ, P. H., MONTGOMERY, T., PASSLER, T., RIDDELL, K. P., BRADEN, T. D., ZHANG, Y., GALIK, P. K. & ZUIDHOF, S. (2015): Comparison of reproductive performance of primiparous dairy cattle following revaccination with either modified-live or killed multivalent viral vaccines in early lactation. *J Dairy Sci* 98: 8753–8763.
- WANGLER, A., BLUM, E., BÖTTCHER, I. & SANFTLEBEN, P. (2009): Lebensleistung und Nutzungsdauer von Milchkühen aus der Sicht einer effizienten Milchproduktion. *Züchtungskunde* 81: 341–360.
- WANGLER, A. & SANFTLEBEN, P. (2007): Behandlungshäufigkeit bei Milchkühen in Praxisbetrieben in Abhängigkeit von der Milchleistung. *Tierarztl Prax Ausg G* 35: 408–413.
- WEBER, F. (i. p.) (2020): Encyclopedia of virology. Antiviral innate immunity: Introduction.
- WENTINK, G. H., RUTTEN, V.P.M.G., VAN DEN INGH, T.S.G.A.M., HOEK, A., MÜLLER, K. E. & WENSING, T. (1997): Impaired specific immunoreactivity in cows with hepatic lipidosis. *Vet Immun Immunopathol* 56: 77–83.
- WENZEL, L. (2014): Klinische und labordiagnostische Untersuchungen an Kälbern mit Boviner Neonataler Panzytopenie. *Vet. med. Diss. Gießen*. 220 pp.
- WERNIKE, K. (Februar 2017): Statistik zur BVD-Bekämpfung in Deutschland. Nationales Referenzlabor für BVD/MD. 4 pp.

WERNIKE, K., GETHMANN, J., SCHIRRMIEIER, H., SCHRÖDER, R., CONRATHS, F. J. & BEER, M. (2017): Six Years (2011-2016) of mandatory nationwide Bovine Viral Diarrhea control in Germany - A Success Story. *Pathogens* 50.

WILLE, S., SIMON, A., PLATEN, M. & OERTEL, C. (2010): Einflussfaktoren auf die Aktivität von Leberenzymen klinisch gesunder Milchkühe unter Praxisbedingungen. *Züchtungskunde* 82: 155–164.

ZERBE, H., SCHNEIDER, N., LEIBOLD, W., WENSING, T., KRUIP, T.A.M. & SCHUBERTH, H. J. (2000): Altered functional and immunophenotypical properties of neutrophilic granulocytes in postpartum cows associated with fatty liver. *Theriogenology* 54: 771–786.

# 11 Anhang

**Tabelle 20:** Beurteilung der 16 untersuchten Betriebe (Nr. 1 – 8 = Testgruppe, Nr. 9 – 16 = Kontrollgruppe)

Betrieb	Anzahl Kühe	Milch - kg	Melk-system	Bauhülle	Boden	Kühe/ Liegepl.	Kühe/ Fresspl.	Weide-gang	Liegebox-qualität	Lahmheits-score	BCS	Futter-management	Fütterungs-gruppen
1	226,4	10169	2	1	2	1	1	2	2	1	3,25	2	3
2	130	11309	1	2	2	1,1	1,3	2	2	1	3,75	2	1
3	91,5	10416	1	4	3	1,5	1,7	2	3	1	3,25	1	1
4	148	10230	1	1	2	1	1	2	2	1	3,75	1	1
5	87	10728	1	2	4	1	1	1	3	3	3,5	1	1
6	143	11473	4	2	1	1,2	1,2	2	2	1	3,75	2	2
7	229,5	11224	1	1	1	1	1,4	2	2	2	3,5	2	3
8	259	12702	1	2	1	1,3	1,3	2	1	1	3,5	1	3
9	83,1	8882	1	1	1	1	1,2	2	1	1	3,5	1	3
10	85,4	8244	1	2	2	1,2	1,3	2	2	1	3,25	2	3
11	84	8036	1	4	2	1	1,3	2	2	2	3,25	1	2
12	69,4	9080	1	3	3	1	1,1	2	3	1	3,25	2	2
13	70,2	8209	4	4	2	1	1,1	2	3	2	3,75	1	2
14	201	7746	1	3	2	1	1	1	3	3	3,25	2	2
15	133	8769	3	2	3	1	1	2	2	3	3	2	3
16	83,4	8961	1	2	1	1	1,2	1	2	1	3,5	2	2
<b>Melk-system</b>		1 = Fischgräte 2 = Karussell 3 = Side by Side 4 = Melkroboter				<b>Lahmheit</b>		0 = nicht lahm 1 = ggr. Lahm 2 = deutlich lahm 3 = entlastet beim Gehen 4 = entlastet im Stehen 5 = entlastet im Gehen und Stehen			<b>Boden</b>	1 = planbefestigt 2 = Vollspalten	
<b>Weidegang</b>		1 = ja 2 = nein											
<b>Bauhülle</b>		1 = sehr gut 2 = gut 3 = befriedigend 4 = mangelhaft 5 = schlecht				<b>Liegeboxqualität</b>		1 = sehr gut 2 = gut 3 = befriedigend 4 = mangelhaft 5 = schlecht			<b>BCS = Body condition score</b>	Bewertung nach dem Schema von Edmunson et al. (1989)	
<b>Fütterungsgruppen</b>		1 = eine Gruppe, eine TMR 2 = TMR + KF Automat 3 = Leistungsgruppen				<b>Futtermanagement</b>		1 = ad libitum Fütterung, gute Pansenfüllung, sensorisch ansprechend 2 = ein Punkt abweichend 3 = zwei oder mehr Punkte abweichend					

## Anhang

**Tabelle 21:** Checkliste zur Bestandsführung besuchter Betriebe

<b>Haltungsbedingungen</b>					
<b>Milchkuh</b>	<b>Merkmale</b>	<b>Referenz</b>	<b>erhoben</b>	<b>Bemerkung</b>	<b>Note</b>
Bauhülle					
	Licht				
	Lüftung				
	sonstiges	Bürste o.ä.			
Liegebox					
	Maße				
	Sauberkeit				
	Liegekomfort				
	Tier-Liegeplatz	opt. 1 : 1.1			
Laufbereich					
	Gangbreite				
	Fressgangbreite				
	Quergang				
	Sackgasse	keine			
	Boden - Rutschfest				
	- Sauberkeit				
	- plan				
	- Spaltenmaße				
	Treibwege - Maße				
	Auslauf	ja/nein; Qualität			
Futtertisch/Tränke					
	Futtertischhöhe				
	Futtertischlänge				
	Tier-Fressplatzverhältnis	opt. 1 : 1.2			
	Sauberkeit				
	Bodenbeschaffenheit	fest, eben			
	Tränketyt	opt. Offentrog			
	Erreichbarkeit				
	Sauberkeit				
	Maße				
	Wasserflussgeschwindigkeit	subjektiv			
Abkalbebox					
	Sauberkeit				
	Belegdichte	8.75 m <sup>2</sup> /Tier			
	Lage	Sichtkontakt zur Herde			
	Boxentyp				
	Fressplatz				
	Tränke				
	Fixierungsmöglichkeit	ja/nein; Qualität			

## Anhang

	Merkmale	Referenz	erhoben	Bemerkung	Note
Krankenbox					
	Sauberkeit				
	Belegdichte	Sinneskontakt zur Herde			
	Lage				
	Boxentyp				
	Fressplatz				
	Tränke				
	Fixierungsmöglichkeit	ja/nein; Qualität			
Trockensteher					
<b>Kälber</b>	<b>Merkmale</b>	<b>Referenz</b>	<b>erhoben</b>	<b>Bemerkung</b>	<b>Note</b>
Einzelbox					
	Lage				
	Maße				
	Sauberkeit Box				
	Sauberkeit Tränke				
	Klima	subjektiv; Mikroklima			
	Boxentyp	Iglu + Auslauf			
Gruppenbox					
	Lage				
	Belegdichte				
	Sauberkeit Box				
	Sauberkeit Tränke				
	Klima	subjektiv; Microklima			
	Boxentyp				

## Anhang

<b>Fütterung</b>					
<b>Milchkuh</b>	<b>Merkmale</b>	<b>Referenz</b>	<b>erhoben</b>	<b>Bemerkung</b>	<b>Note</b>
Planung					
	Futtermittelanalyse	ja/nein			
	Rationsberechnung	ja/nein			
	Rationsgestaltung	abgewogen			
	Leistungsgruppen	ja/nein; Leistungsindividuell			
Fütterung					
	Futternachschub				
	Nachschieben				
	Durchmischung				
	Sensorik - Geruch				
	- Temperatur				
	ad libitum	ja/nein			
	Mineralstoffversorgung				
	Futterrest	min. 5 %; max. 10 %			
Futterverwertung					
	Wiederkauverhalten				
	Pansenfüllung				
	BCS - Trockensteher				
	BCS - frischlaktierend	3.25 - 3.75			
	Kotbeschaffenheit	fein zerkleinert; mittelbreiig			
	Homogenität d. Herde				
<b>Kälber</b>	<b>Merkmale</b>	<b>Referenz</b>	<b>erhoben</b>	<b>Bemerkung</b>	<b>Note</b>
Kolostrumversorgung		mind. 2 l in 6h p.p.			
Milchtyp					
Zwischentränke					
Raufutter		ja/nein; Qualität			
Fütterungsintervall					
<b>Trockensteher</b>	<b>Merkmale</b>	<b>Referenz</b>	<b>erhoben</b>	<b>Bemerkung</b>	<b>Note</b>
Rationsberechnung		ja/nein			
	Sensorik - Geruch				
	- Temperatur				
2-Phasige Transitfütterung		4 W. ab Trocken E-arm; 3 W. a.p. Transit			
Milchfieberprophylaxe		ja/nein, wie			

## Anhang

<b>Management</b>					
<b>Sonstiges</b>	<b>Merkmale</b>	<b>Referenz</b>	<b>erhoben</b>	<b>Bemerkung</b>	<b>Note</b>
Hoftierarzt	Bestandsbetreuung	Besuchshäufigkeit			
	Impfung				
	Entwurmung				
Personal	Betreuung				
	Melken				
	Leitung				
Reinigung	Futtertisch				
	Tränke				
	Kälbertränke				
	Liegebox				
	Abkalbebox				
	Krankenbox				
	Kälber-Einzelbox				
	Kälber-Gruppenbox				
Melkstand	Melkgeschirrereinigung	nach jeder Kuh			
	Melkanlagenreinigung	nach jedem Durchgang			
	Melkstandreinigung				
	Zitzenreinigung (vorher)	ja/nein; Qualität			
	Zitendesinfektion (nachher)	ja/nein; Qualität			
	Melkzeitdauer				
	Sauberkeit				
	Wartehof	max. 1h Wartezeit			
Tier	Brunstbeobachtung				
	Lahmheit				
	FA-Beobachtung				
	Kalbung - Verlauf	wann in Abkalbestall			
	- Nachgeburt	Kontrolle			
	- Geburtshygiene				
	- Stoffwechsel	Kontrolle			
	- Temperaturkontrolle	Kontrolle			
	Kennzeichnung Kranke				
Gruppe	Häufigkeit Gruppenwechsel				
	Färseneingliederung				
Trockensteher	Trockenstell-Art	AB / Resistenztest			
	Trockenstell-Zeitpunkt	ML o. Tage			

Anhang

<b>Verhalten</b>					
Sonstiges	Merkmale	Referenz	erhoben	Bemerkung	Note
Tiere	Verhalten im Stall	r + a			
	Verhalten im Melkstand	r + a			
	Verhalten bei Fütterung	r + a			
	Liegeverhalten				
	Haarkleid	geschlossen			
	Tierverteilung in Gruppe	gleichmäßig			
	Lahmheit	70 % keine			
		max. 20 % leicht lahm			
	Technopathie				

Tabelle 22: Übersicht über die BVD-Antikörpertiter bei den 157 darauf untersuchten Kühen

Bestand Nr.	BVD-AK-Titer (logND50)		Differenz (logND50) ( $\bar{x}$ )
	vor Impfung $\bar{X} \pm s; X_{\min} - X_{\max}$	nach Impfung $\bar{X} \pm s; X_{\min} - X_{\max}$	
Testgruppe	0,2	1,2 ± 0,43; 0,5 – 2,6	1,0
1	0,2	1,1 ± 0,32; 0,7 – 1,7	0,9
2*	0,2	1,9 ± 0,54; 1,2 – 2,6	1,7
3	0,2	1,2 ± 0,25; 1,0 – 1,7	1,0
4	0,2	1,0 ± 0,26; 0,7 – 1,4	0,8
5	0,2	1,2 ± 0,34; 0,5 – 1,7	1,0
6	0,2	1,1 ± 0,36; 0,7 – 1,7	0,9
7	0,2	1,4 ± 0,41; 1,0 – 2,4	1,2
8	0,2	1,2 ± 0,37; 0,7 – 2,1	1,0
Kontrollgruppe	0,2	1,3 ± 0,37; 0,5 – 2,1	1,1
9*	0,2	1,0 ± 0,35; 0,5 – 1,4	0,8
10	0,2	1,2 ± 0,40; 0,5 – 1,7	1,0
11	0,2	1,1 ± 0,31; 0,7 – 1,7	0,9
12	0,2	1,6 ± 0,19; 1,4 – 1,9	1,4
13*	0,2	1,4 ± 0,42; 1,0 – 2,1	1,2
14*	0,2	1,3 ± 0,16; 1,0 – 1,4	1,1
15**	1,5 ± 0,55; 0,2 – 2,1	2,4 ± 0,55; 1,2 – 3,1	0,9
16**	1,8 ± 0,30; 1,4 – 2,4	2,4 ± 0,18; 2,1 – 2,6	0,6

\* ohne vor Impfung seropositive Kühe; im Betrieb Nr. 2 und 14 waren 2 Tiere von 10 vor der Impfung seropositiv, bei den Betrieben Nr. 9 und 13 jeweils eine Kuh

\*\* In diesen Betrieben waren bereits vor der Impfung 9 von 10 Kühen (Bestand Nr. 15) bzw. 10 von 10 Kühen (Bestand Nr. 16) BVD-seropositiv

Tabelle 23: Übersicht über die erhobenen Parameter

Betrieb	Anzahl Kühe		Milchmenge/ Kuh in kg	Laktations- nummer		BCS	Kuhkomfort- index		Antikörperiter [logND50]		NEFA (mmol/l)	BHBA (mmol/l)	GLDH (U/l)	Na Harn (mmol/l)	NSBA Harn (mmol/l)
	-	x		-	x		Zp 0	Zp 1 x ± s x min - x max	-	x					
1	226,4		10169	4,2		3,25	9	0,2	1,1 ± 0,32 0,7 - 1,7		835,4	0,91	14,9	133,1	212,3
2	130		11309	2,8		3,75	6,95	0,2	1,9 ± 0,54 1,2 - 2,6		409,1	0,76	28,3	71,8	191,5
3	91,5		10416	2,8		3,25	2,25	0,2	1,2 ± 0,25 1,0 - 1,7		238,0	0,39	12,4	72,3	172,5
4	148		10230	3,3		3,75	9	0,2	1,0 ± 0,26 0,7 - 1,4		631,8	0,77	12,7	11,5	149,7
5	87		10728	4		3,5	7,5	0,2	1,2 ± 0,34 0,5 - 1,7		355,2	0,64	11,1	56,5	129,8
6	143		11473	2,9		3,75	7	0,2	1,1 ± 0,36 0,7 - 1,7		383,3	0,61	24,6	50,0	105,7
7	229,5		11224	3,9		3,5	7,65	0,2	1,4 ± 0,41 1,0 - 2,4		594,3	0,72	19,1	74,4	190,7
8	259		12702	2,3		3,5	6,75	0,2	1,2 ± 0,37 0,7 - 2,1		546,2	0,57	22,5	5,8	36,7
9	83,1		8882	2,5		3,5	9,2	0,2	1,0 ± 0,35 0,5 - 1,4		246,0	0,49	16,5	27,5	249,5
10	85,4		8244	3,6		3,25	6,35	0,2	1,2 ± 0,40 0,5 - 1,7		594,2	1,14	15,8	42,9	169,2
11	84		8036	3,4		3,25	7,05	0,2	1,1 ± 0,31 0,7 - 1,7		252,7	0,48	21,3	96,0	103,8
12	69,4		9080	2,6		3,25	7,1	0,2	1,6 ± 0,19 1,4 - 1,9		578,7	1,01	18,6	14,7	135,8
13	70,2		8209	4,3		3,75	7,1	0,2	1,4 ± 0,42 1,0 - 2,1		387,3	0,89	10,1	24,3	125,6
14	201		7746	3		3,25	7,75	0,2	1,3 ± 0,16 1,0 - 1,4		491,0	0,87	14,1	36,8	77,8
15	133		8769	3,9		3	8,5	1,5	2,4 ± 0,55 1,2 - 3,1		393,5	0,69	15,7	113,7	91,9
16	83,4		8961	2,8		3,5	8,2	1,8	2,4 ± 0,18 2,1 - 2,6		403,1	0,53	14,0	46,1	113,4

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich meinen besonderen Dank nachstehenden Personen entgegenbringen, ohne deren Mithilfe die Anfertigung dieser Promotionsschrift niemals zustande gekommen wäre.

Zuerst möchte ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Doll meinen ausdrücklichen Dank aussprechen für die Überlassung des Themas und die vielseitige Unterstützung sowie für die intensive Betreuung und die Geduld mit mir.

Außerdem bedanke ich mich herzlich bei der Veterinär-Virologie der Uni Gießen, insbesondere bei Herrn Prof. Weber, Herrn Dr. König und den Mitarbeitern des Labors für die Durchsicht der Arbeit und für die Bereitstellung und Hilfe bei der Durchführung der SNT-Auswertungen.

Für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung möchte ich mich bei den Mitarbeitern der AG Biomathematik, Herrn Dr. Failing und Herrn Schaubmar, bedanken.

Die Bereitstellung einiger betriebs- und tierbezogener Daten waren nur mit einer engen Zusammenarbeit mit dem HVL, insbesondere Frau Mütze möglich, wofür ich mich ebenfalls bedanke.

Mein ganz herzlicher Dank gilt an dieser Stelle allen teilnehmenden Landwirten, die nach anfänglicher Skepsis Vertrauen zu uns und unserem Projekt gewonnen haben und ohne deren Zusammenarbeit und Bereitstellung ihrer Kühe diese Doktorarbeit nicht zustande gekommen wäre. Sie haben uns immer, fast zu jeder Tages- und Nachtzeit, freundlich empfangen und auch bei einem knappen Zeitfenster ihre Hilfe zur Verfügung gestellt.

Besonders gedankt sei dem Team der Rinderklinik für die Zuversicht, den Zuspruch und die gute Laune und außerdem ganz ausdrücklich Frau Neeb-Sonntag. Sie hat jede scheinbar noch so abwegige Frage zur Aufbereitung und zur Handhabung jeglicher Proben mit Geduld beantwortet. Neben allen Kollegen möchte ich auch meinem Lieblingskollegen Marten „Danke!“ sagen für die über 20.000 gemeinsam gefahrenen Kilometer durch Hessen und dafür, dass er viel mehr ist als der beste Kuh-Festhalter. Außerdem hat Maria noch einen ganz besonderen Dank verdient, weil sie für jede Frage, für jeden Frust aber auch für jeden Etappensieg einen Rat, ein offenes Ohr und einen Sekt parat hatte. Ohne sie wäre diese Arbeit niemals abgeschlossen worden.

Für die erheiternde und aufmunternde Wochenendgestaltung während der Zeit möchte ich mich bei der „Affenbande“ bedanken und außerdem bei den „Flamongos“, die jeden Feierabend gebührend mit mir zelebriert haben.

Für die unbeirrbar Zuversicht und Unterstützung in jeglicher Form von guten Worten, Schokolade und anderen Naturalien bedanke ich mich bei meinen Eltern und meiner Familie, bei meiner

Mutter für die Durchsicht und den stilistischen Feinschliff der Arbeit und bei meinem Vater für die Geduld und Hilfe bei Format- und Tabellenfragen. Ohne meine Eltern wäre es nie zum Abschluss dieser Arbeit gekommen.

Nicht zuletzt danke ich von ganzem Herzen Jan für die ausdauernde Ruhe und Gelassenheit und für das uneingeschränkte Vertrauen in das Mögliche.

Abschließend gebührt Havanna ein Extra-Danke-Hundeknochen. Sie hat es jeden Tag aufs Neue geschafft hat, dass ich beim Schreiben nicht die gute Laune verliere!

## **Erklärung zur Dissertation**

„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.“

Ort, Datum

Unterschrift



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

VVB LAUFERSWEILER VERLAG  
STAUFENBERGRING 15  
D-35396 GIESSEN

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

ISBN: 978-3-8359-6909-4



9 783835 196909 4