

Aus dem Department für Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen in der  
Veterinärmedizin  
der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Institut für Tierernährung und funktionelle Pflanzenstoffe  
(Leiter: Univ.-Prof. Dr.sc.agr. Qendrim Zebeli)

## **Auswirkungen von Ochratoxin A auf Gesundheitsparameter und Leistung von Milchkühen**

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von

Emmanuela Gabara

Wien, August 2023

**Betreuer:** Dr.med.vet. Felipe Penagos-Tabares  
Abteilung für Ernährungsphysiologie  
Institut für Physiologie, Pathophysiologie und Biophysik  
Department für Biomedizinische Wissenschaften  
Veterinärmedizinische Universität Wien

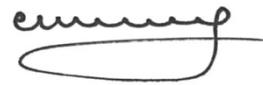
**Mitbetreuer:** Univ.-Prof. Dr.sc.agr. Qendrim Zebeli  
Institut für Tierernährung und funktionelle Pflanzenstoffe  
Department für Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen in der  
Veterinärmedizin  
Veterinärmedizinische Universität Wien

**Gutachter:** Univ.-Prof. Dr.med.vet. Thomas Wittek, Dipl.ECBHM  
Universitätsklinik für Wiederkäuer  
Abteilung für Wiederkäuermedizin  
Veterinärmedizinische Universität Wien

## **Eigenständigkeitserklärung**

Ich, Emmanuela Gabara, bestätige hiermit, dass ich die Arbeit eigenständig verfasst, keine anderen als die erwähnten Hilfsmittel und Literaturstellen einbezogen habe und diese unter Angabe der Quelle kenntlich gemacht habe. Die Arbeit wurde nicht an einer anderen Stelle veröffentlicht oder eingereicht.

Wien, im August 2023

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'emmanuela', written over a horizontal line.

Unterschrift

## **Danksagung**

Ich möchte all den Personen meine Wertschätzung aussprechen, die durch Unterstützung fachlicher und persönlicher Art zu der Entstehung dieser Diplomarbeit beigetragen haben.

Danke an meine Betreuer Dr.med.vet. Felipe Penagos-Tabares und Univ.-Prof. Dr.sc.agr. Qendrim Zebeli, welche die Umsetzung dieser Arbeit ermöglicht und mich stets mit wertvollen Inputs unterstützt haben. Ich möchte mich auch bei Dr.Sc. Ratchaneewan Khiaosa-Ard für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Daten und bei allen Personen, die durch ihren Einsatz beim OTAZyme-Projekt mitgewirkt haben, herzlich bedanken.

Meine besondere Dankbarkeit gilt meinem Freund, meiner Familie und vor allem meiner Mama, der ich diese Arbeit widmen möchte.

## Zusammenfassung

Ochratoxin A ist ein Mykotoxin, welches von verschiedenen *Penicillium*- und *Aspergillus*-Arten gebildet wird und in unterschiedlichen Futtermitteln auftreten kann. Es ist bekannt, dass es negative Effekte auf die Gesundheit von Menschen und Tieren haben kann. Jedoch ist das Pansenmikrobiom von Wiederkäuern imstande Ochratoxin A in Ochratoxin- $\alpha$  und Phenylalanin zu spalten, woraus eine geringe Empfindlichkeit gegenüber dem Mykotoxin resultiert. Dieser Versuch setzt sich mit den Auswirkungen von Ochratoxin A auf die Gesundheit und Leistung von Milchkühen auseinander und untersucht auf Basis vorangegangener Studien die Hypothese, dass aufgrund der Detoxifikation im Pansen bei diesen Dosierungen keine negativen Effekte zu erwarten sind.

Für die Untersuchungen wurde jeweils sechs laktierenden Fleckvieh-Kühen Ochratoxin A in den Dosierungen 5 und 50 mg täglich in einer Portion Gerstenmehl über eine Woche gefüttert. Während dieser siebentägigen Expositionsphase wurden neben klinischen Parametern auch die Milchzusammensetzung und -leistung, Blutchemie und Hämatologie, Futteraufnahme und Kauaktivität sowie Zusammensetzung der kurzkettigen Fettsäuren im Kot evaluiert. Im Vergleich der beiden Versuchsgruppen zeigten sich in der Gruppe mit hoher Mykotoxinexposition geringe Abweichungen im Kotscore, der Kauaktivität und der Zusammensetzung der kurzkettigen Fettsäuren im Kot. Auf die restlichen Parameter konnte kein Einfluss durch Ochratoxin A festgestellt werden. Diese Ergebnisse verdeutlichen die Widerstandsfähigkeit von Kühen gegenüber Ochratoxin A und bestätigen die ursprüngliche Hypothese.

## **Abstract**

Ochratoxin A is a mycotoxin produced by various *Penicillium* and *Aspergillus* species and can occur in different feedstuffs. It is known to have negative effects on human and animal health. However, the rumen microbiome of ruminants can cleave ochratoxin A into ochratoxin- $\alpha$  and phenylalanine, resulting in low sensitivity to the mycotoxin. The present experiment addresses the effects of ochratoxin A on the health and performance of dairy cows fed with a high-energy-density diet. Based on previous studies, it investigates the hypothesis that due to the detoxification in the rumen, at these doses, no negative effects are to be expected.

For the studies, six lactating Fleckvieh cows were each fed ochratoxin A at doses of 5 and 50 mg daily mixed with a concentrate feed (barley meal) for the duration of one week. During this seven-day exposure period, milk composition and yield, blood chemistry and haematology, feed intake and chewing activity, as well as the composition of short-chain fatty acids in faeces, were evaluated in addition to clinical parameters. Comparing the two experimental groups, the group with high mycotoxin exposure showed minor differences in the faecal score, chewing activity, and composition of short-chain fatty acids in faeces. No influence by ochratoxin A was detected on the remaining parameters. These results illustrate the resistance of cows to ochratoxin A and confirm the initial hypothesis.

## Abkürzungsverzeichnis

ADF	Säure-Detergenzien-Fasern/acid detergent fiber
ADF <sub>OS</sub>	ADF nach Ausschluss der Rohasche
aNDF <sub>OS</sub>	mit alpha-Amylase behandelte NDF nach Ausschluss der Rohasche
AST	Aspartat-Aminotransferase
ATP	Adenosintriphosphat
EE	Ether-Extrakt
FS	Frischsubstanz
GC	Gaschromatographie
GGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GLDH	Glutamat-Dehydrogenase
KGW	Körpergewicht
NDF	Neutrale Detergenzienfasern/neutral detergent fiber
NFC	Nichtfaser-Kohlenhydrate/non-fiber carbohydrates
OS	Organische Substanz
OT- $\alpha$	Ochratoxin- $\alpha$
OTA	Ochratoxin A
RP	Rohprotein
s	Standardabweichung
SCFA	Kurzkettige Fettsäuren/short-chain fatty acids
SEM	Standardfehler des Mittelwertes/standard error of the mean
TIM	Tage in Milch
TMR	Totale Mischration
tRNA	Transfer-RNA
TS	Trockensubstanz
uS	ursprüngliche Substanz

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung und Hypothese .....</b>	<b>1</b>
1.1 Mykotoxine.....	1
1.2 Mykotoxikose bei Rindern.....	2
1.3. Ochratoxine .....	2
1.3.1. Chemische Struktur .....	2
1.3.2. Allgemeine Toxikologische Übersicht.....	3
1.3.3. Ochratoxine und ihre berichteten Auswirkungen auf Rinder .....	5
1.4. Hypothese.....	6
<b>2. Materialien und Methoden .....</b>	<b>7</b>
2.1. Versuchsaufbau.....	7
2.2. Fütterung und Haltung .....	8
2.3. Klinische Parameter.....	10
2.4. Milchleistung und Milchzusammensetzung .....	12
2.5. Blutchemie und Hämatologie.....	13
2.6. Futteraufnahme und Kauaktivität.....	13
2.7. SCFA im Kot .....	14
2.8. Statistische Auswertung .....	14
<b>3. Ergebnisse .....</b>	<b>15</b>
3.1. Klinische Parameter.....	15
3.2. Milchleistung und Milchzusammensetzung .....	17
3.3. Blutchemie und Hämatologie.....	19
3.4. Futteraufnahme und Kauaktivität.....	22
3.5. SCFA im Kot .....	25
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>27</b>

<b>5. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>32</b>
<b>6. Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>35</b>
<b>7. Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>36</b>

# 1. Einleitung und Hypothese

## 1.1 Mykotoxine

Mykotoxine entstehen durch den sekundären Metabolismus von Pilzen und können toxische Schäden bei Vertebraten hervorrufen. Dies kann über Hautkontakt, den Verdauungstrakt oder Inhalation dieser geschehen (1). Die Namensgebung ist auf das griechische Wort für Pilz „mykos“ und den lateinischen Ausdruck für Gift „*toxicum*“ zurückzuführen (2).

Primärer Metabolismus bezeichnet das Wachstum der Pilze, sekundärer Metabolismus das Ausbilden von Mykotoxinen. Letzterer wird über die Umwelt gesteuert und wird vor allem bei Kälte, Trockenheit oder Anwesenheit von Fungiziden ausgelöst (2). Die drei wichtigsten Pilzgattungen *Aspergillus*, *Penicillium* und *Fusarium* produzieren folgende bedeutende Mykotoxine: Aflatoxine, Ochratoxin A, Patulin, Trichothecene, Fumonisine, Zearalenon und Fusarinsäure (3).

Mykotoxine können in verschiedenen Futtermitteln wie Kraftfutter, Grünfutter, Heu und Silage vorkommen (4). Der Befall kann bereits auf dem Feld, während der Ernte, Lagerung, Verarbeitung oder Fütterung auftreten (5), wobei die Temperatur, Feuchtigkeit und Insektenaktivität als primäre Faktoren für das Wachstum der Pilze verantwortlich sind (4,6). Ebenso sind das Substrat und die Sauerstoff- und Kohlenstoffdioxidkonzentration von Bedeutung. Die optimalen Wachstumsbedingungen für die meisten Pilze sind eine Temperatur von 20–30 °C und eine Feuchtigkeit von 13–21 %, wobei Feldpilze eine höhere Feuchtigkeit benötigen als Lagerpilze (7).

Die Präsenz von Pilzen im Futter beeinflusst dessen organoleptische Eigenschaften sowie den Nährwert (3). Durch Aufnahme und Akkumulation von Mykotoxinen in Organen und Geweben können diese in die Nahrungskette gelangen und durch Konsum von tierischen Produkten ein Risiko für den Menschen darstellen (1,2). Auswirkungen von Mykotoxinen können die Degeneration von Leber und Nieren sein, außerdem können sie neurotoxisch wirken und zu einer Immundefizienz führen (7).

## 1.2 Mykotoxikose bei Rindern

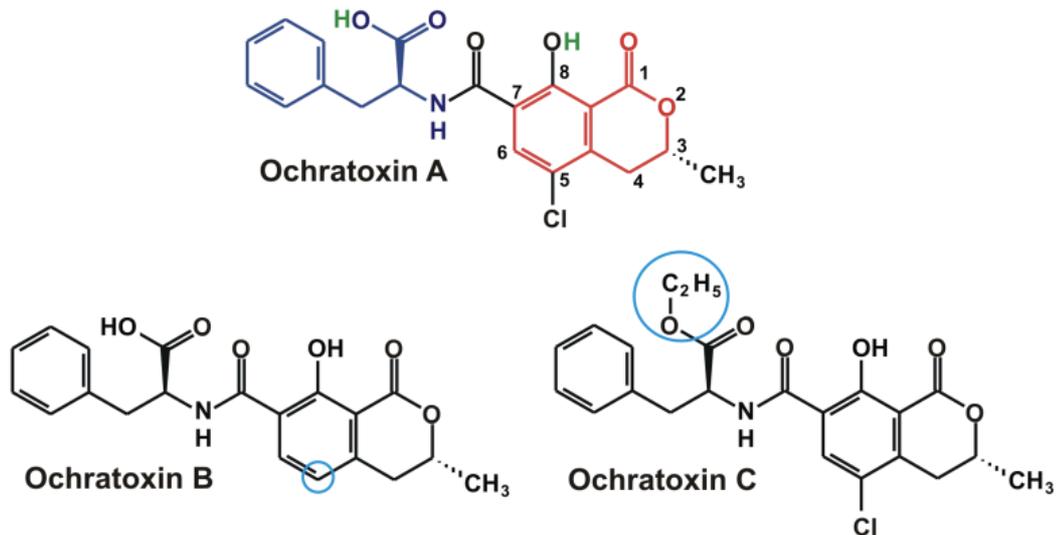
Die Erkrankung durch Mykotoxine wird Mykotoxikose genannt und kann je nach Dosis und Expositionsdauer akut oder chronisch verlaufen (1,2). Die Auswirkungen werden außerdem von der Anzahl und Art der aufgenommenen Toxine, der individuellen Empfindlichkeit des Tieres, der Fütterung und Umgebung beeinflusst (3,7). Die Kontamination von Futtermitteln mit Schimmelpilzen oder Mykotoxinen führt im Allgemeinen zu einem Rückgang der Futteraufnahme (3). Wiederkäuer gelten den Auswirkungen von Mykotoxinen gegenüber als weniger anfällig im Vergleich zu Monogastriern. Dafür verantwortlich ist das Pansenmikrobiom, welches eine wichtige Rolle bei der Entgiftung spielt (8). Neben dem Abbau im Pansen, werden Mykotoxine auch im Darmepithel und in Leber und Nieren metabolisiert, um anschließend über den Urin, Kot oder die Milch ausgeschieden zu werden (2).

Im frühen Stadium der Mykotoxikose sind die negativen Effekte vernachlässigbar (9). Bei einer längerfristigen Aufnahme kann es zur Beeinflussung von der Leistung und Reproduktion kommen, wobei Hochleistungstiere durch den Produktionsstress stärker betroffen sind (9,10). Es stehen Aborte, geringere Konzeptionsraten, Ketosen und Labmagenverlagerungen damit in Zusammenhang (9). Generell kann jedes Mykotoxin eine unterschiedliche Symptomatik hervorrufen, welche, wie zum Beispiel Appetitlosigkeit, unspezifisch ist und die Diagnosestellung erschwert (3,9).

## 1.3. Ochratoxine

### 1.3.1. Chemische Struktur

Ochratoxine werden von verschiedenen *Penicillium*- und *Aspergillus*-Arten produziert und treten vor allem während der Lagerung auf (6,11). Die chemische Struktur der Ochratoxine ist ein Phenylalanin, welches über eine Amidbindung an ein Dihydroisocumarin gebunden ist (12). Sie wird für Ochratoxin A, B und C in Abb. 1 veranschaulicht. Der toxischste Vertreter ist Ochratoxin A (OTA), welcher im Gegensatz zu Ochratoxin B Chlor gebunden hat (11,12). Auf OTA wird im Folgenden insbesondere eingegangen.



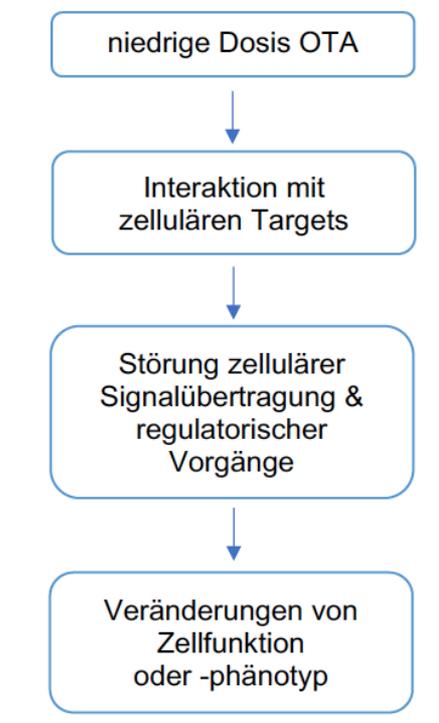
**Abb. 1.** Chemische Struktur von Ochratoxin A, B und C (Kószegi et al. 2016 (13)).

### 1.3.2. Allgemeine Toxikologische Übersicht

OTA hat eine lange Halbwertszeit beim Säuger, was vermutlich an der hohen Affinität zu Plasmaproteinen, vor allem Albumin, liegt (11). Die Biotransformation findet hauptsächlich in Leber und Nieren statt, wobei die Clearance des Toxins über Kot, Urin und Milch bedeutend ist (14).

Es ist bekannt, dass OTA eine nephrotoxische, hepatotoxische, teratogene, immunsuppressive und kanzerogene Wirkung auf verschiedene Tierarten hat (14). Bedeutende Wirkmechanismen sind die Hemmung der Proteinbiosynthese und der mitochondrialen Atmung, Förderung der Lipidperoxidation, Störung der Kalziumhomöostase und Schädigung der DNA (11,14). Der Mechanismus, welcher der Hemmung der Proteinbiosynthese zugrunde liegt, beruht auf der Bindung des Phenylalanins an die Phenylalanin-tRNA-Synthase und Phenylalanin-Hydroxylase. Durch Blockierung dieser kommt es zur Beeinträchtigung der Proteinbiosynthese und der RNA- und DNA-Synthese (14). Des Weiteren ist OTA in der Lage, das mitochondriale Transportsystem zu hemmen, wodurch es zur Hemmung der Atmungskette und Depletion von ATP kommt (11). Man geht außerdem davon aus, dass oxidativer Stress an der Toxizität von OTA beteiligt ist und beispielsweise durch oxidative Zellschäden für die DNA-Schädigung, Lipidperoxidation und Störung der Kalziumhomöostase verantwortlich ist (14).

Ein wichtiger Angriffspunkt für OTA ist die Niere, wobei es zu einer Akkumulation im Gewebe kommt (15). Zu Beginn zeigt sich eine Degeneration der proximalen Tubuli, in weiterer Folge kommt es zu einer Fibrose des Interstitiums (11). Wichtig ist die Unterscheidung zwischen der Exposition mit hohen und niedrigen Dosen an OTA, welche zu unterschiedlichen Auswirkungen führen. Im Falle von niedrigen Dosen kommt es zur Interaktion von OTA mit zellulären Targets, was in der Folge zelluläre Signalübertragungen und regulatorische Vorgänge stört. Daraus resultieren Veränderungen in Zellfunktionen oder deren Phänotyp, wodurch es zum Funktionsverlust der Niere kommt (15). Dieser Mechanismus wird in Abb. 2 dargestellt.



**Abb. 2.** Wirkmechanismus niedriger Dosen OTA an der Niere (modifiziert nach Gekle et al. 1998 (15)).

Die immunotoxische Wirkung von OTA kommt durch den apoptotischen und nekrotischen Zelltod der Immunzellen und durch die langsame Neubildung dieser durch die Hemmung der Proteinbiosynthese zustande. Das Resultat der Immunsuppression ist eine dosisabhängige Knochenmarksdepression, die Einfluss auf die Bildung von Antikörpern, Zytokinen und Immunzellen hat. Außerdem kommt es zu einer Größenreduktion sekundärer lymphatischer Organe (16).

Die internationale Agentur für Krebsforschung hat OTA für den Menschen als möglicherweise krebserregend eingestuft (17). Das Mykotoxin steht in Verdacht für die Balkan-Nephropathie beim Menschen, einer zunächst degenerativen Nierenerkrankung, welche später eine Niereninsuffizienz bedingen kann, verantwortlich zu sein (18). Diese Nephropathie steht im Zusammenhang mit Tumoren des Harntraktes. Bei Mäusen und Ratten führte die OTA-Exposition zu Nierenzelladenomen und -karzinomen und nur bei Mäusen auch zu Tumoren der Leber (17). Die Ursache der Kanzerogenität ist nicht geklärt, jedoch wird der oxidative Metabolismus, durch welchen oxidative DNA-Schäden hervorgerufen und DNA-Addukte gebildet werden, als zugrunde liegend vermutet (18).

### **1.3.3. Ochratoxine und ihre berichteten Auswirkungen auf Rinder**

OTA kann im Pansen durch Proteasen, die von Mikroben produziert werden, zu Ochratoxin- $\alpha$  (OT- $\alpha$ ) und Phenylalanin hydrolysiert werden (7). Hult et al. berichten, dass bis zu 60 % des aufgenommenen OTA abgebaut werden können und da OT- $\alpha$  nicht toxisch ist, gelten Wiederkäuer dem Mykotoxin gegenüber als resistenter (8,19). Im Abbau spielen vor allem die Protozoen des Pansenmikrobioms eine wichtige Rolle (8,20). Außerdem ist die Zusammensetzung der Ration entscheidend, wobei *in vitro* Versuche gezeigt haben, dass ein höherer Stärkeanteil die Halbwertszeit von OTA auf 1,91 Stunden verkürzt, wohingegen bei der Zugabe von Zellulose die Halbwertszeit 4,5 Stunden beträgt (20). Eine andere Studie bei Schafen *in vivo* zeigt, dass ein höherer Krafftfutteranteil den Abbau von OTA im Pansen verlangsamt und ein größerer Anteil an Raufutter diesen beschleunigt (21).

Eine einmalige Gabe von 13,3 mg OTA/kg Körpergewicht (KGW) bei Holsteinkühen hat am nächsten Tag Schwierigkeiten beim Aufstehen, Durchfall, Anorexie und einen Abbruch der Milchproduktion hervorgerufen, wobei es am vierten Tag zur Genesung kam. Bei mehrtägigen Behandlungen mit 0,2, 0,75 und 1,66 mg OTA/kg KGW kam es zu keiner klinischen Symptomatik. Es wurden Rückstände in der Milch beobachtet, jedoch nur bei Fütterung von einer Dosis über 1,66 mg OTA/kg KGW (12). In der gleichen Studie wurden die Auswirkungen der oralen OTA-Gabe in den Dosierungen 11 und 25 mg OTA/kg KGW bei zwei fünf Wochen alten Holsteinkälbern untersucht. Beide Tiere starben innerhalb der nächsten 24 Stunden nach Verabreichung des Mykotoxins (12). Im Rahmen einer anderen Studie wurde ebenfalls Holsteinkühen für vier Wochen eine Dosis von 5, 50 oder 100  $\mu$ g OTA/kg Ergänzungsfuttermittel, von welchem die Tiere täglich 11,3  $\pm$  0,2 kg (5  $\mu$ g OTA/kg), 10,7  $\pm$

0,1 kg (50 µg OTA/kg) und  $11,1 \pm 0,1$  kg (100 µg OTA/kg) aufnahmen, verabreicht. Diese Tiere haben keine Leistungseinbußen in Bezug auf Körpergewicht und Milchproduktion gezeigt, es wurden jedoch geringe Konzentrationen (0,1–0,2 µg/kg) OTA (bei den Gruppen mit 50 und 100 µg OTA/kg) im Plasma gefunden, was darauf hindeutet, dass es nicht vollständig im Pansen abgebaut wird. Es wurde kein OTA in der Milch oder in essbarem Gewebe wie Fleisch nachgewiesen (22). Das Risiko für Rückstände in Milch und Fleisch von Wiederkäuern wird generell als gering eingeschätzt und betrifft vor allem die chronische Exposition (6,23). Die Europäische Kommission hat 2006 Richtlinien festgelegt, welche eine maximale OTA-Konzentration von 0,25 mg/kg für Getreide und Getreideerzeugnisse als Futtermittel mit 12 % Feuchtigkeit festsetzen (24).

#### **1.4. Hypothese**

Auf der Grundlage früherer Untersuchungen, die über eine hohe Abbaumenge von OTA im Pansen (bis zu 60 %) und keine negativen Auswirkungen auf die Gesundheit berichten, gehen wir davon aus, dass die Aufnahme von OTA in diesen Dosierungen keine negativen Auswirkungen auf die Gesundheit und Leistung von Milchkühen hat.

## 2. Materialien und Methoden

### 2.1. Versuchsaufbau

Der Umgang und die Behandlungen der Tiere sowie alle damit verbundenen Verfahren wurden von der institutionellen Ethik- und Tierschutzkommission (ETK) der Veterinärmedizinischen Universität Wien und der nationalen Behörde gemäß §26 des Tierversuchsgesetzes 2012-TVG (GZ: 2022-0.474.452) genehmigt.

Der Versuch wurde an der VetFarm, Hof Kremesberg der Veterinärmedizinischen Universität Wien für die Dauer von elf Tagen durchgeführt. Es wurden zwölf laktierende Milchkühe der Rasse Fleckvieh eingesetzt. Informationen über die Versuchstiere wurden in Tab. 1 zusammengefasst. In der Adaptationsphase der ersten vier Tage wurde allen Tieren die gleiche Ration gefüttert. Danach wurden die Kühe in zwei Gruppen zu je sechs Tieren geteilt, wobei immer einer Gruppe eine der folgenden Dosen an OTA über sieben Tage zugefüttert wurde:

1. 5 mg OTA/Kuh/Tag (ca. 250 µg/kg TS TMR)
2. 50 mg OTA/Kuh/Tag (ca. 2500 µg/kg TS TMR)

Das Mykotoxin wurde in einer 250 g schweren Portion Gerstenmehl (mit 1,25 mg bzw. 12,5 mg OTA) vier Mal täglich, zu den Uhrzeiten 8:00, 12:00, 16:00 und 20:00 Uhr, verfüttert. In der darauffolgenden Washout-Phase wurden die Tiere über 14 Tage mit der gewohnten Ration ohne Zusatz des Mykotoxins gefüttert, um eine Auswaschung von diesem zu garantieren.

**Tab. 1.** Information über die Versuchstiere (n=12; Fleckvieh).

Parameter	Mittelwert	s	Min	Max
<b>Alter (in Jahren)</b>	5,58	1,89	2,6	9,6
<b>Laktationsnummer</b>	3,50	1,61	1	7
<b>Tage in Milch (TIM)</b>	161,17	98,77	19	308
<b>Körpermasse (in kg)</b>	741,83	75,80	582	888

Während des Versuches wurden verschiedene Parameter evaluiert, diese waren die Milchzusammensetzung und -leistung, Futteraufnahme, kurzkettigen Fettsäuren (SCFA) im Kot und Kauaktivität. Außerdem wurden aus Blutproben die Blutchemie und Hämatologie

bestimmt und die Tiere wurden klinisch untersucht. Das Schema des Versuchsaufbaues wird in Tab. 2 abgebildet.

**Tab. 2.** Versuchsaufbau mit evaluierten Parametern während der Adaptations- und Expositionsphase.

Evaluierte Parameter	Adaptationsphase				Expositionsphase (Fütterung mit OTA)							
	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	
Milchzusammensetzung												
Milchleistung												
Futteraufnahme												
Blutchemie												
Hämatologie												
Klinische Parameter												
SCFA im Kot												
Kauaktivität												

## 2.2. Fütterung und Haltung

Die Kühe wurden in einem Laufstall mit Liegeboxen gehalten und hatten freien Zugang zum Wasser und Futter über transpondergesteuerte Futtertröge (siehe Abb. 4 und Abb. 3). Das Futter wurde *ad libitum* angeboten und die Zusammensetzung der Ration war folgende (in der Trockensubstanz (TS)): 37,1 % Grassilage, 12,5 % Maissilage, 50,4 % mineralisiertes und vitaminisiertes Kraftfutter für Rinder (Milchrinder 18 Kremesberg p, Königshofer GmbH, Österreich). Die Futterzusammensetzung der Ration in der Frischsubstanz (FS) und TS kann in den absoluten und relativen Anteilen aus Tab. 3 entnommen werden.

Repräsentative Proben der totalen Mischration (TMR) wurden an den Tagen null und sieben des Versuches gezogen. Die Proben wurden aus mindestens 20 Sub-Proben gesammelt, letztere wurden gepoolt (2 kg TMR) und bei -20 °C gelagert. Im nächsten Schritt wurden die Proben zur Vorbereitung für die Nährstoffanalysen, die gemäß des Verbandes Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten erfolgten (25), 48 Stunden lang bei 65 °C im Umluftofen getrocknet und durch ein 0,5-mm-Sieb (Ultra-Zentrifugalmühle ZM 200, Retsch GmbH, Deutschland) gemahlen. Das Material wurde für die Analyse der

chemischen Zusammensetzung verwendet, wobei folgende Parameter analysiert wurden: die Trockensubstanz, die Rohasche, die organische Substanz (OS), das Rohprotein (RP), das Ether-Extrakt (EE, d. h. Rohfett), die neutralen Detergenzienfasern (NDF), und die Säure-Detergenzien-Fasern (ADF). Die TS wurde kurz nach der Trocknung im Ofen bei 103 °C und die Asche nach der Verbrennung bei 580 °C über Nacht bestimmt. EE wurde mit einem Soxhlet-Extraktor (Extraktionssystem B-811, Büchi Labortechnik AG, Schweiz) und RP mit der Kjeldahl-Methode analysiert. Die mit Amylase behandelten NDF wurden mithilfe eines automatisierten Faseranalysegeräts (Fibretherm FT12, C. Gerhardt GmbH & Co. KG, Deutschland) bestimmt. Die OS wurde auf der Grundlage des Ascheanteils berechnet. Die Berechnung der Nichtfaser-Kohlenhydrate (NFC) wurde wie folgt geschätzt:  $NFC = 100 - (RP + Asche + EE + NDF)$ . Die Nährstoffzusammensetzung der Ration ist in Tab. 4 ersichtlich.



**Abb. 4.** Aufstallung der Versuchstiere.



**Abb. 3.** Laufstall mit Liegeboxen und transpondergesteuerten Futtertrögen.

**Tab. 3.** Futterzusammensetzung der Ration.

Futterkomponenten	kg FS	% FS	kg TS	% TS
Grassilage	18	36,7	8,3	37,1
Maissilage	8	16,3	2,8	12,5
Krafftutter <sup>1</sup>	13	26,5	11,3	50,4
Wasser	10	20,4	0	0
<b>Total</b>	<b>49</b>	<b>100,0</b>	<b>22,4</b>	<b>100,0</b>

<sup>1</sup> Zusammensetzung: Weizen, Rapsextraktionsschrotfutter, Mais, Sojaextraktionsschrotfutter, Rübenmelasse, Calciumcarbonat, Monocalciumphosphat, Natriumbicarbonat, Natriumchlorid, Magnesiumoxid, Magnesiumsulfat, Calcium-Magnesiumcarbonat, Traubenkernmehl, Isomaltulose-Melasse, Sonnenblumenöl (Milchrinder 18 Kremesberg p, KÖNIGSHOFER GmbH, Österreich).

**Tab. 4.** Nährstoffzusammensetzung der Ration.

<b>Parameter</b>	<b>Mittelwert ± s</b>
<b>Gesamt TS (% in uS)</b>	47,6 ± 0,25
<b>Rohasche (% TS)</b>	7,2 ± 0,19
<b>Organische Substanz (% TS)</b>	92,8 ± 0,19
<b>Rohprotein (% TS)</b>	14,8 ± 0,5
<b>Rohfett (% TS)</b>	1,9 ± 0,21
<b>aNDF<sub>OS</sub> (% TS)</b>	41,3 ± 0,35
<b>ADF<sub>OS</sub> (% TS)</b>	23,9 ± 1,25

s = Standardabweichung

uS = ursprüngliche Substanz

aNDF<sub>OS</sub> = mit alpha-Amylase behandelte NDF nach Ausschluss der Rohasche

ADF<sub>OS</sub> = ADF nach Ausschluss der Rohasche

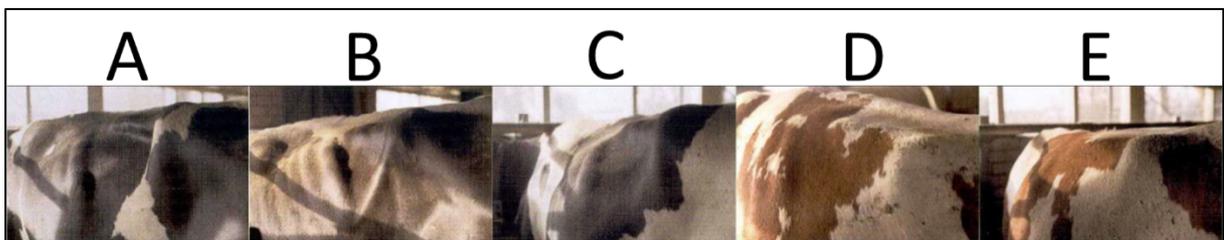
### 2.3. Klinische Parameter

Die Kühe wurden während des Versuches täglich hinsichtlich ihres Gesundheitszustandes tierärztlich betreut. Folgende Parameter wurden von Tag null bis sieben morgens und abends bestimmt:

- Allgemeinverhalten
- Hautelastizität
- Innere Körpertemperatur (°C)
- Atemfrequenz (Frequenz/min)
- Herzfrequenz (Frequenz/min)
- Pansenmotilität (Frequenz/5 min)
- Pansenscore [1-5]
- Kotscore [1-5]

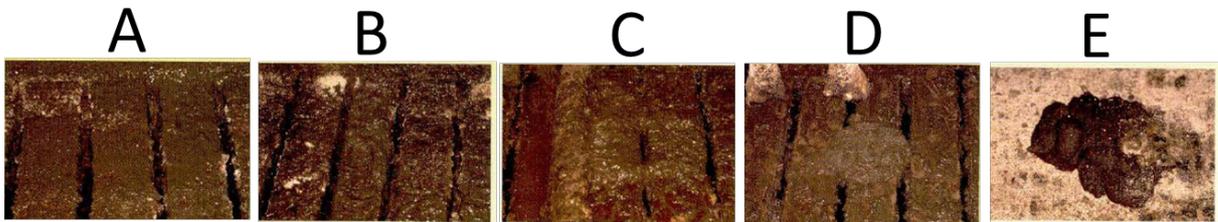
Das Allgemeinverhalten wurde adspektorisch beurteilt und als ruhig und aufmerksam bzw. geringgradig bis hochgradig vermindert oder gesteigert beschrieben. Zur Überprüfung der Hautelastizität wurde am seitlichen Hals im Übergang vom zweiten zum dritten Drittel eine Hautfalte aufgezogen und verstreichen gelassen. Die Innere Körpertemperatur wurde mithilfe eines digitalen Thermometers (microlife VT 1831, Microlife AG, Schweiz) rektal gemessen. Um die Atemfrequenz festzustellen, wurde schräg hinter dem Tier auf der rechten Seite die Frequenz eine halbe Minute lang gezählt. Die Herzfrequenz wurde mithilfe eines Stethoskops (Littmann® Classic III™ Stethoskop, 3M Company, USA) in der linken Herzgegend, an der Stelle des deutlichsten Herzstoßes, auskultiert. Ebenso wurde der Pansen in der linken Hungergrube auskultiert und die Geräusche für eine Dauer von fünf Minuten gezählt (26).

Der Füllungszustand des Pansens wurde anhand des Pansenscores beurteilt. Der Beobachter stand dafür schräg links hinter der Kuh. Es wurde ein Fünf-Punkte-System verwendet (siehe Abb. 5). Bei Score 1 war eine starke Vertiefung in der linken Flanke sichtbar. Die *Fossa paralumbalis* (Hungergrube) hinter der letzten Rippe war mehr als eine Handbreit tief und hatte in der Seitenansicht ein rechteckiges Aussehen. Score 2 wurde durch eine Handbreit tiefe Fossa und ein dreieckiges Aussehen definiert. Bei Score 3 verlief die Haut unter der Lendenwirbelsäule eine Handbreit vertikal nach ventral und wölbte sich dann nach außen, sodass die paralumbale Fossa gerade noch sichtbar war. Bei Score 4 war die *Fossa paralumbalis* nicht mehr sichtbar und es dominierte eine konvexe Form. Bei Score 5 waren die Lendenwirbel nicht sichtbar, und die Haut auf der linken Körperseite war recht straff. Der typische Wert für laktierende Kühe war Score 3 (27).



**Abb. 5.** Pansenbewertung (A) Score 1: *Fossa paralumbalis* ist mehr als eine Handbreit tief, in der Seitenansicht rechteckige Form. (B) Score 2: *Fossa paralumbalis* ist eine Handbreit tief, in der Seitenansicht dreieckige Form. (C) Score 3: *Fossa paralumbalis* ist gerade noch sichtbar, in der Seitenansicht dreieckige Form. (D) Score 4: *Fossa paralumbalis* ist hinter der letzten Rippe nicht sichtbar. (E) Score 5: Die Lendenwirbel sind nicht sichtbar, kein sichtbarer Übergang zwischen der Flanke und den Rippen (Hulsen 2005 (27)).

Der frische Kot wurde ebenso mit einem Fünf-Punkte-System bewertet (siehe Abb. 6). Score 1 war ein wässriger Kot, welcher kaum noch als solcher erkennbar war. Bei Score 2 war der Kot als solcher erkennbar und hatte die Konsistenz eines dünnflüssigen Puddings. Wenn er auf einer harten Oberfläche abgesetzt wurde, spritzte er weit weg. Score 3 war Kot mit einer dickflüssigen Puddingkonsistenz, welcher sich zu einem 2–3 cm hohen Fladen formte. Wenn man mit dem Stiefel hineinstieg, blieb kein Kot daran haften und es war kein Stiefelabdruck sichtbar. Bei Score 4 hatte der Kot eine dicke Konsistenz und stapelte sich in Ringen zu einer Höhe von mindestens einer Fingerlänge. Der Stiefelabdruck blieb bestehen und es blieb Kot am Stiefel haften. Score 5 waren feste Kotballen, ähnlich wie Pferdekot. Ein Stiefelabdruck blieb an der Oberfläche sichtbar. Die ideale Kotkonsistenz entsprach dem Score 3 (27).



**Abb. 6.** *Kotkonsistenz. (A) Score 1: Wässrige Konsistenz. (B) Score 2: Dünnflüssige Puddingkonsistenz. (C) Score 3: Dickflüssige Puddingkonsistenz, (D) Score 4: Dicke Konsistenz. (E) Score 5: Feste Kotballen (Hulsen 2005 (27)).*

#### **2.4. Milchleistung und Milchzusammensetzung**

Die Kühe wurden zweimal täglich um 7:00 und 17:30 Uhr in einem 4 + 4 Tandem-Melkstand (DeLaval GmbH, Österreich) gemolken. Die tägliche Milchleistung wurde mit einem elektronischen Maschinenschreiber (DeLaval Corp., Schweden) erfasst. Die Morgen- und Abendmilchproben der Tage null und sieben des Versuches wurden gepoolt und bei 4 °C gelagert. Die anschließende Analyse hinsichtlich des Gehaltes an Protein, Fett, Laktose und Harnstoff und die Bestimmung von Zellzahl, fettfreier Trockenmasse und pH-Wert wurde im Milchlabor des LKV Niederösterreich mittels einer MilkoScan Apparatur (MilkoScan FT6500, FOSS, Dänemark) durchgeführt.

## 2.5. Blutchemie und Hämatologie

An den Versuchstagen null und sieben wurden direkt vor der morgendlichen Fütterung (Zeitpunkt 0 Stunden) und 7 Stunden nach der ersten OTA-Aufnahme Blutproben aus der *Vena jugularis* mittels Serum-Vakuurnröhrchen (VACUETTE® Röhrchen 9 mL CAT Serum Separator Gerinnungsaktivator, Greiner Bio-One GmbH, Österreich) und EDTA-Vakuurnröhrchen (VACUETTE® Röhrchen 9 mL K3E K3EDTA, Greiner Bio-One GmbH, Österreich) entnommen. Nach der Blutentnahme wurden die Blutproben für die Serumgewinnung in den Röhrchen eine Stunde lang bei Raumtemperatur gerinnen gelassen und anschließend 15 Minuten lang bei  $2000 \times g$  und  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  zentrifugiert (Zentrifuge 5804 R, Eppendorf SE, Deutschland) und das Serum abpipettiert. Die Lagerung des Serums bis zur weiteren Analyse erfolgte in 2-mL-Röhrchen (Eppendorf Safe-Lock Tubes 2 mL, Eppendorf SE, Deutschland) bei  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Die Vollblutproben wurden bei  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  in den Entnahmeröhrchen gelagert. Mittels vollautomatischem Analysegerät für klinische Chemie (Cobas 6000/c501, Roche Diagnostics GmbH, Österreich) wurden die Konzentrationen der Leberenzyme Aspartat-Aminotransferase (AST), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) und Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) in den Serumproben bestimmt. Außerdem wurden die Konzentrationen vom Totalprotein, Albumin und Kreatinin analysiert. Die Proben wurden jeweils in zweifacher Ausfertigung analysiert. Aus den gewonnenen Vollblutproben wurden die Hämatologie und ein Differentialblutbild bestimmt. Diese Analysen wurden am Zentrallabor der Veterinärmedizinischen Universität Wien durchgeführt.

## 2.6. Futteraufnahme und Kauaktivität

Die Fütterung wurde mittels eines automatischen Fütterungssystems (Trioliet Triomatic T15, Trioliet B.V., Niederlande) durchgeführt, welches über elektronische Waagen in den Futterautomaten verfügte (Insentec B.V., Niederlande). Über Ohrmarkentransponder und computergesteuerte Zugangstore (Insentec B.V., Niederlande) erfolgte eine unabhängige automatische Fütterung, wobei die Futteraufnahme und die damit verbundenen Daten individuell erfasst werden konnten. Die kontinuierliche Aufzeichnung der Kauaktivität jeder Kuh erfolgte über elf Tage mithilfe eines Kauhalfters (RumiWatch System, ITIN +HOCH GmbH, Schweiz).

## 2.7. SCFA im Kot

Für die Kotproben wurde der Kot rektal entnommen und bei -20 °C für die spätere chemische Analyse gelagert. Die Analyse der kurzkettigen Fettsäuren-Konzentrationen erfolgte mittels Gaschromatographie (GC) durch ein GC-Gerät (Shimadzu GC 2010-Plus, Shimadzu, Japan), das mit einem Flammenionisationsdetektor und einer 30 m × 0,53 mm (Innendurchmesser) × 0,53 µm Kapillarsäule (Trace TR Wax, Thermo Fisher Scientific, USA) ausgestattet war. Die Quantifizierung der identifizierten SCFA wurde mit einem internen Standard (4-Methylvaleriansäure, Sigma-Aldrich®, USA) durchgeführt. Als Trägergas wurde Helium mit einer Durchflussrate von 6 mL/min verwendet. Die Temperatur des Injektors wurde auf 170 °C und die des Detektors auf 220 °C eingestellt.

## 2.8. Statistische Auswertung

Alle erhobenen Daten wurden mit Hilfe deskriptiver Statistiken dargestellt. Mittelwert, Median, Standardabweichung sowie Standardfehler des Mittelwerts wurden mittels Microsoft Excel erfasst, um die Varianzgrößen zu bestimmen. Anschließend wurden die Daten mittels SAS (Version 9.4; Prozedur Mixed) statistisch ausgewertet. Die Normalverteilung der Residuen wurde überprüft. Für jede Zielgröße wurde ein lineares Modell verwendet. Messungen, die zu verschiedenen Zeiten (Tag null und sieben) am selben Tier durchgeführt wurden, wurden in der Varianzanalyse berücksichtigt. Der Test berücksichtigte die Kovarianz, die am Tag null analysiert wurde. Das Signifikanzniveau wurde auf  $p < 0,05$  festgelegt.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Klinische Parameter

Die Verabreichung von OTA in der hohen (50 mg/Kuh/Tag) im Vergleich zur niedrigen Dosis (5 mg/Kuh/Tag) wirkte sich, abgesehen von der Kotkonsistenz, nicht signifikant auf die klinischen Parameter aus. Die Ergebnisse wurden in Tab. 5 festgehalten. Das Allgemeinverhalten und die Hautelastizität waren während der Studie bei allen Tieren im Normalbereich, das heißt das Verhalten war ruhig und aufmerksam und die Hautelastizität blieb erhalten. Die innere Körpertemperatur betrug während der Expositionsphase 38,40 °C bei der niedrigen und 38,41 °C bei der hohen OTA-Konzentration mit einem Standardfehler des Mittelwerts (SEM) von  $\pm 0,11$  °C und entsprach somit den Referenzwerten. Die Atemfrequenz lag bei 48,73 und  $50,74 \pm 3,87$  Atemzügen pro Minute und war somit bei beiden Gruppen im Vergleich zum Referenzbereich erhöht. Jedoch unterschied sie sich nicht vom Mittelwert an Tag 0, wo sie 49,63 Atemzüge pro Minute ausmachte (Min: 20/min, Max: 96/min). Somit ist die Abweichung auf die Aufregung der Tiere während der Fixierung im Fressgitter für die klinische Untersuchung zurückzuführen. Die Herzfrequenz betrug 77,51 bei niedriger und  $76,32 \pm 1,77$  Schläge pro Minute bei hoher Exposition und entsprach den physiologischen Referenzwerten. Bei der Pansenauskultation waren bei den Kühen mit niedriger OTA-Dosis 6,04 und bei denen mit hoher Dosis 6,27 mit einem SEM von 0,20 Pansengeräusche in fünf Minuten zu hören. Der Pansenscore betrug im Fünf-Punkte-System  $3,54 \pm 0,12$  für die Tiere mit niedriger Exposition und  $3,43 \pm 0,12$  für die Tiere mit hoher Exposition. Die Werte der beiden Pansenparameter entsprachen der physiologischen Norm. Die Verabreichung der hohen OTA-Dosis hatte im Vergleich zu den Tieren, welche der niedrigeren Dosis ausgesetzt waren, einen signifikanten Einfluss auf die Kotkonsistenz ( $p < 0,0001$ ). Der Score lag bei den Kühen mit niedriger Dosis bei 2,72, während die Kühe mit hoher Dosis einen deutlich geringeren Score von 2,35 erzielten. Letzterer war vergleichsweise zum Referenzwert erniedrigt.

**Tab. 5.** Vergleich der Auswirkungen von niedrigen und hohen Dosen OTA auf klinische Parameter.

	<b>OTA Niedrige Dosis (5 mg/Kuh/Tag)</b>	<b>OTA Hohe Dosis (50 mg/Kuh/Tag)</b>	<b>SEM</b>	<b>p-Wert</b>	<b>Referenzbereich</b>
<b>Innere Körpertemperatur (°C)</b>	38,40	38,41	0,11	0,9412	38,3–38,8 (26)
<b>Atemfrequenz (Frequenz/min)</b>	48,73	50,74	3,87	0,7217	10–30 (26)
<b>Herzfrequenz (Frequenz/min)</b>	77,51	76,32	1,77	0,6425	60–80 (26)
<b>Pansenauscultation (Frequenz/5 min)</b>	6,04	6,27	0,20	0,4458	5–10 (26)
<b>Pansenscore [1-5]</b>	3,54	3,43	0,12	0,5419	3 (27)
<b>Kotscore [1-5]</b>	2,72	2,35	0	<0.0001	3 (27)

### 3.2. Milchleistung und Milchzusammensetzung

Die Milchleistung sowie die Milchzusammensetzung unterlagen keinen signifikanten Veränderungen während der siebentägigen Expositionszeit mit OTA in der niedrigen und hohen Dosierung. Aus Tab. 6 können die Werte abgelesen werden. Bei der Milchleistung erreichten die Tiere Werte von  $31,75 \text{ L} \pm 0,73 \text{ L}$  bei niedriger OTA-Dosis und  $33,12 \text{ L} \pm 0,73 \text{ L}$  bei hoher OTA-Dosis pro Tag. Die Parameter Fett, Protein und Laktose unterschieden sich nicht signifikant voneinander und lagen, außer beim Milchfett der Gruppe mit hoher Exposition mit einem leicht erniedrigten Wert, im physiologischen Referenzbereich. Sie betragen, in gleicher Reihenfolge, 3,61 % bei der Verabreichung von 5 mg OTA täglich und 3,42 % bei der Verabreichung von 50 mg OTA täglich mit einem SEM von  $\pm 0,22 \%$ , 3,39 % und  $3,43 \% \pm 0,06 \%$ , 4,65 % und  $4,73 \% \pm 0,04 \%$ . Die Bestimmung der Zellzahl ergab Werte von rund 85.000/mL bei niedriger OTA-Exposition und 60.000/mL bei hoher OTA-Exposition mit einem Standardfehler von  $\pm 1.100/\text{mL}$  und lag somit unter dem Maximalwert. Die fettfreie Trockenmasse lag bei 8,74 % und  $8,86 \% \pm 0,08 \%$  und entsprach somit dem Referenzintervall. Die Analyse des Harnstoffes erzielte Ergebnisse im unteren Bereich der Referenzspanne und lag bei 16,75 mg/dL bei den Kühen, welchen die niedrige Dosis OTA zugefüttert wurde und 15,91 mg/dL bei den Kühen, welche die hohe Dosis OTA erhielten. Der SEM betrug  $\pm 1,62 \text{ mg/dL}$ . Aus der Messung des pH-Wertes resultierten ebenso keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen, die beiden Werte waren  $6,56$  bzw.  $6,52 \pm 0,03$  und entsprachen der physiologischen Norm.

**Tab. 6.** Vergleich der Auswirkungen von niedrigen und hohen Dosen OTA auf Milchleistung und Milchezusammensetzung.

	<b>OTA Niedrige Dosis (5 mg/Kuh/Tag)</b>	<b>OTA Hohe Dosis (50 mg/Kuh/Tag)</b>	<b>SEM</b>	<b>p-Wert</b>	<b>Referenzbereich</b>
<b>Milchleistung (L/d)</b>	31,75	33,12	0,73	0,2275	-
<b>Fett (%)</b>	3,61	3,42	0,22	0,5618	3,5–4,5 (28)
<b>Protein (%)</b>	3,39	3,43	0,06	0,6407	3,2–3,8 (28)
<b>Zellzahl (10<sup>3</sup>/mL)</b>	84,59	59,91	11,41	0,1631	<200 (29)
<b>Laktose (%)</b>	4,65	4,73	0,04	0,1444	4,6–5,0 (28)
<b>Fettfreie Trockenmasse (%)</b>	8,74	8,86	0,08	0,3474	8,5–9,5 (30)
<b>Harnstoff (mg/dL)</b>	16,75	15,91	1,62	0,7232	15–30 (28)
<b>pH-Wert</b>	6,56	6,52	0,03	0,4258	6,4–6,7 (28)

### 3.3. Blutchemie und Hämatologie

Die Blutchemie und Hämatologie der Versuchstiere wurden im Vergleich der Gruppe mit niedrig dosiertem OTA zu der Gruppe mit hochdosiertem OTA nicht signifikant beeinflusst. In Tab. 7 sind die Ergebnisse aufgelistet. Kreatinin, Totalprotein und Albumin der zwei verschiedenen Versuchsgruppen unterschieden sich kaum voneinander und entsprachen den physiologischen Referenzwerten. Die Leberwerte AST, GLDH und GGT lagen in beiden Gruppen ebenfalls im Referenzbereich. AST machte bei niedriger OTA-Dosis  $85,33 \text{ U/L} \pm 4,49 \text{ U/L}$  und bei hoher OTA-Dosis  $90,01 \text{ U/L} \pm 4,49 \text{ U/L}$  aus, GLDH lag bei  $21,07 \text{ U/L} \pm 5,01 \text{ U/L}$  und  $16,91 \text{ U/L} \pm 5,01 \text{ U/L}$  und GGT erreichte Werte von  $31,52 \text{ U/L} \pm 3,03 \text{ U/L}$  und  $30,15 \text{ U/L} \pm 3,03 \text{ U/L}$ . Die Hämatologie ergab unauffällige Ergebnisse im Normalbereich. Das Hämoglobin war in der Tiergruppe mit niedriger OTA-Dosis bei  $9,78 \text{ g/dL} \pm 0,21 \text{ g/dL}$  und der Hämatokrit bei  $25,62 \% \pm 0,51 \%$ . In der Gruppe mit hohem OTA erzielte das Hämoglobin ein Ergebnis von  $10,15 \text{ g/dL} \pm 0,21 \text{ g/dL}$  und der Hämatokrit  $26,80 \% \pm 0,51 \%$ . Es lagen keine Hinweise für eine Anämie vor. Die Anzahl der Leukozyten betrug mit niedrigem OTA  $6619,17/\mu\text{L} \pm 337,68/\mu\text{L}$  und mit hohem OTA  $6580,83/\mu\text{L} \pm 337,68/\mu\text{L}$ . Die restlichen Parameter der Hämatologie wie Erythrozytenzahl, MCV, MCH, MCHC, CHCM, MPXI und RDW zeigten Werte im Referenzbereich. Im Differentialblutbild stellten sich die absoluten Anteile der Segmentkernigen, Lymphozyten, Monozyten, Eosinophilen und Basophilen in der physiologischen Norm dar.

Tab. 7. Vergleich der Auswirkungen von niedrigen und hohen Dosen OTA auf Blutchemie und Hämatologie.

	OTA Niedrige Dosis (5 mg/Kuh/Tag)	OTA Hohe Dosis (50 mg/Kuh/Tag)	SEM	p-Wert	Referenzbereich
Kreatinin (mg/dL)	1,02	1,01	0,02	0,6283	1–2 (28)
Totalprotein (g/dL)	7,18	7,13	0,14	0,8366	6–8 (31)
Albumin (g/dL)	4,01	3,95	0	0,5218	-
AST (U/L)	85,33	90,01	4,49	0,4803	43–127 (32)
GLDH (U/L)	21,07	16,91	5,01	0,5761	< 30 (28)
GGT (U/L)	31,52	30,15	3,03	0,7566	15–39 (32)
Erythrozyten (10 <sup>6</sup> /μL)	5,61	5,87	0,13	0,2069	4,9–7,5 (31)
Hämoglobin (g/dL)	9,78	10,15	0,21	0,2646	8,4–12,0 (31)
Hämatokrit (%)	25,62	26,80	0,51	0,1358	21–30 (31)
MCV/ Mittleres Erythrozytenvolumen (fL)	45,72	45,89	0,20	0,5778	36–50 (31)
MCH/ Mittlerer Hämoglobingehalt der Einzelerythrozyten (pg)	17,46	17,37	0,08	0,4589	14–19 (31)
MCHC/ Mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (g/dL)	38,16	37,88	0,16	0,2553	36–39 (33)
Leukozyten (/μL)	6619,17	6580,83	337,68	0,9384	5.100–13.300 (31)
CHCM/ Mittlere zelluläre Hämoglobinkonzentration (g/dL)	37,07	36,85	0,096	0,1433	-
MPXI/ Mittlerer Myeloperoxidaseindex	6,04	5,71	0,62	0,7220	-
RDW/ Erythrozytenverteilungsbreite (%)	16,80	16,31	0,30	0,2764	16–20 (31)

<b>Segmentkernige (/μL)</b>	2809	2753	263,13	0,8858	1700–6000 (31)
<b>Lymphozyten (/μL)</b>	2637	2812	74,73	0,1930	1800–8100 (31)
<b>Monozyten (/μL)</b>	361	430	38,31	0,2365	100–700 (31)
<b>Eosinophile (/μL)</b>	644	537	87,27	0,4070	100–1200 (31)
<b>Basophile (/μL)</b>	55	64	4,58	0,1898	0–200 (31)
<b>Large unstained cells/ unklassifizierbare Zellen (/μL)</b>	52	56	21,42	0,9063	-

---

### 3.4. Futteraufnahme und Kauaktivität

Die Futteraufnahme und Kauaktivität der Kühe während der Zufütterung von OTA wich in den zwei Gruppen nur bei der Kautätigkeit pro Minute signifikant voneinander ab. Die restlichen Parameter hatten keinen signifikanten Unterschied. Die Werte sind in Tab. 8 angeführt. Die Futteraufnahme jedes Versuchstieres betrug in der Gruppe mit niedriger Exposition 22,32 kg TS/d und in der Gruppe mit hoher Exposition 22,86 kg TS/d  $\pm$  0,56 kg TS/d und stieg im Vergleich zu Tag null (niedrige Dosis OTA: 19,75 kg TS/d, hohe Dosis OTA: 20,31 kg TS/d) leicht an. Bei der Fresszeit erreichten die Kühe 164,82 min/d (niedrige Dosis OTA) und 157,07 min/d (hohe Dosis OTA) mit einem Standardfehler von 21,79 min/d. Diese Ergebnisse lagen unterhalb der Werte einer Studie von Braun et al. aus dem Jahr 2015, bei welcher die Tiere tägliche Fresszeiten von durchschnittlich 211 bis 319 Minuten erzielten (34). Jedoch veränderte sich die Fresszeit nicht von der Adaptationsphase an Tag null zur Expositionsphase (Mittelwert: 160,89 min/d; Min: 36,85 min/d; Max: 301,58 min/d). Die Wiederkauzeit lag bei 500,31 min/d und 518,15 min/d  $\pm$  17,95 min/d und war ähnlich zu den Ergebnissen der Studie von Braun et al. aus 2015 (34). Die Anzahl der täglichen Kauschläge im Rahmen der Wiederkautätigkeit erreichte in beiden Gruppen ähnliche Ergebnisse und entsprach den Messungen von Braun et al. aus 2013 (35). Ebenso wurden die Kauschläge während des Fressens untersucht, diese lagen in der Versuchsgruppe mit niedriger OTA-Dosis bei 10078,00/d  $\pm$  1511,13/d und in der mit hoher OTA-Dosis bei 9691,93/d  $\pm$  1511,13/d und lagen somit tendenziell unterhalb der Referenz. Dieser Parameter ergab jedoch während der Phase ohne Verabreichung von OTA vergleichsweise keine Veränderung (Mittelwert: 9936,36/d; Min: 1621,00/d; Max: 20319,00/d). Die Anzahl der Boli innerhalb von 24 Stunden und die Kautätigkeit pro Bolus unterschied sich zwischen den Versuchsgruppen nicht signifikant voneinander und war mit dem jeweiligen Referenzbereich vergleichbar. Die Kautätigkeit pro Minute unterlag einer signifikanten Veränderung ( $p = 0,0376$ ) bei der Gegenüberstellung der Ergebnisse der zwei verschiedenen Gruppen. Die Tiere, welchen 5 mg OTA täglich verabreicht wurde, erreichten eine minütliche Kautätigkeit von  $53,30 \pm 1,90$ . Die Kühe, welche täglich 50 mg OTA aufnahmen, erzielten höhere Werte von  $59,89 \pm 1,90$ . Im Vergleich dazu hatte die Versuchsgruppe mit der niedrigen OTA-Dosis an Tag null eine mittlere Kautätigkeit von 60,18/min (Min: 54,28/min; Max: 64,94/min) und die Gruppe mit der hohen OTA-Dosis erzielten einen mittleren Wert von 53,76/min (Min: 40,13/min; Max: 66,22/min). Das Trinkverhalten wurde anhand der täglichen Trinkzeit und der Anzahl an Schlucken analysiert

und stellte sich unauffällig dar. Die zwei Gruppen mit den unterschiedlichen Dosierungen unterschieden sich in den Ergebnissen nicht signifikant voneinander.

**Tab. 8.** Vergleich der Auswirkungen von niedrigen und hohen Dosen OTA auf Futteraufnahme und Kauaktivität.

	<b>OTA Niedrige Dosis (5 mg/Kuh/Tag)</b>	<b>OTA Hohe Dosis (50 mg/Kuh/Tag)</b>	<b>SEM</b>	<b>p-Wert</b>	<b>Referenzbereich</b>
<b>Futteraufnahme (kg TS/d)</b>	22,32	22,86	0,56	0,5055	-
<b>Fresszeit (min/d)</b>	164,82	157,07	21,79	0,8029	211–319 (34)
<b>Wiederkauzeit (min/d)</b>	500,31	518,15	17,95	0,4951	370–511 (34)
<b>Gesamtkauzeit (min/d)</b>	684,25	658,91	17,33	0,3163	-
<b>Trinkzeit (min/d)</b>	10,03	9,61	1,77	0,8661	-
<b>Kautätigkeit - Wiederkautätigkeit (n/d)</b>	30996,00	31618,00	1301,20	0,7344	15369–31893 (35)
<b>Kautätigkeit - Fressen (n/d)</b>	10078,00	9691,93	1511,13	0,8605	13431–20722 (34)
<b>Gesamtkautätigkeit (n/d)</b>	41127,00	41383,00	1004,77	0,8561	-
<b>Schlucke (n/d)</b>	183,56	163,04	28,84	0,6100	-
<b>Bolus (n/d)</b>	488,82	448,33	34,30	0,4154	347–478 (35)
<b>Kautätigkeit/min</b>	53,30	59,89	1,90	0,0376	-
<b>Kautätigkeit/Bolus</b>	45,00	48,35	2,05	0,2660	44,3–69,4 (35)

### 3.5. SCFA im Kot

Die zwei verschiedenen OTA-Dosen hatten auf die beiden Tiergruppen im Hinblick auf die Verteilung und den Gehalt der verschiedenen kurzkettigen Fettsäuren im Kot eher Auswirkungen auf die totalen Gehalte als auf die prozentualen Anteile der SCFA. In Tab. 9 sind die Ergebnisse ersichtlich. Der Gesamtwert der SCFA betrug bei den Kühen mit niedriger Exposition 52,28  $\mu\text{Mol/g}$  und bei den Kühen mit hoher Exposition 46,66  $\mu\text{Mol/g}$  mit einem Standardfehler von 2,27  $\mu\text{Mol/g}$ . Wenn man dies mit dem Tag 0 vergleicht, dann betrug der Wert 46,76  $\mu\text{Mol/g}$  (Min: 31,68  $\mu\text{Mol/g}$ ; Max: 68,44  $\mu\text{Mol/g}$ ) und war somit ähnlich zur zweiten Gruppe, wich aber geringgradig von der ersten Gruppe ab. Bei den absoluten Gehalten der SCFA im Kot fielen Isobutyrat und Isovalerat auf, welche beide signifikante Veränderungen zwischen den beiden Gruppen aufwiesen. Isobutyrat erreichte Werte von 0,50  $\mu\text{Mol/g}$  bei niedriger OTA-Dosis und 0,51  $\mu\text{Mol/g}$  bei hoher OTA-Dosis und Isovalerat 0,33  $\mu\text{Mol/g}$  und 0,21  $\mu\text{Mol/g}$ . In beiden Fällen war der p-Wert  $<0,0001$  und der SEM betrug 0. Der prozentuale Anteil von Acetat blieb konstant und entsprach den Untersuchungen einer Studie von Neubauer et al. aus 2020. Propionat, Butyrat und Isovalerat wichen ebenso nicht hochgradig von den Referenzen ab (36). Isobutyrat erreichte deutlich niedrigere Ergebnisse als die Studie von Neubauer et al., war jedoch ähnlich zu den Werten von Tag 0 (Mittelwert 1,18 %; Min: 0,70 %; Max: 1,84 %). Valerat unterschied sich in den zwei Gruppen prozentual gesehen signifikant voneinander. Der Wert betrug in der Versuchsgruppe mit niedriger OTA-Exposition 1,09 % und mit hoher OTA-Exposition 1,20 % (SEM 0,28 %). Der Mittelwert von Tag 0 betrug zum Vergleich 1,16 % (Min: 0,95 %; Max: 1,40 %).

**Tab. 9.** Vergleich der Auswirkungen von niedrigen und hohen Dosen OTA auf die Zusammensetzung der kurzkettigen Fettsäuren im Kot.

	<b>OTA Niedrige Dosis (5 mg/Kuh/Tag)</b>	<b>OTA Hohe Dosis (50 mg/Kuh/Tag)</b>	<b>SEM</b>	<b>p-Wert</b>	<b>Referenzbereich</b>
<b>Gesamt (µMol/g)</b>	52,28	46,66	2,27	0,2857	-
<b>Acetat (µMol/g)</b>	38,98	34,66	2,79	0,3390	-
<b>Propionat (µMol/g)</b>	9,27	8,53	0,63	0,4600	-
<b>Isobutyrat (µMol/g)</b>	0,50	0,51	0	<0.0001	-
<b>Butyrat (µMol/g)</b>	2,56	2,28	0,22	0,4212	-
<b>Isovalerat (µMol/g)</b>	0,33	0,21	0	<0.0001	-
<b>Valerat (µMol/g)</b>	0,56	0,54	0,06	0,8191	-
<b>Acetat (%)</b>	74,06	74,53	0,53	0,5660	75,5 ± 0,77 (36)
<b>Propionat (%)</b>	18,20	17,94	0,37	0,6479	14,3 ± 0,29 (36)
<b>Isobutyrat (%)</b>	1,16	0,96	0,13	0,4077	3,9 ± 0,24 (36)
<b>Butyrat (%)</b>	4,84	4,86	0,21	0,9657	4,3 ± 0,17 (36)
<b>Isovalerat (%)</b>	0,73	0,40	0,98	0,0672	0,84 ± 0,047 (36)
<b>Valerat (%)</b>	1,09	1,20	0,28	<0.0001	1,14 ± 0,05 (36)

## 4. Diskussion

Die vorliegende Diplomarbeit setzt sich mit den unterschiedlichen Auswirkungen auf die Gesundheitsparameter und die Leistung von Milchkühen während einer siebentägigen Gabe von OTA in den Dosierungen 5 mg und 50 mg pro Tag auseinander. In anderen Studien wurde bereits gezeigt, dass ein funktioneller Pansen entscheidend für den Abbau von OTA zu OT- $\alpha$  und Phenylalanin und somit für eine höhere Toleranz gegenüber dem Mykotoxin verantwortlich ist (37). Ein Kalb ohne ausgebildetes Pansenmikrobiom ist funktionell einem Monogastrier zuzuordnen und somit deutlich anfälliger für eine akute Mykotoxikose durch OTA (38). Wie bereits vorher erwähnt, hatte eine Gabe von 11 mg OTA/kg KGW bei einem Kalb letale Folgen, eine Kuh tolerierte hingegen 13,3 mg OTA/kg KGW (12). Ein wichtiger Aspekt, der bedacht werden muss, ist die Menge an OTA, welche vom Pansen abgebaut werden kann. Es gibt Hinweise darauf, dass ein Teil des Mykotoxins nicht vom Mikrobiom hydrolysiert wird und somit als OTA resorbiert wird (22). Die Menge, welche nicht dem Abbau unterliegt, wird auf 5–62 % geschätzt und obwohl keine offensichtlichen klinischen Pathologien auftreten, sind die Mengen systemisch vorhanden und beispielsweise im Plasma nachweisbar (38). Basierend auf einer Studie von Hashimoto et al. aus 2016 kann berechnet werden, dass eine durchschnittliche Aufnahme über 28 Tage von 56,5  $\mu$ g OTA täglich nicht im Plasma nachgewiesen werden kann. Bei einer mittleren Dosis von 535  $\mu$ g und 1110  $\mu$ g pro Tag konnten an einigen Tagen Werte nachgewiesen werden, welche die Nachweisgrenze von 0,1 mg/kg überschritten, wobei dies in der Gruppe der höheren Dosis häufiger auftrat (22). In dem aktuellen Versuch waren die Dosierungen mit 5.000  $\mu$ g und 50.000  $\mu$ g OTA täglich um ein Vielfaches höher als in der zuvor beschriebenen Studie, jedoch wurde das Mykotoxin nur über einen Zeitraum von einer Woche verabreicht. Da der Nachweis im Plasma jedoch auch schon an den ersten Tagen erfolgreich war (22), kann davon ausgegangen werden, dass es in diesem Versuch ebenso einen positiven Nachweis gäbe.

Ein bedeutender Faktor im Abbau von OTA durch den Pansen ist die Futterzusammensetzung. Diese bedingt den Anteil der Protozoen, welche als hauptverantwortliche Mikroben im OTA-Abbau beteiligt sind. Ein Krafffutteranteil von 40–60 % hat sich als optimal herausgestellt, um die größte Protozoendichte zu fördern (38). Ist der Krafffutteranteil zu niedrig, fehlt die Energie für die Aufrechterhaltung der Protozoenpopulation. Da sich die Protozoen an größere Partikel im Pansen anheften, um nicht ausgeschwemmt zu werden, kann ein zu hoher Krafffutteranteil zu dieser Ausschwemmung beitragen und die Population reduzieren (38). Im vorliegenden

Versuch betrug der Anteil des Krafftutters 50,4 % (in der TS) und trug somit zur optimalen Protozoendichte bei. Es kann davon ausgegangen werden, dass es deshalb zum höchstmöglichen Abbau von OTA im Pansen gekommen ist, was auch in den Ergebnissen widergespiegelt wird.

Um die verabreichte Dosis OTA in diesem Versuch in Relation setzen zu können, kann man sie mit den Richtlinien von der Europäischen Kommission aus 2006 vergleichen. Diese legen eine maximale Konzentration von 0,25 mg OTA/kg Getreide und Getreideerzeugnisse mit 12 % Feuchtigkeit, welche als Futtermittelausgangserzeugnisse verwendet werden, fest. Ein expliziter Richtwert für Ergänzungs- und Alleinfuttermittel wird für Schweine und Geflügel, jedoch nicht für Rinder erwähnt (24). Der Richtwert von 250 µg/kg in Getreide mit 88 % TS entspricht 284,09 µg/kg mit 100% TS. Die Tiergruppe, welcher täglich 5.000 µg OTA zugefüttert wurde, fraß täglich durchschnittlich 11,25 kg Krafftutter (TS) und zusätzlich 0,9 kg Gerstenmehl (TS), in welcher das Mykotoxin verabreicht wurde, was eine Summe von 12,15 kg ergibt. Folglich beträgt die OTA-Konzentration pro kg Krafftutter 411,52 µg, was zirka dem Eineinhalbfachen des maximalen Richtwertes entspricht. In der zweiten Gruppe mit 50.000 µg OTA täglich, fraßen die Kühe täglich 12,44 kg Krafftutter inklusive mit OTA versetztem Gerstenmehl. Es ergibt sich eine OTA-Konzentration von 4.019,29 µg/kg, welche den Höchstwert von 284,09 µg/kg um das rund 14-fache übersteigt. Folglich kann festgestellt werden, dass in diesem Versuch die Richtwerte in beiden Versuchsgruppen deutlich überschritten wurden.

Für eine Abschätzung der Relevanz der Auswirkungen von OTA ist das Vorkommen dieses Mykotoxins in Futtermitteln zu berücksichtigen. In einer aktuellen Studie aus 2022 wurden auf 100 österreichischen Milchviehbetrieben Futterrationen beprobt. Dabei konnte das Vorkommen von OTA in nur 1 % der Proben mit einem Gehalt von <8 µg/kg festgestellt werden (39). Eine ebenso kürzlich durchgeführte Studie in der nordspanischen Region Navarra aus dem Jahr 2023 untersuchte Futterproben aus 400 Betrieben mit Rindern, Schafen, Schweinen und Geflügel. Die Untersuchungen ergaben 6 % positive Proben aus Futtermitteln für Rinder mit einem maximalen Wert von 7,7 µg OTA/kg. Das Vorkommen des Mykotoxins in Futtermitteln aller vier Tierarten lag bei 5–8 %, wobei im Futter für Schweine die höchsten Werte von 65,5 µg OTA/kg gefunden wurden (40). Rosa et al. führten ihre Studie in Brasilien durch, dabei zeigten ihre Untersuchungen deutlich höhere Resultate an OTA-Gehalten in Futtermitteln für Rinder als die zwei erwähnten Studien aus Europa. Insgesamt wurden 133

Proben an der Produktionslinie in vier Futtermittelfabriken gezogen und auf das Mykotoxin überprüft. Je nach Futtermittel wurde in 0–45 % der Proben OTA nachgewiesen. Die Gehalte beliefen sich dabei auf bis zu 439 µg/kg (41). Aus diesem Vergleich geht hervor, dass das Risiko für negative Auswirkungen durch OTA auf Milchkühe in Österreich durch die niedrigen Gehalte und wenigen positiven Proben als gering einzuschätzen ist. Im internationalen Kontext könnte das Risiko höher ausfallen, wie man an den Ergebnissen der Studie aus Brasilien feststellen kann. Jedoch darf nicht außer Acht gelassen werden, dass sich die Wirkung von OTA trotz niedriger Gehalte verändern kann, wenn es zu einer Kombination mit anderen Mykotoxinen kommt. Es kann zu antagonistischen, additiven oder synergistischen Wechselwirkungen kommen (42). Die zuvor erwähnte spanische Studie aus 2023 untersuchte auch das gleichzeitige Auftreten mehrerer Mykotoxine in den Proben und kam zu dem Resultat, dass 62 % der Futtermittel für Rinder mit mindestens zwei Toxinen belastet waren. Die häufigsten Kombinationen, in welchen OTA enthalten war, waren OTA mit Deoxynivalenol sowie OTA mit Zearalenon und Aflatoxin B1. Diese Kombinationen konnten in 3 % der Futterproben gefunden werden (40).

In diesem Versuch konnten kaum Veränderungen hinsichtlich klinischer Parameter der Kühe unter OTA-Gabe beobachtet werden. Bei einer starken, akuten Intoxikation mit OTA konnten Ribelin et al., wie schon zuvor erwähnt, Appetitlosigkeit, Einstellen der Milchproduktion, Schwierigkeiten beim Aufstehen und Durchfall feststellen (12). Im aktuellen Forschungsdesign handelte es sich bei beiden Versuchsgruppen um Dosen oberhalb der Richtwerte, welche jedoch deutlich niedriger als die Werte der Studie von Ribelin et al. waren (12). Es kam zu keiner Verminderung des Allgemeinbefindens und auch die Futteraufnahme war ungestört. Einige Parameter der Kauaktivität unterschieden sich von den Referenzwerten, jedoch kann man davon ausgehen, dass diese von mehreren Faktoren, wie beispielsweise der Zusammensetzung der Ration, dem physiologischen Stadium, der Leistung und Rasse, abhängen können. In der Milchleistung konnte ebenso keine Verminderung erkannt werden, was auch in einer Studie von Hashimoto et al. aus 2016 bestätigt wurde. Den Kühen wurden über 28 Tage geringe Dosen OTA verabreicht, was weder zu einer Abnahme des Körpergewichts noch zu einer verringerten Milchleistung führte (22). Die Kotkonsistenz unterschied sich jedoch in den beiden Gruppen signifikant voneinander. In der Gruppe mit niedriger OTA-Dosis erreichte sie einen Score von 2,72 und in der Gruppe mit hoher OTA-Dosis 2,35 im Fünf-Punkte-System. Die ideale Konsistenz entspricht dem Score 3, welchen die erste Gruppe beinahe erreichte. Die Konsistenz war in diesem Versuch somit bei höherer

Mykotoxinbelastung flüssiger, was zum Beispiel bei Intoxikationen, Infektionen, Parasiten oder Azidosen auftreten kann (43). Es stellt sich die Frage, ob OTA für die Veränderung in der Kotkonsistenz verantwortlich war und in dieser Dosierung einen dünneren Kot verursacht hat. Es handelte sich jedoch nicht um Durchfall, welcher bei starker Intoxikation auftritt und dem Score 1 entsprechen würde. Möglicherweise äußerte sich der niedrigere Kotscore als eine Vorstufe von diesem. Eine andere mögliche Einflussquelle auf die Kotkonsistenz war die geringgradige Veränderung der SCFA-Zusammensetzung. Die absoluten Anteile von Isobutyrat und Isovalerat und der relative Anteil von Valerat veränderten sich im direkten Vergleich der beiden Versuchsgruppen. Studien über andere Mykotoxine haben gezeigt, dass diese die Pansenfermentation und somit die Zusammensetzung der kurzkettigen Fettsäuren beeinflussen können (44,45). In einer Studie von Wang et al. aus 2020 wurde den Kühen eine Mischung aus mehreren Mykotoxinen, unter anderem Aflatoxin B<sub>1</sub>, im Futter verabreicht. Dabei wurde eine deutliche Veränderung des Gehaltes an Isovalerat festgestellt (44), was auch in einer anderen Studie von Wu et al. bestätigt wurde, wo es zu Veränderungen einzelner SCFA durch Gabe verschiedener Mykotoxine kam (45). Da in diesen Versuchen den Kühen jedoch kein OTA eingegeben wurde, können die Veränderungen der SCFA im Kot im aktuellen Versuch nicht direkt damit in Zusammenhang gebracht werden. Was außerdem in Betracht gezogen werden sollte, sind die Produkte, die beim OTA-Abbau im Pansen gebildet werden. Bei der Hydrolyse durch das Mikrobiom entstehen OT- $\alpha$  und Phenylalanin. Aus Untersuchungen geht hervor, dass Phenylalanin und seine Nebenprodukte sich auf die Fermentation im Pansen auswirken können und in verschiedenen Konzentrationen den Gehalt an Laktat und Acetat verändern können (46). Möglicherweise könnte dies eine Erklärung für die Änderungen der SCFA-Anteile in der Gruppe mit hoher OTA-Dosis sein. Weitere untersuchte Parameter, auf welche die Gabe von OTA in beiden Gruppen keine signifikanten Auswirkungen gezeigt hat, waren die Hämatologie und die Blutchemie. Forschungen mit anderen Mykotoxinen zeigen unterschiedliche Resultate, wo einerseits vermutlich aufgrund niedriger Dosen ebenso keine signifikanten Veränderungen in der Blutchemie auftraten (45). Andererseits konnten Beeinträchtigungen der Leberfunktion festgestellt werden, was durch eine Erhöhung des Wertes GGT deutlich wurde (44). In den vorliegenden Untersuchungen konnte aus der Blutchemie kein Hinweis auf eine Beeinträchtigung von Leber und anderen Organen beobachtet werden, da sich alle Werte innerhalb der physiologischen Referenz befanden. Auch in diesem Fall können die Erfahrungen mit anderen Mykotoxinen nicht auf OTA umgelegt werden, jedoch ist dies möglicherweise ein weiterer Hinweis auf die hohe Abbaumenge von OTA durch das Pansenmikrobiom.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass in diesem Versuch OTA in den Dosen 5 mg und 50 mg täglich, über sieben Tage verabreicht, kaum Auswirkungen auf die Leistung und Gesundheitsparameter der Kühe hatte. Geringgradige Veränderungen konnten in der Gruppe mit hoher OTA-Dosis beim Kotscore, der Kauaktivität und der Zusammensetzung der kurzkettigen Fettsäuren im Kot festgehalten werden. Aufgrund der hohen Abbaurate des Mykotoxins im Pansen, hat sich die Hypothese über keine negativen Auswirkungen bestätigt. Interessant wäre es, die Wirkung von OTA bei unterschiedlicher Fütterung zu untersuchen, welche Auswirkungen auf die Protozoendichte des Pansens haben könnte. Weiters wäre es wissenswert, mehr über die Wechselwirkung anderer Mykotoxine mit OTA zu erfahren, denn diese könnten beispielsweise eine Verstärkung negativer Effekte von OTA auch bei niedriger Dosierung hervorrufen. Bei diesem Versuch handelte es sich um eine akute Exposition mit OTA über sieben Tage, wobei es selten zu akuten Intoxikationen kommt, da hohe Dosen unter Praxisbedingungen im Futter kaum vorkommen. Jedoch könnten chronische Belastungen auch bei geringen Mengen OTA schädliche Auswirkungen auf die Tiergesundheit haben (37), weshalb weitere Untersuchungen mit längeren Verabreichungszeiträumen sinnvoll wären, um die Toleranzmenge der Kühe gegenüber OTA feststellen zu können.

## 5. Literaturverzeichnis

1. Marin S, Ramos AJ, Cano-Sancho G, Sanchis V. Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology*. 1. Oktober 2013;60:218–37.
2. Jouany JP, Yiannikouris A, Bertin G. Risk assessment of mycotoxins in ruminants and ruminant products. *Options Méditerranéennes: Série A Séminaires Méditerranéens*. 2009;85:205–24.
3. Yiannikouris A, Jouany JP. Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. *Animal Research*. 1. März 2002;51(2):81–99.
4. Ogunade IM, Martinez-Tupia C, Queiroz OCM, Jiang Y, Drouin P, Wu F, u. a. Silage review: Mycotoxins in silage: Occurrence, effects, prevention, and mitigation. *Journal of Dairy Science*. 1. Mai 2018;101(5):4034–59.
5. Whitlow L, Hagler W. Mycotoxins in dairy cattle: Occurrence, toxicity, prevention and treatment. *Proc Southwest Nutr Conf*. 1. Januar 2005;124–38.
6. Mostrom MS, Jacobsen BJ. Ruminant Mycotoxicosis: An Update. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 1. November 2020;36(3):745–74.
7. Diaz DE. *The mycotoxin blue book*. 1. Aufl. Nottingham: Nottingham Univ. Press; 2005.
8. Kiessling KH, Pettersson H, Sandholm K, Olsen M. Metabolism of aflatoxin, ochratoxin, zearalenone, and three trichothecenes by intact rumen fluid, rumen protozoa, and rumen bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. Mai 1984;47(5):1070–3.
9. Goncalves BL, Corassin CH, Oliveira C a. F. Mycotoxicoses in Dairy Cattle: A Review. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2015;10(11):752–60.
10. Abidin Z, Khatoon A. Ruminal Microflora, Mycotoxin Inactivation by Ruminal Microflora and Conditions Favouring Mycotoxicosis in Ruminants: A Review. *International Journal of Veterinary Science*. 20. September 2012;1(1):36–43.
11. Mücke W, Lemmen C. *Schimmelpilze: Vorkommen, Gesundheitsgefahren, Schutzmaßnahmen*. 3., überarbeitete und erweiterte Aufl. Landsberg am Lech: Ecomed Biowissenschaften; 2004.
12. Ribelin WE, Fukushima K, Still PE. The toxicity of ochratoxin to ruminants. *Canadian Journal of Comparative Medicine*. April 1978;42(2):172–6.
13. Kőszegi T, Poór M. Ochratoxin A: Molecular Interactions, Mechanisms of Toxicity and Prevention at the Molecular Level. *Toxins*. April 2016;8(4):111.
14. Ringot D, Chango A, Schneider YJ, Larondelle Y. Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update. *Chemico-Biological Interactions*. 5. Januar 2006;159(1):18–46.
15. Gekle M, Sauvart C, Schwerdt G, Silbernagl S. Tubulotoxic mechanisms of ochratoxin A. *Kidney and Blood Pressure Research*. 1998;21:277–9.
16. Gupta RC, Herausgeber. *Veterinary toxicology: basic and clinical principles*. 2nd ed. Amsterdam ; Boston: Elsevier : Academic Press; 2012.
17. International Agency for Research on Cancer (IARC). *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins*. Lyon: IARC; 1993.

18. Pfohl-Leszkowicz A, Manderville RA. Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2007;51(1):61–99.
19. Hult K, Teiling A, Gatenbeck S. Degradation of Ochratoxin A by a Ruminant. *Applied and Environmental Microbiology*. September 1976;32(3):443–4.
20. Özpınar, Haydar H, Bilal, Tanay, Abaş, Ismail, Kutay, Can. Umsatz von Ochratoxin A in Pansenflüssigkeit in vitro. *Facta Universitatis*. 2002;9(1):66–9.
21. Blank R, Rolfs JP, Südekum KH, Frohlich A, Marquardt R, Wolfram S. Effect of roughage:concentrate ratio in the diet on systemic availability and excretion of ochratoxin A in sheep. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 30. August 2004;13(1):673–6.
22. Hashimoto Y, Katsunuma Y, Nunokawa M, Minato H, Yonemochi C. Influence of repeated ochratoxin A ingestion on milk production and its carry-over into the milk, blood and tissues of lactating cows. *Animal Science Journal*. 2016;87(4):541–6.
23. Fink-Gremmels J. The role of mycotoxins in the health and performance of dairy cows. *The Veterinary Journal*. 1. April 2008;176(1):84–92.
24. Europäische Kommission. Empfehlung der Kommission vom 17. August 2006 betreffend das Vorhandensein von Deoxynivalenol, Zearalenon, Ochratoxin A, T-2- und HT-2- Toxin sowie von Fumonisin in zur Verfütterung an Tiere bestimmten Erzeugnissen (2006/576/EG). *Amtsblatt der Europäischen Union*, L 229/7; 2006.
25. VDLUFA (Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten). *Handbuch der landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsmethodik (VDLUFA-Methodenbuch)*. Bd. 3. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. VDLUFA-Verlag; 2012.
26. Baumgartner W, Wittek T. *Klinische Propädeutik der Haus- und Heimtiere*. 9. Aufl. Stuttgart: Enke Verlag; 2018.
27. Hulsen J. *Cow signals: a practical guide for dairy farm management*. Zutphen, Niederlande: Roodbont Publishers; 2005.
28. Moritz A. *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. 7. Aufl. Stuttgart: Schattauer GmbH; 2014.
29. Pantoja JCF, Hulland C, Ruegg PL. Dynamics of somatic cell counts and intramammary infections across the dry period. *Preventive Veterinary Medicine*. 1. Juli 2009;90(1):43–54.
30. Davoodi SH, Shahbazi R, Esmaeili S, Sohrabvandi S, Mortazavian A, Jazayeri S, u. a. Health-Related Aspects of Milk Proteins. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research : IJPR*. 2016;15(3):573–91.
31. Weiss DJ, Wardrop KJ, Schalm OW. *Schalm's veterinary hematology*. 6. Aufl. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2010.
32. Gandra JR, Nunes Gil PC, Gandra ERS, Vale TA del, Barletta RV, Zanferari F, u. a. Productive performance of simmental dairy cows supplemented with ricinoleic acid from castor oil. *Archivos de Zootecnia*. Dezember 2014;63(244):575–85.
33. George JW, Snipes J, Lane VM. Comparison of bovine hematology reference intervals from 1957 to 2006. *Veterinary Clinical Pathology*. 2010;39(2):138–48.

34. Braun U, Zürcher S, Hässig M. Evaluation of eating and rumination behaviour in 300 cows of three different breeds using a noseband pressure sensor. *BMC Veterinary Research*. 4. September 2015;11(231).
35. Braun U, Trösch L, Nydegger F, Hässig M. Evaluation of eating and rumination behaviour in cows using a noseband pressure sensor. *BMC Veterinary Research*. 13. August 2013;9(164).
36. Neubauer V, Petri RM, Humer E, Kröger I, Reisinger N, Baumgartner W, u. a. Starch-Rich Diet Induced Rumen Acidosis and Hindgut Dysbiosis in Dairy Cows of Different Lactations. *Animals*. Oktober 2020;10(10):1727.
37. Battacone G, Nudda A, Pulina G. Effects of Ochratoxin A on Livestock Production. *Toxins*. Juli 2010;2(7):1796–824.
38. Mobashar M, Hummel J, Blank R, Südekum KH. Ochratoxin A in Ruminants—A Review on Its Degradation by Gut Microbes and Effects on Animals. *Toxins*. 21. April 2010;2(4):809–39.
39. Penagos-Tabares F, Khiaosa-ard R, Schmidt M, Bartl EM, Kehrer J, Nagl V, u. a. Cocktails of Mycotoxins, Phytoestrogens, and Other Secondary Metabolites in Diets of Dairy Cows in Austria: Inferences from Diet Composition and Geo-Climatic Factors. *Toxins*. 15. Juli 2022;14(7):493.
40. Muñoz-Solano B, González-Peñas E. Co-Occurrence of Mycotoxins in Feed for Cattle, Pigs, Poultry, and Sheep in Navarra, a Region of Northern Spain. *Toxins*. März 2023;15(3):172.
41. Rosa C, Cavaglieri L, Ribeiro J, Keller K, Alonso V, Chiacchiera S, u. a. Mycobiota and naturally-occurring ochratoxin A in dairy cattle feed from Rio de Janeiro State, Brazil. *World Mycotoxin Journal*. Mai 2008;1(2):195–201.
42. Speijers GJA, Speijers MHM. Combined toxic effects of mycotoxins. *Toxicology Letters*. 10. Oktober 2004;153(1):91–8.
43. Kononoff P, Heinrichs J, Varga G. Using Manure Evaluation to Enhance Dairy Cattle Nutrition. The Pennsylvania State University, Department of Dairy and Animal Science. 2002;
44. Wang Q, Zhang Y, Zheng N, Zhao S, Li S, Wang J. The biochemical and metabolic profiles of dairy cows with mycotoxins-contaminated diets. *PeerJ*. 2020;8:e8742.
45. Wu X, Guo L, Huang G, Tang W, Zhao S, Wang J, u. a. Effects of Dietary Natural Mycotoxins Exposure on Performance, Biochemical Parameters and Milk Small Molecule Metabolic Pathways of Lactating Cows. *Agriculture*. 2022;12(3):420.
46. Wuisman Y, Hiraoka H, Yahaya MS, Takeda M, Kim W, Takahashi T, u. a. Effects of phenylalanine fermentation byproduct and sugarcane molasses on fermentation quality and rumen degradation of whole crop barley (*Hordeum vulgare* L.) silage in situ. *Grassland Science*. 2006;52(2):73–9.

## 6. Abbildungsverzeichnis

<b>Abb. 1.</b> Chemische Struktur von Ochratoxin A, B und C (Kőszegi et al. 2016 (13)).	3
<b>Abb. 2.</b> Wirkmechanismus niedriger Dosen OTA an der Niere (modifiziert nach Gekle et al. 1998 (15)).	4
<b>Abb. 3.</b> Aufstallung der Versuchstiere.	9
<b>Abb. 4.</b> Laufstall mit Liegeboxen und transpondergesteuerten Futtertrőgen.	9
<b>Abb. 5.</b> Pansenbewertung (A) Score 1: <i>Fossa paralumbalis</i> ist mehr als eine Handbreit tief, in der Seitenansicht rechteckige Form. (B) Score 2: <i>Fossa paralumbalis</i> ist eine Handbreit tief, in der Seitenansicht dreieckige Form. (C) Score 3: <i>Fossa paralumbalis</i> ist gerade noch sichtbar, in der Seitenansicht dreieckige Form. (D) Score 4: <i>Fossa paralumbalis</i> ist hinter der letzten Rippe nicht sichtbar. (E) Score 5: Die Lendenwirbel sind nicht sichtbar, kein sichtbarer Übergang zwischen der Flanke und den Rippen (Hulsen 2005 (27)).	11
<b>Abb. 6.</b> Kotkonsistenz. (A) Score 1: Wässrige Konsistenz. (B) Score 2: Düninflüssige Puddingkonsistenz. (C) Score 3: Dickflüssige Puddingkonsistenz, (D) Score 4: Dicke Konsistenz. (E) Score 5: Feste Kotballen (Hulsen 2005 (27)).	12

## 7. Tabellenverzeichnis

<b>Tab. 1.</b> Information über die Versuchstiere (n=12; Fleckvieh).....	7
<b>Tab. 2.</b> Versuchsaufbau mit evaluierten Parametern während der Adaptations- und Expositionsphase. ....	8
<b>Tab. 3.</b> Futterzusammensetzung der Ration. ....	9
<b>Tab. 4.</b> Nährstoffzusammensetzung der Ration.....	10
<b>Tab. 5.</b> Vergleich der Auswirkungen von niedrigen und hohen Dosen OTA auf klinische Parameter.....	16
<b>Tab. 6.</b> Vergleich der Auswirkungen von niedrigen und hohen Dosen OTA auf Milchleistung und Milchzusammensetzung. ....	18
<b>Tab. 7.</b> Vergleich der Auswirkungen von niedrigen und hohen Dosen OTA auf Blutchemie und Hämatologie. ....	20
<b>Tab. 8.</b> Vergleich der Auswirkungen von niedrigen und hohen Dosen OTA auf Futteraufnahme und Kauaktivität.....	24
<b>Tab. 9.</b> Vergleich der Auswirkungen von niedrigen und hohen Dosen OTA auf die Zusammensetzung der kurzkettigen Fettsäuren im Kot. ....	26