

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

Abteilung Bestandsbetreuung für Wiederkäuer
Universitätsklinik für Wiederkäuer
(Leiter: Prof. Dr. Marc Drillich)

Die subklinische Ketose als Risikofaktor für das Auftreten von subklinischer und klinischer Endometritis bei Milchkühen

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von

Alexander Karl

Wien, im Dezember 2022

Betreuer: Dr. Harald Pothmann

Gutachter: Dipl.ECBHM Univ.-Prof. Dr. Thomas Wittek

Abkürzungsverzeichnis

a. p.	ante partum
BHB	Beta-Hydroxybutyrat
EZ	Endometriumszelle
KE	Klinische Endometritis
KON	Kontrollgruppe
NEB	Negative Energiebilanz
NEFA	Nicht veresterte freie Fettsäuren (Non-Esterified-Fatty-Acids)
nonKET	Keine Ketose
PMN	Polymorphkerniger neutrophiler Granulozyt
p. p.	post partum
SE	Subklinische Endometritis
sKET	Subklinische Ketose
TM	Trockenmasse
VER	Versuchsgruppe

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Material und Methode	4
2.1. Gruppeneinteilung und Haltungsbedingungen	4
2.2. Fütterung	6
2.3. Untersuchungen und Probenentnahmen	9
2.3.1. Allgemeinuntersuchung und Blutprobenentnahmen	10
2.3.2. Gynäkologische und zytologische Untersuchungen	10
2.4. Statistik	13
3. Ergebnisse	14
4. Diskussion	22
5. Zusammenfassung	25
6. Summary	26
7. Literaturverzeichnis	27
8. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	33
9. Danksagung	34

1. Einleitung

Milchkühe sind in der frühen Phase der Laktation besonders gefordert zusätzliche Energie für die steigende Milchproduktion aufzunehmen. Die Energiebilanz verändert sich, da der erhöhte Bedarf für die einsetzende Produktion von Milch nicht ausreichend durch die Futteraufnahme gedeckt werden kann. Aus diesem Grund geraten Kühe in diesem Zeitraum physiologisch in eine gewisse negative Energiebilanz (NEB) (Bauman und Bruce Currie 1980, Herdt 2000). Die Anpassung an die metabolischen Veränderungen für eine Milchkuh ist bereits während der Transitphase von außerordentlicher Bedeutung. Kühe, die diese Herausforderungen nicht meistern, haben in dieser Phase ein erhöhtes Risiko für metabolische Störungen und verzeichnen in der Folge einen Rückgang in der Milchleistung (Herdt 2000). In den letzten Jahrzehnten konnte eine kontinuierliche Reduktion in der Fruchtbarkeitsleistung bei Milchkühen festgestellt werden (Walsh et al. 2011). Allerdings gibt es auch Hinweise, dass sich die Fruchtbarkeit bei gleichzeitig steigender Milchleistung verbessern kann (Norman et al. 2009). Genetische Selektion von Kühen mit erhöhter Fitness und Schwerpunkt auf Fruchtbarkeit, zeigten in manchen Eigenschaften Erfolge, jedoch scheint generell die genetische Beeinflussung der Fruchtbarkeit langwierig (Fuerst-Waltl et al. 2016). Aufgrund der eingeschränkten genetischen Einflussnahme ist die Prävention von peripartalen Erkrankungen ein wichtiger Baustein zur Verbesserung der Fruchtbarkeit von Kühen. Als eine der häufigsten peripartalen Erkrankungen mit negativen Auswirkungen auf die Fruchtbarkeit kann die Hyperketonämie (Ketose) angeführt werden (Uribe et al. 1995, Duffield 2000). Diese entsteht in Folge einer unzureichenden Adaption an eine NEB, wenn die Konzentration an nicht veresterten freien Fettsäuren (NEFA) die Kapazitäten der Leber übersteigt. Die subklinische Form der Ketose (sKET) ist durch eine erhöhte Konzentration an zirkulierenden Ketonkörpern in der extrazellulären Flüssigkeit, vorwiegend Beta-Hydroxybutyrat (BHB), ohne klinischer Symptomatik definiert (Andersson 1988, Duffield 2000). Als Grenzwert für das Auftreten einer sKET kann eine BHB-Serumkonzentration von $\geq 1,2$ mmol/L angenommen werden (Duffield et al. 2009, Suthar et al. 2013). Die Prävalenz der sKET bei Milchkühen wird mit 7 % bis 43 % beschrieben (Suthar et al. 2013, Garro et al. 2014, Brunner et al. 2019), wobei diese ihr Maximum im ersten Monat der Laktation erreicht (Kauppinen 1983, Dohoo und Martin 1984, Andersson und Emanuelson 1985). Die Inzidenz von sKET kann bis zu 50 % betragen (Dohoo und Martin 1984, Suthar et al. 2013). Die sKET gilt als Risikofaktor für Fruchtbarkeitsstörungen, z.B. durch vermehrtes Auftreten von ovariellen Zysten und klinischer Endometritiden (Shin et al. 2015). Walsh et al. (2007) beschrieben eine Verringerung des

Erstbesamungserfolgs um 20 % bis 50 % bei Tieren mit erhöhten BHB-Konzentrationen in den ersten zwei Wochen *post partum* (*p. p.*). Zudem konnte eine Verlängerung der Rastzeit, der Gützeit und somit auch der Zwischenkalbezeit bei Kühen mit einer sKET nachgewiesen werden (Rutherford et al. 2016). Subklinische Ketosen werden selten und häufig erst spät erkannt, was sich ungünstig auf die weitere Produktivität auswirkt (Baird 1982). Durch die Verschlechterung der Fruchtbarkeit erhöht sich letztlich auch die Remontierungsrate (Duffield et al. 2009, Ospina et al. 2010, McArt et al. 2015). Die Kosten für einen individuellen Fall einer sKET werden von 150 € bis 250 € angegeben, wobei die Auswirkungen auf die Fruchtbarkeit den zweithöchsten Anteil einnehmen (McArt et al. 2015, Gohary et al. 2016, Steeneveld et al. 2020) (Abb. 1).

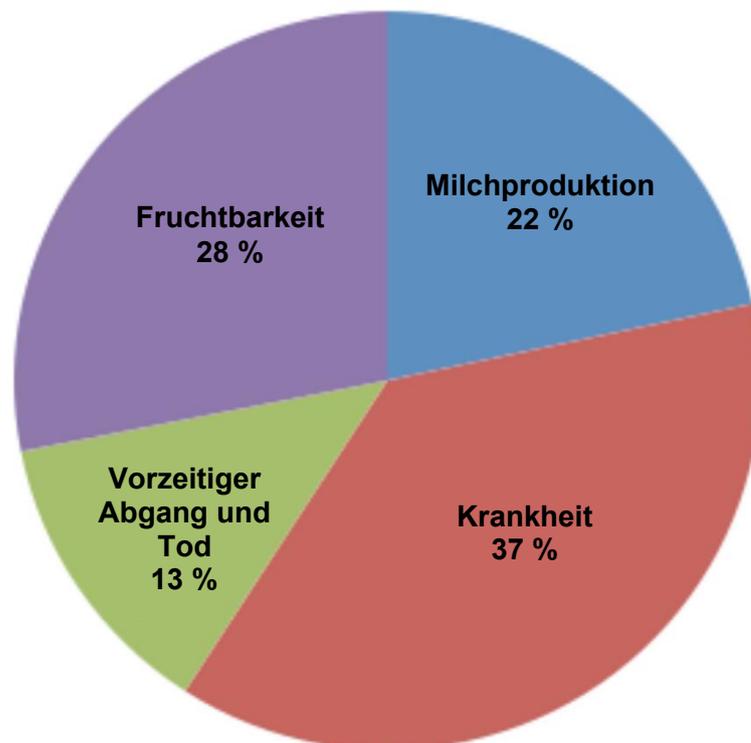


Abb. 1: Aufschlüsselung der Kosten eines individuellen Falles einer subklinischen Ketose (Gohary et al. 2016)

Die Endometritis ist eine der häufigsten postpartalen Erkrankungen, die sowohl in klinischer als auch in subklinischer Form auftreten kann. Die klinische Endometritis (KE) wird als eine Entzündung des Endometriums mit mukopurulenten oder purulenten vaginalen Ausfluss, ohne systemische Krankheitserscheinungen, definiert (LeBlanc et al. 2002, Sheldon et al. 2006). Prävalenzen einer KE in den Herden von 9,6 % (Dubuc et al. 2010a) bis hin zu 67,2 %

(Nyabinwa et al. 2020) werden beschrieben. Bei der subklinischen Endometritis (SE) handelt es sich um eine Entzündung des Endometriums ohne vaginalen Ausfluss und ohne klinische Allgemeinsymptome (Gilbert et al. 2005). Sie geht mit einer relativen Erhöhung der polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN) zur Gesamtzahl an Endometriumzellen (EZ) einher (Kasimanickam et al. 2004, Sheldon et al. 2006). Die Höhe der Prävalenz einer SE hängt u.a. vom Zeitpunkt der Entnahme (Laktationstage) und der Probentechnik (z.B. Uterus-Lavage, Cytobrush-Technik, Biopsie) ab (Kasimanickam et al. 2004, Boer et al. 2014) und wird mit 26 % bis 53 % bei Kühen 40 bis 60 Tage *p. p.* beziffert (Gilbert et al. 2005, Cheong et al. 2011).

Das Auftreten einer sKET wird von vielen Autoren als ein prädisponierender Faktor für die Entstehung einer SE bzw. einer KE angesehen (Hammon et al. 2006, Dubuc et al. 2010b, Galvão et al. 2010, Shin et al. 2015), während andere Autoren keine Zusammenhänge nachweisen konnten (Kaufmann et al. 2010, Yáñez et al. 2022).

Aufgrund der kontroversiellen Diskussion der Zusammenhänge zwischen sKET und SE bzw. KE war es Ziel der vorliegenden Diplomarbeit, die Auswirkung einer ausgeprägten NEB *p. p.*, in Form der sKET, auf die Uterusgesundheit zu überprüfen und mit Kontrolltieren (ohne sKET) zu vergleichen. Die aufgestellte Arbeitshypothese war, dass Kühe mit sKET häufiger an SE oder KE *p. p.* erkranken und erhöhte NEFA-Konzentrationen *a. p.* ein Risikofaktor für eine Endometritis sind.

2. Material und Methode

Die vorliegende Studie war Teil einer größeren Gesamtstudie, welche sich mit der physiologischen Funktion sowie den Auswirkungen einer ausgeprägten NEB auf Erkrankungen des Uterus und des Eileiters bei Milchkühen beschäftigte. Es erfolgte eine Meldung an die Ethikkommission, zudem wurde eine Tierversuchsgenehmigung gemäß § 8 des Tierversuchsgesetzes 2014 (TVG 2014) eingeholt und bewilligt (BMWFV-68.205/0162-WF/V/3b/2017).

Die nachfolgenden Untersuchungen fanden über den Zeitraum von Mai 2018 bis Dezember 2019 an der VetFarm der Veterinärmedizinischen Universität Wien statt. Zum Zeitpunkt der Studie umfasste die Herde etwa 80 Milchkühe der Rasse Fleckvieh. In den Jahren 2018 und 2019 betrug die durchschnittliche Milchleistung der Herde 9.247 kg bzw. 8.555 kg pro Kuh (305-Tage Standardlaktation). Gemolken wurde zwei Mal täglich in einem 2 x 4 Tandem-Melkstand.

2.1. Gruppeneinteilung und Haltungsbedingungen

Für die Studie wurden insgesamt 54 trockenstehende Milchkühe ca. sieben Wochen vor dem berechneten Abkalbetermin von der Hauptherde getrennt und in einem angrenzenden Laufstallbereich aufgestellt. Die Studientiere wurden alternierend in zwei Fütterungsgruppen eingeteilt, wobei 27 Tiere der Kontrollgruppe (KON) und weitere 27 der Versuchsgruppe (VER) zugewiesen wurden. Die Einteilung der Studientiere und die berechnete Tierzahl erfolgte in Anlehnung an die Studie von Urdl et al. (2015). Demnach wurde die KON auf Basis der Bedarfsangaben der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (2017) *ante partum* (*a. p.*) bedarfsgerecht (100 %) gefüttert, hingegen die VER über ihren energetischen Bedarf hinaus (125 %) versorgt wurde. Während die Versorgung der KON *p. p.* unverändert bei 100 % blieb, wurden die Kühe der VER unterhalb des energetischen Bedarfs (75 %) gefüttert (Tab. 1). Ziel war es, die VER in eine kontrollierte, mittelstarke NEB und damit in eine sKET zu leiten, wohingegen die KON in einer stabilen Stoffwechsellage mit keiner übermäßig ausgeprägten NEB gehalten werden sollte.

Tab. 1: Tägliche Energie- (MJ NEL) und Rohproteinversorgung (g) der Gruppen KON und VER *ante partum* (a. p.) und *post partum* (p. p.) sowie Bedarfsdeckung (in %) anhand der Empfehlungen der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (2017)

	Energie (MJ NEL) a. p.	Nutzbares Rohprotein (g) a. p.	Energie (MJ NEL) p. p.**	Nutzbares Rohprotein (g) p. p.**
KON (100%*)	65,0 - 72,0	1 350 - 1 600	122,4	2 695
VER (125 % a. p. bzw. 75% p. p.)	81,2 - 90,0	1 688 - 2 000	91,8	2 021

KON: Kontrollgruppe; VER: Versuchsgruppe; MJ NEL: Megajoule Nettoenergielaktation;

*Empfehlungen der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (2017): Erhaltungsbedarf einer trockenstehenden Kuh (Frühstrockensteher bis Vorbereiter) mit 700 kg Lebendgewicht bzw. Erhaltungs- und Leistungsbedarf einer Milchkuh mit 700 kg Lebendgewicht bei einer Milchleistung von 25 kg, Milchfettgehalt von 4,0 % und einem Milcheiweißgehalt von 3,6 %

** Berechnung für 25 kg Milchleistung

Durch tägliche Messungen der BHB-Konzentrationen in der ersten Laktationswoche sowie an den Tagen 14 (+/-2), 28 (+/-2) und 42 (+/-2) wurde die Entwicklung der NEB kontrolliert und das Auftreten einer sKET dokumentiert. Alle Tiere, die den BHB-Grenzwert von $\geq 1,2$ mmol/L (Duffield et al. 2009) an mindestens einem der Kontrolltage überschritten, wurden der Gruppe subklinische Ketose (sKET) zugeteilt. Kühe mit einer BHB-Konzentration $< 1,2$ mmol/L wurden der Nicht-Ketose Gruppe (nonKET) zugeordnet.

Die Futteraufnahme und der allgemeine Gesundheitsstatus der Tiere wurde täglich von wissenschaftlichen Mitarbeitern der VetFarm kontrolliert. Zeigten Studientiere im Laufe der Versuchsperiode Anzeichen einer klinischen Erkrankung, wie z.B. eine erhöhte innere Körpertemperatur mit reduzierter Fresslust oder sonstiges vermindertes Allgemeinverhalten, wurden die betroffenen Kühe medizinisch versorgt und schieden folglich aus der Studie aus.

Der Versuchsstall verfügte über eine Einzelfutterstrecke mit insgesamt 20 Trögen, davon standen den Studientieren zehn Tröge zur Verfügung. Dementsprechend durchliefen maximal zehn Tiere den Versuchszyklus im selben Zeitintervall. Neue Kühe wurden erst in den Versuch aufgenommen, wenn Studientiere den 42. Tag p. p im Versuch absolviert hatten.

Die Fressplatzbreite pro Kuh in der Einzelfutterstrecke betrug 70 cm. Weiters verfügte der Bereich über drei Tränkebecken und einen Kraffutterautomaten. Den Tieren standen zehn Einzelliegeboxen mit Stroh-Mist-Matratzen (2,25 m Länge, 1,2 m Breite) und eine Tiefstreubox mit 15,5 m Länge und 7 m Breite zur Verfügung. In der Gruppen-Box erfolgten die Abkalbungen, wobei die Kälber nach der Geburt sofort von den Muttertieren getrennt und in Einzelglus verbracht wurden. Die planbefestigten Laufgänge wiesen eine Breite von 3,6 m zwischen Wand und Trog bzw. 3,0 m zwischen Tränke und Trog auf. Die Entmistung erfolgte mehrmals täglich mittels automatischen Schrappers. Die Entmistung und Einstreuung der Tiefstreuboxen erfolgte einmal im Monat durch das Stallpersonal.

2.2. Fütterung

Die Fütterung erfolgte über ein automatisiertes Fütterungssystem (Firma Trioliet, Niederlande). Die aufgewertete Grundfütterration setzte sich aus den folgenden Rationskomponenten zusammen: Gras-Luzerne-Silage, Maissilage, Heu, Stroh und Rindastar 39 XP (Firma Schaumann, Brunn am Gebirge, Österreich). Die genannten Komponenten wurden den trockenstehenden und den laktierenden Kühen angeboten, unterschieden sich jedoch in den Verhältnissen, um den Rohprotein- sowie den Energiebedarf der jeweiligen Gruppen zu entsprechen.

Zur Berechnung der Rationen wurden vor Beginn des Versuchs Grundfutterproben vom Futtermittellabor Rosenau (Petzenkirchen, Österreich) analysiert (Tab. 2). Mittels eines Trockenschrankes wurde die Trockenmasse (TM) der einzelnen Komponenten sowie der gesamten Mischration einmal wöchentlich direkt am Betrieb bestimmt. Auf Basis dieser Ergebnisse erfolgte die Rationsgestaltung in Hinblick auf Energie- und Rohproteinbedarf.

Die Ration wurde energetisch für eine tägliche Milchleistung von 25 kg Milch erstellt. Diese Einsatzleistung wurde anhand der durchschnittlichen Milchleistung der Herde des Vorjahrs (1. Kontrolle nach dem Abkalben) errechnet. Bei höheren Leistungen wurden pro kg Milch 0,5 kg einer hofeigenen Mischung (ca. 6,7 MJ NEL/kg TM) aus gequetschtem Weizen, Gerste und Mais leistungsorientiert über die Kraffutterstation zugefüttert. Die Zufütterung erfolgte individuell und war mit einer maximalen Menge von 4,5 kg begrenzt. Diese Leistungsanpassung erfolgte auf Basis der Milchleistungsdaten einmal wöchentlich.

Tab. 2: Rationskomponenten, Nährstoff-Zusammensetzung und die tägliche Nährstoffaufnahme pro Kuh der Kontroll-(KON) und Versuchsgruppe (VER) *ante partum* (a. p.) und *post partum* (p. p.)

Rationskomponenten	Nährstoffzusammensetzung		
	TM %	MJ NEL/kg TM	g nXP/kg TM
Maissilage	41,3	6,6	131,0
Grassilage	31,8	5,5	125,0
Heu	86,0	5,5	135,0
Gerstenstroh	88,0	3,7	39,0
Rindastar 39 XP*	88,0	6,7	400,0
Ration a. p.		5,8	130,5
Ration p. p.		6,1	157,0
Mittlere Futtermengen (TM kg/Tag)			
	TM kg	MJ NEL/kg TM	g nXP/kg TM
11,6 (KON a. p.)	15,5 (VER a. p.)	20,5 (KON p. p.)	15,4 (VER p. p.)

TM: Trockenmasse; MJ NEL: Mega Joule Netto Energie-Laktation; nXP: Nutzbares Rohprotein; * Fa. Schaumann

Die automatische Fütterung erfolgte einmal täglich um 13 Uhr. Davor wurden die Einzelfuttertröge händisch gereinigt, die Waagen (Aufzeichnung der Futtermengen) kontrolliert und die Sensoren (für individuellen Zugang zum Trog) gesäubert. Der Mischwagen wurde mit den jeweiligen Rationskomponenten in folgender Reihenfolge befüllt: Stroh, Heu, Grassilage, Maissilage, Rindastar und Wasser. Die Mengenkontrolle der einzelnen Komponenten erfolgte über die integrierte Waage des Systems, dabei wurde eine Abweichung von 5 % zur den errechneten Rationsmengen toleriert. Die Mischzeit betrug insgesamt ca. 15 Minuten. Die tierindividuell zugeteilten Tröge wurden im Anschluss manuell befüllt. Um einen reibungslosen Ablauf des Versuchs zu gewährleisten, wurden die Studentiere zwei Wochen vor Versuchsbeginn an das System und ihren jeweiligen Fressplatz gewöhnt. In dieser „Anlernphase“ erfolgte die Fütterung *ad libitum*.

Alle Tiere waren mit einem Mikrochip (Compident Tiris AF-Ohrchip, Fa. Schauer, Prambachkirchen, Österreich) am Ohr ausgestattet, durch welchen eine individuelle Zuweisung zu den jeweiligen Futtertrögen erfolgte. Die maximale Menge an Futter, welche bei

einem einzelnen Fressvorgang aufgenommen werden konnte, wurde jedoch auf 10 kg beschränkt. Nach Erreichen dieser Grenze schloss sich der Trog und blieb für eine Minute gesperrt. Die Anzahl der möglichen Fressvorgänge wurde nicht limitiert.

Die Transpondernummern (Identifikation der Kuh), der Zeitpunkt sowie die Menge der Futteraufnahme wurden durch die Einzelfuttertröge automatisch über 24 h aufgezeichnet und an den Stallcomputer der VetFarm mit dem Programm Ceres (Ceres Herd Management, Pearson International LLC, Irland) übermittelt.

2.3. Untersuchungen und Probenentnahmen

Tabelle 3 gibt eine Übersicht über die Untersuchungen und Probenentnahmen aller Studientiere zu den jeweiligen Produktionstagen (trockenstehend: *a. p.* bzw. laktierend: *p. p.*).

Tab. 3: Zeitplan der Untersuchungen und Probenentnahmen.

Tage	Untersuchung	Probe
42 <i>a. p.</i>	- Klinische Untersuchung - BHB - NEFA	Kapillarblut Vollblut
14 <i>a. p.</i>	- BHB - NEFA	Kapillarblut Vollblut
0 (Tag der Geburt)	- Klinische Untersuchung - BHB - NEFA	Kapillarblut Vollblut
1 bis 13 <i>p. p.</i>	- BHB jeden 2. Tag	Kapillarblut
7 <i>p. p.</i>	- Klinische Untersuchung rektal (R), vaginal (V) - Cytobrush - BHB	Endometrium Kapillarblut
14 <i>p. p.</i>	- Klinische Untersuchung (R, V) - Cytobrush - BHB - NEFA	Endometrium Kapillarblut Vollblut
28 bis 34 <i>p. p.</i> *	- Klinische Untersuchung (R, V) - BHB - Cytobrush	Kapillarblut Endometrium und Eileiter (bilateral)
40 bis 46 <i>p. p.</i> *	- Klinische Untersuchung (R, V) - BHB - Cytobrush	Kapillarblut Endometrium und Eileiter (bilateral)

*Untersuchung fand an einem der Tage innerhalb der Zeitspanne statt

a. p.: *ante partum*; *p. p.*: *post partum*; BHB: Beta-Hydroxybutyrat; NEFA: Nicht veresterte freie Fettsäuren

2.3.1. Allgemeinuntersuchung und Blutprobenentnahmen

Bei den Probenentnahmen *a. p.* erfolgten eine genaue Adspektion sowie Beurteilung des Allgemeinverhaltens der einzelnen Tiere nach Baumgartner (2014). *Post partum* wurde zusätzlich einmal täglich die innere Körpertemperatur am Tag 0 (Tag der Abkalbung) und an den Tagen 1-7 gemessen.

Der Ablauf der Blutprobenentnahmen zur Messung der BHB- bzw. der NEFA-Konzentrationen wurde in Tab. 3 bereits beschrieben. Die BHB-Konzentrationen wurden mit den von Iwersen et al. (2013) validierten Schnelltests (Freestyle Precision, Fa. Abbott, Illinois, USA) gemessen. Hierfür wurde die Vulva mit einer Lanzette angeritzt (Kanz et al. 2015) und der gewonnene Blutstropfen für die Messung verwendet.

Für die Bestimmung der NEFA-Konzentrationen wurde mittels Vacutainer-System Vollblut aus der *Vena caudalis mediana* in ein 10 ml Serumröhrchen mit Gerinnungsfaktor (Fa. Greiner bio-one, Kremsmünster, Österreich) verbracht, gekühlt und im Anschluss im Labor zentrifugiert. Danach wurde das Serum abpipettiert, in ein 2 ml Röhrchen übertragen und bei -20° C in einem Gefrierschrank tiefgefroren. Am Ende des Versuchs erfolgten die NEFA-Konzentrationsmessungen im Zentrallabor der Veterinärmedizinischen Universität Wien.

Tiere, welche eine BHB-Konzentration $\geq 1,2$ mmol/L aufwiesen, wurden der sKET-Gruppe zugeteilt (Duffield et al. 2009). Eine NEFA-Konzentration von $< 0,3$ mmol/L *a. p.* wurde als physiologischer Grenzwert gewählt (Kaufmann et al. 2010).

2.3.2. Gynäkologische und zytologische Untersuchungen

Bei jedem Tier wurde eine gynäkologische Untersuchung durchgeführt. Hierbei erfolgte eine Adspektion des äußeren Genitales, eine vaginale Untersuchung mit einem sterilen Röhrenspekulum (Vaginoskopie) und eine transrektale Palpation des Uterus. Zuerst erfolgte eine Trockenreinigung der Vulva mittels Zellstoffs, anschließend wurde das Röhrenspekulum mit einer NaCl Lösung befeuchtet und in die Vagina eingeführt. Es wurde die Form und der Öffnungsgrad des äußeren Muttermundes, die Farbe und Feuchtigkeit der Vaginalschleimhaut sowie die Menge und Beschaffenheit des vaginalen Sekretes beurteilt. Im Zuge der rektalen Untersuchung wurde die Größe, Symmetrie, Kontraktibilität sowie die Konsistenz des Uterus bestimmt. Sämtliche Befunde wurden auf Basis des Schlüssels zur Dokumentation von

gynäkologischen Befunden am Rind nach Baumgartner (2014) erhoben. Die Beurteilung der vaginalen Flüssigkeit und die Definition einer KE erfolgte nach Williams et al. (2005).

Die intrauterine Probenentnahme fand an den Tagen 7, 14, 28 und 42 *p. p.* statt. Die Gewinnung von zytologischen Material erfolgte mittels der Cytobrush-Technik (Kasimanickam et al. 2004). Das autoklavierte Cytobrush (Gynobrush, Heinz Herenz, Hamburg, Deutschland) ist ein Nylonbürstchen auf einem Kunststoffstab, der an der Sollbruchstelle auf 6,5 cm gekürzt wurde. Mittels eines Bohrers wurde ein Loch in das untere Ende gebohrt und das Cytobrush an die Spitze eines Metallstabs (65cm Länge, 4mm Durchmesser) aufgeschraubt. Zum Schutz vor Kontamination wurde ein Hartplastik-Besamungskatheter und eine Kunststoffhülle (Minitüb, Abfüll- und Labortechnik GmbH & Co., Tiefenbach, Deutschland) über den Metallstab samt Cytobrush gezogen (Abb. 2).



Abb. 2: Cytobrush und Material. 1 = Metallstab, 2 = Hartplastik-Schutzhülle, 3 = Cytobrush, 4 = 1-3 zusammengesetzt in Kunststoffhülle (Bild: Harald Pothmann)

Nach trockener Reinigung der Vulva mittels Zellstoffs, wurde das Instrumentarium unter rektaler Kontrolle durch die Zervix in das *Corpus uteri* vorgeschoben und die schützenden Hüllen zurückgezogen. Die Gewinnung des Zellmaterials erfolgte nun durch eine drehende Bewegung des Bürstchens entlang des Endometriums. Nach anschließendem Zurückziehen des Cytobrush in den Plastik-Katheter, wurde dieser aus dem Genitaltrakt entfernt und in einen Rektalhandschuh verbracht und sofort in die Probenaufbereitungsräume der VetFarm

transportiert. Dort erfolgte die zytologische Auswertung: Dafür wurden Objektträger mit einer alkoholischen Lösung gereinigt und anschließend luftgetrocknet. Das gewonnene Zellmaterial auf dem Cytobrush wurde auf einem Objektträger ausgerollt, fixiert (Alkohol), gefärbt, (Hemacolor, Merck, Darmstadt, Deutschland) und zuletzt luftgetrocknet. Jeder Objektträger wurde sowohl mit der Transpondernummer der jeweiligen Kuh als auch mit dem Datum der Probenentnahme gekennzeichnet. Jedes Präparat wurde mit einem Durchlichtmikroskop (Zeiss KF 2, Dürckheim, Deutschland) in gleicher Art und Weise vom rechten oberen Blickfeld mäanderförmig durchgesehen und eine Gesamtzahl von 300 EZ und PMN gezählt (Abb. 3). Das Verhältnis von $\geq 5\%$ PMN an der Gesamtzellzahl definierte die Diagnose einer SE (Melcher et al. 2014, Prunner, Pothmann et al. 2014).

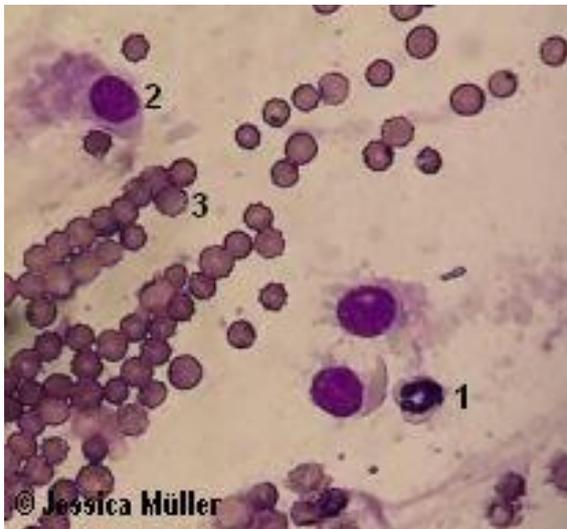


Abb. 3: Mikroskopisches Bild eines Cytobrush-Ausstriches. 1 = polymorphkerniger neutrophiler Granulozyt (PMN), 2 = Endometriumszelle, 3 = Erythrozyt; (Bild: Jessica Müller)

2.4. Statistik

Die statistische Datenanalyse erfolgte unter Verwendung des Tabellenkalkulationsprogrammes Excel (Excel 2016, Microsoft Office, Redmond, WA, USA). Median, Minimum, Maximum und die Quartile der nicht-normal verteilten Werte der NEFA- und BHB-Konzentrationen (Kolmogorov-Smirnow-Test) in den Gruppen nonKET und sKET wurden in der deskriptiven Statistik beschrieben. Die Mediane an NEFA, BHB und PMN zwischen nonKET und sKET wurden mit dem Mann-Whitney-U Test verglichen. Mittels Chi-Quadrat-Test nach Pearson wurden die Unterschiede in den Häufigkeiten zwischen erhöhten NEFA-Werten *a. p.* bzw. dem Auftreten einer sKET und der Diagnose SE bzw. KE an den Tagen 7, 14, 28 und 42 *p. p.* analysiert. Ein ordinale Regressionsmodell untersuchte Zusammenhänge zwischen der SE, KE und gesundem Uterus (abhängigen Variablen) und erhöhten NEFA *a. p.* bzw. sKET an den Tagen 7, 14, 28 und 42 *p. p.* (Kovariaten). Der Korrelationskoeffizient nach Spearman wurde berechnet, um einen linearen Zusammenhang zwischen dem prozentuellen Anteil an PMN und der NEFA- bzw. der BHB-Konzentration festzustellen. Das Signifikanzniveau wurde mit $P \leq 0,05$ festgelegt.

3. Ergebnisse

Insgesamt wurden 67 trockenstehende Kühe für diese Studie herangezogenen, wobei acht Tiere aufgrund einer akuten Metritis, drei mit klinischer Ketose sowie zwei Kühe wegen mangelnder Adaption an die Futterautomaten ausgeschlossen werden mussten. Die erkrankten Tiere wurden nach Ausschluss entsprechend tierärztlich behandelt. Schlussendlich durchliefen 54 Kühe den gesamten Versuch.

Die Gruppeneinteilung der Studientiere anhand der BHB-Konzentration *p. p.* (Grenzwert $\geq 1,2$ mmol/L) ergab 26 nonKET und 28 sKET. Eine Übersicht über die NEFA- und BHB-Messwerte, die Ergebnisse der Vaginoskopie (KE) sowie der zytologischen Auswertung (PMN%) der einzelnen Kühe liefert die Tabelle 4.

Tab. 4: Median, Minimum und Maximum (in Klammern) der nicht veresterten freien Fettsäuren (NEFA, mmol/L) *ante partum* (*a. p.*: gemittelt aus Tag 42 und 14 *a. p.* und Tag 0) und Beta-Hydroxybutyrat (BHB, mmol/L)-Konzentrationen *post partum* (*p. p.*) an den Probetagen (T) der einzelnen Kühe in Gruppe ohne Ketose (nonKET) und Gruppe subklinische Ketose (sKET). Klinische Endometritis (KE) und Endometritis-Score (1, 2 oder 3) nach Williams et al. (2005). Anteil der polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN %) der Uterusabstriche an den Probetagen.

Gruppe	Kuh Nr.	NEFA	BHB					KE	PMN %			
		(min/max)	T0	T7	T14	T28	T42	(Score)	T7	T14	T28	T42
nonKET (n = 26)	3	0,15 (0,08/0,26)	0,6	0,8	0,7	0,9	0,7		1	0	0	0
	4(1)*	0,13 (0,1/0,83)	0,4	0,6	1,1	0,9	1,1		2	2	6	4
	4(2)	0,001 (0,001/1,21)	1,5	0,5	0,5	0,6	0,8		0	79	2	0
	5	0,03 (0,02/0,8)	0,3	0,7	0,6	0,7	0,4		90	19	1	2
	7	0,25 (0,18/0,92)	0,8	0,7	0,9	1,1	0,8	7(3)/ 14(2)/ 28(2)	–	33	63	2
	8	0,28 (0,13/0,41)	0,3	0,6	0,7	0,7	1,1	14(1)	0	0	1	0
	14	0,23 (0,07/0,39)	–	0,5	0,4	–	–	14(2)	0	1	0	0
	28	0,55	05	0,7	0,4	0,6	0,4	14(3)	1	22	0	1

		(0,1/2,02)										
	31	0,02 (0,01/0,4)	04	0,6	0,7	0,7	0,5	7(1)	-	7	1	0
	38	0,3	0,3	04	0,5	0,7	0,6	7(1)/ 14(3)/ 28(2)	1	39	95	16
	44	0,96 (0,23/1,69)	0,6	0,8	0,9	0,8	0,8	7(2)/ 14(2)/ 42(1)	0	19	0	0
	47(1)	0,33 (0,06/0,53)	-	0,6	0,8	1,0	0,8		6	20	0	1
	47(2)	0,5 (0,17/0,83)	0,5	0,6	0,4	0,4	0,6	14(1)/ 28(2)	-	3	/	0
	50	0,18 (0,09/0,36)	0,3	05	0,5	0,4	0,4	7(1)	0	0	0	0
	53	0,1 (0,02/0,24)	0,4	0,6	0,4	0,4	0,6	7(3)/ 28(1)	/	2	8	20
	55(1)	0,12 (0,1/0,14)	-	0,6	0,7	-	-	7(3)/ 14(1)	-	76	69	0
	55(2)	0,35 (0,13/0,56)	0,4	0,7	0,4	0,3	0,4	7(3)/ 14(2)/ 28(1)	75	0	24	3
	62	0,47 (0,16/0,78)	0,8	0,9	0,6	0,6	1,0	28(1)	2	1	0	4
	69	0,02 (0,02/0,36)	0,5	0,4	0,6	0,8	0,9	14(2)	1	0	0	0
	71	0,43 (0,24/1,1)	0,8	0,8	0,4	0,5	0,3		10	1	0	0
	73	0,17 (0,11/0,23)	0,3	0,5	0,5	1,0	0,6	14(1)	14	8	0	0
	82(1)	0,42 (0,14/0,59)	0,4	0,6	0,8	-	-	7(1)	8	11	0	-
	82(2)	0,13 (0,05/0,29)	0,4	0,7	0,6	0,4	0,2	7(3)/ 14(2)	14	42	2	5
	85(2)	0,24 (0,2/0,56)	1,1	0,9	1,1	0,6	0,6		3	3	0	23
	92	0,12 (0,09/0,77)	0,3	0,7	0,8	0,8	-	7(3)/ 14(2)/ 28(3)/ 42(2)	10	67	62	63
	98	0,14 (0,08/0,36)	0,6	0,6	0,8	-	-	14(2)	0	11	0	0
sKET (n = 28)	1	0,44 (0,17/0,68)	0,5	0,5	2,1	3,3	0,8	7(2)/ 14(1)	47	70	1	0
	2	0,27 (0,12/0,64)	0,4	1,0	0,8	1,9	-		0	0	0	0
	6	0,33 (0,32/1,85)	1,1	1,2	0,7	0,5	0,5	7(1)/ 28(2)	0	58	0	15
	11	0,31 (0,12/1,74)	1,2	3,4	1,8	2,7	1,0	14(2)	2	0	0	0

18	0,33 (0,27/0,39)	0,6	1,1	0,8	1,8	0,6	7(3)/ 14(1)	2	2	10	2
19	0,05 (0,03/0,07)	0,7	1,3	0,8	1,0	0,7	7(3)/ 14(3)	7	68	35	0
22	0,23 (0,13/0,74)	0,5	0,7	2,1	0,9	2,2	14(1)	10	20	0	0
23	0,34 (0,13/0,55)	0,3	2,2	0,9	3,6	0,8	7(3)/ 14(2)	15	5	2	3
29	0,17 (0,11/1,19)	0,7	1,8	0,5	1,9	0,7		92	/	2	0
30	0,5 (0,17/0,77)	0,4	0,7	0,7	2,3	1,1	7(3)/ 14(2)	-	32	7	2
32	0,16 (0,13/0,33)	0,6	1,8	0,7	0,8	0,5	14(1)	3	14	0	0
35	0,13 (0,11/0,18)	0,3	1,2	-	0,8	0,9	7 (1)	90	89	30	-
37	0,18 (0,12/0,92)	0,7	3,3	1,8	1,3	0,6	7(3)/ 14(1)	1	6	1	1
43	0,1 (0,09/0,11)	0,8	1,1	1,6	0,4	0,4	14(1)	98	91	/	0
46	0,13 (0,05/0,46)	0,4	2,2	2,4	2,8	2,0		74	10	0	0
51	0,19 (0,12/0,64)	0,3	0,7	1,2	1,3	0,9		24	1	0	2
52	0,29 (0,18/1,06)	0,7	0,5	1,1	1,3	0,3	7(1)	0	58	55	1
54	0,23 (0,06/0,4)	0,6	1,1	2,7	3,2	5,1	7(3)/ 14(2)/ 28(3)/ 42(2)	2	99	89	99
56	1,05 (0,21/1,88)	0,6	0,5	1,1	3,8	0,7	14(1)	-	5	1	-
58	0,21 (0,13/0,81)	0,3	1,5	1,7	1,9	0,8	7(2)	2	15	10	1
63	0,59 (0,36/1,28)	0,3	3,2	1,4	0,9	0,7		29	3	0	0
72	0,17 (0,13/0,56)	0,5	0,7	1,2	0,7	0,5	7(1)	8	1	0	1
76	0,3 (0,17/0,75)	0,4	1,3	1,2	1,1	0,8	14(2)	0	26	1	0
80	0,1 (0,08/0,92)	0,3	1,1	1,4	0,8	0,8	14(2)/ 28(2)/ 42(2)	50	12	5	-
85(1)	0,37 (0,09/0,92)	0,6	1,0	1,3	1,4	0,6		6	31	4	2
86	0,2 (0,12/0,81)	0,3	2,6	1,6	0,9	1,8	7(3)/ 14(3)	-	90	-	10
91	0,21	0,4	2,6	1,2	1,4	1,8	7(1)/ 14(2)	0	1	14	0

		(0,19/0,47)										
	95	0,14 (0,12/0,83)	0,6	1,0	1,1	1,4	0,7		/	/	1	1

—: keine Daten verfügbar; /: Gesamtzellenanzahl zu gering für Auswertung; * Zahl in Klammer, wenn Kühe erstmalig (1) und in einer weiteren Laktation (2) verwendet wurden

Insgesamt wiesen am Tag 28 *p. p.* 18,5 % (10 von 54) der Tiere eine KE auf, weitere 17,3 % (9 von 52) eine SE und 35,8 % (19 von 53) waren gesund. Am Tag 42 *p. p.* hatten insgesamt 7,7 % (4 von 52) der Tiere eine KE sowie 11,8 % (6 von 51) eine SE und 65,3 % (32 von 49) waren gesund. Die jeweiligen prozentuellen Anteile der Uterus-Parameter in nonKET und sKET können der Tabelle 5 entnommen werden.

Tab. 5: Prozentuelle Anteile der Kühe mit KE, SE sowie der gesunden Tiere der beiden Gruppen an den Probetagen 7, 14, 28 und 42 *p. p.*

Probetag	nonKET			sKET		
	KE (%)	SE (%)	Gesund (%)	KE (%)	SE (%)	Gesund (%)
7	44,0	18,2	38,5	50,0	36,0	14,3
14	56,0	19,2	26,9	57,1	28,6	14,3
28	26,9	7,7	65,4	10,7	30,8	58,5
42	8,0	16,0	76,0	7,4	8,0	84,6

Es konnte kein signifikanter Unterschied in der Häufigkeit von SE oder KE zwischen den Kühen mit oder ohne sKET festgestellt werden ($P > 0,05$).

Ein möglicher verzögerter Effekt auf die Diagnose einer SE oder einer KE am Ende des Puerperiums (T 28 *p. p.*) durch das vorherige Auftreten einer sKET am Tag 7 und/oder 14 *p. p.* konnte nicht beobachtet werden ($P > 0,05$).

Zur Bestimmung der NEFA-Konzentration *a. p.* wurden insgesamt 150 Serumproben (nonKET $n=70$, sKET $n=80$) gewonnen. Dabei zeigte sich ein signifikanter Unterschied in den Konzentrationen zwischen nonKET und sKET am Tag 0 ($P=0,036$; Tab. 6), jedoch keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen an den Tagen 42 und 14 *a. p.* ($P > 0,05$; Tab. 6).

Tab. 6: Median, 1. Quartil und 3. Quartil (in Klammern) der nicht veresterten freien Fettsäuren (NEFA,) an den Probetagen *ante partum* sowie am Tag der Kalbung (0) der beiden Gruppen.

NEFA (mmol/L)			
Probetag	nonKET (n=26)	sKET (n=28)	P-Wert*
42 <i>a. p.</i>	0,12 (0,07; 0,18)	0,17 (0,12; 0,26)	P>0,05
14 <i>a. p.</i>	0,13 (0,04; 0,22)	0,17 (0,13; 0,26)	P>0,05
0	0,42 (0,32; 0,81)	0,75 (0,47; 0,92)	P=0,036

nonKET: Gruppe ohne subklinische Ketose; sKET: Ketose-Gruppe; *a. p.*: *ante partum*;

* Median-Vergleich mit Mann-Whitney Test

Von insgesamt 256 Kapillarblut-Proben (nonKET n=118, sKET n=138) wurden die BHB-Konzentrationen gemessen. Die Konzentrationen an BHB waren an den Tagen 7, 14 und 28 *p. p.* zwischen nonKET und sKET signifikant unterschiedlich (Tab. 5; P=0,001; P=0,001; P=0,001). Am Tag 0 und 42 *p. p.* waren keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ersichtlich (Tab. 7; P>0,05).

Tab. 7: Median, 1. Quartil und 3. Quartil (in Klammern) der Beta-Hydroxybutyrat (BHB)-Konzentrationen am Tag der Kalbung (0) sowie an den Probetagen *post partum* der unterschiedlichen Gruppen.

BHB (mmol/L)			
Probetag	nonKET (n=26)	sKET (n=28)	P-Wert*
0	0,40 (0,30; 0,60)	0,50 (0,33; 0,68)	P>0,05
7 <i>p. p.</i>	0,65 (0,60; 0,80)	1,15 (0,78; 2,10)	P=0,001
14 <i>p. p.</i>	0,60 (0,48; 0,80)	1,20 (0,80; 1,70)	P=0,000
28 <i>p. p.</i>	0,70 (0,48; 0,83)	1,35 (0,90; 2,20)	P=0,000
42 <i>p. p.</i>	0,60 (0,40; 0,85)	0,80 (0,60; 1,00)	P>0,05

nonKET: Gruppe ohne subklinische Ketose; sKET: Ketose-Gruppe; *p. p.*: *post partum*

* Median-Vergleich mit Mann-Whitney Test

Es wurden insgesamt 203 Uterusausstriche angefertigt (nonKET n=99, sKET n=104). Sechs Ausstriche konnten aufgrund einer zu geringen Anzahl an Zellen (< 300 Zellen) nicht ausgewertet werden, weitere 12 Proben wurden nicht entnommen bzw. gingen verloren

(Tab. 4). Es konnten an keinen der Probetage (7, 14, 28, 42 *p. p.*) signifikante Unterschiede der prozentuellen Anteile an PMN zwischen nonKET und sKET festgestellt werden (Tab. 8; $P > 0,05$).

Tab 8: Median, 1. Quartil und 3. Quartil (in Klammern) der Anteile an polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN) der Uterusabstriche an den Probetagen *post partum* der unterschiedlichen Gruppen.

PMN (%)		
Probetag	nonKET (n=26)	sKET (n=28)
7 <i>p. p.</i>	2,0 (0,0; 11,0)	7,0 (2,0; 38,0)
14 <i>p. p.</i>	8,0 (1,0; 25,0)	15,0 (4,0; 58,0)
28 <i>p. p.</i>	1,0 (0,0; 7,0)	2,0 (0,0; 11,0)
42 <i>p. p.</i>	0,0 (0,0; 4,0)	1,0 (0,0; 2,0)

nonKET: keine Ketose-Gruppe; sKET: Ketose-Gruppe; *p. p.*: *post partum*

Es gab keinen linearen Zusammenhang zwischen den BHB-Konzentrationen und den PMN an den Untersuchungstagen T7, 14, 28 und 42. Die hohe Streuung der Werte ist in Abb. 4 dargestellt.

Die Regressionsmodelle konnten keine Zusammenhänge zwischen SE bzw. KE durch erhöhte NEFA *a. p.* oder sKET an den Tagen 7, 14, 28 oder 42 erklären. Kühe mit NEFA $\geq 0,3$ mmol/L am Tag 14 *a. p.* hatten signifikant häufiger sKET am Tag 7 *p. p.* ($P=0,049$).

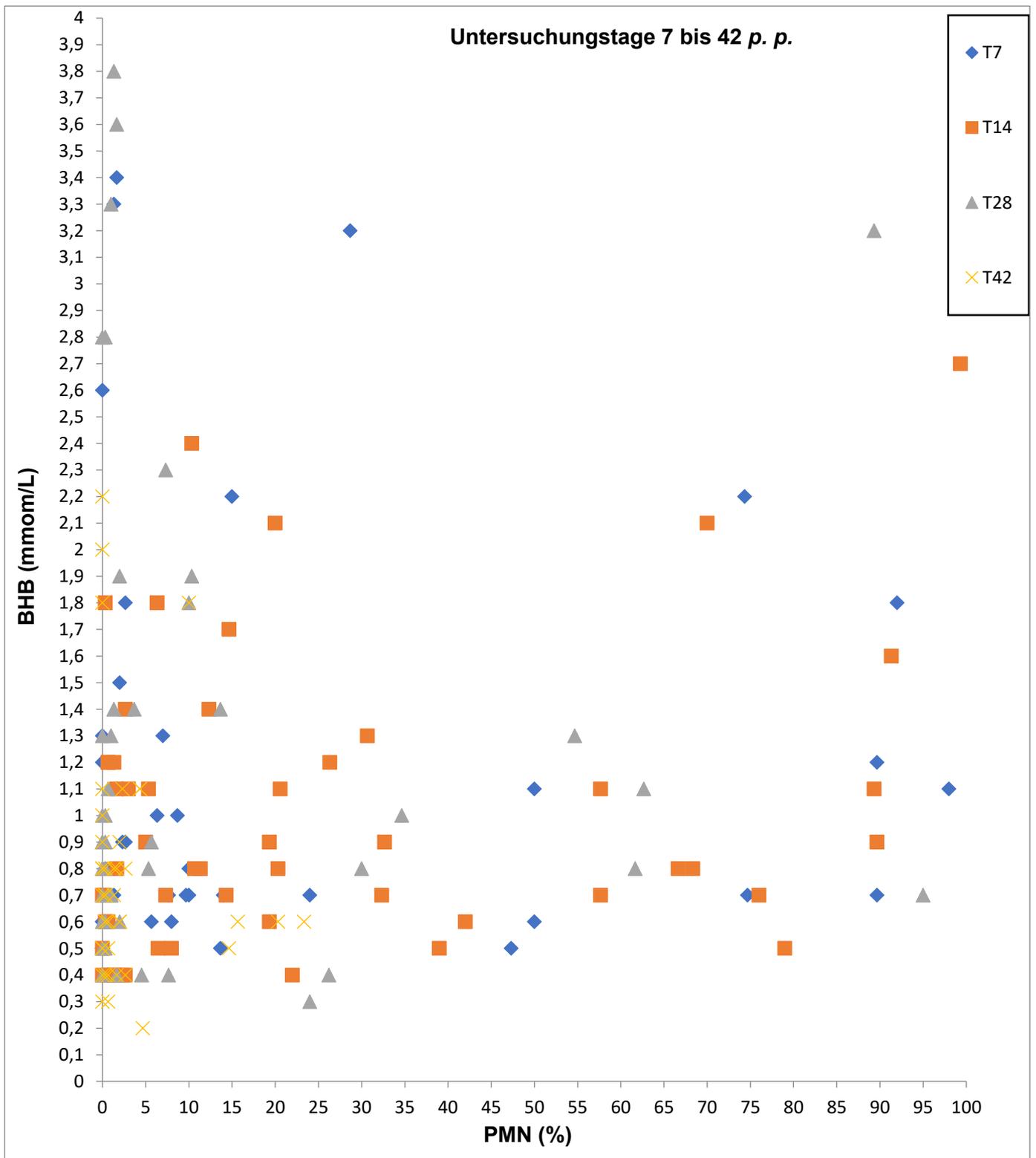


Abb. 4: Der prozentuelle Anteil der polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN) auf der x-Achse und die Beta-Hydroxybutyrat-(BHB)-Konzentrationen (mmol/L) auf der y-Achse an den Tagen 7, 14, 28 und 42 *post partum* (p. p.). Ein Ausreißer, BHB-Wert von 5,1 am Tag 42, ist in Abb. nicht dargestellt.

Die Korrelation nach Spearman ergab einen signifikanten Zusammenhang zwischen den BHB-Konzentrationen und den PMN (%) für den Tag 42 *p. p.* ($P < 0,01$; Abb. 5). An den anderen Untersuchungstagen (T 7, 14, 28) konnte keine signifikante Korrelation festgestellt werden.

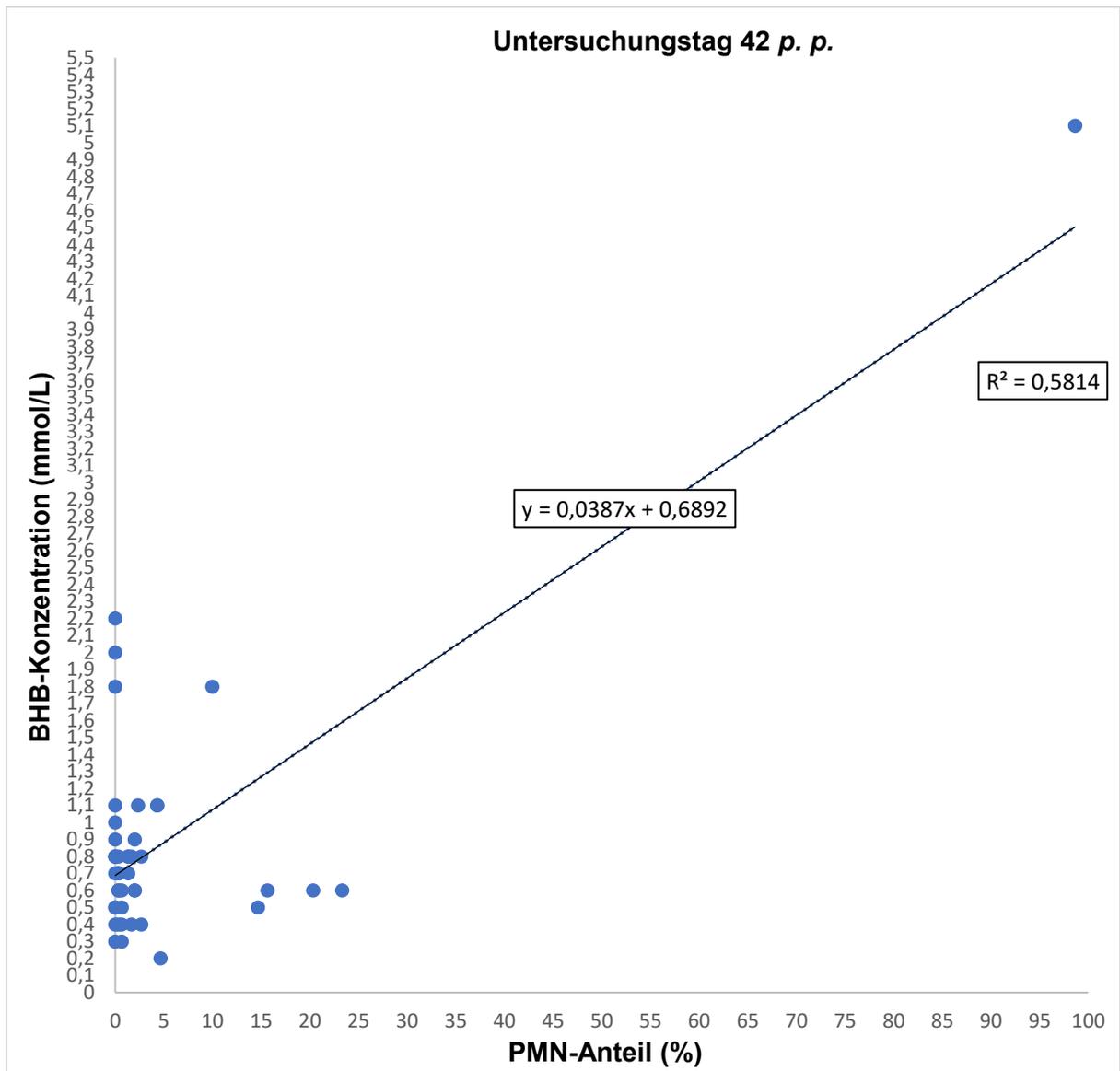


Abb. 5: Der prozentuelle Anteil an polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN) auf der x-Achse und die Beta-Hydroxybutyrat (BHB)-Konzentrationen (mmol/L) auf der y-Achse am Tag 42 *post partum* (*p. p.*)

4. Diskussion

Subklinische und klinische Ketosen bei Milchkühen erhöhen infolge das Risiko für subklinische und klinische Endometritiden und stellen aufgrund relativ hoher Prävalenzen einen relevanten ökonomischen Faktor für milchproduzierende Betriebe dar (Gohary et al. 2016, Ernstberger et al. 2019). Dementsprechend sind zeitnahe Diagnosen und das Wissen um die Zusammenhänge dieser Erkrankungen von großer Bedeutung. In der vorliegenden Arbeit wurde ein Studiendesign entworfen, um Kühe gezielt in eine moderate NEB zu führen. In Anlehnung an Urdl et al. (2015) wurden die Rationen für trockenstehende und frischmelkende Kühe so angepasst, dass anhand erhöhter, postpartaler BHB-Konzentrationen im Blut zwischen subklinischer Ketose (sKET-Gruppe) und Kontrollgruppe (nonKET) unterschieden werden konnte. Zur Definition der sKET werden unterschiedliche BHB-Grenzwerte, wie $\geq 1,0$ mmol/L (in der ersten Laktationswoche) bzw. $\geq 1,4$ mmol/L (in der zweiten Woche) (Walsh et al. 2007), $\geq 1,1$ mmol/L (Dubuc et al. 2010b) oder $\geq 1,2$ mmol/L (Duffield et al. 2009) angegeben. Die von uns gewählte Definition der sKET nach Duffield et al. (2009) bezog sich auf eine einmalige Überschreitung des BHB-Grenzwerts, gemessen in kapillären Blut. Der Abstand der Blutentnahme zum letzten Fresszeitpunkt und der Ort der Blutentnahme können einen Einfluss auf die Höhe der gemessenen Ketonkörperkonzentration haben (Andersson 1988). Diurnale Einflüsse auf das Messergebnis waren bei Mahrt et al. (2014) vernachlässigbar, sodass unabhängig vom Tageszeitpunkt einzelne Messungen eine hohe Sensitivität von 0,9 zur Diagnose der sKET (BHB $\geq 1,2$ mmol/L) lieferten. Während Mahrt et al. (2014) die Schwanzvene oder die *V. jugularis* als die geeigneten Blutentnahmestellen sahen, konnten Kanz et al. (2015) hohe Sensitivität und Spezifität von Blut-BHB der Schwanzvene und von Kapillarblut der Vulva bestimmen. Des Weiteren ist zu beachten, dass in einem Großteil der internationalen Studien Rinder der Rasse Holstein Friesien vorkamen, während in unserem Versuch Simmentaler Fleckviehrinder verwendet wurden, welche allgemein zu niedrigeren BHB-Konzentrationen neigen können (Urdl et al. 2015).

In unserer Studie hatten erhöhte NEFA-Konzentrationen 14 Tage *a. p.* und sKET 7 bis 42 Tage *p. p.* keinen signifikanten Einfluss auf das Auftreten von SE oder KE, weswegen die ursprüngliche Hypothese dieser Arbeit verworfen werden musste. Gesteigerte Fettmobilisation *a. p.* führte lediglich zu erhöhten BHB-Konzentrationen am Tag 7. Diese Ergebnisse sind in Übereinstimmung mit der Arbeit von Kaufmann et al. (2010), die keine Zusammenhänge zu SE oder KE feststellen konnten. Erhöhte NEFA-Werte 7 Tage *a. p.* waren zwar mit erhöhten

Risiken für SE und KE assoziiert, jedoch waren die entsprechende Sensitivität und Spezifität der sKET-Vorhersagen nicht zufriedenstellend. In unserer Arbeit hatten Kühe mit sKET zwar höhere NEFA vor der Abkalbung, doch war zu keinem der folgenden Probenstage (7, 14, 28 oder 42) ein Zusammenhang zur Uterusgesundheit feststellbar. Vermutlich war die Fallzahl zu klein, denn selbst eine Studienpopulation von 209 Kühen ermöglichte diesbezüglich keine Krankheitsvorhersage (Kaufmann et al. 2010). Yanez et al. (2022) berichteten von gehäufte SE (PMN \geq 8 %) unter 94 Holstein-Kühen bei BHB-Werten über 2,6 mmol/L, was bereits einer klinischen Ketose entspricht (Duffield 2000). In einer großangelegten Studie waren niedrige Körperkondition am Tag der Abkalbung, sKET (BHB \geq 1,1 mmol/L) und erhöhtes Haptoglobin in der ersten Woche *p. p.* Risikofaktoren für SE (Dubuc et al. 2010b). Hingegen konnten Shin et al. (2015) erhöhte BHB-Konzentrationen *p. p.* nur mit KE assoziieren, fanden jedoch keinen Zusammenhang zur SE.

Wir vermuten, dass vor allem erhöhte BHB-Konzentrationen mit klinischer Relevanz, wie in der Studie von Yanez et al. (2022), nötig sind, um einen negativen Einfluss auf die Uterusgesundheit darstellen zu können. In unserer Arbeit hatten Kühe mit sKET am Tag 14 der Laktation eine mittlere BHB-Konzentration von 1,35 und der Maximalwert lag bei 2,4 mmol/L. Diese Mittelwerte sind verhältnismäßig niedrig, da in den ersten beiden Laktationswochen mit den höchsten BHB-Konzentrationen bei Milchkühen zu rechnen ist.

Als Folge der metabolischen Herausforderungen von Frischkalbern, werden erhöhte Risiken für Reproduktionserkrankungen und Abgänge der Kühe aus den Betrieben beschrieben (Duffield et al. 2009, Roberts et al. 2012). Obwohl in der vorliegenden Arbeit kein Zusammenhang zwischen sKET und SE am Ende des Puerperiums nachweisbar war, hatten Kühe mit metabolischem Stress nominell häufiger SE als Kühe ohne Ketose. Die Häufigkeit der SE war vergleichbar mit Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen (Cheong et al. 2011, Prunner, Wagener et al. 2014) aber deutlich niedriger als die Prävalenz von 38 bis 53% in den Arbeiten von Plöntzke et al. (2010) und Gilbert et al. (2005). In ähnlichem Maße verhielt es sich in unserer Studie mit der Häufigkeit von KE, die bei Kühen mit sKET unterrepräsentiert war und zum Großteil mit einem Score 1 (Score 1 bis 3 nach Williams et al. (2005)) beziffert wurde. Diese geringgradige Ausprägung der KE wurde in der Arbeit von Shin et al. (2015) nicht als KE gewertet, sodass die sKET nur ein erhöhtes Risiko für KE mit \geq Score 2 darstellte.

Zusammenfassend sollte man multifaktorielle Ursachen für die Präsenz von SE und KE in den Herden verantwortlich machen. Ein geringes Energieangebot *a. p.*, geringe Körperkondition

zur Abkalbung, verstärkte negative Energiebilanz *p. p.* und Abweichungen von Serum-Metaboliten (NEFA, Glukose, Leber-Enzyme) sowie von Entzündungsmarkern spielen bei der Entstehung dieser Krankheiten eine Rolle und werden von verschiedenen Haltungsbedingungen, Fütterungsmanagement und Milchleistung beeinflusst (Kim et al. 2005, Huzzey et al. 2007, Yáñez et al. 2022). Dies verdeutlicht die Wichtigkeit einer optimalen Transitphase, damit Kühe gesund in die Laktation starten und metabolische Krankheiten und Reproduktionsstörungen vermieden werden.

5. Zusammenfassung

Stoffwechselerkrankungen, wie die subklinische Ketose, und die möglicherweise daraus resultierenden Folgeerkrankungen, wie etwa postpartale Endometritiden, kommen in Milchviehherden zum Teil häufig vor und können starken ökonomischen Einfluss auf die Betriebe haben. Daraus ergibt sich eine entsprechend große Bedeutsamkeit in der frühzeitigen Diagnose sowie dem Wissen um die Zusammenhänge dieser Krankheiten. Durch die Früherkennung der Risikofaktoren und entsprechende Maßnahmen könnten negative gesundheitliche Folgen für das Einzeltier und wirtschaftliche Folgen für den Landwirt reduziert werden. Ziel dieser Studie war es, die möglichen Auswirkungen einer subklinischen Ketose auf die Uterusgesundheit zu eruieren und mit einer Kontrollgruppe zu vergleichen. Zu diesem Zweck wurden 54 Kühe der Rasse Fleckvieh in zwei Gruppen aufgeteilt, wobei die Tiere der Versuchsgruppe durch ein spezielles Fütterungsmodell gezielt in eine moderate negative Energiebilanz geführt wurden. Eine weitere Differenzierung erfolgte anhand der in regelmäßigen Abständen durchgeführten Messungen der Beta-Hydroxybutyrat-Konzentrationen im Blut der Tiere. Kühe, welche einmalig den Grenzwert $\geq 1,2$ mmol/L überschritten, wurden dabei der Gruppe „subklinische Ketose“ zugeteilt. Tiere, die stets unterhalb dieses Grenzwertes lagen, wurden der Gruppe „keine subklinische Ketose“ zugeteilt. Das Auftreten einer subklinischen Ketose 7 bis 42 Tage *post partum* hatte keinen Einfluss auf die Ausbildung einer subklinischen oder klinischen Endometritis, wodurch die Hypothese dieser Arbeit verworfen werden musste. Allerdings hatten Tiere mit metabolischem Stress nominell häufiger eine subklinische Endometritis als Tiere ohne subklinische Ketose.

Aufgrund der kontroversiellen Diskussion um den Einfluss der subklinischen Ketose als prädisponierenden Faktor für eine klinische bzw. subklinische Endometritis sollten weitere Studien mit größeren Tierzahlen folgen.

6. Summary

Metabolic diseases such as subclinical ketosis and the possible sequels, like subclinical or clinical endometritis, are highly relevant for dairy farms because of their high prevalence and strong economic impact. As a result, early diagnosis and knowledge of the correlations between these diseases are of great importance. Thus, negative health effects for the individual animal and negative economic consequences for the farmer could be reduced by various early detection measures regarding metabolic disorders. The aim of this study was to demonstrate the possible consequences of subclinical ketosis on uterine health and the comparison of the result with a control group. For this purpose, 54 Simmental cows were assigned into two groups, within animals of the experimental group were deliberately led into a moderate negative energy balance by a special feeding model. A further differentiation was made based on measurements of serum beta-hydroxybutyrate concentrations carried out at regular intervals. Cows that exceeded the threshold ≥ 1.2 mmol/L once were assigned to the "subclinical ketosis" group. Animals that were always below this threshold were assigned to the "no subclinical ketosis" group. The occurrence of subclinical ketosis 7 to 42 days *post partum* did not affect the development of subclinical or clinical endometritis, thus the hypothesis of this study had to be rejected. However, animals with metabolic stress were nominally more likely to have subclinical endometritis than animals without subclinical ketosis.

Because of the undoing discussion, further studies with a larger number of animals should follow to assess the role of subclinical ketosis as a predisposing factor for clinical and subclinical endometritis in the herds.

7. Literaturverzeichnis

Andersson L. 1988. Subclinical ketosis in dairy cows. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 4 (2): 233–251. DOI 10.1016/S0749-0720(15)31046-X.

Andersson L, Emanuelson U. 1985. An epidemiological study of hyperketonaemia in Swedish dairy cows; Determinants and the relation to fertility. *Preventive Veterinary Medicine*, 3 (5): 449–462. DOI 10.1016/0167-5877(85)90006-6.

Bauman DE, Bruce Currie W. 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of dairy science*, 63 (9): 1514–1529. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(80)83111-0.

Baumgartner W, Hrsg. 2014. *Klinische Propädeutik der Haus- und Heimtiere*. 66 Tabellen. Achte. überarb. Aufl. Stuttgart: Enke, XIV, 525 S.

Boer MW de, LeBlanc SJ, Dubuc J, Meier S, Heuwieser W, Arlt S, Gilbert RO, McDougall S. 2014. Invited review: Systematic review of diagnostic tests for reproductive-tract infection and inflammation in dairy cows. *Journal of dairy science*, 97 (7): 3983–3999. DOI 10.3168/jds.2013-7450.

Brunner N, Groeger S, Canelas Raposo J, Bruckmaier RM, Gross JJ. 2019. Prevalence of subclinical ketosis and production diseases in dairy cows in Central and South America, Africa, Asia, Australia, New Zealand, and Eastern Europe. *Translational animal science*, 3 (1): 84–92. DOI 10.1093/tas/txy102.

Cheong SH, Nydam DV, Galvão KN, Crosier BM, Gilbert RO. 2011. Cow-level and herd-level risk factors for subclinical endometritis in lactating Holstein cows. *Journal of dairy science*, 94 (2): 762–770. DOI 10.3168/jds.2010-3439.

David Baird G. 1982. Primary ketosis in the high-producing dairy cow: Clinical and subclinical disorders, treatment, prevention, and outlook. *Journal of dairy science*, 65 (1): 1–10. DOI 10.3168/jds.s0022-0302(82)82146-2.

Dohoo IR, Martin SW. 1984. Subclinical ketosis: prevalence and associations with production and disease. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 48 (1): 1–5.

Dubuc J, Duffield TF, Leslie KE, Walton JS, LeBlanc SJ. 2010a. Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. *Journal of dairy science*, 93 (11): 5225–5233. DOI 10.3168/jds.2010-3428.

Dubuc J, Duffield TF, Leslie KE, Walton JS, LeBlanc SJ. 2010b. Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. *Journal of dairy science*, 93 (12): 5764–5771. DOI 10.3168/jds.2010-3429.

Duffield T. 2000. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 16 (2): 231–253. DOI 10.1016/S0749-0720(15)30103-1.

Duffield TF, Lissemore KD, McBride BW, Leslie KE. 2009. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *Journal of dairy science*, 92 (2): 571–580. DOI 10.3168/jds.2008-1507.

Ernstberger M, Oehl H, Haessig M, Hartnack S, Bollwein H. 2019. Predicting the probability of conception in dairy cows with clinical endometritis based on a combination of anamnestic information and examination results. *Theriogenology*, 138: 127–136. DOI 10.1016/j.theriogenology.2019.07.004.

Fuerst-Waltl B, Fuerst C, Obritzhauser W, Egger-Danner C. 2016. Sustainable breeding objectives and possible selection response: Finding the balance between economics and breeders' preferences. *Journal of dairy science*, 99 (12): 9796–9809. DOI 10.3168/jds.2016-11095.

Galvão KN, Flaminio MJBF, Brittin SB, Sper R, Fraga M, Caixeta L, Ricci A, Guard CL, Butler WR, Gilbert RO. 2010. Association between uterine disease and indicators of neutrophil and systemic energy status in lactating Holstein cows. *Journal of dairy science*, 93 (7): 2926–2937. DOI 10.3168/jds.2009-2551.

Garro CJ, Mian L, Cobos Roldán M. 2014. Subclinical ketosis in dairy cows: prevalence and risk factors in grazing production system. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 98 (5): 838–844. DOI 10.1111/jpn.12141.

Gilbert RO, Shin ST, Guard CL, Erb HN, Frajblat M. 2005. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, 64 (9): 1879–1888. DOI 10.1016/j.theriogenology.2005.04.022.

Gohary K, Overton MW, Massow M von, LeBlanc SJ, Lissemore KD, Duffield TF. 2016. The cost of a case of subclinical ketosis in Canadian dairy herds. *The Canadian Veterinary Journal*, 57 (7): 728–732.

Hammon DS, Evjen IM, Dhiman TR, Goff JP, Walters JL. 2006. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Veterinary immunology and immunopathology*, 113 (1-2): 21–29. DOI 10.1016/j.vetimm.2006.03.022.

Herdth TH. 2000. Ruminant adaptation to negative energy balance. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 16 (2): 215–230. DOI 10.1016/S0749-0720(15)30102-X.

Huzzey JM, Veira DM, Weary DM, Keyserlingk MAG von. 2007. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. *Journal of dairy science*, 90 (7): 3220–3233. DOI 10.3168/jds.2006-807.

Iwersen M, Klein-Jöbstl D, Pichler M, Roland L, Fidschuster B, Schwendenwein I, Drillich M. 2013. Comparison of 2 electronic cowside tests to detect subclinical ketosis in dairy cows and the influence of the temperature and type of blood sample on the test results. *Journal of dairy science*, 96 (12): 7719–7730. DOI 10.3168/jds.2013-7121.

Kanz P, Drillich M, Klein-Jöbstl D, Mair B, Borchardt S, Meyer L, Schwendenwein I, Iwersen M. 2015. Suitability of capillary blood obtained by a minimally invasive lancet technique to detect subclinical ketosis in dairy cows by using 3 different electronic hand-held devices. *Journal of dairy science*, 98 (9): 6108–6118. DOI 10.3168/jds.2014-8957.

Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, Johnson WH. 2004. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 62 (1-2): 9–23. DOI 10.1016/j.theriogenology.2003.03.001.

Kaufmann TB, Drillich M, Tenhagen B-A, Heuwieser W. 2010. Correlations between periparturient serum concentrations of non-esterified fatty acids, beta-hydroxybutyric acid, bilirubin, and urea and the occurrence of clinical and subclinical postpartum bovine endometritis. *BMC veterinary research*, 6: 47. DOI 10.1186/1746-6148-6-47.

Kauppinen K. 1983. Prevalence of bovine ketosis in relation to number and stage of lactation. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 24 (4): 349–361. DOI 10.1186/BF03546709.

Kim I-H, Na K-J, Yang M-P. 2005. Immune responses during the peripartum period in dairy cows with postpartum endometritis. *The Journal of reproduction and development*, 51 (6): 757–764. DOI 10.1262/jrd.17036.

LeBlanc SJ, Duffield TF, Leslie KE, Bateman KG, Keefe GP, Walton JS, Johnson WH. 2002. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *Journal of dairy science*, 85 (9): 2223–2236. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(02)74302-6.

- Mahrt A, Burfeind O, Heuwieser W. 2014. Effects of time and sampling location on concentrations of β -hydroxybutyric acid in dairy cows. *Journal of dairy science*, 97 (1): 291–298. DOI 10.3168/jds.2013-7099.
- McArt JAA, Nydam DV, Overton MW. 2015. Hyperketonemia in early lactation dairy cattle: A deterministic estimate of component and total cost per case. *Journal of dairy science*, 98 (3): 2043–2054. DOI 10.3168/jds.2014-8740.
- Melcher Y, Prunner I, Drillich M. 2014. Degree of variation and reproducibility of different methods for the diagnosis of subclinical endometritis. *Theriogenology*, 82 (1): 57–63. DOI 10.1016/j.theriogenology.2014.03.003.
- Norman HD, Wright JR, Hubbard SM, Miller RH, Hutchison JL. 2009. Reproductive status of Holstein and Jersey cows in the United States. *Journal of dairy science*, 92 (7): 3517–3528. DOI 10.3168/jds.2008-1768.
- Nyabinwa P, Kashongwe OB, Habimana JP, Hirwa Cd, Bebe BO. 2020. Estimating prevalence of endometritis in smallholder zero-grazed dairy cows in Rwanda. *Tropical animal health and production*, 52 (6): 3135–3145. DOI 10.1007/s11250-020-02337-z.
- Ospina PA, Nydam DV, Stokol T, Overton TR. 2010. Associations of elevated nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. *Journal of dairy science*, 93 (4): 1596–1603. DOI 10.3168/jds.2009-2852.
- Plöntzke J, Madoz LV, La Sota RL de, Drillich M, Heuwieser W. 2010. Subclinical endometritis and its impact on reproductive performance in grazing dairy cattle in Argentina. *Animal reproduction science*, 122 (1-2): 52–57. DOI 10.1016/j.anireprosci.2010.07.006.
- Prunner I, Pothmann H, Wagener K, Giuliadori M, Huber J, Ehling-Schulz M, Drillich M. 2014. Dynamics of bacteriologic and cytologic changes in the uterus of postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 82 (9): 1316–1322. DOI 10.1016/j.theriogenology.2014.08.018.
- Prunner I, Wagener K, Pothmann H, Ehling-Schulz M, Drillich M. 2014. Risk factors for uterine diseases on small- and medium-sized dairy farms determined by clinical, bacteriological, and cytological examinations. *Theriogenology*, 82 (6): 857–865. DOI 10.1016/j.theriogenology.2014.06.015.
- Roberts T, Chapinal N, LeBlanc SJ, Kelton DF, Dubuc J, Duffield TF. 2012. Metabolic parameters in transition cows as indicators for early-lactation culling risk. *Journal of dairy science*, 95 (6): 3057–3063. DOI 10.3168/jds.2011-4937.

Rutherford AJ, Oikonomou G, Smith RF. 2016. The effect of subclinical ketosis on activity at estrus and reproductive performance in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 99 (6): 4808–4815. DOI 10.3168/jds.2015-10154.

Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S, Gilbert RO. 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65 (8): 1516–1530. DOI 10.1016/j.theriogenology.2005.08.021.

Shin E-K, Jeong J-K, Choi I-S, Kang H-G, Hur T-Y, Jung Y-H, Kim I-H. 2015. Relationships among ketosis, serum metabolites, body condition, and reproductive outcomes in dairy cows. *Theriogenology*, 84 (2): 252–260. DOI 10.1016/j.theriogenology.2015.03.014.

Steenefeld W, Amuta P, van Soest FJS, Jorritsma R, Hogeveen H. 2020. Estimating the combined costs of clinical and subclinical ketosis in dairy cows. *PloS one*, 15 (4): e0230448. DOI 10.1371/journal.pone.0230448.

Suthar VS, Canelas-Raposo J, Deniz A, Heuwieser W. 2013. Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *Journal of dairy science*, 96 (5): 2925–2938. DOI 10.3168/jds.2012-6035.

Urdl M, Gruber L, Obritzhauser W, Schauer A. 2015. Metabolic parameters and their relationship to energy balance in multiparous Simmental, Brown Swiss and Holstein cows in the periparturient period as influenced by energy supply pre- and post-calving. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 99 (1): 174–189. DOI 10.1111/jpn.12178.

Uribe HA, Kennedy BW, Martin SW, Kelton DF. 1995. Genetic parameters for common health disorders of Holstein cows. *Journal of dairy science*, 78 (2): 421–430. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(95)76651-6.

Walsh RB, Walton JS, Kelton DF, LeBlanc SJ, Leslie KE, Duffield TF. 2007. The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows. *Journal of dairy science*, 90 (6): 2788–2796. DOI 10.3168/jds.2006-560.

Walsh SW, Williams EJ, Evans ACO. 2011. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Animal reproduction science*, 123 (3-4): 127–138. DOI 10.1016/j.anireprosci.2010.12.001.

Williams EJ, Fischer DP, Pfeiffer DU, England GCW, Noakes DE, Dobson H, Sheldon IM. 2005. Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*, 63 (1): 102–117. DOI 10.1016/j.theriogenology.2004.03.017.

Yáñez U, Herradón PG, Becerra JJ, Peña AI, Quintela LA. 2022. Relationship between Postpartum Metabolic Status and Subclinical Endometritis in Dairy Cattle. *Animals: an open access journal from MDPI*, 12 (3). DOI 10.3390/ani12030242.

8. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abb. 1: Aufschlüsselung der Kosten eines individuellen Falles einer subklinischen Ketose (Gohary et al. 2016).....	2
Abb. 2: Cytobrush und Material. 1 = Metallstab, 2 = Hartplastik-Schutzhülle, 3 = Cytobrush, 4 = 1-3 zusammengesetzt in Kunststoffhülle (Bild: Harald Pothmann)	11
Abb. 3: Mikroskopisches Bild eines Cytobrush-Ausstriches. 1 = polymorphkerniger neutrophiler Granulozyt (PMN), 2 = Endometriumszelle, 3 = Erythrozyt; (Bild: Jessica Müller)	12
Abb. 4: Der prozentuelle Anteil der polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN) auf der x-Achse und die Beta-Hydroxybutyrat-(BHB)-Konzentrationen (mmol/L) auf der y-Achse an den Tagen 7, 14, 28 und 42 post partum (p. p.). Ein Ausreißer, BHB-Wert von 5,1 am Tag 42, ist in Abb. nicht dargestellt.	20
Abb. 5: Der prozentuelle Anteil an polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN) auf der x-Achse und die Beta-Hydroxybutyrat (BHB)-Konzentrationen (mmol/L) auf der y-Achse am Tag 42 post partum (p. p.).....	21
Tab. 1: Tägliche Energie- (MJ NEL) und Rohproteinversorgung (g) der Gruppen KON und VER ante partum (a. p.) und post partum (p. p.) sowie Bedarfsdeckung (in %) anhand der Empfehlungen der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (2017)	5
Tab. 2: Rationskomponenten, Nährstoff-Zusammensetzung und die tägliche Nährstoffaufnahme pro Kuh der Kontroll-(KON) und Versuchsgruppe (VER) ante partum (a. p.) und post partum (p. p.)	7
Tab. 3: Zeitplan der Untersuchungen und Probenentnahmen.	9
Tab. 4: Median, Minimum und Maximum (in Klammern) der nicht veresterten freien Fettsäuren (NEFA, mmol/L) <i>ante partum</i> (a. p.: gemittelt aus Tag 42 und 14 a. p. und Tag 0) und Beta-Hydroxybutyrat (BHB, mmol/L)-Konzentrationen <i>post partum</i> (p. p.) an den Probetagen (T) der einzelnen Kühe in Gruppe ohne Ketose (nonKET) und Gruppe subklinische Ketose (sKET). Klinische Endometritis (KE) und Endometritis-Score (1, 2 oder 3) nach Williams et al. (2005). Anteil der polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN %) der Uterusabstriche an den Probetagen.	14
Tab. 5: Prozentuelle Anteile der Kühe mit KE, SE sowie der gesunden Tiere der beiden Gruppen an den Probetagen 7, 14, 28 und 42 p. p.	17
Tab. 6: Median, 1. Quartil und 3. Quartil (in Klammern) der nicht veresterten freien Fettsäuren (NEFA,) an den Probetagen ante partum sowie am Tag der Kalbung (0) der beiden Gruppen.	18
Tab. 7: Median, 1. Quartil und 3. Quartil (in Klammern) der Beta-Hydroxybutyrat (BHB)-Konzentrationen am Tag der Kalbung (0) sowie an den Probetagen post partum der unterschiedlichen Gruppen.	18
Tab. 8: Median, 1. Quartil und 3. Quartil (in Klammern) der Anteile an polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN) der Uterusabstriche an den Probetagen post partum der unterschiedlichen Gruppen.	19

9. Danksagung

Ich möchte mich ganz herzlich bei meinem Betreuer Dr. Harald Pothmann bedanken, der immer erreichbar für mich war, mich bei meiner Arbeit stets konstruktiv unterstützte und mir gleichzeitig viel Geduld und Wertschätzung entgegenbrachte.

Außerdem möchte ich mich bei Herrn Dr. Alexander Tichy bedanken, der mir in statistischen Fragen sehr viel weitergeholfen hat.

Zudem möchte ich mich bei meinen Freunden, meinem Bruder und meiner Familie bedanken für ihre vielseitige Unterstützung über all die Jahre hinweg.

Ganz besonders bedanken möchte ich mich auch bei meiner Freundin Anna, die mir über so manche Schaffens-/Nervenkrise hinweggeholfen hat und immer für mich da war.

Zu guter Letzt möchte ich diese Diplomarbeit meinen kürzlich verstorbenen Großeltern Margaretha und Alois widmen, die mich immer auf meinem Weg unterstützten und ohne die vieles so nicht möglich gewesen wäre.