

Aus dem Department für Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen
in der Veterinärmedizin

Der Veterinärmedizinischen
Universität Wien

Universitätsklinik für
Wiederkäuer

Leiter Univ.-Prof. Dr.med.vet. habil. Thomas Wittek Dipl.ECBHM

Einfluss der Kolostrumqualität auf die Kolostrumversorgung bei Kälbern

Diplomarbeit
Zur Erlangung der Würde einer
MAGISTRA MEDICINAE VETERINARIAE

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von

Magdalena Spöcker

Wien, im Juni 2023

Betreuer:

Univ. Prof. Dr. Thomas WITTEK, Dipl. ECBHM

Universitätsklinik für Wiederkäuer

Department für Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen in der
Veterinärmedizin

Betreuende Assistentin:

Dr. Katharina LICHTMANNSPERGER, Dipl. ECBHM

Universitätsklinik für Wiederkäuer

Department für Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen in der
Veterinärmedizin

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	2
2.1	<i>Kolostrumqualität</i>	2
2.2	<i>Zeitpunkt der Kolostrumaufnahme</i>	4
2.3	<i>Einfluss der Kolostrummenge</i>	5
2.4	<i>Failure of Transfer of Passive Immunity</i>	5
2.5	<i>Erfolgskontrolle der Kolostrumverabreichung</i>	6
3	Material und Methoden	8
3.1	<i>Ethische Voraussetzungen</i>	8
3.2	<i>Landwirtschaftliche Betriebe und Tiere</i>	8
3.3	<i>Sammlung der Kolostrumproben</i>	8
3.4	<i>Ermittlung der Gesamtkeimzahl und Anzahl an coliformen Bakterien</i>	9
3.4.1	<i>Herstellen der Verdünnungsreihe</i>	9
3.4.2	<i>Ausplattieren</i>	9
3.4.3	<i>Auszählen der koloniebildenden Einheiten</i>	10
3.5	<i>Bestimmung des Immunglobulingehalts</i>	10
3.6	<i>Statistische Auswertung</i>	11
4	Publikation	12
4.1	<i>Angaben zur Eigenleistung</i>	12
4.2	<i>Publikation</i>	13
5	Erweiterte Diskussion	31
5.1	<i>Immunglobulingehalt</i>	31
5.2	<i>Gesamtkeimzahl und Anzahl coliformer Erreger</i>	34

5.3	<i>Limitationen der Studie</i>	35
6	Zusammenfassung	37
7	Summary	39
8	Danksagung	41
9	Literaturverzeichnis	42

1 Einleitung

Bei der Geburt eines Kalbes ist nicht nur der komplikationslose Ablauf der Geburt selbst von großer Bedeutung, sondern auch die Versorgung des Neugeborenen mit Kolostrum in den ersten Lebensstunden. Im Gegensatz zum Menschen weist der anatomische Aufbau der Gebärmutter eines Rindes deutliche Unterschiede auf. Rinder haben eine *Placenta epitheliochorialis*. Dieser Plazentaaufbau sorgt für eine Trennung des fetalen vom maternalen Blutkreislauf. Aufgrund dessen wird das Kalb intrauterin nicht mit maternalen Antikörpern versorgt und mit einer Agammaglobulinämie geboren. Das Kalb ist daher auf die Aufnahme von Kolostrum angewiesen, um ausreichend Immunglobuline für eine passive Immunisierung zu gewinnen. Die passive Immunisierung soll das Kalb so lange schützen, bis das eigene, noch unreife Immunsystem vollständig entwickelt ist (Godden et al. 2019).

Ohne ausreichende Kolostrumversorgung ist das Kalb in den ersten Tagen und Wochen schlecht versorgt und dadurch anfällig für Infektionskrankheiten wie Durchfallerkrankungen und Erkrankungen des Respirationstraktes (Weaver et al. 2000). Aufgrund der höheren Krankheitsneigung bei Kälbern ohne ausreichende passive Immunisierung sind diese Kälber pflegeintensiver im Vergleich zu gesunden Kälbern und oftmals sind Tierarztkosten unvermeidbar. Der oft notwendige Antibiotikaeinsatz bei Durchfallerkrankungen und Erkrankungen des Respirationstraktes zur Behandlung der Kälber wird durch gutes Kolostrummanagement vermieden. Ein verminderter Antibiotikaeinsatz führt infolgedessen zu einem reduzierten Risiko für Antibiotikaresistenzen (Raboisson et al. 2016). Die Aufnahme von Kolostrum in den ersten Lebensstunden ist von enormer Bedeutung, um das neugeborene Kalb gegen Pathogene zu schützen. Um eine ausreichende passive Immunisierung aufbauen zu können, müssen einige Faktoren bezüglich der Kolostrumaufnahme beachtet werden. Besonders wichtig ist der Gehalt an Immunglobulinen im Kolostrum, da diese notwendig sind, um eine ausreichende passive Immunisierung in den ersten Lebenswochen zu schaffen (Reschke et al. 2017). Ein gutes Kolostrummanagement am Betrieb ist unabdingbar, um gesunde und vitale Kälber zu haben (Godden et al. 2019).

Ziel dieser Diplomarbeit war es, den Immunglobulingehalt und die bakterielle Kontamination im Kolostrum von Milchkühen zu bestimmen und den Einfluss auf die Konzentration an Immunglobulinen im Kälberserum zu eruieren. Es wird hypothetisiert, dass die Kolostrumqualität einen Einfluss auf die Immunglobulinversorgung des Kalbes hat.

2 Literaturübersicht

In Bezug auf das Kolostrummanagement am Betrieb müssen einige Faktoren beachtet werden, um eine optimale Versorgung des Kalbes mit Kolostrum zu gewährleisten. Damit das Kalb eine ausreichende Menge an Immunglobulinen erhält, sind folgende Faktoren besonders zu berücksichtigen: Qualität des Kolostrums (Immunglobulinkonzentration), Zeitpunkt der Kolostrumgabe, Kolostrummenge und Art der Kolostrumverabreichung (Weaver et al. 2000).

2.1 Kolostrumqualität

Zahlreiche Untersuchungen zeigen, dass die Kolostrumqualität sehr stark vom Muttertier abhängt. Die Qualität des Kolostrums ist abhängig von der Rasse, vom Alter, von der Länge der Trockenstehperiode, von maternalen Schutzimpfungen, von der Milchmenge im Erstgemelk und vom Zeitpunkt der Kolostrumgewinnung (Godden et al. 2019). Die Kolostrumproduktion im Euter der Kuh findet während der Trockenstehperiode statt. Unter dem Einfluss von laktogenen Hormonen wie Prolaktin kommt es mehrere Wochen vor der Geburt zur Bildung des Kolostrums. Die Produktion von Kolostrum sistiert nach der Geburt des Kalbes. Aufgrund der Ansammlung des Kolostrums im Euter vor der Abkalbung hat das erste Gemelk nach der Kalbung die höchste Menge an Immunglobulinen. Infolgedessen nimmt der Anteil an Immunglobulinen und daher die Qualität des Kolostrums bei jeder weiteren Melkung ab, bis nach weiteren sechs Melkungen niedrige Gehalte an Immunglobulin G (IgG) vorhanden sind. Da IgG den größten Anteil der Immunglobuline einnimmt, wird IgG als Indikator zur Qualitätsbeurteilung herangezogen. Das Laufenlassen der Milch vor dem Erstgemelk führt daher zu einem Verlust an Kolostrum, welcher nicht durch weitere Produktion kompensiert wird (Godden et al. 2019). Innerhalb der ersten sechs Melkungen nach der Geburt erfolgt der Übergang von Kolostrum zu Milch. In dieser Übergangsphase darf das Gemelk nicht vermarktet werden und wird als Kolostrum bezeichnet (Foley and Otterby 1978). Die Studie von McGrath et al. (2016) bezeichnet das Gemelk als Kolostrum innerhalb der ersten drei Tage *post partum* (*p. p.*).

Laut Reschke et al. (2017) führt ein starker Milchfluss vor der Geburt häufiger zu Kolostrum schlechter Qualität (Brix-Wert ≤ 22 %). Kolostrum beinhaltet nicht ausschließlich Immunglobuline, sondern auch Wachstumsfaktoren, maternale Leukozyten, Hormone, Zytokine und Nährstoffe. Aufgrund dessen wird das Wachstum und die Entwicklung des Kalbes positiv beeinflusst und führt zu längerfristigen Erfolgen wie einer gesteigerten

Wachstumsrate, einer verminderten Sterblichkeitsrate nach dem Absetzen und einer höheren Milchproduktion in den ersten beiden Laktationen (Godden et al. 2019). Zur Bestimmung der Qualität des Kolostrums wird der Immunglobulingehalt gemessen. Kolostrum guter Qualität hat eine IgG-Konzentration von über 50 g/l (Dunn et al. 2017). Ein niedriger Gehalt an Immunglobulinen im maternalen Kolostrum wirkt sich beim Kalb in einer Hypogammaglobulinämie aus, was auch als Failure of Transfer of passive Immunity (FTPI) bezeichnet wird. Daraus folgend wäre das Kalb nicht ausreichend vor Pathogenen geschützt und hat somit ein erhöhtes Risiko zu erkranken oder zu sterben (Reschke et al. 2017). Damit das Kalb durch das Kolostrum mit ausreichend Immunglobulinen versorgt wird, ist eine Bestimmung der Qualität des Kolostrums vor der Verabreichung an das Kalb sinnvoll. Dafür können verschiedene Methoden eingesetzt werden, wobei die Messung der Kolostrumqualität mittels Kolostrometer und Brix-Refraktometer auch von den Landwirt:innen selbst durchgeführt werden kann (Abuelo et al. 2019).

Laut einer Umfrage, an der 1.287 Betriebe in Österreich teilgenommen haben, wurde die Qualität des Kolostrums von 2,8 % der Betriebe mittels eines Hydrometers überprüft, bevor das Kolostrum an das neugeborene Kalb verfüttert wurde (Klein-Jöbstl et al. 2015).

Die Beurteilung des Kolostrums basiert auf biophysikalischen Eigenschaften. Bestimmt werden können die Dichte, der Brechungsindex bzw. die relative Dichte, die Viskosität, der pH-Wert und die Farbe des Kolostrums. Da die Dichte mit dem IgG-Gehalt des Kolostrums korreliert, wird sie am häufigsten gemessen und zur Beurteilung der Kolostrumqualität herangezogen. Die Messung erfolgt mittels eines Kolostrometers (Hydrometers, Aräometers) und sollte mindestens 1047 g/l betragen. Zur Ermittlung des Brechungsindexes eignet sich ein optisches oder digitales Refraktometer, welches bei Kolostrum guter Qualität einen Wert von mindestens 22 % Brix misst. Die höhere Aussagekraft der beiden Messmethoden hat die Bestimmung des Brixwertes mittels Refraktometers (Schneider und Wehrend 2019).

In einer Studie von Bartens et al. (2016) wurden zwei verschiedene Hydrometer sowie ein optisches und ein digitales Brix-Refraktometer im Hinblick auf die Genauigkeit zur Bestimmung der Kolostrumqualität miteinander verglichen. Zusätzlich wurden die beiden Brix-Refraktometer auf die Zuverlässigkeit und die Wiederholbarkeit der Ergebnisse analysiert. Als Vergleichswerte dienten Ergebnisse einer radialen Immunodiffusion (RID), mit der ebenfalls die IgG-Konzentrationen der Kolostrumproben ausgewertet wurden. Die Ergebnisse haben gezeigt, dass das Brix-Refraktometer die besten Resultate in puncto Messgenauigkeit und Wiederholbarkeit verglichen mit der RID erzielen konnte.

Bei der Bewertung der Kolostrumqualität sollte nicht nur der Menge an Immunglobulinen

Beachtung geschenkt werden, sondern auch die bakterielle Kontamination des Kolostrums untersucht werden. Eine große bakterielle Kontamination des Kolostrums verhindert die Aufnahme von IgG und führt folglich zu einer verminderten passiven Immunisierung. Weiters können im Kolostrum infektiöse Erreger wie *Mycoplasma* spp., *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* und *Salmonella* spp. enthalten sein und die Gesundheit des neugeborenen Kalbes gefährden. Kolostrum für das Kalb sollte weniger als 100.000 Koloniebildende Einheiten (KbE)/ml Gesamtkeimzahl und weniger als 10.000 KbE/ml an coliformen Erregern enthalten (McGuirk und Collins 2004).

Zur Reduktion der bakteriellen Kontamination wird empfohlen, möglichst hygienisch zu arbeiten und das Kolostrum von bereits bekannten infizierten Tieren nicht zu verfüttern. Sauberes Arbeiten bezieht sich auf das Reinigen des Euters vor der Melkung, das Verwenden von sauberen und desinfizierten Kübeln sowie gut gereinigtes Fütterungsequipment bei Verabreichung des Kolostrums an das Kalb (Godden et al.2019).

Um die bakterielle Kontamination des Kolostrums möglichst gering zu halten, muss auf die Hygiene bei der Kolostrumgewinnung und -aufbewahrung geachtet werden. Die geringste bakterielle Kontamination wurde in den Proben, welche direkt am Euter der Kuh entnommen wurden, festgestellt. Der Einsatz einer Melkmaschine oder eines Melkroboters zur Kolostrumgewinnung führt zu einer Erhöhung der Gesamtkeimzahl. Vor der Melkung soll das Euter mit Desinfektionsmittel und sauberen, trockenen Tüchern gereinigt werden. Die Reinigung des Fütterungsequipments mit Peressigsäure oder Hypochlorit bewirkt eine Reduktion der Gesamtkeimzahl im Kolostrum (Hyde et al. 2020).

Eine Erhitzung des Kolostrums für 60 Minuten bei 60 °C führt zur Reduktion der Bakterienkonzentration bei gleichbleibender IgG-Konzentration. Aufgrund der verminderten Bakterienkonzentration konnte bei Kälbern, die hitzebehandeltes Kolostrum erhielten, eine höhere IgG-Konzentration im Serum durch die verbesserte Absorption der Immunglobuline gemessen werden (Johnson et al. 2007).

2.2 Zeitpunkt der Kolostrumaufnahme

Ebenso bedeutend wie die Kolostrumqualität selbst ist auch der Zeitpunkt der Kolostrumverabreichung an das Kalb. Um die Immunglobuline absorbieren zu können, müssen die Enterozyten Makromoleküle mittels Pinozytose aufnehmen können. Diese Eigenschaft der Enterozyten besteht in den ersten 24–36 Stunden nach der Geburt. Nach Ablauf dieser Zeitspanne kommt es zur Erschöpfung der Pinozytoseaktivität und die Enterozyten werden durch weiter ausgereifte Enterozyten ersetzt, welche die Aufnahme von

Immunglobulinen verhindern. Der Immunglobulintransfer durch das Darmepithel funktioniert am besten in den ersten vier Stunden *p. p.* Besonders nach 12 Stunden ist ein starker Rückgang in der Aufnahmefähigkeit von Immunglobulinen zu erwarten. Je früher die Kolostrumgabe erfolgt, desto besser ist die Aufnahmefähigkeit der Immunglobuline beim Kalb (Weaver et al. 2000).

Neben dem richtigen Zeitpunkt der Kolostrumfütterung nach der Geburt spielt auch die bakterielle Kontamination des Kolostrums sowie der metabolische Status des Kalbes eine Rolle. Hypothermie oder eine postnatale respiratorische Azidose aufgrund einer verlängerten Geburtsdauer können die IgG-Aufnahme negativ beeinflussen (Godden et al. 2019).

2.3 Einfluss der Kolostrummenge

Die Menge an benötigtem Kolostrum ist abhängig von der Kolostrumqualität. Je höher die Immunglobulinkonzentration des Kolostrums, desto geringere Mengen muss das Kalb davon aufnehmen. Bei Kälbern wird eine Kolostrummenge von 10 bis 12 % des Körpergewichtes bei der ersten Fütterung nach der Geburt empfohlen. Zeigt das Kolostrum eine schlechte Qualität, besteht die Möglichkeit, auch tiefgefrorenes Kolostrum guter Qualität aufzutauen und dem Kalb zu verabreichen. Folglich ist es für Landwirt:innen sinnvoll, immer Kolostrum in guter Qualität eingefroren zu haben, um das Neugeborene optimal versorgen zu können. In Summe sollten idealerweise 300 g IgG in den ersten Lebensstunden aufgenommen werden, um eine exzellente Versorgung des Kalbes zu gewährleisten (Godden et al. 2019).

Eine Studie von Abuelo et al. (2021) zeigte, dass eine zusätzliche Fütterung von Kolostrum fünf bis sechs Stunden nach der initialen Kolostrumgabe positive Effekte auf die Fruchtbarkeit, die erste Laktation und die durchschnittliche Gewichtszunahme hat. Trotz-Williams et al. (2008) beschrieben ein geringeres Risiko einer FTPI, wenn eine größere Menge an Kolostrum in den ersten sechs Stunden nach der Geburt verfüttert wird.

2.4 Failure of Transfer of Passive Immunity

Eine FTPI ist keine Erkrankung des neugeborenen Kalbes, sondern ein Zustand, der für eine unzureichende Versorgung des Kalbes mit Immunglobulinen spricht. Durch den Mangel an Immunglobulinen ist das Kalb prädisponiert für die Entwicklung von Krankheiten. Studien haben gezeigt, dass Kälber, die das Kolostrum direkt über das Euter der Mutterkuh aufnehmen, öfters eine FTPI erleiden, als Kälber, die über die Nuckelflasche oder über einen Drencher das Kolostrum erhalten. Durch die Aufnahme von Kolostrum direkt beim Muttertier kann nicht kontrolliert werden, welche Menge das Kalb tatsächlich getrunken hat (Weaver et

al. 2000, Beam et al. 2009).

Zur Vermeidung des Risikos einer FTPI ist es essenziell, eine adäquate Kolostrumversorgung des Kalbes in den ersten Lebensstunden sicherzustellen. Kälber benötigen mindestens 150 g Immunglobulin G, um die Gefahr einer FTPI zu umgehen. Ist die passive Immunisierung der Kälber nicht ausreichend, erleiden sie häufig Krankheiten des Respirationstrakts (Odds Ratios (OR) = 2,27, 95 % Confidence interval (CI) = 1,62–3,17) sowie Durchfallerkrankungen (OR = 1,76, 95 % CI = 0,94–3,27) (Raboisson et al. 2016). Um für das Kalb eine exzellente Versorgung mittels Passive Transfer zu gewährleisten, werden 300 g an IgG in den ersten Stunden nach der Geburt empfohlen. Maßgeblich für eine hohe Aufnahme an IgG im Kalb ist die Qualität und die Menge des verabreichten Kolostrums (Godden et al. 2019).

Eine FTPI wird nachgewiesen, indem beim neonatalen Kalb die Konzentration an Immunglobulin G im Serum bestimmt wird (Cuttance et al. 2019). Zur Gewinnung von Serum wird den Kälbern ab dem 2. Lebenstag bis zum 6. Lebenstag Vollblut aus der Jugularvene mittels eines Vacutainer-Systems entnommen und anschließend zentrifugiert (Deelen et al. 2014).

2.5 Erfolgskontrolle der Kolostrumverabreichung

Um die Kolostrumversorgung des Kalbes zu überprüfen, gibt es sowohl direkte als auch indirekte Nachweismethoden. Eine direkte Nachweismethode ist die Messung von Immunglobulinen im Serum des Kalbes. Diese wird mittels eines Enzym-linked Immunosorbent Assays (ELISA) oder einer radialen Immunodiffusion (RID) durchgeführt. Der Goldstandard zur Bestimmung der IgG-Konzentration im Serum ist die Durchführung einer radialen Immunodiffusion. Aufgrund der höheren Kosten, des benötigten Labors und geeigneten Personals wurden weitere Tests entwickelt, welche in der Praxis einfacher umzusetzen sind (Cuttance et al. 2019).

Da eine RID sehr teuer ist und lange dauert, wurden indirekte Messmethoden entwickelt, um die IgG-Konzentration zu bestimmen bzw. um andere Parameter zu messen, welche mit der IgG-Konzentration stark korrelieren. Indirekte Nachweismethoden sind die Bestimmung des Totalprotein (TP)-Gehalts im Serum, die Messung der Gamma-Glutamyl-Transferase- (GGT) Aktivität sowie der Zink-Sulfat-Trübungstest (Cuttance et al. 2019).

Eine einfachere und kostengünstigere Methode als Alternative zur RID ist die Messung des Totalproteins im Serum. Hierfür wird eine Blutprobe 24 Stunden nach der Kolostrumgabe genommen und mittels optischem Refraktometer das Totalprotein im Serum gemessen. Als Cutoff-Werte für eine FTPI gilt beim optischen Refraktometer ein Wert zwischen 5,0–5,5 g/dl

(Godden et al. 2019).

Eine Einteilung der Kälber nach deren IgG-Konzentration ist laut Lombard et al. (2020) wie folgt möglich: Eine exzellente Versorgung weisen Kälber mit einer IgG-Konzentration von $> 25,0$ g/l, was einem Totalprotein im Serum von $> 6,2$ g/dl und einem Brix-Level von $> 9,1$ % entspricht. Gut versorgte Kälber haben eine IgG-Konzentration zwischen 18,0 und 24,9 g/l (Totalprotein im Serum: 5,8–6,1 g/dl, Brix-Level: 8,9–9,3 %). Kälber mit einer mittelmäßigen Versorgung haben eine IgG-Konzentration von 10,0–17,9 g/l (Totalprotein im Serum: 5,1–5,7 g/dl, Brix-Level: 8,1–8,8 %). Eine schlechte Versorgung mit Kolostrum äußert sich in einer IgG-Konzentration von $< 10,0$ g/l, was einem Totalprotein im Serum von $< 5,1$ g/dl und einem Brix-Level von $< 8,1$ % entspricht. Am Betrieb sollte eine Einteilung der Kälber in diese vier Kategorien wie folgt angestrebt werden: 40 % in Kategorie eins (IgG-Konzentration $> 25,0$ g/l), 30 % in Kategorie zwei, 20 % in Kategorie drei und maximal 10 % der Kälber sollten eine IgG-Konzentration von < 10 g/l und somit Kategorie vier angehören.

3 Material und Methoden

3.1 Ethische Voraussetzungen

Die Studie wurde vom Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft und Forschung genehmigt (Geschäftszahl: 2021-0.644.875).

3.2 Landwirtschaftliche Betriebe und Tiere

Die Sammlung der Kolostrumproben erfolgte von September 2021 bis September 2022 und wurde von den Landwirt:innen selbstständig durchgeführt. Insgesamt haben elf landwirtschaftliche Betriebe aus Salzburg an der Studie teilgenommen und es wurden 245 Kolostrumproben gesammelt.

3.3 Sammlung der Kolostrumproben

Um eine adäquate Probenentnahme zu gewährleisten, wurden die Landwirt:innen zu Beginn durch eine umfassende Anleitung bezüglich Probenentnahme eingeschult. Zur Gewinnung der Kolostrumproben bekamen die Landwirt:innen das benötigte Material zur Verfügung gestellt, welches aus Probenröhrchen zu je 15 ml und einem dazugehörigen Probenbegleitschreiben bestand. Dieses Probenbegleitschreiben war gegliedert in zwei Abschnitte. In Teil eins wurden Informationen zum Muttertier und der Geburt erhoben, der zweite Teil beinhaltete Fragen zum Kalb. Folgende Informationen bezüglich des Muttertieres und der Geburt wurden durch das Probenbegleitschreiben eruiert: Name und Ohrmarkennummer, Anzahl bisheriger Geburten/Laktationen, Dauer der Trockenstehzeit, Art der Trockenstellung, Erkrankungen während der Trockenstehzeit, Laufenlassen des Kolostrums vor der Melkung, Gesamtmenge des abgemolkenen Kolostrums und ob eine Impfung der Kuh erfolgte.

Im zweiten Abschnitt zum Kalb wurden folgende Auskünfte eingeholt: Ohrmarkennummer, Zeitpunkt der Geburt, Zeitpunkt der Melkung des Muttertieres, Zeitpunkt der Kolostrumgabe, Art der Kolostrumaufnahme, ob das Kolostrum der eigenen Mutter verwendet wurde und ob eine Reinigung des Euters vor der Melkung durchgeführt wurde. Die Landwirt:innen sammelten die Proben direkt nach der Abkalbung vom Erstgemelk des Muttertieres und beschrifteten die einzelnen Probenröhrchen. Anschließend wurden die Kolostrumproben unmittelbar am landwirtschaftlichen Betrieb tiefgekühlt (minus 18–20 °C) und so lange gelagert, bis die Abholung und der Weitertransport nach Wien erfolgte. Die Proben wurden gefroren an die Universitätsklinik für Wiederkäuer nach Wien transportiert. Nach Ankunft

wurden die Kolostrumproben bis zur weiteren Verarbeitung wiederum bei minus 20 °C aufbewahrt. Die Analyse der Proben erfolgte im Milchlabor an der Wiederkäuerklinik der Veterinärmedizinischen Universität Wien.

3.4 Ermittlung der Gesamtkeimzahl und Anzahl an coliformen Bakterien

Zu Beginn der Probenanalyse wurde eine ausgewählte Menge an Kolostrumproben für die Weiterverarbeitung über Nacht langsam im Kühlschrank bei 5–7 °C aufgetaut. Am darauffolgenden Tag wurden die Proben für die Auswertung verwendet. Die Untersuchung der Kolostrumproben erfolgte nach Arbeitsanweisungen im Milchlabor an der Universitätsklinik für Wiederkäuer, welche für dieses Projekt etabliert wurden und in den Punkten 3.4.1 bis 3.5. näher beschrieben werden. Am Tag der Probenbearbeitung wurde als Erstes mit der Vorbereitung des Arbeitsplatzes begonnen. Benötigt wurden je Kolostrumprobe drei Blutagar-Platten (Columbia-Agar mit 5 % Schafblut) und zwei MacConkey-Agar-Platten, Natriumchlorid 0,9 % zur Herstellung der Verdünnungsreihe sowie Pipettiermaterial und Spatel zum Auftragen der Proben auf die Agar-Platten.

3.4.1 Herstellen der Verdünnungsreihe

Nach Vorbereitung des benötigten Materials wurde mit der Herstellung der Verdünnungsreihe begonnen. Zu Beginn wurden 900 µl einer 0,9%igen sterilen NaCl-Lösung in Tubes vorgelegt. Je Probe wurden drei Tubes benötigt, um die nachfolgende Verdünnungsreihe herzustellen. Im nächsten Schritt wurde das Röhrchen mit der Kolostrumprobe mittels Vortexer für zehn Sekunden homogenisiert. Anschließend erfolgte die Erstellung der ersten Verdünnung (V1), wofür jeweils 100 µl Kolostrum mit 900 µl NaCl vermischt wurden. Weiters wird die V1-Verdünnung zehn Sekunden gevortext. Anschließend wurden aus der ersten Verdünnung 100 µl entnommen und wieder mit 900 µl NaCl im zweiten Tube vermischt, um die zweite Verdünnung (V2) zu erhalten. Nach Vortexen der V2 wurden wiederum 100 µl entnommen und mit den 900 µl NaCl im dritten Tube vermischt. Diese drei Verdünnungen V1, V2 und V3 wurden anschließend auf die Agar-Platten (1 x Columbiar und 1 x MacConkey) ausplattiert. War die Anzahl der Kolonien auf den Agarplatten nicht auszählbar, wurde eine vierte Verdünnung (V4), wie bereits oben beschrieben aus der V3, angefertigt.

3.4.2 Ausplattieren

Nach Fertigstellung der Verdünnungsreihe wurde jede Verdünnung auf eine Agar-Platte

ausplattiert. Hierzu wurden drei Blutagar-Platten (Columbia-Agar mit 5 % Schafblut) und zwei MacConkey-Agar-Platten benötigt, welche zuvor mit Proben-ID, Datum und Verdünnungsstufe beschriftet wurden. Anschließend wurden 100 µl der Kolostrumprobe auf die Platte pipettiert und ausplattiert. Zusätzlich wurden zwei MacConkey-Agar-Platten verwendet, um die Anzahl coliformer Erreger im Kolostrum bestimmen zu können. Auf den MacConkey-Agar-Platten wurde einmal eine native Kolostrumprobe zu 100 µl aufgetragen und ausplattiert und zum anderen 100 µl der zuvor hergestellten V1-Verdünnung. Nach erfolgreichem Auftragen und Ausplattieren der Probe wurden die insgesamt fünf Agar-Platten für 18–24 Stunden bei 37 °C im Brutschrank inkubiert.

3.4.3 Auszählen der koloniebildenden Einheiten

Nach der Inkubation der Agar-Platten im Brutschrank folgte das Auszählen der Kolonien. Als Erstes wurden alle Platten fotografiert, um eine sachgerechte Dokumentation der Ergebnisse zu gewährleisten. Waren nur wenige KbE auf der Platte vorhanden, erfolgte die Zählung mit freiem Auge. Wenn sich mehrere gebildete Kolonien auf den Platten befanden, wurde das Auszählen der KbE durch die Zählsoftware „Fiji“ durchgeführt. Ein Auszählen der Kolonien auf den Agar-Platten erfolgte bis zu 300 gebildeten Kolonien je Platte. Die Ergebnisse der ausgewerteten Platten wurden in eine Excel-Tabelle übertragen. Je Kolostrumprobe wurden mindestens zwei Verdünnungen ausgezählt. War dies jedoch aufgrund einer Anzahl von > 300 KbE pro Platte nicht möglich, so wurde die Probenbearbeitung wiederholt und eine weitere Verdünnung (V4-Verdünnung) hergestellt und ausplattiert. Nach Inkubation im Brutschrank wurden die Kolonien auf den Platten erneut ausgezählt. Wenn trotz des weiteren Verdünnungsschrittes nicht zwei Platten auszählbar waren, sprich mehr als 300 KbE pro Platte vorhanden waren, wurde diese Kolostrumprobe als „nicht auswertbar“ eingestuft.

3.5 Bestimmung des Immunglobulingehalts

Neben der Bestimmung der Gesamtkeimzahl und der coliformen Erreger wurde ebenso der Brix-Wert der Kolostrumproben mittels eines digitalen Refraktometers (MA871 Refractometer, Hebesberger, Neuhofen, Österreich) bestimmt. Eine gute Kolostrumqualität wurde durch einen Brix-Wert > 22 % definiert, Werte ≤ 22 % Brix wurden als schlechte Qualität gewertet.

Zu Beginn der Messung wurde das digitale Brix-Refraktometer eingeschaltet und mit deionisiertem Wasser (WEK) kalibriert. Eine erneute Kalibrierung des Gerätes wurde nach zehn Proben durchgeführt. Nach Kalibrierung ist das Gerät für die Messung bereit. Als Erstes

wurde das Röhrchen mit der Kolostrumprobe mittels eines Vortex-Schüttlers (VF2®, IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Deutschland) homogenisiert. Anschließend wurde mit einer 2 ml Pasteur-Einwegpipette die Probe aufgezogen und ein Tropfen auf den Messsensor des Gerätes gegeben. Mit der „Read-Taste“ wurde die Messung gestartet und der Brix-Wert wurde in Prozent angegeben. Der Brix-Wert wurde im Laborbuch notiert und ebenso wie die Ergebnisse der KbE der Agar-Platten in der Excel-Tabelle festgehalten. Nach jeder gemessenen Probe wurde der Messsensor mit deionisiertem Wasser gereinigt und die Oberfläche mit einem Tuch abgetrocknet.

3.6 Statistische Auswertung

Die Verwaltung und Aufbereitung der Daten (Ergebnisse des digitalen Brix-Refraktometers und die erhaltenen Werte der jeweiligen Verdünnungen bei der Auszählung der Platten) erfolgten mit Microsoft Excel. Die Antworten der Probenbegleitschreiben und der Fragebögen wurden jeweils mit einer Nummer kodiert und in eine Tabelle übertragen. Die weitere statistische Auswertung wurde mit SPSS Statistics (SPSS® Statistics, Version 28, IBM®, New York, USA) durchgeführt. Zur Einteilung der Proben hinsichtlich der bakteriellen Kontamination, wurden die Ergebnisse in zwei Gruppen (gutes und schlechtes Kolostrum) nach beschriebenen Grenzwerten eingeteilt (McGuirk und Collins 2004). Eine detaillierte Beschreibung der angewandten statistischen Methoden wird in der Publikation unter Punkt 2.8. „Statistical Analysis“ dargestellt. Alle Ergebnisse $p < 0,05$ wurden als statistisch signifikant interpretiert.

4 Publikation

4.1 Angaben zur Eigenleistung

Da aus dem Publikationsmanuskript die einzelnen Aufgabenbereiche der Autor:innen nicht hervorgehen, wird hier auf die Arbeit der Diplomandin genauer eingegangen.

Der Aufgabenbereich der Diplomandin bezog sich auf die Bearbeitung der Kolostrumproben. Bei der Auswertung der Kolostrumproben wurde wie bereits oben in Punkt 3 „Material und Methode“ beschrieben vorgegangen. Alle beschriebenen Methoden zur Probenbearbeitung wurden von der Diplomandin selbst im Milchlabor der Wiederkäuerklinik der Veterinärmedizinischen Universität Wien durchgeführt. Das Manuskript wurde von allen Autor:innen in Zusammenarbeit erstellt und die finale Version des Manuskripts wurde von allen Autor:innen freigegeben.

4.2 Publikation

Veröffentlichung:

Animals 2023, Volume 13, Issue 11, 1740

DOI 10.3390/ani13111740

<https://doi.org/10.3390/ani13111740>


Received: 8 May 2023/Accepted: 23 May 2023

The Authors: Katharina Lichtmannsperger, Christina Hartsleben, Magdalena Spöcker, Nicole Hechenberger, Alexander Tichy and Thomas Wittek



Article

Factors Associated with Colostrum Quality, the Failure of Transfer of Passive Immunity, and the Impact on Calf Health in the First Three Weeks of Life

Katharina Lichtmannsperger ^{1,*},[†] , Christina Hartsleben ^{1,†}, Magdalena Spöcker ¹, Nicole Hechenberger ², Alexander Tichy ³ and Thomas Wittek ¹

¹ Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, University Clinic for Ruminants, University of Veterinary Medicine Vienna, Veterinärplatz 1, 1210 Vienna, Austria; christina.hartsleben@yahoo.de (C.H.); m.spoecker@gmx.at (M.S.); thomas.wittek@vetmeduni.ac.at (T.W.)

² Animal Health Service Salzburg, Bundesstraße 6, 5071 Wals-Siezenheim, Austria; nicole.hechenberger@salzburg.gv.at

³ Department for Biomedical Sciences, Bioinformatics and Biostatistics Platform, University of Veterinary Medicine Vienna, Veterinärplatz 1, 1210 Vienna, Austria; alexander.tichy@vetmeduni.ac.at

* Correspondence: katharina.lichtmannsperger@vetmeduni.ac.at

[†] These authors should be considered as joint first authors.

Simple Summary: Calves rely on passive immunization with significant quantities of high-quality colostrum within the first few hours of life. If immunoglobulin transfer after birth fails, calves face the failure of transfer of passive immunity. FTPI has been known to lead to high morbidity and mortality rates. Therefore, FTPI constitutes a major animal welfare issue. The objectives of this study were to evaluate the factors associated with colostrum quality and FTPI in calves from dairy farms in Austria and to assess the associations between disease occurrence and FTPI. The number of lactations of the dam and the time lag between parturition and colostrum harvest were significantly associated with low colostrum quality. Colostrum quantity and colostrum quality were factors significantly associated with FTPI. Calf morbidity rates, especially for diarrhea, were significantly associated with FTPI. The present investigation underlines the importance of improving farmers' awareness of colostrum management, especially of the most substantial factors, including colostrum quality and colostrum quantity; it further elucidates the consequences of FTPI for disease occurrence.

Abstract: The objectives of this study were to evaluate factors associated with colostrum quality and FTPI in calves from dairy farms in Austria and to assess the associations between disease occurrence and FTPI in calves. In total, 250 calves and their colostrum samples originating from 11 dairy farms were included in the study. All calves born between September 2021 and September 2022 were included. Blood samples were collected between the third and the sixth day of age. The farmers were trained in disease detection and recorded any health events within the first three weeks of age daily. Multiparous cows (>3 lactation) and colostrum harvesting within the first 2 hours after parturition were significantly associated with good colostrum quality (>22% Brix). Colostrum quantity (≥ 2 L) and quality ($\geq 22\%$ Brix) acted as protective factors against FTPI (serum Brix $\geq 8.4\%$) with odds ratios of OR = 0.41 and OR = 0.26, respectively. Calves facing any health event (diarrhea, navel illness, bovine respiratory disease, abnormal behavior) in the first three weeks of life had a higher probability of FTPI. Calves exhibiting diarrhea in the first 3 weeks of life were associated with having FTPI (OR = 2.69). The results confirm the current recommendations for good colostrum management practices and the impact of FTPI on calf morbidity.

Keywords: colostrum quality; poor-quality colostrum; bacterial contamination; FTPI; morbidity; odds ratio; calf diarrhea; navel illness; bovine respiratory disease; health event



Citation: Lichtmannsperger, K.; Hartsleben, C.; Spöcker, M.; Hechenberger, N.; Tichy, A.; Wittek, T. Factors Associated with Colostrum Quality, the Failure of Transfer of Passive Immunity, and the Impact on Calf Health in the First Three Weeks of Life. *Animals* **2023**, *13*, 1740. <https://doi.org/10.3390/ani13111740>

Academic Editors: Steven Van Winden and Nicola Blackie

Received: 8 May 2023

Revised: 19 May 2023

Accepted: 23 May 2023

Published: 24 May 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Calves rely on passive immunity based on immunoglobulins (IgGs) originating from the colostrum, since the cotyledonary synepitheliochorial placenta type of cows acts as a barrier for immunoglobulin transfer during pregnancy [1]. Feeding with sufficient quantities of high-quality colostrum immediately after birth is the most important protective factor in preventing calves from suffering from the failure of transfer of passive immunity (FTPI) [1]. Additionally, the colostrum contains many other essential constituents, for instance, growth factors, hormones, antimicrobial factors, leucocytes, oligosaccharides, mRNA, and nutrients; the actual role of all these constituents is not yet clearly understood [1]. High-quality colostrum is defined as having high immunoglobulin concentrations (≥ 50 g/L) and low bacterial contamination (total plate counts $< 100,000$ cfu/mL; coliform counts $< 10,000$ cfu/mL) [1–3]. Feeding with low-quality colostrum (< 50 g/L) is known to be one of the factors significantly associated with FTPI, with an odds ratio of 10.7 (OR = 10.7, 95% confidence interval CI = 4.7–24.2) [4]. The apparent efficiency of immunoglobulin absorption tends to be higher in colostrum with lower levels of bacterial contamination [5]. Additionally, calves fed a second colostrum meal were less likely to suffer from FTPI. Of the 4336 investigated calves, 9.4% of those that received two meals of colostrum experienced FTPI and 22.2% of the calves that received one meal of colostrum experienced FTPI [6]. The definition of FTPI is a serum IgG level below 10 mg/mL, which is equal to serum Brix levels of 8.4% [7–9]. In a meta-analysis of the consequences of FTPI, the adjusted risks (95% CI) for mortality, bovine respiratory disease (BRD), diarrhea, and overall morbidity in the case of FTPI were 2.12 (1.43–3.13), 1.75 (1.50–2.03), 1.51 (1.05–2.17) and 1.91 (1.63–2.24), respectively [10]. A study from Germany noted that calf mortality rates (definition of calf mortality: 2 days to 6 months of age) of above 5% were reported on farms with more than 25% of the calves suffering from FTPI [11]. A study from New Zealand including pasture-based dairy systems also detected greater odds of farmer-recorded animal health events (OR = 1.68) in calves with FTPI [12]. Besides the fact that FTPI leads to significant economic losses due to high morbidity and high mortality, it constitutes a severe animal welfare issue [13]. Studies from different countries show that FTPI occurs frequently, and the number of calves affected with FTPI differs substantially between studies. For instance, 14.1% of the included calves were affected in a study from Scotland (N included farms = 38, N included calves = 370), 27.0% in Germany (2 farms; 216 calves), 33.0% in New Zealand (107 farms; 3819 calves), 43.5% in Switzerland (141 farms; 373 calves), 41.9% in Australia (23 farms; 253 calves), and 19.2% in the USA (413 farms; 2030 calves) [4,14–19]. Low colostrum quality is one of the major risk factors associated with FTPI; it is influenced by multiple factors, which can be partially influenced by the farmer through management. Such management-related factors include the time lag between parturition and colostrum harvest, the presence of the dam during colostrum harvest, colostrum storage procedure, and heat treatment of the colostrum [20–23]. Cow-related factors, such as the number of lactations, genetic parameters, dry period length, ante-partum milk leakage, colostrum quantity, the metabolic status of the cow, and udder health have been noted to influence colostrum quality [4,24–28]. Environmental factors, such as the season of calving and the temperature–humidity index, have been proven to have an impact. There are contradictory results regarding immunoglobulin concentrations, whereas other factors (e.g., management-related and cow-related factors) seem to have stronger effects [26,29].

The objectives of this study were to evaluate the factors associated with colostrum quality and serum Brix values in calves from dairy farms in Austria and to assess whether calf diarrhea, navel illness, and BRD are associated with FTPI within the first three weeks of life.

We hypothesized that (1) multiple factors are associated with a low colostrum quality and (2) a low serum Brix level and (3) that calves experiencing diarrhea, navel illness, and/or BRD have a higher probability of exhibiting FTPI.

2. Materials and Methods

2.1. Ethical Considerations

This study was approved by the Ethics and Animal Welfare Committee (ETK) of the University of Veterinary Medicine, Vienna, and the Austrian national authorities, according to § 26 of the Tierversuchsgesetz 2012—TVG 2012 (GZ.: 2021-0.644.875).

2.2. Farm and Animal Selection

In total, 11 farms in the Austrian federal district of Salzburg volunteered to take part in the study; 250 calves born between 17 September 2021 and 30 September 2022 and their corresponding colostrum samples were included in the study. None of the included farms performed any kind of heat treatment procedure, such as colostrum pasteurization. Additionally, the farms did not use any kind of colostrum replacer.

2.3. Cows

In total, 250 cows were included; of these cows, 213 (85.2%) were healthy throughout the whole dry period and at calving and 11 cows (4.4%) showed a disease before/at parturition. Additionally, 2 (0.8%) of the 250 cows suffered from acute mastitis during the dry period, 1 cow (0.4%) showed retained fetal membranes, 7 (2.8%) suffered from clinical hypocalcemia, and 1 cow suffered from moderate lameness (0.4%). Moreover, 21 cows received a prophylactic treatment with an oral calcium bolus or a Vitamin D₃ injection in combination with oral calcium (N = 8). The cows were grouped as suffering from disease during the dry period or at calving (“disease yes”) or not (“disease no”). In total, 15 cows received a vaccination against bovine rota-/corona virus and *E. coli* and 15 cows were vaccinated against a herd-specific salmonella strain. Of the 53 animals (10.0%) showing ante-partum milk leakage, 22 (41.5%) were primiparous cows, 17 (32.1%) received intramammary antibiotics, 4 received an internal teat sealant (ITS) (7.6%), 1 (1.9%) received no medication, and 9 (17.0%) received intramammary antibiotics and an additional ITS, respectively. Ante-partum milk leakage was defined as colostrum leakage during parturition and/or immediately before the first colostrum harvest after calving. Calving assistance was categorized according to three categories: (1) normal calving, i.e., spontaneous delivery with no assistance, (2) assisted calving, with one person assisting at the calving, (3) severe, with >1 person assisting at the calving and/or a vet being consulted.

2.4. Calves

All 250 calves were separated from their mothers within 1 hour of birth. The breeds were Simmental (N = 118; 59.3% female and 40.7% male), Pinzgauer (N = 65; 33.9% female and 66.1% male), and cross-breed calves (N = 44; 45.4% female and 54.6% male). All calves underwent a physical examination on the day of the blood sample collection (3rd to 6th days of age); details of the blood sample collection are summarized in Section 2.6. The time point of the blood sample collection was restricted to 3 to 6 days of age, as described elsewhere (7). The results from the physical examination included a general assessment (general behavior, posture, body condition scoring, hair, skin turgor, and mucus membranes), navel, lung, heart, and abdominal assessments (including auscultation), and a fecal assessment. The detailed assessment methods are summarized in Section 2.7.

2.5. Colostrum Quality Assessment

2.5.1. Colostrum Brix Measurements

Following calving, the colostrum was routinely harvested (via a milking machine or hand milking) by the farmers. Subsequently, the colostrum was collected at the point of calf feeding. For example, for farmers feeding the colostrum using a feeding bucket, the sample was collected directly from the feeding bucket. One sterile 15 mL tube was filled with colostrum with the collector wearing disposable gloves. The colostrum sample was immediately frozen at −20 °C at the farm. All colostrum samples were transported frozen on ice in a polystyrene box to the diagnostic laboratory of the University Clinic for Rumi-

nants, Vienna. In the lab, all samples were thawed in the refrigerator at 5–7 °C and vortexed for 5–10 s (VF2[®], IKA[®]-Werke GmbH & Co. KG, Staufen,, Germany). Subsequently, the Brix refractometer (0 to 85% Brix; HM-DREF-1[®], Hebesberger Messtechnik, Neuhofen, Austria) was calibrated using deionized water. Calibration was carried out routinely at the beginning of the analysis and following the measurement of 10 colostrum samples. After calibration, the colostrum was pipetted onto the prism using a 1-way 2 mL plastic pipette. The Brix percentage was recorded. In total, 245 of the 250 colostrum samples could be measured, and 5 samples were excluded due to technical reasons (i.e., error message on the refractometer).

2.5.2. Bacterial Contamination

Bacterial contamination was assessed in the diagnostic laboratory of the University Clinic for Ruminants, Vienna. Bacterial contamination was assessed using cut-off values of 100,000 colony-forming units (cfu) per ml and 10,000 cfu/mL for total plate counts (TPC) and coliform counts, respectively (2). In brief, the colostrum samples were thawed in the refrigerator at 5–7 °C and vortexed for 5–10 s (VF2[®], IKA[®]-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Germany). A 1:10 dilution series using 900 µL of sterile 0.9% physiological sodium chloride solution (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany) and 100 µL of native colostrum or the corresponding dilution was prepared in 1.5 mL Eppendorf tubes. Subsequently, 100 µL of native colostrum (1:10) and dilution 1 (1:100) and dilution 2 (1:1000) was pipetted on the Columbia agar plates (containing 5% sheep blood) to assess the TPC. Additionally, 100 µL of the native colostrum (1:10) and dilution 1 (1:100) was plated on MacConkey agar for coliform counts. All agar plates were incubated under aerobic conditions at 37 °C for 18–24 h. Photographs were taken of all agar plates and the colonies were counted using the free available Fiji Software (Fiji[®], ImageJ). All visible colonies on the Columbia agar were counted. If the cfu levels were above 300 cfu/plate, the colostrum sample was investigated a second time after an additional dilution step (1:10,000). If the total number of colonies per plate still exceeded 300 cfu/plate; the sample was not further investigated and was considered to be non-assessable (“n.a.”). The cfu levels were multiplied with the respective dilution factor and cfu values were given as the cfu per milliliter of colostrum (cfu/mL). This study was conducted alongside another investigation by our group on colostrum management practices in Austria (Hechenberger et al., unpublished).

2.6. Serum and Plasma Brix Measurements

Serum and plasma samples were collected between the 3rd and the 6th day of age by jugular venipuncture using an 18-gauge needle and a Vacutainer system with serum (clot-activator) and EDTA tubes (Vacuette[®], Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster, Austria), respectively. This investigation was performed together with an evaluation of the point-of-care testing used to test for FTPI under field conditions (Hartsleben et al., under review). EDTA and serum tubes were centrifuged at 1500 × g for 10 min at 20–25 °C at the farm of origin (CGOLDENWALL 800D Electric Centrifuge Medical Lab Centrifuge 4000 rpm with CE 6 × 20 mL, Zhengzhou Jin Chen Electronic Technology Co., Ltd., Zhengzhou, China). Subsequently, the Brix values were determined using a digital Brix refractometer (MA871 Refractometer, Hebesberger, Neuhofen, Austria) under field conditions. FTPI was defined as serum Brix values below 8.4% [7].

2.7. Definition of Calf Diseases

The calves underwent a complete physical examination by a veterinarian before blood sample collection (3rd to 6th days of age, see Section 2.4). A shortened physical examination was carried out by the farmers daily. Before the study, all farmers received individual training from one of the authors (C.H.) on how to perform the shortened physical examination using standard operating procedures (SOPs) and checklists. At least once per day, all calves were examined by the trained farmer. For each calf, an individual “calf card” with checklists was designed and fixed on the box of the respective calf (for details,

see Supplementary Materials Figure S1). These calf cards were created by the authors based on the clinical propaedeutics and the calf cards of the Swiss calf health service (Kälbergesundheitsdienst) [30]. Any pathological findings were noted on the calf card as described on the checklists used by the trained farmer. All diseases were graded as mild, moderate, or severe diseases based on the scoring system described elsewhere [30]. For statistical analysis, the disease scoring was dichotomized from three categories (mild, moderate, severe) to two categories (moderate, severe), whereby “mild disease” was changed to “moderate”. Moderate and severe deviations were summarized as “severe”.

2.7.1. Calf Diarrhea

Following the SOPs, defecation was assessed by the farmers for type, frequency, and painfulness. Fecal consistency, color, and odor, the degree of digestion, and foreign matter were evaluated. The farmers noted the fecal consistency. The consistency may be categorized as described elsewhere: firm, soft, mushy, liquid, and watery [30] (pp. 147–148). To simplify and unify the findings, the farmers documented the feces as “firm” (=moderate disease), “mushy” (=moderate disease), or “watery” (=severe disease).

2.7.2. Navel Illness

The umbilicus was assessed extra- and intra-abdominally by palpation. During the physical examination on the 3rd to the 6th days of age by one of the authors (C.H.), any sign of inflammation (swelling/changed consistency, heat, pain) and any signs of an umbilical or inguinal hernia or enlarged umbilical arteries/veins were noted [31]. To create a suitable SOP for farmers, only navel thickness (assessed by palpation) was assessed during the shortened daily physical examinations. As described in the clinical propaedeutic, navel thickness was assessed using eight categories [30,31]. For the statistical analysis, the pathological findings were classified as moderate or severe navel illness, defined as two-finger-thick and three-or-more-finger-thick swellings, respectively.

2.7.3. Bovine Respiratory Disease

As described in the SOPs, farmers assessed respiration by counting respiratory rates, coughing, and/or nasal discharge. Physiological respiration was defined as 20 to 40 calm and regular breaths per minute. Pathological changes were classified as follows: fast and shallow breathing (40 to 50 times per minute) was defined as moderate disease, very fast breathing, almost panting, and/or respiratory distress was defined as severe disease [30] (pp. 118–121). Coughing was divided into sporadic coughs (moderate disease) and intermittent coughing, which means more than 3 consecutive coughs (severe disease) [30] (p. 113). The quality of nasal discharge was assessed and categorized as serous discharge (moderate disease) if it had a watery, clear, slightly yellowish and/or greyish appearance. Severe disease was defined as viscous mucous that looked opaque and/or purulent discharge showing a yellow color [30] (p. 90).

2.7.4. Abnormal Behavior

Normal physiological behavior was defined as a bright and alert appearance [30] (p. 54). Pathological findings were classified according to three categories defined as follows: mildly depressed/somnolent (moderate disease), moderately depressed/stupor (severe disease), and severely depressed/coma (severe disease). As per these definitions, mildly depressed calves appear dull, apathetic, and sleepy. When walking, slight swaying is observed, and the eyelids are partially closed. Feed and water intake is reduced. Moderately depressed calves lie down determinedly and show markedly sleepy behavior. They can only be roused by very strong stimuli. Calves with severe depression have delayed reflexes and are recumbent, and their respiration is superficial [30] (p. 55).

2.8. Statistical Analysis

Data were collected and summarized using Microsoft Excel 2016. Subsequently, the data were transferred to IBM® SPSS® Statistics Version 28 (IBM®, New York, NY, USA) for further statistical analysis. Descriptive statistics were carried out and values are shown as the median 25th and 75th percentiles, minimum and maximum, since the Brix values were not normally distributed ($p < 0.05$, Kolmogorov–Smirnov test including Lilliefors correction). The coded values were labeled and factors that might explain an insufficient immunoglobulin concentration in the colostrum and in the calf serum were investigated using a two-step process. The first step was a binary logistic regression and the second step was a multiple logistic regression searching for statistically significant associations ($p < 0.05$). The binary logistic regression was carried out using the dichotomous colostrum Brix values ($>22\%$; $\leq 22\%$) and serum Brix values ($<8.4\%$; $\geq 8.4\%$) as dependent variables. The statistical procedure has been described elsewhere [4]. All factors that might influence the outcome were included as covariates. The binary and multiple logistic regression analyses showed odds ratios (OR) with a 95% confidence interval (95% CI) for the different categories of the covariates compared to the defined reference category. If the OR showed results equal to 1 (OR = 1), there was no association between the factor and the outcome. Factors with odds ratios > 1 (OR > 1) were interpreted as factors that were associated with the outcomes (colostrum quality: $>22\%$ or $\leq 22\%$ Brix; serum brix values: $<8.4\%$; $\geq 8.4\%$). Factors with odds ratios < 1 (OR < 1) were interpreted as protective factors. The associations between a low serum Brix value, which was defined as FTPI (Brix $< 8.4\%$), and the occurrence of calf diarrhea, BRD, navel illness, and/or an abnormal general behavior were investigated using disease occurrence (healthy, moderate disease, severe disease) as covariates. Case definitions were used as described in Section 2.7. If the OR showed results equal 1 (OR = 1), there was no association between disease occurrence and the outcome (serum Brix values: $<8.4\%$; $\geq 8.4\%$). Factors with odds ratios > 1 (OR > 1) were interpreted as factors that were associated with variable outcomes. Factors with odds ratios < 1 (OR < 1) were interpreted as protective factors. The Hosmer–Lemeshow goodness-of-fit function was applied for all analyses. All implemented tests were interpreted as statistically significant if the p value was < 0.05 .

3. Results

3.1. Colostrum Quality

Of the investigated colostrum samples, 140 (57.1%) showed poor colostrum quality of $\leq 22\%$ and 105 (42.9%) a good colostrum quality of $>22\%$ (Figure 1). The median colostrum Brix values were 21.2% (min = 7.3%, max = 35.1%, 25th = 18.5%, 75th = 25.0%). Primiparous cows (N = 71) showed median Brix values of 20.9% (min = 7.3%, max = 32.2%, 25th = 16.4%, 75th = 24.2%). Cows in their second (N = 58) and third (N = 49) lactations showed median Brix values of 20.9% (min = 10.9%, max = 28.3%, 25th = 18.0%, 75th = 24.0%) and 21.1% (min = 13.0%, max = 35.1%, 25th = 18.8%, 75th = 23.5%), respectively. All cows with >3 lactations (N = 66) were summarized and processed as one group and yielded median Brix values of 23.8% (min = 11.9%, max = 31.0%, 25th = 20.5%, 75th = 26.2%).

3.1.1. Explanatory Variables for Colostrum Quality

Binary Logistic Regression

Overall, the median number of lactations was 2.0 (min = 1.0, max = 11.0, 25th percentile = 1.0, 75th percentile = 4.0). The median gestation length (N = 234) was 284 days (min = 262, max = 301, 25th = 280, 75th = 288). The median time lag between parturition and the first milking (N = 248) was 75 min (min = 0, max = 960, 25th = 30.0, 75th = 180.0). The median dry period length, excluding primiparous cows (N = 174, missing information = 1), was 8.0 weeks (min = 5, max = 23, 25th = 7.0, 75th = 12.0). The univariable approach showed that the number of lactations, the dry-off procedure, the dry period length, the time to first milking, and ante-partum milk leakage were significantly associated with colostrum quality. The association between coliform counts

and colostrum quality was not evaluated, since all of the 135 investigated colostrum samples were below the threshold of $\leq 10,000$ cfu/mL. Of these, 83 (61.5%) and 52 (38.5%) showed Brix values $\leq 22\%$ and $>22\%$, respectively. The results of the binary logistic regression for colostrum quality are summarized in Table 1.

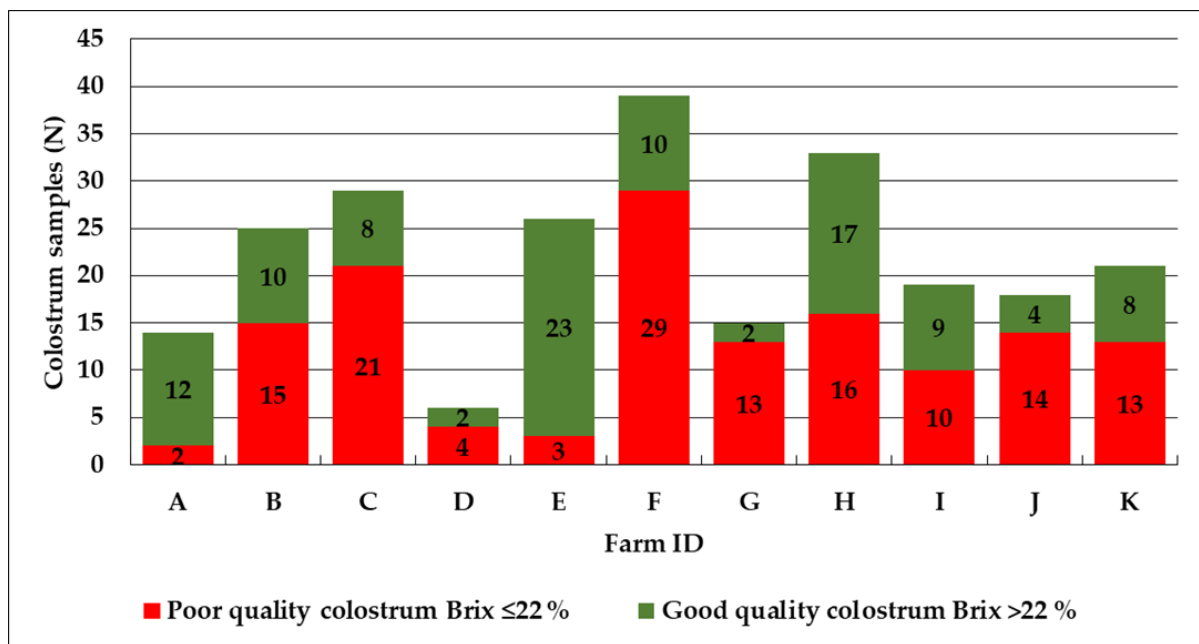


Figure 1. Overview of the 245 colostrum samples originating from 11 dairy farms of the Austrian federal state of Salzburg. The colostrum Brix values were categorized as high-quality colostrum ($>22\%$, green color) and low-quality colostrum ($\leq 22\%$, red color).

Table 1. Binary logistic regression for factors associated with poor colostrum quality. Poor colostrum quality was defined as a Brix value of $\leq 22\%$. Odds ratios (OR) were calculated using the basis category (OR = 1) as a reference. Odds ratios < 1 were interpreted as protective factors for poor colostrum quality and odds ratios > 1 were interpreted as factors associated with poor colostrum quality. All statistically significant differences ($p < 0.05$) are highlighted with an asterisk * (AB, antibiotic intramammary treatment; ITS, internal teat sealant).

Factor	N Samples Total	Brix $\leq 22\%$		Brix $> 22\%$		OR (95% CI)
		N Samples	% Samples	N Samples	% Samples	
Number of lactations						
1	71	48	67.6	23	32.4	1
2	58	38	65.5	20	34.5	0.91 (0.44–1.90)
3	49	32	65.3	17	34.7	0.91 (0.42–1.94)
>3	66	22	33.3	44	66.7	0.24 (0.12–0.49) *
Missing	6					
Gestation length						
0–279 days	37	19	51.4	18	48.6	1
>280 days	192	111	57.8	81	42.2	1.30 (0.64–2.63)
Missing	21					

Table 1. Cont.

Factor	N Samples Total	Brix ≤ 22%		Brix > 22%		OR (95% CI)
		N Samples	% Samples	N Samples	% Samples	
Ante-partum milk leakage						
Yes	53	37	69.8	16	30.2	1
No	191	102	53.4	89	46.6	0.50 (0.26–0.95) *
Missing	6					
Diseases during dry period						
Yes	11	6	54.5	5	45.5	1
No	234	134	57.3	100	42.7	1.12 (0.33–3.76)
Missing	5					
Time to first milking						
0–119 min	141	65	46.1	76	53.9	1
120–359 min	72	52	72.2	20	27.8	3.04 (1.65–5.61) *
≥360 min	32	23	71.9	9	28.1	2.99 (1.29–6.91) *
Missing	5					
Colostrum harvested						
0–3 L	109	59	54.1	50	45.9	1
4–6 L	104	64	61.5	40	38.5	1.36 (0.79–2.34)
>6 L	29	15	51.7	14	48.3	0.91 (0.40–2.06)
Missing	8					
Total plate count						
TPC < 100,000/mL	100	63	63.0	37	37.0	1
TPC ≥ 100,000/mL	38	23	60.5	15	39.5	0.90 (0.42–1.94)
Missing	112					
Dam vaccination						
Yes	30	22	73.3	8	26.7	1
No	215	118	54.9	97	45.1	0.44 (0.19–1.04)
Missing	5					
Dry-off procedure						
Primiparous cow	69	46	66.7	23	33.3	1
AB	92	60	65.2	32	34.8	0.94 (0.48–1.81)
ITS	37	11	29.7	26	70.3	0.21 (0.09–0.50) *
No medication	11	5	45.5	6	54.5	0.42 (0.11–1.51)
AB+ITS	34	17	50.0	17	50.0	0.5 (0.22–1.16)
Missing	7					
Dry period length						
Primiparous cow	70	48	68.6	22	31.4	1
<8 weeks	59	28	47.5	31	52.5	0.41 (0.20–0.85) *
≥8 weeks	115	64	55.7	51	44.3	0.58 (0.31–1.07)
Missing	6					

Multiple Logistic Regression Colostrum Quality

After the exclusion of the primiparous cows (no information on the dry period length and no dry-off procedure available) and missing values, information on 173 multiparous cows was available. The number of lactations (>3 lactations) turned out to be significantly associated with good colostrum quality (OR = 0.18, 95% CI = 0.04–0.73, $p = 0.02$). The time lag between parturition and the first milking was statistically associated with poor colostrum quality; for details, see Table 2.

Table 2. Multiple logistic regression for factors associated with poor colostrum quality. Poor colostrum quality was defined as a Brix value of $\leq 22\%$. Odds ratios (OR) were calculated using the basis category (OR = 1) as a reference. Odds ratios < 1 were interpreted as protective factors for poor colostrum quality and OR values > 1 were interpreted as factors associated with poor colostrum quality. All statistically significant differences ($p < 0.05$) are highlighted with an asterix * (AB, antibiotic intramammary treatment; ITS, internal teat sealant).

	OR (95% CI)	p Value
Number of lactations		
1	1	
2	0.68 (0.17–2.73)	0.59
3	0.71 (0.18–2.85)	0.62
>3	0.17 (0.04–0.70)	0.01 *
Gestation length		
0–279 days	1	
>280 days	1.36 (0.28–6.45)	0.70
Ante-partum milk leakage		
Yes	1	
No	0.70 (0.24–1.99)	0.50
Diseases during the dry period		
Yes	1	
No	0.35 (0.05–2.26)	0.27
Time to first milking		
0–119 min	1	
120–359 min	5.35 (1.83–15.63)	0.00 *
≥ 360 min	5.43 (1.48–20.00)	0.01 *
Colostrum harvested		
0–3 L	1	
4–6 L	1.18 (0.46–3.04)	0.74
>6 L	0.37 (0.09–1.52)	0.17
Total plate count		
TPC $< 100,000$ /mL	1	
TPC $\geq 100,000$ /mL	0.57 (0.21–1.50)	0.25
Dam vaccination		
Yes	1	
No	0.58 (0.17–1.98)	0.39

3.2. Physical Examination of the Calves

Milk intake was very good, good, moderate, poor, or absent in 215 (86.0%), 21 (8.4%), 8 (3.2%), 4 (1.6%), and 2 (0.8%) calves, respectively. The median body temperature was 38.9 (min = 38.0 °C, max = 40.5 °C, 25th percentile = 38.7 °C, 75th percentile = 39.1 °C) and the median pulse rate was 117 beats (min = 80, max = 200, 25th = 111, 75th = 124). The detailed results of the physical examinations conducted from the third to the sixth day of age are provided in the Supplementary Materials, Tables S1 and S2.

3.3. Serum and Plasma Brix Values

Of the 250 included calves, 93 (37.2%) and 157 (62.8%) showed an insufficient colostrum supply (FTPI) and a sufficient colostrum supply, respectively (Figure 2). The median serum and plasma Brix values were 8.6% and 9.3%, respectively. The serum and plasma Brix values ranged from 6.3% to 11.8% (25th percentile = 8.1%, 75th percentile = 9.3%) and 7.0% to 12.4% (25th = 8.8%, 75th = 10.1%), respectively.

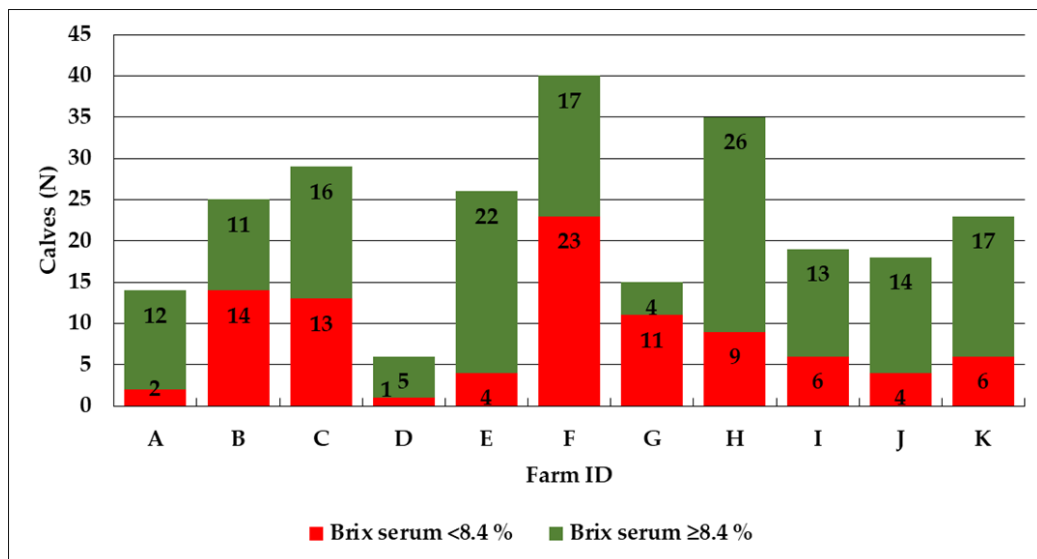


Figure 2. Overview of 250 serum samples from calves originating from 11 dairy farms of the Austrian federal state of Salzburg. The serum Brix values were categorized as a sufficient colostrum supply ($\geq 8.4\%$, no FTPI, green color) and an insufficient colostrum supply ($< 8.4\%$, FTPI, red color), respectively.

3.3.1. Explanatory Variables for Serum Brix Levels

Binary Logistic Regression

The median time lag between parturition and the first feeding ($N = 244$) was 100 min, (min = 10, max = 1260, 25th percentile = 45, 75th percentile = 195). The median time lag between the first milking and calf feeding was 15 min (min = 0, max = 660.0, 25th = 10.0, 75th = 30.0). The median quantity of colostrum intake was 2.5 L (min = 0, max = 5.0, 25th = 2.0, 75th = 3.0). The colostrum intake of the bottle-fed calves was categorized by the farmers as good in 221 calves and poor in 15 calves. Additionally, 3 calves were fed using an esophageal feeder and 11 calves stayed with their dam. In total, 234 calves received colostrum from their mother and 15 calves from other sources (a cow other than the mother, frozen colostrum stock), (missing value $N = 1$). The median TPC was 25,850 cfu/mL (min = 0, max = 3,030,000, 25th = 7000, 75th = 121,500). The association between coliform counts and serum Brix levels was not evaluable, since all of the 136 investigated colostrum samples were within the threshold with $\leq 10,000$ cfu/mL. Of these, 57 (41.9%) and 79 (58.1%) showed Brix values $< 8.4\%$ and $\geq 8.4\%$, respectively. The results are summarized in Table 3. The median coliform counts were 0 (min = 0, max = 2150, 25th = 0, 75th = 10).

Table 3. Binary logistic regression for factors associated with low serum Brix levels ($< 8.4\%$) indicating FTPI. Odds ratios (OR) were calculated using the basis category (OR = 1) as a reference. All statistically significant differences ($p < 0.05$) are highlighted with an asterix *. Assisted calving was defined as one person assisting at calving and severe dystocia was defined as more than one person assisting at calving and/or the vet being consulted.

Factor	N Calves Total	Brix < 8.4%		Brix $\geq 8.4\%$		OR (95% CI)
		N Calves	% Calves	N Calves	% Calves	
Colostrum quality						
$\leq 22\%$ Brix	140	69	49.3	71	50.7	1
$> 22\%$ Brix	105	21	20.0	84	80.0	0.26 (0.14–0.46) *
Missing	5					

Table 3. Cont.

Factor	N Calves Total	Brix < 8.4%		Brix ≥ 8.4%		OR (95% CI)
		N Calves	% Calves	N Calves	% Calves	
Total plate count						
<100,000 cfu/mL	101	44	43.6	57	56.4	1
≥100,000 cfu/mL	38	15	39.5	23	60.5	0.84 (0.40–1.81)
Missing	111					
Time to first feeding						
0–119 min	125	45	36.0	80	64.0	1
120–359 min	92	39	42.4	53	57.6	1.3 (0.75–2.27)
≥360 min	27	6	22.2	21	77.8	0.51 (0.19–1.35)
Missing	6					
Colostrum intake						
<2 L	43	23	53.5	20	46.5	1
≥2 L	190	61	32.1	129	67.9	0.41 (0.21–0.81) *
Missing	17					
Calving						
Unassisted	192	64	33.3	128	66.7	1
Assistance	40	18	45.0	22	55.0	1.64 (0.82–3.27)
Severe dystocia	8	5	62.5	3	37.5	3.33 (0.77–14.39)
Missing	10					

Multiple Logistic Regression

After applying multiple logistic regression, the colostrum quality, time to first feeding, and amount of colostrum fed to the calf showed a significant association with low serum Brix levels, indicating FTPI. For details, see Table 4.

Table 4. Multiple logistic regression for factors associated with low serum Brix values (<8.4%) indicating FTPI. Odds ratios (OR) were calculated using the basis category (OR = 1) as a reference. All statistically significant differences ($p < 0.05$) are highlighted with an asterisk *. Assisted calving was defined as one person assisting at calving and severe dystocia was defined as more than one person assisting at calving and/or the vet being consulted.

Factor	OR (95% CI)	p Value
Colostrum quality		
≤22% Brix	1	
>22% Brix	0.16 (0.06–0.43)	<0.001 *
Total plate count		
<100,000 cfu/mL	1	
≥100,000 cfu/mL	0.81 (0.33–1.96)	0.64
Time to first feeding		
0–119 min	1	
120–359 min	0.83 (0.33–2.09)	0.69
≥360 min	0.21 (0.06–0.8)	0.02 *
Colostrum intake		
<2 L	1	
≥2 L	0.25 (0.08–0.76)	0.01 *
Calving		
Unassisted	1	
Assistance	2.09 (0.79–5.56)	0.14
Severe dystocia	3.77 (0.62–23.26)	0.15

3.4. Effect of FTPI on Neonatal Diseases

Of the 250 included calves, 45 calves (18.0%), 44 calves (17.6%), and 25 calves (10.0%) experienced a health event of any kind in the first, second, or third week of life, respectively. Initially, health events (any signs of neonatal disease, as defined in Section 2.7) were summarized on a weekly basis and the associations between disease and FTPI were analyzed (for details, see Table 5). The association between disease occurrence and FTPI was the strongest in the third week; for details, see Table 5. Regarding the investigated neonatal diseases, only diarrhea showed a statistically significant association with an odds ratio of 2.69 (95%CI = 1.52–4.76); for details, see Table 6. For BRD, navel illness, the combination of diarrhea and BRD, and altered general behavior, the occurrence was too low for any statistically significant differences to be determined. When calculating the odds ratios for each week (1st, 2nd, and 3rd) for each disease, only diarrhea showed an association with FTPI. In the first week of life, the OR was 2.26 (95%CI = 1.10–4.65), in the second week it was 2.84 (95%CI = 1.38–5.85), and in the third week it was 4.61 (95%CI = 1.81–11.76), including the healthy calves as the basic category (OR = 1). The onset of severe diarrhea in the second and third weeks of life was particularly strongly associated with FTPI with odds ratios of 6.1 (1.6–23.26) and 16.13 (1.98–125.0), respectively. Detailed information on the associations between the occurrence of neonatal diseases and low serum Brix levels are provided in the Supplementary Materials (Tables S3–S8). In the multiple logistic regression, only the occurrence of diarrhea in the first 3 weeks was statistically significantly associated with a low serum Brix level of <8.4% (OR = 3.3, 95%CI = 1.77–6.13, $p < 0.001$).

Table 5. In total, 250 calves were included in the study and any sign of disease, as defined in Section 2.7, was documented for the first three weeks once per day. Signs of diarrhea, navel illness, BRD, and abnormal general behavior, as well as disease combinations, were summarized as “health events” in the binary logistic regression. The odds ratios (OR) were calculated for associations with FTPI (Brix values < 8.4%). Odds ratios were calculated using the basic category = healthy calves (OR = 1) as a reference. All statistically significant differences ($p < 0.05$) are highlighted with an asterisk *.

Factor	N Calves Total	Brix < 8.4%		Brix ≥ 8.4%		OR (95% CI)
		N Calves	% Calves	N Calves	% Calves	
First week						
Healthy	205	70	34.1	135	65.9	1
Health event	45	23	51.1	22	48.9	2.02 (1.05–3.87) *
Second week						
Healthy	206	70	34.0	136	66.0	1
Health event	44	23	52.3	21	47.7	2.13 (1.10–4.11) *
Third week						
Healthy	225	76	33.8	149	66.2	1
Health event	25	17	68.0	8	32.0	4.17 (1.72–10.10) *
First to third weeks						
Healthy	168	50	29.8	118	70.2	1
Health event	82	43	52.4	39	47.6	2.60 (1.51–4.49) *

Table 6. Binary logistic regression analysis was carried out using the serum Brix levels as a dependant variable. The table gives an overview of the associations of diarrhea, bovine respiratory disease (BRD), navel illness, diarrhea and BRD, and abnormal general behavior with a low serum Brix level of <8.4% in the first 3 weeks of life. Odds ratios (OR) were calculated using the basic category = healthy calves (OR = 1) as a reference. All statistically significant differences ($p < 0.05$) are highlighted with an asterisk *.

Factor	N Calves Total	Brix < 8.4%		Brix ≥ 8.4%		OR (95% CI)
		N Calves	% Calves	N Calves	% Calves	
Diarrhea						
Healthy	182	56	30.8	126	69.2	1

Table 6. Cont.

Factor	N Calves Total	Brix < 8.4%		Brix ≥ 8.4%		OR (95% CI)
		N Calves	% Calves	N Calves	% Calves	
Diarrhea	68	37	54.4	31	45.6	2.69 (1.52–4.76) *
BRD						
Healthy	227	86	37.9	141	62.1	1
BRD	23	7	30.4	16	69.6	0.72 (0.28–1.81)
Navel illness						
Healthy	248	92	37.1	156	62.9	1
Navel illness	2	1	50.0	1	50.0	1.69 (0.10–27.78)
Diarrhea and BRD						
Healthy	240	91	37.9	149	62.1	1
Diarrhea + BRD	10	2	20.0	8	20.0	0.41 (0.09–1.97)
Abnormal general behavior						
Healthy	226	81	35.8	145	64.2	1
Abnorm. behavior	24	12	50.0	12	50.0	1.79 (0.77–4.17)

4. Discussion

In total, 250 calves from 11 dairy farms from the federal state of Salzburg (Austria) were included in the study. Of the 245 investigated colostrum samples, 140 (57.1%) showed were of poor quality, with $\leq 22\%$ Brix. This is similar to the findings from other countries, where poor-quality colostrum has been found in 15.5% to 57.8% [4,14,29] of samples. The aforementioned studies investigated the colostrum samples using radial immunodiffusion (RID). Radial immunodiffusion is currently recognized as the gold standard; elsewhere, it has been noted that cheap and user-friendly indirect measurement methods, such as the digital Brix refractometer, are reliable alternatives for evaluating colostrum and serum immunoglobulin concentrations [15,32,33]. Of the 250 included calves, 93 (37.2%) showed a low serum Brix level of less than 8.4%, indicating FTPI. In plasma, the threshold for FTPI remains higher. An investigation carried out in Germany of the different analytical approaches for assessing FTPI described thresholds of 7.8% for serum and of 8.6% for plasma [15]. The occurrence of FTPI found in this study is comparable to that identified in other investigations, where FTPI was found in between 14.1% and 41.9% of the included colostrum samples [4,14,15,17–19]. There are differences between countries and herds regarding the occurrence of low-quality colostrum and FTPI [19]. In the present study, the best farm had 88.5% high-quality colostrum samples (Farm E) and the worst farm had 13.3% (Farm G) high-quality colostrum samples. Similarly, the number of calves showing a sufficient colostrum supply was 84.6% for the best farm (Farm E) and 26.7% for the worst farm (Farm G). It has been shown that individual farm management factors have a significant impact on FTPI frequency. A study conducted in Quebec (Canada) investigated the herd-level prevalence of FTPI in 59 dairy herds (with a minimum of 14 calves included per herd) and described high herd-level variations in the rates of calves experiencing FTPI, ranging between 30% and 100% [34]. A study conducted in Italy included 21 farms (244 calves) and described a within-herd prevalence of FTPI of 20.0% to 71.4% [35]. This underlines the importance of herd-specific evaluations of colostrum management practices.

In the present study, the variation in colostrum quality was high, with minimum levels of 7.3% and maximum levels of 35.1%. Since good colostrum quality acts as a protective factor for FTPI (OR = 0.26), it is essential to test the colostrum's quality before delivering it to the calf [4]. In an online questionnaire on calf management practices in Austria, only 20.8% of the 1287 included farmers implemented colostrum testing protocols on their farms; of these farmers, 86.1% stated that they perform visual inspection of the colostrum [36]. There is a further need to increase farmers awareness of good colostrum management practices, in which colostrum testing plays an essential role. Another management-related factor proven

to be significantly associated with colostrum quality is the time lag between parturition and the colostrum harvest. Harvesting colostrum 2 to 6 h after parturition showed significantly negative effects on colostrum quality in comparison with colostrum harvested within the first 2 h after parturition (OR = 5.29). Colostrum IgG levels have been described to decrease by 3.7% every hour after parturition [20]. Therefore, it is essential to milk the colostrum as soon as possible after birth. The positive effect of cows having more lactations on colostrum quality has been proven in multiple investigations on colostrum management [29]. In the present study, cows in their second lactation showed the worst colostrum quality, which is in accordance with other studies [4,29,37]. The binary logistic regression showed that ITS acts as a protective factor for poor colostrum quality (OR = 0.21). However, in the present study, this factor was not significant in the multiple logistic regression. It can be hypothesized that this might be due to the reduced probability of milk leakage ante partum and/or during parturition. In the present study, the questionnaire solely considered whether the cow experienced milk leakage during parturition and/or immediately before the colostrum harvest. Further studies are needed to investigate whether ITS might improve colostrum quality. It has been proven elsewhere that bacterial contamination of the colostrum has an effect on the apparent efficiency of immunoglobulin absorption and on the probability of calves experiencing pneumonia [5,38]. Only a few of the investigated colostrum samples showed contamination with coliform bacteria; therefore, it was not possible to calculate the effects on colostrum quality. Additionally, the majority of the TPC values were below the published threshold of <100,000 cfu/mL and the comparative groups were too small [2]. Due to resource issues, it was not feasible to investigate 100% of the colostrum samples for bacterial contamination; further work is needed in this field.

Factors such as feeding the calf with high-quality colostrum (>22% Brix) and higher quantities of colostrum (≥ 2 L) were revealed to be protective factors for calves facing FTPI, yielding odds ratios of OR = 0.16 and OR = 0.25, respectively. These effects have been proven several times by different research groups and are among the most important factors for ensuring a successful colostrum supply [1,39]. Contradictory results were found regarding the time to first feeding where the time lag (>360 min) seem to be protective (OR = 0.21). In total, 51.2% of the calves were fed within the first 2 hours of life, only 37.7% between 2 and 6 h after parturition, and only 11.1% more than 6 h after parturition. The number of calves in the last group was small and the distribution between calves with and without FTPI was unequal. Therefore, this result must not be over-interpreted. The common recommendations for good colostrum management state that the calf should be fed immediately after parturition [1].

In total, the number of calves showing any signs of BRD, navel illness, diarrhea and BRD, and/or an abnormal behavior was low. Therefore, it was not feasible to assess the association between each disease in the first, second, or third week of life. When summarizing any neonatal disease as a “health event”, there was a clear association (OR > 1) between disease occurrence and FTPI. The consequences of FTPI in terms of adjusted risks for diarrhea and BRD were found to be 1.75 and 1.51 in a recent meta-analysis [10]. With the present investigation, we can support the finding that there is a clear association between diarrhea and FTPI, with an odds ratio of 2.69 (1.52–4.76). The findings underline the importance of protecting calves from FTPI to prevent them from contracting neonatal diseases, especially diarrhea. In addition to successful colostrum management, there are multiple management-related, calf-related and environment-related factors that need to be addressed to achieve low on-farm calf morbidity and mortality rates.

In the present study, the farmers showed high levels of commitment and carefully followed the SOPs for physical examinations after receiving detailed training from one of the first authors (C.H.). One of the major limitations of the study was that no sample size calculation could be carried out in advance, since the farms joined the study voluntarily. Therefore, we cannot exclude an over- or under-representation of FTPI. Additionally, the number of calves suffering from pneumonia and navel illness was too low for us to assess the impact of FTPI. Further studies are needed to obtain information on the true prevalence

of FTPI in Austria and to further assess the impact of FTPI on neonatal diseases. Brix refractometry was used as a reference method to indirectly test for immunoglobulin concentrations in colostrum and serum. In future investigations, we recommend implementing the RID, which is currently recognized as the gold standard. In consensus with the literature from Austria, there is potential to improve colostrum management on farms in Austria, which could be addressed by the Animal Health Service. Good colostrum management is an indispensable component of raising healthy youngstock. In Austria, vets and advisers should not just focus on the effective transfer of passive immunity in calves but rather focus on achieving excellent passive transfer in calves and further reducing morbidity and mortality [9].

5. Conclusions

Colostrum harvested from cows within 2 hours of parturition and the colostrum from cows with >3 lactations was of a significantly better quality (>22% Brix). In the present study, the colostrum quality (>22% Brix) and the colostrum quantity (≥ 2 L) were the most important factors in preventing calves from experiencing FTPI. There is a strong association between the occurrence of calf diarrhea and FTPI within the first three weeks of life. Therefore, a sufficient colostrum supply achieving serum Brix levels greater than 8.4% is essential to protect calves from disease.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/ani13111740/s1>, Tables S1 and S2 show the results of the clinical assessments of the calves between the third and the sixth days of age by a veterinarian (author C.H.) according to the clinical assessment published by Baumgartner and Wittek, 2018. Tables S3–S8 show the results of the binary logistic regression analysis for the first, second, and third weeks of life using FTPI levels as the dependent variable and disease occurrence as covariates.

Author Contributions: Conceptualization, C.H., K.L., N.H. and T.W.; methodology, C.H., K.L. and T.W.; software, C.H., K.L. and A.T.; validation, C.H., K.L., A.T. and T.W.; formal analysis, C.H., K.L. and T.W.; investigation, C.H. and M.S.; resources, C.H. and T.W.; data curation, C.H., K.L. and A.T.; writing, K.L. and C.H.; writing, reviewing and editing, K.L., C.H., M.S., N.H., A.T. and T.W.; visualization, C.H. and K.L.; supervision, K.L. and T.W.; project administration, K.L., C.H., N.H. and T.W.; funding acquisition, K.L., N.H. and T.W. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The work of the veterinary doctorate student (Mag.med.vet. Christina Hartsleben) was financially supported by the Austrian Association for Buiatrics (ÖBG) and the Austrian Animal Health Service, Salzburg (Tiergesundheitsdienst Salzburg).

Institutional Review Board Statement: This study was approved by the Ethics and Animal Welfare Committee (ETK) of the University of Veterinary Medicine, Vienna, and the Austrian national authorities, according to § 26 of the Tierversuchsgesetz 2012—TVG 2012 (GZ.: 2021-0.644.875).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: Data are available within the article or in its Supplementary Materials.

Acknowledgments: Open Access Funding by the University of Veterinary Medicine Vienna.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Godden, S.M.; Lombard, J.E.; Woolums, A.R. Colostrum Management for Dairy Calves. *Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract.* **2019**, *35*, 535–556. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. McGuirk, S.M.; Collins, M. Managing the production, storage, and delivery of colostrum. *Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract.* **2004**, *20*, 593–603. [[CrossRef](#)]
3. Buczinski, S.; Vandeweerd, J.M. Diagnostic accuracy of refractometry for assessing bovine colostrum quality: A systematic review and meta-analysis. *J. Dairy Sci.* **2016**, *99*, 7381–7394. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

4. Reschke, C.; Schelling, E.; Michel, A.; Remy-Wohlfender, F.; Meylan, M. Factors Associated with Colostrum Quality and Effects on Serum Gamma Globulin Concentrations of Calves in Swiss Dairy Herds. *J. Vet. Intern. Med.* **2017**, *31*, 1563–1571. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Gelsinger, S.L.; Jones, C.M.; Heinrichs, A.J. Effect of colostrum heat treatment and bacterial population on immunoglobulin G absorption and health of neonatal calves. *J. Dairy Sci.* **2015**, *98*, 4640–4645. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Abuelo, A.; Cullens, F.; Hanes, A.; Brester, J.L. Impact of 2 Versus 1 Colostrum Meals on Failure of Transfer of Passive Immunity, Pre-Weaning Morbidity and Mortality, and Performance of Dairy Calves in a Large Dairy Herd. *Animals* **2021**, *11*, 782. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Deelen, S.M.; Ollivett, T.L.; Haines, D.M.; Leslie, K.E. Evaluation of a Brix refractometer to estimate serum immunoglobulin G concentration in neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.* **2014**, *97*, 3838–3844. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Weaver, D.M.; Tyler, J.W.; VanMetre, D.C.; Hostetler, D.E.; Barrington, G.M. Passive Transfer of Colostral Immunoglobulins in Calves. *J. Vet. Intern. Med.* **2000**, *14*, 569–577. [[CrossRef](#)]
9. Lombard, J.; Urie, N.; Garry, F.; Godden, S.; Quigley, J.; Earleywine, T.; McGuirk, S.; Moore, D.; Branan, M.; Chamorro, M.; et al. Consensus recommendations on calf- and herd-level passive immunity in dairy calves in the United States. *J. Dairy Sci.* **2020**, *103*, 7611–7624. [[CrossRef](#)]
10. Raboisson, D.; Trillat, P.; Cahuzac, C. Failure of Passive Immune Transfer in Calves: A Meta-Analysis on the Consequences and Assessment of the Economic Impact. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0150452. [[CrossRef](#)]
11. Tautenhahn, A.; Merle, R.; Müller, K.E. Factors associated with calf mortality and poor growth of dairy heifer calves in northeast Germany. *Prev. Vet. Med.* **2020**, *184*, 105154. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Cuttance, E.L.; Mason, W.A.; Laven, R.A.; Phyn, C.V.C. The relationship between failure of passive transfer and mortality, farmer-recorded animal health events and body weights of calves from birth until 12 months of age on pasture-based, seasonal calving dairy farms in New Zealand. *Vet. J.* **2018**, *236*, 4–11. [[CrossRef](#)]
13. Mee, J.F. Why Do So Many Calves Die on Modern Dairy Farms and What Can We Do about Calf Welfare in the Future? *Animals* **2013**, *3*, 1036–1057. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Haggerty, A.; Mason, C.; Ellis, K.; Denholm, K. Risk factors for poor colostrum quality and failure of passive transfer in Scottish dairy calves. *J. Dairy Res.* **2021**, *88*, 337–342. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Sutter, F.; Rauch, E.; Erhard, M.; Sargent, R.; Weber, C.; Heuwieser, W.; Borchardt, S. Evaluation of different analytical methods to assess failure of passive transfer in neonatal calves. *J. Dairy Sci.* **2020**, *103*, 5387–5397. [[CrossRef](#)]
16. Cuttance, E.L.; Regnerus, C.; Laven, R.A. A review of diagnostic tests for diagnosing failure of transfer of passive immunity in dairy calves in New Zealand. *N. Z. Vet. J.* **2019**, *67*, 277–286. [[CrossRef](#)]
17. Cuttance, E.L.; Mason, W.A.; Laven, R.A.; McDermott, J.; Phyn, C. Prevalence and calf-level risk factors for failure of passive transfer in dairy calves in New Zealand. *N. Z. Vet. J.* **2017**, *65*, 297–304. [[CrossRef](#)]
18. Abuelo, A.; Havrlant, P.; Wood, N.; Hernandez-Jover, M. An investigation of dairy calf management practices, colostrum quality, failure of transfer of passive immunity, and occurrence of enteropathogens among Australian dairy farms. *J. Dairy Sci.* **2019**, *102*, 8352–8366. [[CrossRef](#)]
19. Beam, A.L.; Lombard, J.E.; Koprak, C.A.; Garber, L.P.; Winter, A.L.; Hicks, J.A.; Schlater, J.L. Prevalence of failure of passive transfer of immunity in newborn heifer calves and associated management practices on US dairy operations. *J. Dairy Sci.* **2009**, *92*, 3973–3980. [[CrossRef](#)]
20. Morin, D.E.; Nelson, S.V.; Reid, E.D.; Nagy, D.W.; Dahl, G.E.; Constable, P.D. Effect of colostrum volume, interval between calving and first milking, and photoperiod on colostrum IgG concentrations in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2010**, *237*, 420–428. [[CrossRef](#)]
21. Sutter, F.; Borchardt, S.; Schuenemann, G.M.; Rauch, E.; Erhard, M.; Heuwieser, W. Evaluation of 2 different treatment procedures after calving to improve harvesting of high-quantity and high-quality colostrum. *J. Dairy Sci.* **2019**, *102*, 9370–9381. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Denholm, K.S.; Hunnam, J.C.; Cuttance, E.L.; McDougall, S. Influence of preservation methods on the quality of colostrum sourced from New Zealand dairy farms. *N. Z. Vet. J.* **2017**, *65*, 264–269. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Mann, S.; Curone, G.; Chandler, T.L.; Moroni, P.; Cha, J.; Bhawal, R.; Zhang, S. Heat treatment of bovine colostrum: I. Effects on bacterial and somatic cell counts, immunoglobulin, insulin, and IGF-I concentrations, as well as the colostrum proteome. *J. Dairy Sci.* **2020**, *103*, 9368–9383. [[CrossRef](#)]
24. Cordero-Solorzano, J.; de Koning, D.-J.; Tråvén, M.; de Haan, T.; Jouffroy, M.; Larsson, A.; Myrthe, A.; Arts, J.A.J.; Parmentier, H.K.; Bovenhuis, H.; et al. Genetic parameters of colostrum and calf serum antibodies in Swedish dairy cattle. *Genet. Sel. Evol.* **2022**, *54*, 68. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Andrée O'Hara, E.; Båge, R.; Emanuelson, U.; Holtenius, K. Effects of dry period length on metabolic status, fertility, udder health, and colostrum production in 2 cow breeds. *J. Dairy Sci.* **2019**, *102*, 595–606. [[CrossRef](#)]
26. Zentrich, E.; Iwersen, M.; Wiedrich, M.-C.; Drillich, M.; Klein-Jöbstl, D. Short communication: Effect of barn climate and management-related factors on bovine colostrum quality. *J. Dairy Sci.* **2019**, *102*, 7453–7458. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Immler, M.; Büttner, K.; Gärtner, T.; Wehrend, A.; Donat, K. Maternal Impact on Serum Immunoglobulin and Total Protein Concentration in Dairy Calves. *Animals* **2022**, *12*, 755. [[CrossRef](#)]

28. Puppel, K.; Gołębiewski, M.; Grodkowski, G.; Solarczyk, P.; Kostusiak, P.; Klopčič, M.; Sakowski, T. Use of somatic cell count as an indicator of colostrum quality. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0237615. [[CrossRef](#)]
29. Gulliksen, S.M.; Lie, K.I.; Sølverød, L.; Østerås, O. Risk factors associated with colostrum quality in Norwegian dairy cows. *J. Dairy Sci.* **2008**, *91*, 704–712. [[CrossRef](#)]
30. Baumgartner, W.; Wittek, T.; Aurich, C. Allgemeiner Untersuchungsgang. In *Klinische Propädeutik der Haus-und Heimtiere*, 9th ed.; Enke Verlag: Stuttgart, Germany, 2018; pp. 50–166.
31. Wieland, M.J. Nabelerkrankungen des Kalbes: Formen, Symptomatik, Therapie und Prognose. Ph.D. Thesis, Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, Munich, Germany, 2010. Available online: https://edoc.ub.uni-muenchen.de/11473/1/Wieland_Matthias-Josef.pdf (accessed on 22 March 2023).
32. Bartens, M.-C.; Drillich, M.; Rychli, K.; Iwersen, M.; Arnholdt, T.; Meyer, L.; Klein-Jöbstl, D. Assessment of different methods to estimate bovine colostrum quality on farm. *N. Z. Vet. J.* **2016**, *64*, 263–267. [[CrossRef](#)]
33. Sustronck, B.; Hoflack, G.; Lebrun, M.; Vertenten, G. Bayesian latent class analysis of the characteristics of diagnostic tests to assess the passive immunity transfer status in neonatal Belgian Blue beef calves. *Prev. Vet. Med.* **2022**, *207*, 105729. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Morin, M.P.; Dubuc, J.; Freycon, P.; Buczinski, S. A herd-level study on colostrum management factors associated with the prevalence of adequate transfer of passive immunity in Québec dairy herds. *J. Dairy Sci.* **2021**, *104*, 4914–4922. [[CrossRef](#)]
35. Lora, I.; Barberio, A.; Contiero, B.; Paparella, P.; Bonfanti, L.; Brscic, M.; Stefani, A.L.; Gottardo, F. Factors associated with passive immunity transfer in dairy calves: Combined effect of delivery time, amount and quality of the first colostrum meal. *Animal* **2018**, *12*, 1041–1049. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Klein-Jöbstl, D.; Arnholdt, T.; Sturmlechner, F.; Iwersen, M.; Drillich, M. Results of an online questionnaire to survey calf management practices on dairy cattle breeding farms in Austria and to estimate differences in disease incidences depending on farm structure and management practices. *Acta Vet. Scand.* **2015**, *57*, 44. [[CrossRef](#)]
37. Klein-Jöbstl, D.; Iwersen, M.; Drillich, M. Farm characteristics and calf management practices on dairy farms with and without diarrhea: A case-control study to investigate risk factors for calf diarrhea. *J. Dairy Sci.* **2014**, *97*, 5110–5119. [[CrossRef](#)]
38. Mellado, M.; Torres, E.; Veliz, F.G.; de Santiago, A.; Macias-Cruz, U.; Garcia, J.E. Effect of quality of colostrum on health, growth and immunoglobulin G concentration in Holstein calves in a hot environment. *Anim. Sci. J.* **2017**, *88*, 1327–1336. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Trotz-Williams, L.A.; Leslie, K.E.; Peregrine, A.S. Passive immunity in Ontario dairy calves and investigation of its association with calf management practices. *J. Dairy Sci.* **2008**, *91*, 3840–3849. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

5 Erweiterte Diskussion

In dieser Arbeit wurden 245 Kolostrumproben von elf landwirtschaftlichen Betrieben aus Salzburg gesammelt und im Milchlabor an der Universitätsklinik für Wiederkäuer in Wien untersucht. Die Qualitätsprüfung der Kolostrumproben erfolgte anhand der Bestimmung des Brix-Wertes mittels eines digitalen Brix-Refraktometers und der Ermittlung der Gesamtkeimzahl und der Anzahl coliformer Erreger.

5.1 Immunglobulingehalt

Für jede einzelne Kolostrumprobe erfolgte die Bestimmung des Brix-Wertes, um die Qualität des Kolostrums bestimmen zu können. Anhand der Messung mittels Brix-Refraktometers wurde bei 140 (57,1 %) Kolostrumproben ein Brix-Wert ≤ 22 % gemessen und somit als Kolostrum schlechter Qualität eingestuft. Bei 105 (42,9 %) Proben ergab die Messung einen Brix-Wert von > 22 % und diese waren somit von guter Qualität. Der Median der Brix-Werte betrug 21,2 % mit einer Spannweite von 7,3 % bis 35,1 % (25. Perzentil = 18,5 %, 75. Perzentil = 25,0 %). Diese Werte sind vergleichbar mit einer Studie von Haggerty et al. (2021), in der 252 Kolostrumproben untersucht wurden und ein Medianer Brix-Wert von 22,01 % (min = 11,0 %, max = 30,0 %) gemessen wurde. Als geeigneten Grenzwert zur Einteilung von Kolostrum in guter Qualität wurden 22 % Brix herangezogen, da dies einen IgG-Gehalt von ≥ 50 g/l entspricht (Phipps et al. 2017). Ähnliche Ergebnisse wurden in einer Studie von Sutter et al. (2019) erzielt. Bei einer Gesamtanzahl von 521 untersuchten Kolostrumproben konnte bei 48 % der Proben eine IgG-Konzentration von ≥ 50 mg/ml festgestellt werden.

Den Ergebnissen zufolge hat die Kolostrumqualität Einfluss auf die Immunglobulinversorgung der Kälber. Ein signifikanter Anstieg war in der Anzahl an Kälbern mit einem Brix-Wert im Serum von $\geq 8,4$ % sichtbar, wenn sie Kolostrum guter Qualität (Brix-Wert > 22 %) erhalten haben. Dieses Ergebnis ist mit der Studie von Reschke et al. (2017) vergleichbar. Hierbei wurden Kälber auf deren IgG-Konzentration im Serum überprüft. Es zeigte sich, dass Kälber, welche Kolostrum guter Qualität erhielten (IgG-Konzentration > 50 g/l), seltener eine FTPI (IgG-Konzentration im Serum < 10 g/l) zeigten als Kälber, welche mit Kolostrum schlechter Qualität versorgt wurden. Obwohl die Überprüfung auf eine ausreichende Kolostrumqualität zur Vermeidung einer FTPI unabdingbar ist, wird wie in der Studie von Klein-Jöbst et al. (2015) berichtet, die Kolostrumqualität nur von wenigen Betrieben überprüft. Um einen Vergleich der Kolostrumqualität zwischen primiparen und pluriparen Kühen zu schaffen, wurde der Median

der Brix-Werte von primiparen Kühen mit denen der Kühe, welche sich in zweiter, dritter oder in Folgelaktationen befanden, verglichen. Der Median der Brix-Werte betrug für Kühe in der ersten Laktation 20,9 % (25. Perzentil = 16,4 %, 75. Perzentil = 24,2 %) und für Kühe in der zweiten Laktation 20,9 % (25. Perzentil = 18,0 %, 75. Perzentil = 24,0 %). Der Median der Brix-Werte pro Gruppe der Kühe mit drei oder mehr als drei Laktationen zeigte einen höheren Wert von 21,1 % (25. Perzentil = 18,8 %, 75. Perzentil = 23,5 %) und 23,8 % (25. Perzentil = 20,5 %, 75. Perzentil = 26,2 %). Eine Verbesserung der Kolostrumqualität mit zunehmender Laktationszahl hat auch eine Studie von Morrill et al. (2012) mit 827 Kolostrumproben von 67 verschiedenen Betrieben bestätigt. Es wurde ein Anstieg der IgG-Konzentration von erster bis dritter Laktation von 42,4 mg/ml auf 95,5 mg/ml nachgewiesen. In Studien von Shivley et al. (2018) und Dunn et al. (2017) wurde beschrieben, dass Kühe in der dritten Laktation und Folgelaktationen höhere IgG-Konzentrationen im Kolostrum aufweisen als Kühe in der ersten und zweiten Laktation. In der Studie von Lora et al. (2018) wurde dieses Ergebnis nicht bestätigt. In deren Studie wurde kein Unterschied in der Häufigkeit des Auftretens von Kolostrum schlechter Qualität bei primiparen Kühen im Vergleich zu pluriparen Kühen nachgewiesen.

Ein signifikanter Unterschied in der Kolostrumqualität zeigte sich ebenso durch das Laufenlassen der Milch vor der Geburt. Bei der Bestimmung der Brix-Werte ergab sich eine Minderung der Kolostrumqualität bei Kühen, die bereits einen Milchfluss vor der Geburt hatten. Einer Studie von Reschke et al. (2017) zufolge hat das Laufenlassen der Milch vor der Geburt einen wesentlichen Einfluss auf die Kolostrumqualität. Die Kühe in dieser Studie wurden in folgende Gruppen eingeteilt: kein Laufenlassen der Milch, schwacher Milchfluss und starker Milchfluss vor der Geburt. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied ($p < 0,001$) zwischen einem starken Milchabgang vor der Geburt und Kolostrum schlechter Qualität. Da ein vorzeitiger Milchfluss vor der Geburt gut ersichtlich ist, sollte es von den Landwirt:innen wahrgenommen werden und ihnen den Hinweis liefern, dass das Kolostrum von schlechterer Qualität sein könnte, als wenn kein Milchfluss *ante partum* (*a. p.*) stattgefunden hätte. Aufgrund einer möglichen Minderung der Kolostrumqualität durch das Laufenlassen der Milch *a. p.* sollte die Kolostrumqualität vor Verfütterung an Kälber unbedingt überprüft werden. Um das Kalb mit ausreichend Immunglobulinen versorgen zu können, kann auf Kolostrum von Kühen ohne Laufenlassen der Milch *a. p.* zurückgegriffen werden oder es erfolgt die Melkung des Muttertieres schnellstmöglich nach der Geburt, um weitere Kolostrumverluste zu minimieren (Reschke et al. 2017). Ebenso wurde in der Arbeit von Phipps et al. (2017) und

Ahmann et al. (2021) das Laufenlassen von Kolostrum vor der Geburt mit Kolostrum schlechter Qualität in Zusammenhang gebracht.

Die Ergebnisse nach Auswertung der Kolostrumqualität in Bezug auf die Zeitspannen zwischen der Abkalbung und der Entnahme des Erstgemelks machten einen Zusammenhang zwischen der Kolostrumqualität und dem Zeitpunkt der Melkung des Kolostrums ersichtlich. Kolostrum von besserer Qualität konnte bei der Melkung innerhalb von 119 Minuten nach der Kalbung erreicht werden. Wurden die Kühe zu einem späteren Zeitpunkt gemolken, zeigte sich dies durch eine schlechtere Qualität des Kolostrums.

Dass die Qualität des Kolostrums abhängig ist von der Zeitspanne zwischen Geburt und Entnahme des Erstgemelks wurde bereits in früheren Studien bestätigt (Morin et al. 2010, Phipps et al. 2017, Sutter et al. 2019, Westhoff et al. 2023). Zu Beginn der Laktation bzw. nach der Geburt des Kalbes kommt es zu einer gesteigerten Milchproduktion bei gleichbleibender Anzahl an Immunglobulinen. Aufgrund dieses Verdünnungseffektes enthält Kolostrum, welches Stunden später nach der Geburt erst abgemolken wird, weniger Immunglobuline pro Liter (Ahmann et al. 2021).

In der vorliegenden Studie wurde untersucht, inwiefern die Art des Trockenstellens einen Unterschied auf die Kolostrumqualität bewirkt. Ein signifikanter Unterschied im Vergleich zu den primiparen Kühen zeigte sich bei jenen Kühen, die unter Verwendung eines Zitzenversieglers trocken gestellt wurden. Von den 69 primiparen Kühen erreichten 46 (66,7 %) Kolostrumproben einen Brix-Wert ≤ 22 % und 23 (33,3 %) Proben einen Brix-Wert > 22 %. Im Gegensatz dazu wurden bei den 37 mit Zitzenversiegler trocken gestellten Kühen bei elf (29,7 %) Kühen ein Brix-Wert ≤ 22 % und bei 26 (70,3 %) Tieren ein Brix-Wert > 22 % festgestellt. Kein Laufenlassen der Milch *a. p.* und eine geringere bakterielle Kontamination des Kolostrums kann ursächlich sein für die bessere Kolostrumqualität bei Kühen, die unter Verwendung von einem Zitzenversiegler trocken gestellt wurden. Der Einfluss der Art des Trockenstellens wurde hinsichtlich der Auswirkung auf die Eutergesundheit bereits intensiv untersucht. Die Auswirkung der Art des Trockenstellens auf die Kolostrumqualität muss jedoch erst weiter intensiv untersucht werden.

Ein weiterer Faktor, welcher in Bezug auf die Kolostrumqualität untersucht wurde, war die Dauer der Trockenstehperiode. In der Studie wurden die Brix-Werte der Kühe, welche < 8 Wochen trocken gestellt wurden, mit denen der Kühe, welche eine Trockenstehperiode von ≥ 8 Wochen hatten, verglichen. Primipare Kühe wurden exkludiert. In der multiplen logistischen

Regression war kein signifikanter Unterschied der Kolostrumqualität in Bezug auf die Dauer der Trockenstehperiode nachweisbar. Dies bestätigt auch eine Studie von Reschke et al. (2017), in der kein signifikanter Unterschied in der Kolostrumqualität in Abhängigkeit von der Dauer der Trockenstehperiode festgestellt wurde. Ebenso zeigte eine Studie von McGuirk und Collins (2004), dass es keinen signifikanten Unterschied in der IgG-Konzentration des Kolostrums gibt, wenn man Kühe mit einer 28-tägigen Trockenstehperiode und Kühe mit einer 56-tägigen Trockenstehzeit vergleicht. Eine wesentliche Beeinträchtigung der Kolostrumqualität wird deutlich, wenn die Tiere bis zur Kalbung gemolken werden und keine Trockenstellung *a. p.* erfolgte. Die Studie von O'Hara et al. (2019) hat Kühe mit einer 4-wöchigen und einer 8-wöchigen Trockenstehperiode verglichen und keinen signifikanten Unterschied in der Kolostrumqualität nachweisen können. Die IgG-Konzentration und das Totalprotein im Plasma der Kälber von Müttern mit einer 4-wöchigen Trockenstehzeit zeigte keinen signifikanten Unterschied im Vergleich zu den Werten von Kälbern, deren Mütter acht Wochen trockengestellt wurden. Zusammenfassend lässt sich somit sagen, dass die Länge der Trockenstehperiode keinen direkten Einfluss auf die Kolostrumqualität hat. Wird die Kuh vor der Geburt nicht trockengestellt, wird die Kolostrumqualität dadurch negativ beeinflusst. Dass eine verkürzte Trockenstehphase keinen negativen Einfluss auf die Kolostrumqualität hat, sondern nur das totale Fehlen einer Trockenstehperiode die IgG-Konzentration beeinflusst, wurde auch von Shoshani et al. (2014) und Bertulat et al. (2015) bestätigt. Die Studie von Dunn et al. (2017) beschreibt eine bessere Kolostrumqualität bei Kühen, die > 8 Wochen trockengestellt wurden. Im Hinblick auf diese unterschiedlichen Ergebnisse der Studien kann davon ausgegangen werden, dass die Dauer der Trockenstehperiode keinen wesentlichen Einfluss auf die Kolostrumqualität hat. Von Bedeutung ist aber, dass eine Trockenstellung vor der Geburt erfolgt, damit Zeit für eine ausreichende Kolostrogenese vorhanden ist.

5.2 Gesamtkeimzahl und Anzahl coliformer Erreger

Ein wesentlicher Faktor, welcher Einfluss auf die Kolostrumqualität nimmt, ist das Vorhandensein von bakteriellen Erregern. Bei der Untersuchung von Kolostrumproben sollten weniger als 100.000 KbE/ml Gesamtkeimzahl und weniger als 10.000 KbE/ml an coliformen Erregern enthalten sein (Godden et al. 2019). In dieser Studie wurden die Kolostrumproben auf die Gesamtkeimzahl und die Anzahl an coliformen Erregern untersucht. Da die Anzahl an coliformen Erregern bei den untersuchten Kolostrumproben unter dem Grenzwert von 10.000 KbE/ml liegt, wurde der Zusammenhang zwischen Kolostrumqualität und Anzahl an coliformen

Erregern nicht evaluiert. Die geringe Anzahl an coliformen Erregern kann durch sauberes Arbeiten bei der Probengewinnung und -aufbereitung und der vorschriftsmäßigen Lagerung bedingt sein. Um die Gesamtkeimzahl und die Anzahl an coliformen Bakterien unterhalb der Grenzwerte zu halten, sind folgende Punkte zu beachten: Euterhygiene, regelmäßige Reinigung und Desinfektion von Kübeln und Fütterungsequipment sowie das Kühlen von Kolostrum, welches nicht innerhalb von zwei Stunden für die Fütterung der Kälber verwendet wird. Eine Pasteurisierung des Kolostrums kann die bakterielle Kontamination des Kolostrums senken und schützt zusätzlich das Kalb vor der Übertragung einer Krankheit vom Muttertier auf das Kalb (McGuirk und Collins 2004). In Bezug auf das Reinigen und Desinfizieren des Equipments soll die Verwendung von Peressigsäure oder Hypochlorit zur Reduktion der Gesamtkeimzahl der Reinigung mit heißem oder kaltem Wasser vorgezogen werden. Ebenso wird eine regelmäßige Reinigung nach jeder Verwendung empfohlen (Hyde et al. 2020).

5.3 Limitationen der Studie

Für diese Studie haben sich elf landwirtschaftliche Betriebe mit unterschiedlicher Bestandsgröße aus Salzburg freiwillig zur Teilnahme bereiterklärt. Aufgrund dessen, dass nur eine kleine Anzahl an Betrieben aus einem begrenzten Gebiet in Salzburg teilgenommen hat, ist keine Aussagekraft der Ergebnisse für ein größeres Gebiet gegeben. Da die Probengewinnung und Dokumentation der Ergebnisse von den Landwirt:innen selbst durchgeführt und nicht durch veterinärmedizinisches Fachpersonal durchgeführt wurde, gibt es keine Garantie, dass die Probenentnahme und Dokumentation immer akkurat erfolgte. Es besteht die Möglichkeit, dass es zu Abweichungen bei der Probenentnahme gekommen ist und die SOPs nicht im Detail befolgt wurden. Durch unsauberes Arbeiten der Landwirt:innen und falsche Lagerung der Proben (keine sofortige Lagerung im Gefrierschrank bis zur Probenabholung) kann es auch zu einer Zunahme der Gesamtkeimzahl und der Anzahl an coliformen Erregern bei der Probengewinnung gekommen sein und dadurch zu Verfälschungen der Laborergebnisse geführt haben. Ursächlich für Veränderungen im Immunglobulingehalt kann eine zu späte Entnahme der Probe nach der Geburt und falsche Lagerung sein.

Bei der Probenbearbeitung im Labor erfolgte die Bestimmung der Gesamtkeimzahl und die Anzahl an coliformen Erregern, dem Wachstum von anaeroben Erregern wurde jedoch keine Beachtung geschenkt. Die Untersuchung der Proben wurde auf Blutagar-Platten und MacConkey-Agar-Platten vorgenommen. Es erfolgte keine Untersuchung auf Bakterien, welche nicht auf Blutagar-Platten wachsen, und somit ist das Vorhandensein von Bakterien

wie Mykoplasmen und anderen Spezies möglich. Es besteht die Möglichkeit, dass durch das Auftauen der Proben ein Anstieg der Gesamtkeimzahl und eine Vermehrung von coliformen Erregern stattgefunden hat. Im Gegensatz dazu ist aber auch eine Verminderung der Bakterienanzahl durch das Tiefgefrieren der Proben denkbar. Zudem muss auch beachtet werden, dass es zu geringfügigen Abweichungen bei der Probenbearbeitung und Probenauswertung gekommen sein kann. Beim Auszählen der Bakterienkolonien mit der Zählsoftware können sehr kleine Kolonien übersehen worden sein.

Zur Bestimmung des IgG-Gehaltes des Kalbes wurde ein digitales Brix-Refraktometer verwendet. Die Messung der IgG-Konzentration mittels einer direkten Nachweismethode wie einer radialen Immunodiffusion würde aufgrund einer höheren Sensitivität und Spezifität zu genaueren Messergebnissen führen.

6 Zusammenfassung

Im Zuge dieser Studie wurden 245 Kolostrumproben und 250 Serumproben von Kälbern von elf landwirtschaftlichen Betrieben aus der Region Salzburg untersucht. Die Kolostrumproben wurden von den Landwirt:innen im Zeitraum zwischen September 2021 bis September 2022 unter einer schriftlichen Anleitung zur richtigen Probenentnahme selbst entnommen und anschließend tiefgekühlt gelagert, bis der Weitertransport an die Veterinärmedizinische Universität Wien erfolgte. Im Milchlabor der Wiederkäuerklinik erfolgte die Qualitätsbestimmung der Kolostrumproben. Hierzu wurden die Brix-Werte der einzelnen Proben ermittelt und die Gesamtkeimzahl sowie die Anzahl an coliformen Erregern bestimmt. Den 250 Kälbern wurde zwischen dem 3. und 6. Lebenstag eine Serumprobe entnommen, um diese auf eine Failure of Transfer of Passive Immunity (FTPI) zu untersuchen. Eine FTPI war durch einen Serum-Brix-Wert von $< 8,4 \%$ definiert.

Die Bestimmung der Immunglobulinkonzentration im Kolostrum als auch im Serum der Kälber erfolgte mittels eines digitalen Brix-Refraktometers. Um die Gesamtkeimzahl und die Anzahl an coliformen Erregern im Kolostrum zu ermitteln, wurde eine Verdünnungsreihe mit drei Verdünnungsstufen hergestellt. Es folgte das Auftragen der drei Verdünnungsreihen und einer nativen Kolostrumprobe auf Columbia-Agar-Platten zur Messung der Gesamtkeimzahl und MacConkey-Agar-Platten zur Bestimmung der Anzahl an coliformen Erregern. Anschließend wurden die Platten für 18 bis 24 Stunden im Brutschrank bei $37 \text{ }^\circ\text{C}$ inkubiert und die Koloniebildenden Einheiten (KbE) je Platte ausgezählt. Die ermittelten Brix-Werte zur Bestimmung der Immunglobulinkonzentration reichten von $7,3 \%$ bis zu einem Maximum von $35,1 \%$. Der Mediane Brix-Wert betrug $21,2 \%$ (25. Perzentil = $18,5 \%$, 75. Perzentil = $25,0 \%$). Von den 245 ausgewerteten Proben waren 140 Kolostrumproben von schlechter Qualität (Brix-Wert $\leq 22 \%$) und 105 Proben zeigten eine gute Qualität (Brix-Wert $> 22 \%$). Der Median der Gesamtkeimzahl betrug 25.850 Koloniebildende Einheiten/ml (25. Perzentil = 7.000 , 75. Perzentil = 121.500). Von 139 untersuchten Proben wiesen 101 Proben eine Gesamtkeimzahl von < 100.000 Koloniebildende Einheiten/ml auf. 38 Proben überstiegen den Grenzwert von ≥ 100.000 Koloniebildende Einheiten/ml. Der Zusammenhang zwischen der Kolostrumqualität und der Anzahl an coliformen Erregern wurde nicht ausgewertet, da alle 135 untersuchten Proben unterhalb des Grenzwertes von 10.000 Koloniebildende Einheiten/ml lagen.

Die Hypothese, dass die Kolostrumqualität einen Einfluss auf die Immunglobulinversorgung des Kalbes hat, wurde bestätigt. Kälber, welche Kolostrum guter Qualität erhalten haben, wiesen in 80 % der Fälle einen Brix-Gehalt im Serum von $\geq 8,4$ % auf und sind somit gut mit Immunglobulinen versorgt. Bei Kälbern mit einem Kolostrum von ≤ 22 % Brix waren nur 50,7 % der Kälber mit ausreichend Immunglobulinen versorgt. Die Verfütterung von qualitativ hochwertigem Kolostrum an Kälber in den ersten Lebensstunden ist für eine optimale Entwicklung zu gesunden und vitalen Kälbern essenziell. Um die Kälber optimal mit Kolostrum versorgen zu können, sollen die Landwirt:innen die oben beschriebenen Einflussfaktoren auf die Kolostrumqualität beachten und die Kolostrumqualität vor Verfütterung an die Kälber überprüfen.

7 Summary

The objective of this study was to investigate the influence of colostrum quality on the immunoglobulin concentration in the serum of calves.

Therefore, a total of 245 colostrum samples and 250 samples of serum of calves were collected from eleven farms in the province of Salzburg. The colostrum samples were collected between September 2021 and September 2022 by the farmers according to written instructions of how to take the samples correctly. The samples were frozen immediately after collection and stored until they were transported to the University of Veterinary Medicine in Vienna. Subsequently, the colostrum samples were investigated in the diagnostic laboratory of the University Clinic for Ruminants. Serum samples of the 250 calves were taken between the third and the sixth day of life and analyzed, if the calf suffered from a Failure of Transfer of Passive Immunity (FTPI). A FTPI was defined as a Brix-value in serum of $< 8.4\%$. The concentration of immunoglobulins in the colostrum samples and in the serum samples of the calves were measured by using a Digital Brix Refractometer. In addition, the total plate count and the coliform count of the colostrum samples was assessed. Therefore, a dilution series of the colostrum samples was prepared, and the colostrum samples were plated on Columbia and MacConkey agar. The plates were incubated at $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 18 to 24 hours. Subsequently, the number of colony forming units (cfu) per plate were counted. The results of the Brix-value measurements showed a median brix-value of 21.2% (25th percentile = $18,5\%$, 75th percentile = $25,0\%$). The Brix-values ranged from 7.3% to 35.1% . Of the 245 colostrum samples investigated 140 samples showed poor quality. However, good quality was measured in 105 colostrum samples (Brix-value $> 22\%$). A total of 139 colostrum samples were examined on the total plate count and out of these 101 samples were below the threshold of 100,000 colony forming units/ml. Thirty-eight samples exceeded the threshold and were above the 100,000 colony forming units/ml. The median value of the total plate count was 25,850 colony forming units/ml (25th percentile = 7,000, 75th percentile = 121,500). The association between the colostrum quality and the coliform count was not evaluated, because all the 135 samples investigated were below the threshold of 10,000 colony forming units/ml.

The hypothesis that colostrum quality influences the supply of immunoglobulins in the calf was confirmed. Of the calves that received good quality colostrum, 80% had a Brix-value in the serum of $\geq 8.4\%$ and thus are well supplied with immunoglobulins. If the calves got colostrum of poor quality, only 50.7% were adequately supplied with immunoglobulins. The supply of

calves with high quality colostrum is essential to obtain healthy and vital calves. It is important that farmers are aware of the factors which have an impact on colostrum quality. It is recommended that colostrum quality should be checked before feeding the colostrum to calves.

8 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei meinem Betreuer Univ. Prof. Dr. Thomas Wittek für die Ermöglichung dieser Diplomarbeit bedanken. Ein besonderer Dank geht an Dr. Katharina Lichtmannsperger, die mir als betreuende Assistentin bei der Durchführung der Probenanalyse sowie bei Fragen und Problemen während des Verfassens meiner Diplomarbeit unterstützend zur Seite stand.

Bedanken möchte ich mich auch bei Christina Hartsleben, die die Gewinnung der Serumproben der Kälber in Salzburg durchgeführt hat und die Sammlung der Kolostrumproben von den landwirtschaftlichen Betrieben und den Versand der Proben nach Wien organisiert hat. Zudem bedanke ich mich noch bei den Mitarbeiterinnen aus dem Milchlabor für die zur Verfügungstellung von den zahlreich benötigten Agar-Platten und sämtlichen Geräten zur Probenbearbeitung.

Ein großes Dankeschön gebührt auch meiner Familie, die mich während meiner gesamten Studienzzeit unterstützt hat und mir immer mit Rat und Tat zur Seite stand und mich stets in lernintensiven Phasen motiviert hat.

9 Literaturverzeichnis

- Abuelo, A., F. Cullens, A. Hanes, und J.L. Brester. 2021. „Impact of 2 versus 1 Colostrum Meals on Failure of Transfer of Passive Immunity, Pre-Weaning Morbidity and Mortality, and Performance of Dairy Calves in a Large Dairy Herd.“ *Animals: an open access journal from MDPI* 11 (3).
- Abuelo, A., P. Havrlant, N. Wood, und M. Hernandez-Jover. 2019. „An investigation of dairy calf management practices, colostrum quality, failure of transfer of passive immunity, and occurrence of enteropathogens among Australian dairy farms.“ *Journal of dairy science* 102 (9), 8352-8366.
- Ahmann, J., J. Steinhoff-Wagner, und W. Büscher. 2021. „Determining Immunoglobulin Content of Bovine Colostrum and Factors Affecting the Outcome: A review.“ *Animals* 11 (12).
- Bartens, M.C., M. Drillich, K. Rychli, M. Iwersen, T. Arnholdt, L. Meyer, und D. Klein-Jöbstl. 2016. „Assessment of different methods to estimate bovine colostrum quality on farm.“ *New Zealand veterinary journal* 64 (5), 263-267.
- Beam, A.L., J.E. Lombard, C.A. Koprak, L.P. Garber, A.L. Winter, J.A. Hicks, und J.L. Schlater. 2009. „Prevalence of failure of passive transfer of immunity in newborn heifer calves and associated management practices on US dairy operations.“ *Journal of dairy science* 92 (8), 3973-3980.
- Bertulat, S., C. Fischer-Tenhagen, und W. Heuwieser. 2014. „A survey of drying-off practices on commercial dairy farms in northern Germany and a comparison to science-based recommendations.“ *Veterinary Record* open.
- Cuttance, E.L., C. Regnerus, und R.A. Laven. 2019. „A review of diagnostic tests for diagnosing failure of transfer of passive immunity in dairy calves in New Zealand.“ *New Zealand veterinary journal* 67 (6), 277-286.
- Deelen, S.M., T.L. Ollivett, D.M. Haines, und K.E. Leslie. 2014. „Evaluation of a Brix refractometer to estimate serum immunoglobulin G concentration in neonatal dairy calves.“ *Journal of dairy science* 97 (6), 3838-3844.
- Dunn, A., A. Ashfield, B. Earley, M. Welsh, A. Gordon, und S.J. Morrison. 2017. „Evaluation of factors associated with immunoglobulin G, fat, protein, and lactose concentrations in bovine colostrum and colostrum management practices in grassland-based dairy systems in Northern Ireland.“ *Journal of dairy science* 100 (3), 2068-2079.
- Foley, J.A., und D.E. Otterby. 1978. „Availability, Storage, Treatment, Composition and

- Feeding Value of Surplus Colostrum: A Review." *Journal of dairy science* 61 (8), 1033-1060.
- Godden, S.M., J.E. Lombard, und A.R. Woolums. 2019. „Colostrum Management for Dairy Calves." *The Veterinary clinics of North America - Food animal practice* 35 (3), 535-556.
- Haggerty , A., C. Mason, K. Ellis, und K. Denholm. 2021. „Risk factors for poor colostrum quality and failure of passive transfer in Scottish dairy calves." *The Journal of dairy research* 88 (3), 337-342.
- Hyde, R.M., M.J. Green, C. Hudson, und P.M. Down. 2020. „Quantitative Analysis of Colostrum Bacteriology on British Dairy Farms." *Frontiers in veterinary science* 7.
- Johnson, J.L., S.M. Godden, T. Molitor, T. Ames, und D. Hagman. 2007. „Effects of feeding heat-treated colostrum on passive transfer of immune and nutritional parameters in neonatal dairy calves." *Journal of dairy science* 90 (11), 5189-5198.
- Klein-Jöbstl, D., T. Arnholdt, F. Sturmlechner, M. Iwersen, und M. Drillich. 2015. „Results of an online questionnaire to survey calf management practices on dairy cattle breeding farms in Austria and to estimate differences in disease incidences depending on farm structure and management practices." *Acta veterinaria Scandinavica* 57, 44.
- Lombard, J., N. Urie, F. Garry, S. Godden, J. Quigley, T. Earleywine, S. McGuirk, et al. 2020. „Consensus recommendations on calf- and her-level passive immunity in dairy calves in the United States." *Journal of dairy science* 103 (8), 7611-7624.
- Lora, I., A. Barberio, B. Contiero, P. Paparella, L. Bonfanti, M. Brscic, A.L. Stefani, und F. Gottardo. 2018. „Factors associated with passive immunity transfer in dairy calves: combined effect of delivery time, amount and quality of the first colostrum meal." *Animal: an international journal of animal bioscience* 12 (5), 1041-1049.
- McGrath, B.A., P.F. Fox, P.L.H. McSweeney, und A.L. Kelly. 2016. „Composition and properties of bovine colostrum: a review." *Dairy Sci. & Technol.* 96 (2), 133-158.
- McGuirk, S.M., und M. Collins. 2004. „Managing the production, storage, and delivery of colostrum." *The Veterinary clinics of North America - Food animal practice* (20 (3), 593-603.
- Morin, D.E., S.V. Nelson, E.D. Reid, D.W. Nagy, G.E. Dahl, und P.D. Constable. 2010. „Effect of colostrum volume, interval between calving and first milking, and photoperiod on colostrum IgG concentrations in dairy cows." *Journal of the American Veterinary Medical Association* 237 (4), 420-428.
- Morrill, K.M., E. Conrad, A. Lago, J. Campbell, J. Quigley, und H. Tyler. 2012. „Nationwide

- evaluation of quality and composition of colostrum on dairy farms in the United States." *Journal of dairy science* 95 (7), 3997-4005.
- O'Hara, E.A., R. Bage, U. Emanuelson, und K. Holtenius. 2019. „Effects of dry period length on metabolic status, fertility, udder health, and colostrum production in 2 cow breeds.“ *Journal of Dairy Science* 102 (1).
- Phipps, A.J., D.S. Beggs, A.J. Murray, P.D. Mansell, und M.F. Pyman. 2017. „Factors associated with colostrum immunoglobulin G concentration in northern-Victorian dairy cows.“ *Australian veterinary journal* 95 (7), 237-243.
- Raboisson, D., P. Trillat, und C. Cahuzac. 2016. „Failure of Passive Immune Transfer in Calves: A Meta-Analysis on the Consequences and Assessment of the Economic Impact.“ *PloS one* 11 (3).
- Reschke, C., E. Schelling, A. Michel, F. Remy-Wohlfender, und M. Meylan. 2017. „Factors Associated with Colostrum Quality and Effects on Serum Gamma Globulin Concentrations of Calves in Swiss Dairy Herds.“ *Journal of veterinary internal medicine* 31 (5), 1563-1571.
- Schneider, F., und A. Wehrend. 2019. „Qualitätsbeurteilung von bovinen und equinen Kolostrum – Eine Übersicht.“ *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 287-297.
- Shivley, C.B., J.E. Lombard, N.J. Urie, D.M. Haines, R. Sargent, C.A. Kopral, T.J. Earleywine, J.D. Olson, und F.B. Garry. 2018. „Preweaned heifer management on US dairy operations: Part II. Factors associated with colostrum quality and passive transfer status of dairy heifer calves.“ *Journal of Dairy Science* 101, 9185-9198.
- Shoshani, E., S. Rozen, und J.J. Doekes. 2014. „Effect of a short dry period on milk yield and content, colostrum quality, fertility, and metabolic status of Holstein cows.“ *Journal of Dairy Science* 97 (5), 2909-2922.
- Stewart, S., R. Godden, P. Bey, J. Rapnickj, R. Fetrow, R. Farmsworth, M. Scanlon, et al. 2005. „Preventing Bacterial Contamination and Proliferation During the Harves, Storage and Feeding of Fresh Bovine Colostrum.“ *Journal of dairy science*, 2571-2578.
- Sutter, F., S. Borchardt, G.M. Schuenemann, E. Rauch, M. Erhard, und W. Heuwieser. 2019. „Evaluation of 2 different treatment procedures after calving to improve harvesting of high-quantity and high-quality colostrum.“ *Journal of dairy science* 102, 9370-9381.
- Trotz-Williams, L.A., K.E. Leslie, und A.S. Peregrine. 2008. „Passive Immunity in Ontario Dairy Calves and Investigation of its association with calf management practices.“ *Journal of dairy sciene* 91 (10), 3840-3849.

Weaver, D.M., J.W. Tyler, D.C. VanMetre, D.E. Hostetler, und G.M. Barrington. 2000.

„Passive Transfer of Colostral Immunoglobulins in Calves.“ *Journal of veterinary medicine* 14 (6), 569-577.

Westhoff, T.A., S.J. Womack, T.R. Overton, C.M. Ryan, und S. Mann. 2023. „Epidemiology of bovine colostrum production in New York Holstein herds: Cow, management, and environmental factors.“ *Journal of Dairy Science*.