

**Aus der Klinik für Klauentiere
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

**Untersuchungen zur Beurteilung der Kupferversorgung
von Milchkühen**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin**

vorgelegt von
Susanne Helm
Tierärztin aus Erlenbach am Main

Berlin 2021
Journal-Nr.: 4223

Aus der Klinik für Klautiere
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Untersuchungen zur Beurteilung der Kupferversorgung von Milchkühen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Susanne Helm
Tierärztin aus Erlenbach am Main

Berlin 2021
Journal-Nr.: 4223

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Rudolf Staufenberg
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Heidrun Gehlen
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Diana Meemken

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

dairy cows, copper, animal nutrition, feeding, mineral nutrition, blood, urine, hair,
faeces, spectrometry

Tag der Promotion: 09.02.2021

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

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

ISBN: 978-3-96729-099-8

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2021

Dissertation, Freie Universität Berlin

D188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2021

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	V
1 Einleitung	1
2 Literaturübersicht	2
2.1 Chemische Eigenschaften	2
2.2 Vorkommen in der Natur und anthropogener Eintrag	2
2.3 Kupfergehalt in Futtermitteln für Milchkühe	5
2.4 Einflüsse auf die Absorbierbarkeit von Kupfer im Magen-Darm-Trakt des Wiederkäuers.....	8
2.5 Bedeutung für den tierischen Organismus	10
2.5.1 Kupfer als Bestandteil von Cuproenzymen und kupferbindenden Proteinen....	10
2.5.2 Metabolismus.....	16
2.5.2.1 Absorption aus dem Darmlumen	17
2.5.2.2 Zelluläre Homöostase	17
2.5.2.3 Speicherung.....	19
2.5.2.4 Elimination	20
2.6 Bedarf und Versorgungsempfehlungen.....	23
2.7 Kupfermangel	25
2.7.1 Vorkommen und Bedeutung.....	25
2.7.2 Ätiologie und Pathogenese	26
2.7.3 Klinik	30
2.7.4 Diagnostik	33
2.7.4.1 Untersuchungsmaterial	33
2.7.4.2 Organisation der Probennahme	36
2.7.4.3 Analytische Methoden.....	37
2.7.4.3.1 Atomspektroskopie	37
2.7.4.3.2 Massenspektrometrie	38
2.7.4.4 Referenzwerte.....	38
2.7.5 Therapie und Prophylaxe	41
2.8 Intoxikation.....	43
2.8.1 Vorkommen und Bedeutung.....	43

2.8.2	Ätiologie und Pathogenese	43
2.8.3	Klinik	45
2.8.4	Diagnostik	46
2.8.5	Therapie und Prophylaxe	49
3	Material und Methoden	51
3.1	Stichprobenverfahren zur Auswahl der Probanden	51
3.2	Probengewinnung und Probenaufbereitung	52
3.2.1	Blutproben.....	52
3.2.2	Haarproben.....	52
3.2.3	Urinproben	52
3.2.4	Kotproben	52
3.3	Analyse des Probenmaterials.....	53
3.4	Statistische Auswertung.....	53
3.4.1	Deskriptive Statistik.....	55
3.4.2	Korrelationsanalyse.....	55
3.4.3	Varianzanalyse.....	56
3.4.4	Berechnung der Referenzbereiche.....	57
4	Ergebnisse.....	58
4.1	Kupferkonzentration in den Probenmedien	58
4.1.1	Kupferkonzentration im Blutserum, Plasma und Vollblut	58
4.1.2	Kupferkonzentration im Haar.....	60
4.1.3	Kupferkonzentration im Urin.....	62
4.1.4	Kupferkonzentration im Kot	64
4.2	Beziehung der Probenmedien untereinander	65
4.3	Beziehung der Kupferkonzentration zu anderen Mengen- und Spurenelementen	67
4.4	Beziehung der Kupferkonzentration zu chemischen Blutparametern.....	68
4.5	Beziehung der Kupferkonzentration zu Parametern des Blutbildes	69
4.6	Beziehung der Kupferkonzentration zu Produktions- und Fruchtbarkeitskennzahlen.....	70
4.7	Einfluss verschiedener Faktoren auf den Kupfergehalt im Probenmedium.....	71
4.7.1	Einfluss des Untersuchungsjahres auf den Kupfergehalt im Plasma	71
4.7.2	Einfluss der Jahreszeit auf den Kupfergehalt im Plasma	72
4.7.3	Einfluss des Bundeslands auf den Kupfergehalt im Plasma	73

4.7.4	Einfluss des Laktationsstadiums auf die Kupferkonzentration in den verschiedenen Probenmedien.....	74
4.7.4.1	Laktationsdynamik im Serum	74
4.7.4.2	Laktationsdynamik im Plasma	75
4.7.4.3	Laktationsdynamik im EDTA-Vollblut.....	76
4.7.4.4	Laktationsdynamik im Haar	78
4.7.4.5	Laktationsdynamik im Urin	79
4.7.4.6	Laktationsdynamik im Kot	80
4.8	Berechnung von Referenzwerten.....	81
4.8.1	Referenzbereiche für Kupferkonzentration in Serum, Plasma und Vollblut	81
4.8.2	Referenzbereich für die Kupferkonzentration im Haar	83
4.8.3	Referenzbereich für die Kupferkonzentration in Urin und Kot	83
5	Diskussion.....	84
5.1	Material und Methoden	84
5.2	Vergleich der ermittelten Kupferkonzentrationen mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen.....	84
5.3	Verhalten und Korrelation der Kupferkonzentrationen in den Probenmedien	86
5.3.1	Serum, Plasma und Vollblut	86
5.3.2	Haar	87
5.3.3	Urin	87
5.3.4	Kot	88
5.4	Korrelationen der Kupferkonzentration mit Blut- und Leistungsparametern.....	88
5.4.1	Korrelation mit anderen Mengen- und Spurenelementen	88
5.4.2	Korrelationen mit chemischen Blutparametern	89
5.4.3	Korrelation mit Parametern des Blutbildes.....	90
5.4.4	Korrelation mit Produktions- und Fruchtbarkeitsparametern.....	91
5.5	Einflüsse auf die Kupferkonzentration in den Probenmedien.....	92
5.5.1	Zeitliche und geographische Einflüsse auf den Kupfergehalt im Plasma	92
5.5.2	Einfluss des Laktationsstadiums auf den Kupfergehalt in den verschiedenen Probenmedien.....	93
5.6	Referenzbereiche.....	96
5.6.1	Vergleich der ermittelten Referenzbereiche mit den Empfehlungen anderer Autoren.....	96
5.6.2	Referenzbereiche für die Blutprobenmedien Serum, Plasma und Vollblut.....	97

5.6.3	Referenzbereich für Haar	98
5.6.4	Referenzbereich für Urin	98
5.6.5	Referenzbereich für Kot	99
6	Schlussfolgerungen	100
7	Zusammenfassung	103
8	Summary	106
9	Literaturverzeichnis	109
10	Anhang	125

Abkürzungsverzeichnis

a. p.	ante partum
Atox1	Antioxidant Protein 1
ATP 7A	ATPase 7A
ATP 7B	ATPase 7B
Ca	Kalzium
CCO	Cytochrom-C-Oxidase
CCS	Copper Chaperone for SOD
COMMD1	Copper Metabolism Gene MURR1-containing Domain 1
COX 11/17	Cytochrom-C-Oxidase Assembly Protein 11/17
CP	Caeruloplasmin
Ctr1	Copper Transporter 1
Cu	Kupfer
DAO	Diaminooxidase
DBM	Dopamin- β -Monooxygenase
EC-SOD	extrazelluläre Superoxid-Dismutase
Fe	Eisen
FS	Feuchtsubstanz
GPI-CP	membrangebundenes Caeruloplasmin mit Glycosylphosphatidylinositol-Anker
HEP	Hephaestin
LO	Lysyloxidase
Mn	Mangan
Mo	Molybdän
PAM	Peptidylglycin- α -amidating Monooxygenase
p. o.	per os
p. p.	post partum
S	Schwefel
SCO 1/2	Synthesis of Cytochrom-C-Oxidase-Protein 1/2
SOD	Superoxid-Dismutase
TGN	Trans-Golgi-Netzwerk
TM / DM	Trockenmasse / Dry Matter
TMR	Totale Mischraktion
TY	Tyrosinase
XIAP	X-linked Inhibitor of Apoptosis

1 Einleitung

Beim Stichwort „Kupfer“ assoziieren wir mit dem roten Metall zumeist Alltagsgegenstände wie Centmünzen, Rohre, Kupferkabel oder Dächer mit typischer grüner Patina. Dabei ist seine Bedeutung als Baustoff oder elektrischer Leiter geradezu banal im Vergleich zu seiner biologischen Funktion. Kupfer ist ein lebensnotwendiges Spurenelement, das im Körper von Mensch und Tier in kleinster Menge große Wirkung entfaltet. Ohne Kupfer ist keine physiologische Blutbildung, Immunabwehr oder Nervenzellfunktion möglich. Elementare Prozesse wie die Zellatmung funktionieren nur unter seiner Mitwirkung. Längst hat die human- und tiermedizinische Wissenschaft die biologische Bedeutung dieses Spurenelements erkannt und intensive Forschung betrieben. So weiß man heute, dass Imbalancen im Kupferstoffwechsel des Menschen Teil der Pathogenese neurodegenerativer Erkrankungen wie Alzheimer oder Parkinson sind (Stelmashook et al. 2014). Erbkrankheiten, wie das Menkes-Syndrom, das beim Menschen zu einer gestörten Kupferaufnahme führt oder die Kupferspeicherkrankheit des Bedlington Terriers, die die Ausscheidung von Kupfer herabsetzt, zeigen, wie sehr eine gestörte Kupferhomöostase die Lebensfähigkeit eines Organismus beeinträchtigen kann (Kaler 2011, Dirksen und Fieten 2017). Kupfer muss dem Körper über die Nahrung zugeführt werden. Bei Nutztieren, die für den Menschen durch die Produktion von Milch oder Muskelfleisch Leistung erbringen sollen, ist eine bedarfsgerechte Fütterung mit Spurenelementen zur Gesunderhaltung der Tiere aus wirtschaftlichen und tierschutzrechtlichen Gründen unabdingbar. Rinderhalter stellt dies vor die Herausforderung, eine Futtermischung zusammenzustellen, die den speziellen Bedürfnissen von Wiederkäuern gerecht wird. Das Wissen um die Besonderheiten des Kupferstoffwechsels beim Rind, die Folgen einer Unter- oder Überversorgung und geeignete Diagnostika zur Erkennung von Fütterungsfehlern und Kupferstoffwechselstörungen ist für Landwirte, Fütterungsberater und selbstverständlich auch für Tierärzte äußerst wichtig.

Die vorliegende Arbeit stellt den wissenschaftlichen Status quo zur Bedeutung des Spurenelements Kupfer beim Rind dar und ergänzt ihn durch eigene Untersuchungsergebnisse. Der Fokus liegt hierbei auf der Bedeutung von Kupfer für Milchkühe. Ziel der Arbeit ist es, das Verhalten und die Konzentration von Kupfer in den Probenmedien Blut, Haar, Urin und Kot von Milchkühen zu untersuchen, die Eignung dieser Medien zur Diagnostik des Kupferstatus zu prüfen und daraus Referenzbereiche für physiologische Kupferkonzentrationen in den jeweiligen Probenmedien abzuleiten. Zusätzlich soll untersucht werden, ob Faktoren wie Jahreszeit, Betriebsstandort und Laktationsstadium den Kupferstatus der Tiere beeinflussen und ob Zusammenhänge mit den Konzentrationen anderer Mengen- und Spurenelemente, chemischen und hämatologischen Blutparametern sowie Fruchtbarkeits- und Leistungsparametern der Tiere bestehen.

2 Literaturübersicht

2.1 Chemische Eigenschaften

Kupfer ist ein metallisches Element mit dem chemischen Symbol Cu und der Ordnungszahl 29. Sein Name leitet sich vom lateinischen Wort *cuprum* ab, das wiederum aus *aes Cyprium*, lateinisch für „zyprisches Erz“, entstanden ist und auf die zur Römerzeit ergiebigsten Kupferminen auf der Insel Zypern hinweist. Durch seine Korrosionsbeständigkeit wird Kupfer auch als Halbedelmetall bezeichnet und wie Gold und Silber zu den Übergangsmetallen gezählt.

Kupfer tritt in den Oxidationsstufen 0, +1, +2, +3 und selten +4 auf, wobei Kupfer(II)-Salze am stabilsten sind. Reines Kupfer ist rot. Neben Gold und Cäsium gehört es damit zu den einzigen farbigen Metallen. Weitere wichtige Stoffeigenschaften sind in Tabelle 1 zusammengefasst (Römpp 2016).

Tabelle 1: Stoffeigenschaften von Kupfer

Atomgewicht	Dichte	Schmelzpunkt	Siedepunkt	Rel. Härte nach Mohs	Zugfestigkeit
63,546	8,94	1083,0 ± 0,1	2595	2,5 – 3	200-400
Dalton	g/cm ³	°C	°C	(Skala 1-10)	N/mm ²

2.2 Vorkommen in der Natur und anthropogener Eintrag

In der oberen, ca. 16 km breiten Erdkruste steht Kupfer mit einem Massenanteil von ca. 0,007 % an 25. Stelle der Elementhäufigkeit. Es kommt dabei zu einem geringen Teil gediegen oder mit anderen Elementen, wie z.B. Arsen, vergesellschaftet vor. Der größte Teil der Kupfervorkommen ist jedoch in Mineralien gebunden, von welchen Kupferkies (Chalkopyrit, CuFeS₂), Kupferglanz (Chalkosin, Cu₂S) oder Buntkupfererz (Bornit, Cu₅FeS₄) am bedeutsamsten sind (Römpp 2016).

Abgesehen von den Lagerstätten in der Tiefe der Erde ist Kupfer jedoch auch in der Natur, die Mensch und Tier unmittelbar umgibt, allgegenwärtig. So findet sich Kupfer in unterschiedlicher Konzentration in den Oberböden, dem Trinkwasser und sogar in der Luft. Welche Kupfergehalte im jeweiligen Medium vorliegen, ist in hohem Maße standortabhängig.

Für den Bodenkupfergehalt sind einerseits geologische Faktoren wie Ausgangsgestein und Bodenbildungsprozesse verantwortlich. Andererseits spielen aber auch die Nutzungsart der Fläche und der damit verbundene anthropogene Einfluss eine große Rolle. Der Einsatz kupferhaltiger Pflanzenschutzmittel, die Ausbringung von Klärschlamm und Wirtschaftsdünger

sowie industrielle Tätigkeiten, wie Erzabbau oder Metallschmelzen, können die Kupferkonzentration im Boden bestimmter Regionen um ein Vielfaches erhöhen (Zietz und Dunkelberg 2003, Jänsch und Römbke 2009). Daneben gelten auch der Kfz-Bereich (zu 99,5 % durch Abrieb kupferhaltiger Bremsbeläge), die Trinkwasserverteilung (durch Korrosion kupferhaltiger Rohrmaterialien und Hausinstallationen) und der Baubereich (durch Ablaufwasser von korrodierten kupferhaltigen Dächern) als bedeutende Emissionsquellen für Kupfer (Hillenbrand et al. 2005). Kupferhydroxid und Kupferchlorid gelten als meist genutzte Wirkstoffe in Pflanzenschutzmitteln und finden insbesondere bei Intensivkulturen von Wein und Hopfen, seltener auch im Obst- und Kartoffelanbau Verwendung. Bei der übrigen landwirtschaftlichen Nutzung von Flächen als Acker- oder Grünland sowie im Forst liegen die Kupfergehalte jedoch überwiegend in niedriger Konzentration vor (Jänsch und Römbke 2009). Welche Werte als tolerierbar gelten, ist in der Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung (BBodSchV, 1999) für die Hauptbodenarten Ton (T), Lehm/Schluff (L/U) und Sand (S) in Form von Vorsorgewerten definiert. Bei Überschreitung dieser Vorsorgewerte ist davon auszugehen, dass die Gefahr einer schädlichen Bodenveränderung durch Toxizität auf nützliche Bodenorganismen besteht. Tabelle 2 vergleicht diese Vorsorgewerte mit den Ergebnissen einer Studie des Umweltbundesamts, die anhand von Daten der sog. Boden-Dauerbeobachtungsflächen (BFD) der Länder die Schwermetallbelastung deutscher Oberböden bewertet. Es zeigt sich, dass die Medianwerte der Kupfergehalte deutlich unter den Vorsorgewerten liegen, auch wenn einzelne, in die Berechnung mit eingeflossene Werte standortbezogen erhöht waren (Huschek et al. 2004).

Tabelle 2: Kupfergehalte (Mediane) im Oberboden in mg/kg TM differenziert nach der Nutzung und den Bodenarten-Hauptgruppen (Quelle: Huschek et al. 2004) im Vergleich mit den Vorsorgewerten nach BBodSchV (1999)

Hauptbodenart nach BBodSchV	Kupfergehalte in mg/kg TM			Vorsorgewerte in mg/kg TM
	Forst	Acker	Grünland	
T	19,00	19,46	21,29	60
L	5,30	15,13	21,00	40
U	8,60	16,50	23,00	40
S	8,30	7,00	5,10	20

T = Torf; L= Lehm; U = Schluff; S = Sand; TM= Trockenmasse

Welchen standortbedingten Schwankungen die Bodenkupfergehalte innerhalb Deutschlands unterworfen sind, stellt die Übersichtskarte in Abbildung 1 dar, die Huschek et al. (2004) aus den vorhandenen Daten der Boden-Dauerbeobachtungsflächen für die Nutzungsarten Forst, Grünland und Acker erstellt haben. Hohe Konzentrationen von über 60 mg Kupfer/kg TM treten

bundesweit nur vereinzelt auf und können auf mögliche punktuelle metallurgische Tätigkeiten oder industrielle Emissionen hinweisen (Reinhold 2008).

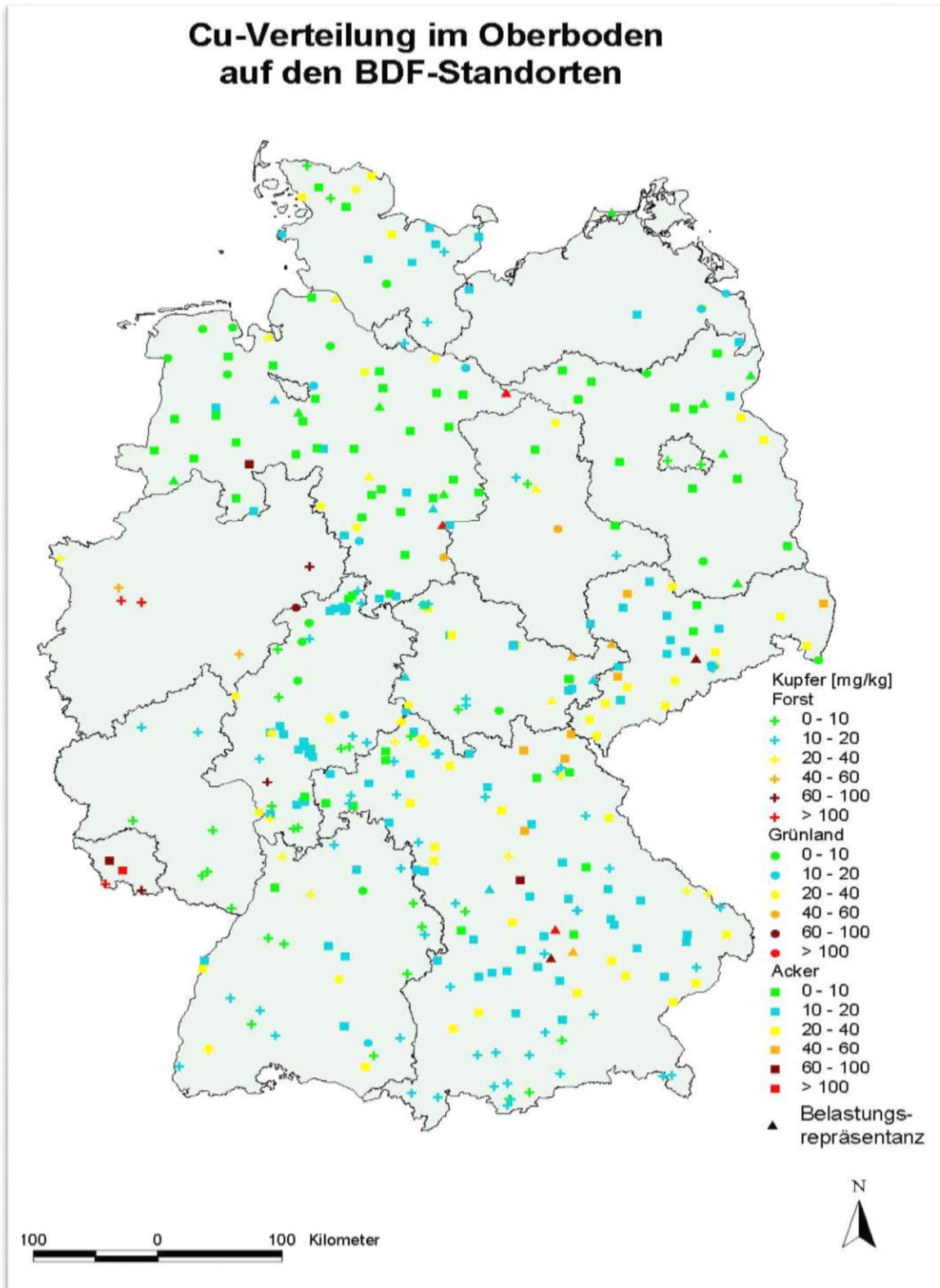


Abbildung 1: Standortbezogene Kupfergehalte im Oberboden differenziert nach den Hauptnutzungsarten Forst, Grünland und Acker in mg/kg TM; Quelle: Huschek et al. (2004)

Die Kupfergehalte in der Luft sind ebenso sehr anthropogen beeinflusst wie die der Böden. Durch industrielle Emissionen, insbesondere bei Buntmetallverhüttung und – verarbeitung, aber auch durch den o.g. Abrieb kupferhaltiger Bremsbeläge, gelangt an Schwebestaub gebundenes Kupfer in die Umwelt. Während in ländlichen Regionen die Kupferkonzentration in der Luft 10 bis 50 ng/m³ beträgt, können die Werte in urbanen, industriell erschlossenen Gebieten auf 80 bis 90 ng/m³ und in Einzelfällen sogar auf mehrere Hundert ng/m³ ansteigen (Merian und Clarkson 1991, Römpf 2016).

Die natürlichen Kupfergehalte im Wasser schwanken zwischen $\leq 0,0003$ mg/l im Ozean und $\leq 0,01$ mg/l in Süßwasser (Römpf 2016). In städtisch verdichteten Regionen ist die Belastung von Grundwasser und Oberflächengewässern generell höher, was wiederum auf den anthropogenen Eintrag zurückzuführen ist. Die Trinkwasserqualität ist in Deutschland laut Bericht des Bundesministeriums für Gesundheit und des Umweltbundesamtes trotzdem als sehr gut zu bewerten. In 99,95 % der deutschlandweiten Untersuchungen in Wasserversorgungsanlagen liegt der Kupfergehalt unterhalb des laut Trinkwasserverordnung (TrinkwV 2001) geltenden Grenzwerts von 2 mg/l (Umweltbundesamt 2018). Durch Nichtbeachten der technischen Regeln bei Trink- und Tränkewasserinstallationen wie dem Verbau von Kupferrohren für hartes Wasser aus Hausbrunnen oder hartes Leitungswasser mit einem pH-Wert unter 7,4 kann es beim Endverbraucher allerdings nachträglich zu einem Übergang von Kupferionen ins Trink- oder Tränkewasser kommen (Hillenbrand et al. 2005).

2.3 Kupfergehalt in Futtermitteln für Milchkühe

Kupfer findet sich nicht nur in der unbelebten Natur, sondern auch im Organismus aller Lebewesen. Es ist an einer Vielzahl wichtiger Stoffwechselprozesse beteiligt und gilt daher als essentielles Spurenelement, das von Mensch, Tier und Pflanze in adäquater Menge mit der Nahrung aufgenommen werden muss. Bei Wiederkäuern ist daher der Kupfergehalt der Futterpflanzen von entscheidender Bedeutung für die Zufuhr des Mikronährstoffes. Er variiert je nach Pflanzenspezies, Bodenfaktoren und Jahreszeit bzw. Reife der Pflanze.

Was die Pflanzenspezies betrifft, so weisen Ölsaaten und Leguminosen generell höhere Kupferkonzentrationen auf als Gräser, die unter denselben Bedingungen gewachsen sind (Suttle 2010).

Bei den Bodenfaktoren spielen das Redoxpotential und die Azidität des Bodens eine wesentliche Rolle für die Löslichkeit seiner Kupfervorräte und bestimmen somit die Menge an verfügbarem Kupfer, das die Pflanze über die Boden-Wurzelschranke aufnehmen kann. Niedrige Sauerstoffgehalte infolge von Wasserüberstau nach Regengüssen senken beispielsweise das Redoxpotential des Bodens, wodurch zeitweilig Kupferionen aus

unlöslichen Metalloxidverbindungen freigesetzt und für die Pflanze verfügbar werden. Niedrige Boden-pH-Werte bewirken eine Desorption des kationischen Mikronährstoffs Kupfer von negativ geladenen Bodenpartikeln und verbessern ebenfalls seine Verfügbarkeit (Trott et al. 2013). Sandige Böden, alkalischer Schlicklehm, Mergelböden, Torf, Sumpf, Moorflächen und Heideböden gelten generell als eher schlechte Kupferquellen für Futterpflanzen (Dirksen et al. 2006, Heimberg und Holsteg 2007).

Für den Umfang der Mikronährstoffaufnahme durch Pflanzen sind jedoch nicht nur Bodenfaktoren von Bedeutung, sondern auch das Wurzelwachstum und die Oberfläche des Wurzelsystems. Außerdem ist zu beachten, dass Kulturpflanzen Mikronährstoffe auch über die Blätter aufnehmen können. Eine Ergänzung der Kupferversorgung ist damit neben der Boden- auch durch Blattdüngung möglich (Trott et al. 2013).

Innerhalb der einzelnen Pflanzenbestandteile ist Kupfer ungleichmäßig verteilt. So kann bei Gräsern der Kupfergehalt der Blätter den der Stängel um bis zu 35 % übersteigen. Nimmt während der Wachstumsphase der Anteil der Blätter an der Gesamtpflanze ab, reduziert sich somit gleichzeitig auch ihr Gesamtkupfergehalt (Minson 1990). Je nach Jahreszeit und Schnittzeitpunkt variiert demnach auch der Kupfergehalt der Futterpflanze.

Aufgrund all dieser Faktoren ist es schwierig, allgemeingültige Werte für die Kupferkonzentration in Futterpflanzen zu definieren. Da Veröffentlichungen über Spurenelementgehalte in Einzelfuttermitteln zudem nur eingeschränkt zur Verfügung stehen oder, wie im Falle der DLG-Futterwerttabellen, aus früheren Jahrzehnten stammen (Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft 1973), wird in Tabelle 3 auf eine Veröffentlichung von Steinhöfel et al. (2013) zurückgegriffen, in der die Analysebefunde aus (Monitoring-) Untersuchungen von Einzelfuttermitteln für Milchkühe im Freistaat Sachsen dargestellt wurden. Aus den Mittelwerten der Tabelle wird ersichtlich, dass Kupfer v.a. in Sojaextraktionsschrot und Biertreber vorkommt, wogegen es in Futtermitteln wie Mais- und Grassilage, Getreide und Hackfrüchten nur in geringer Menge vertreten ist. Den Ergebnissen von Steinhöfel et al. (2013) werden für die Raufuttermittel Maissilage, Grassilage und Heu in Tabelle 3 die Referenzbereiche aus den Futterwerttabellen der LfL (Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft 2017) gegenübergestellt. Diese verdeutlichen zum einen die Variationsbreite der Kupferkonzentration und zum anderen deren Abhängigkeit vom Schnittzeitpunkt, zwei Faktoren, die die Vorhersagbarkeit der Kupferkonzentration in einer Futtermischung erschweren.

Tabelle 3: Kupfergehalte in Einzelfuttermitteln

Futterpflanze/ -mittel	Kupfergehalt in mg/kg TM			
	Steinhöfel et al. (2013)		(LfL 2017)	
	$\bar{x}-0,5s^*$	N	95 % der Proben	N
Raufutter				
Grünfutter	9	689		
Maissilage	4	524	5,1 - 10	229
Grassilage	7	471		
Grassilage 1. Schnitt			5,5 - 10	457
Grassilage Folgeschnitte			5,2 - 10	431
Kleegrassilage 1. Schnitt			5,0 - 8,3	31
Kleegrassilage Folgeschnitte			6,6 - 11	21
Gerste-Graspflanzensilage	9	80		
Heu	4	65	5,2 - 22	26
Stroh	3	19		
Trockengrün	4	8		
Proteinkonzentrat				
Biertreber	15	10		
Rapsextraktionsschrot	5	40		
Sojaextraktionsschrot	15	79		
Erbsen	9	5		
ProtiGrain®	5	5		
UDP-Konzentrat	6	5		
Energiekonzentrat				
Gerste	4	158		
CCM	3,9	41		
Kartoffeln	5	3		
Melasse	5	4		
Melasseschnitzel	8	4		
Pressschnitzel	2	60		

N=Anzahl; \bar{x} =arithmetisches Mittel; s=Standardabweichung; UDP=Undigestible Protein; CCM=Corn Cob Mix

* Die Mittelwerte wurden von Steinhöfel et al. (2013) um die halbe Standardabweichung reduziert, um „sichere“ Tabellenwerte für Einzelfuttermittel bereitzustellen, aus denen sich die Gesamtkupferkonzentration einer TMR durch Addition berechnen lässt.

2.4 Einflüsse auf die Absorbierbarkeit von Kupfer im Magen-Darm-Trakt des Wiederkäuers

Für eine ausreichende Kupferversorgung der Tiere kommt es nicht nur auf den analytischen Gehalt im Futtermittel, sondern vor allem auf die Verwertbarkeit des Spurenelements im tierischen Organismus an (Kirchgeßner 2014). Ziel ist es, die Ration so zusammenzustellen, dass die einzelnen Mineralstoffe in der jeweiligen Bedarfsmenge im Gastrointestinaltrakt absorbierbar und für den Intermediärstoffwechsel verfügbar sind. Nur so kann eine bestmögliche Versorgung der Tiere gewährleistet und gleichzeitig die Exkretion mit einhergehender Umweltbelastung so gering wie möglich gehalten werden (de Groote et al. 2002).

Bei Spurenelementen ist die Absorbierbarkeit noch schwieriger beurteil- und vorhersagbar als bei Mengenelementen. Gründe hierfür sind eine Vielzahl von Faktoren, die sowohl die Zusammensetzung des Futtermittels als auch die wiederkäuerspezifische Verdauungsphysiologie einschließen (de Groote et al. 2002) und die Resorptionsrate von oral aufgenommenem Kupfer zwischen 2 % und 40 % schwanken lassen (Klee 2016). Was den Einfluss anderer Nährstoffe auf die Absorbierbarkeit von Kupfer betrifft, so kommt vor allem den Elementen Molybdän (Mo), Schwefel (S) und Eisen (Fe) große Bedeutung zu. Alle drei Stoffe sind Teil der natürlichen Elementzusammensetzung einer Futterpflanze. Einmal im Vormagensystem angelangt, treten sie mit Kupfer in Interaktion und können dessen Absorbierbarkeit deutlich herabsetzen. Molybdän ist vor allem in Leguminosen und Proteinfutter wie Soja vertreten. Sein Gehalt erhöht sich mit steigendem Boden-pH und in der Wachstumsphase der Pflanze. Deshalb können beispielsweise kalkgedüngte Böden und ein später Schnitt den Molybdängehalt im Futter steigern. Schwefel wird in Form von Sulfat, Sulfid oder schwefelhaltigen Aminosäuren über die pflanzliche Nahrung aufgenommen, kann aber unter bestimmten Bedingungen auch über das Trinkwasser zugeführt werden. Insbesondere bei hofeigenen Tiefbrunnen kann das Wasser hohe Sulfidgehalte aufweisen und je nach Bohrtiefe zusätzlich sehr eisenhaltig sein (Gould und Kendall 2011). Der Eisengehalt einer Futterpflanze steigt bei starker Vernässung der Böden, da durch langanhaltende Regenfälle oder Überflutung im wassergesättigten Boden für Pflanzen leicht resorbierbares Eisen (II) entsteht (Jones 1972, Campbell et al. 1974). Ebenso gilt die Aufnahme von Erde als Eintrittsrouten für Eisen in den Verdauungstrakt des Wiederkäuers. So gelang es Hansen und Spears (2009) nachzuweisen, dass durch Silierung von mit Erde kontaminiertem Grünfutter aus unlöslichen Eisen (III)-Komplexen vermehrt reaktives Eisen (II) entstehen kann.

Einmal im Pansen des Wiederkäuers angelangt, treten die Elemente Molybdän, Schwefel, Eisen und Kupfer in Wechselwirkung miteinander. Eine Schlüsselrolle kommt hierbei den Pansenorganismen zu. Dick et al. (1975) erkannten, dass unter mikrobiellem Einfluss Sulfat

zu Sulfid reduziert wird, welches wiederum mit Molybdat interagiert und in einer schrittweisen Reaktion, wie in Abbildung 2 dargestellt, sogenannte Thiomolybdate ausbildet.

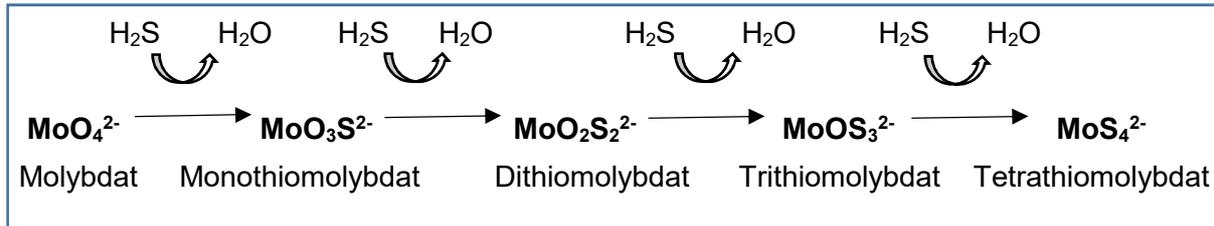


Abbildung 2: Ausbildung von Thiomolybdaten im Pansen; Quelle: eigene Darstellung

Ob vermehrt Mono-, Di-, Tri-, oder Tetrathiomolybdate gebildet werden, hängt nach Clarke und Laurie (1980) mit dem Pansen-pH zusammen. Sie beobachteten, dass ab einem $\text{pH} \leq 6,5$, wie er beispielsweise bei energiereicher Fütterung von Hochleistungskühen vorkommen kann, vermehrt Tri- und Tetrathiomolybdate entstehen, wobei letztere die reaktivste Verbindung darstellen und gegenüber Kupfer die höchste Affinität aufweisen. Im Pansen verfügbares Kupfer kann durch Tetrathiomolybdate in unlösliche Komplexe eingebunden werden, die nicht absorbierbar sind und mit den Faeces ausgeschieden werden. Eisen ist an dieser Reaktion nicht beteiligt, bildet im Pansen mit Sulfid und Kupfer jedoch seinerseits Komplexe aus, die Kupfer irreversibel binden und dessen Absorbierbarkeit herabsetzen (Gould und Kendall 2011). Abbildung 3 stellt die Komplexbildungen im Pansen graphisch dar.

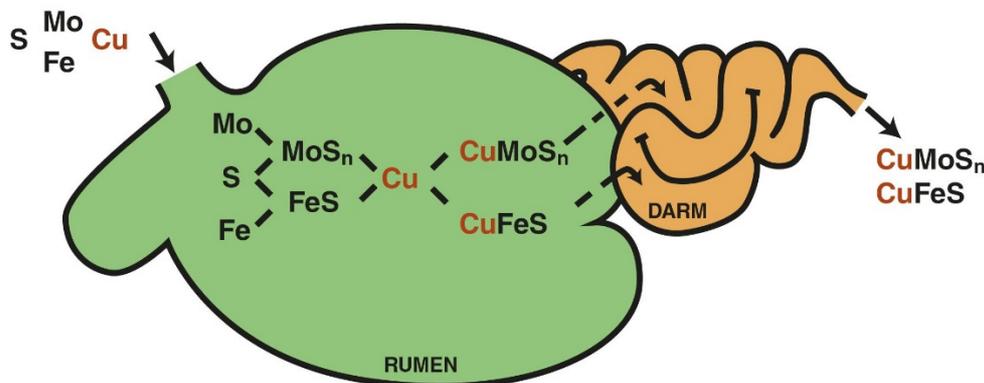


Abbildung 3: Interaktion von Mo, S, Fe und Cu im Pansen

MoS_n = Thiomolybdat ($\text{MoO}_{4-n}\text{S}_n^{2-}$ mit $n = 1-4$ für Mono-, Di-, Tri- oder Tetrathiomolybdat);
 FeS = Eisensulfid; Quelle: eigene Darstellung nach Angaben von Gould und Kendall (2011)

Bei einigen Autoren findet sich zusätzlich der Hinweis, dass die Kupferverwertung bei Rindern auch in hohem Maße vom Calciumgehalt im Futtermittel beeinflusst wird. Calciumreichere Grundfuttermittel wie Raps oder Rübenblatt können die Absorbierbarkeit von Kupfer in der Ration deutlich reduzieren (Jeroch et al. 1999, Kirchgeßner 2014, Meyer et al. 2014). Hansen et al. (2009) stellten zusätzlich die Vermutung an, dass das Spurenelement Mangan mit Kupfer

um dasselbe Transportprotein im Darm konkurriert und bei Überschuss die Kupferabsorption aus dem Darmlumen kompetitiv hemmt. Um der antagonistischen Wirkung anderer Nahrungsbestandteile entgegenzuwirken, wird Rinderhaltern daher empfohlen, Mineralfutter anzubieten, das um Kupfer ergänzt wurde (Kirchgeßner 2014).

2.5 Bedeutung für den tierischen Organismus

Übersteht mit der Nahrung zugeführtes Kupfer ohne Einbindung in Komplexe die Passage durch Vormägen und Labmagen, kann es im Dünndarm absorbiert und so in den tierischen Organismus integriert werden. Als essentielles Spurenelement erfüllt es im Stoffwechsel zahlreiche Aufgaben. Es ist nicht nur an grundlegenden biologischen Prozessen wie Zellatmung und Radikalfang beteiligt, sondern auch in ein komplexes Netzwerk aus Signalkaskaden und Enzymsystemen involviert, die eine Vielzahl von physiologischen Prozessen regulieren. Hierzu gehören u. a. die Reifung von Neuropeptiden, die Mobilisierung von Eisen, Angiogenese und Hämatopoese sowie die fetale und postnatale Entwicklung (Kuo et al. 2001, Rees et al. 2004, Nose et al. 2006, Veldhuis et al. 2009, Mostad und Prohaska 2011). Insbesondere durch die Forschung der letzten zwanzig Jahre wurden viele neue Erkenntnisse über den Kupferstoffwechsel hinzugewonnen, angefangen von der Absorption im Darm, über den Transport durch Membranen und im Blut bis hin zu Regulationsmechanismen der zellulären Kupferhomöostase und der Funktion von Kupfer innerhalb von Enzymsystemen. Erst letztere kann schließlich die physiologische Bedeutung von Kupfer erklären, seine Definition als essentielles Spurenelement rechtfertigen und pathophysiologische Auswirkungen von Kupfermangel und Überversorgung erläutern.

2.5.1 Kupfer als Bestandteil von Cuproenzymen und kupferbindenden Proteinen

Der Schlüssel für die hohe Bedeutung von Kupfer für den Organismus liegt in seiner Redoxaktivität (La Fontaine und Mercer 2007). Als proteingebundenes oxidiertes Cu^{2+} oder reduziertes Cu^{+} dient Kupfer einer Vielzahl von Enzymen als katalytischer Cofaktor bei Elektronentransferreaktionen. Tritt Kupfer jedoch als freies Ion in der Zelle auf, birgt ebendieses Redoxpotential die Gefahr von irreversiblen Schäden an zellulären Komponenten wie Proteinen, Lipiden und DNA, da es die Fähigkeit besitzt, mit Wasserstoffperoxid zu reagieren und hochreaktive Hydroxylradikale zu generieren (Nose et al. 2006, Mufti et al. 2007). Die Konzentration an ungebundenen Kupferionen muss deshalb so gering wie möglich gehalten werden. Rae et al. (1999) gelang es in den 90er Jahren nachzuweisen, dass während der Lebenszeit einer Zelle weniger als 0,01 % des Gesamtkupfergehalts als freie Atome im

Zytoplasma vorliegen. Der Grund hierfür ist das Vorhandensein ausgeklügelter zellulärer Homöostase-Systeme aus interagierenden Cuproenzymen und kupferbindenden Proteinen, die dafür sorgen, dass Kupfer durch seine Redoxaktivität im Organismus keinen oxidativen Schaden anrichten kann. So sorgen kupferbindende Hilfsproteine, sog. Chaperone, gleich nach der Aufnahme in die Zelle für eine sichere Übertragung von Kupfer auf die jeweiligen Zielproteine. Diese nutzen das Metallion entweder als katalytischen Cofaktor für ihre Enzymaktivität, schleusen es in sichere, subzelluläre Kompartimente oder leiten die Exkretion überschüssiger Kupferionen ein (O'Halloran und Culotta 2000).

Bevor der aktuelle Wissenstand über die molekularen Abläufe im Kupfermetabolismus dargelegt wird, sollen die nun folgenden Tabellen 4 und 5 zunächst einen kurzen Überblick über die beteiligten Proteine, unterschieden in Cuproenzyme und kupferbindende Proteine, vermitteln.

In Tabelle 4 werden die einzelnen Cuproenzyme mit ihrer metabolischen Funktion vorgestellt. Cuproenzyme zeichnen sich dadurch aus, dass sie Kupfer als festen Bestandteil für ihre Molekülstruktur benötigen. Kupfer ist essentiell für ihre metabolische Aktivität und Funktion innerhalb des Organismus.

Tabelle 4: Kupfer als Bestandteil von Cuproenzymen

NAME (Abkürzung)	FUNKTION	LITERATUR
Caeruloplasmin (CP, GPI-CP)	Multi-Kupfer-Ferroxidase, Schnittstelle zwischen Kupfer- und Eisenmetabolismus: - Vermittlung des Eisenefflux aus der Zelle und Oxidation zu Fe ³⁺ , um den Eisentransport im Serum und damit die Verteilung im Organismus zu ermöglichen - Schutz vor Anämie oder Neuropathie als Folge intrazellulärer Eisenakkumulation	(Hellman und Gitlin 2002, Collins et al. 2010, Mostad und Prohaska 2011)
Cytochrom-C-Oxidase (CCO)	- Zellatmung als Komplex IV der mitochondrialen Atmungskette - oxidative Phosphorylierung: Aufrechterhaltung des mitochondrialen Protonengradienten und damit indirekte Beteiligung an der ATP-Synthese	(Hamza und Gitlin 2002, Rassow 2016, Prohaska 2012)
(Di-) Aminoxidasen (AO, DAO)	- Oxidative Desaminierung von Monoaminen, Diaminen und deren Derivaten unter Freisetzung von Aldehyden, NH ₃ und H ₂ O ₂ - Beteiligung an immunologischen Prozessen durch Auslösen von intrazellulären Signalkaskaden und Leukozytentracking	(Brazeau et al. 2004, Stolen et al. 2005, Prohaska 2012)
Dopamin-β-Monooxygenase (DBM)	Beteiligung an der Katecholaminbiosynthese durch Umwandlung von Dopamin zu Noradrenalin	(Thomas et al. 1995, Prohaska 2012)
Hephaestin (HEP)	Multi-Kupfer-Ferroxidase im Enterozyten, Schnittstelle zwischen Kupfer- und Eisenmetabolismus: Vermittlung des Exports intestinal resorbierten Eisens in den portalen Blutstrom	(Kuo et al. 2004, Collins et al. 2010, Prohaska 2012)
Lysyloxidase (LO)	Bindegewebssynthese durch: - oxidative Desaminierung von Lysinresten, zur Stabilisierung von Elastin und Kollagen und - Desmosin-Quervernetzung	(Kagan und Li 2003, Molnar et al. 2003)

Peptidylglycin- α -amidating Monooxygenase (PAM)	Posttranslationale Modifikation von Peptiden bis hin zur ihrer bioaktiven Form und damit Aktivierung vieler Peptidhormone, wie bspw. Calcitonin, Gastrin, Thyreotropin releasing Hormon und Vasopressin	(Bousquet-Moore et al. 2010, Prohaska 2012)
Superoxid-Dismutasen (SOD1, EC-SOD)	- Schutz vor oxidativen Zell-/Gewebeschäden durch Umwandlung von Superoxid O_2^- zu Wasserstoffperoxid H_2O_2 - Regulation des Gefäßtonus durch Interaktion mit Stickoxid (EC-SOD)	(Xin et al. 1991, Jung et al. 2003, Prohaska 2012)
Thioloxidase (TO)	Bildung von Disulfidbrücken in Proteinen und damit u. a. Stärkung der Struktur und Stabilität von Fell und Wolle	(Suttle 2010)
Tyrosinase (TY)	Pigmentierung des Haarkleids durch Umsetzung von Tyrosin zu Melanin in den Melanozyten	(Prohaska 2012)
Zyklopen (Zp)	Multi-Kupfer-Ferroxidase, Schnittstelle zwischen Kupfer- und Eisenmetabolismus in der Plazenta: Vermittlung des Eisenexports aus placentaren Zellen und Oxidation zu Fe^{3+} , was daraufhin an fetales Transferrin gebunden werden kann	(Chen et al. 2010, Prohaska 2012)

Im Unterschied zu den Cuproenzymen stellen kupferbindende Proteine bereits synthetisierte, strukturell vollendete Moleküle dar, die Kupferionen lediglich vorübergehend binden. Durch ihre spezifischen Wirkmechanismen sorgen sie zum einen für die Aufrechterhaltung der Kupferhomöostase im Körper und ermöglichen zum anderen in Form von Chaperonen (Hilfsproteinen) eine korrekte dreidimensionale Faltung von Cuproenzymen. Tabelle 5 stellt die kupferbindenden Proteine mit ihrer metabolischen Funktion im Einzelnen vor.

Tabelle 5: Kupferbindende Proteine

NAME (Abkürzung)	FUNKTION	LITERATUR
Albumin	- Transportprotein für Kupfer und damit Teil des austauschbaren Kupferpools im Blutplasma - protektive Rolle bei exzessiver Kupferaufnahme durch sichere Sequestration von überschüssigen Kupferionen im Blut	(Moriya et al. 2008)
α 2-Makroglobulin	- Synonym = „Transcuprein“ - Transportprotein für Kupfer und damit ebenfalls Teil des austauschbaren Kupferpools im Blutplasma - höhere Affinität als Albumin	(Moriya et al. 2008)
Antioxidant Protein1 (Atox1)	- Chaperon: Übertragung von Cu(I) im Zytosol auf ATP7A und ATP7B - Beteiligung an kupferinduzierter Zellproliferation: Nach Aktivierung durch Cu kann Atox1 im Nukleus als Transkriptionsfaktor fungieren.	(Itoh et al. 2008, Prohaska 2012)
ATPase 7A (ATP7A)	- Transmembrantransportprotein für Kupfer - außer in der Leber gewebeübergreifende Expression, v.a. in der Epithelschicht des Darms - verantwortlich für die systemische Verteilung von intestinal resorbiertem Kupfer	(Mufti et al. 2007, La Fontaine et al. 2010)
ATPase 7B (ATP7B)	- Transmembrantransportprotein für Kupfer - Expression v.a. in der Leber: bei intrazellulärem Kupferüberschuss Vermittlung der biliären Kupferexkretion	(Mufti et al. 2007, La Fontaine et al. 2010)
Copper Chaperone for SOD (CCS)	- Chaperon der SOD im Zytoplasma: Übertragung von Cu auf SOD1, SOD1-Faltung und -Aktivierung	(O'Halloran und Culotta 2000, Wong et al. 2000)

Copper Metabolism Gene MURR1-containing Domain 1 (COMMD1)	- Förderung der biliären Cu-Elimination durch bislang ungeklärten molekularen Wirkmechanismus - genetische Besonderheit beim Bedlington-Terrier: autosomal-rezessiv vererbte Mutation des COMMD1-Gens als Ursache für Kupfertoxikose	(Mufti et al. 2007, Fedoseienko et al. 2014)
Cytochrom-C-Oxidase Assembly Protein11 (Cox11)	Chaperon für CCO in der inneren Mitochondrienmembran: Übertragung von Cu(I) auf CCO, CCO-Faltung und -Aktivierung	(Hamza und Gitlin 2002)
Cytochrom-C-Oxidase Assembly Protein17 (Cox17)	Chaperon für CCO im Zytosol und im Intermembranspalt des Mitochondriums: Übertragung von Cu(I) auf Cox11 oder Sco1 und Sco2	(Hamza und Gitlin 2002)
Copper Transporter1 (Ctr1)	- Transmembrantransport von Cu ⁺ / Kupferimport - hochaffin gegenüber Cu ⁺ und damit wichtigster Kupferimporter des Organismus - essentiell für Wachstum und Entwicklung	(Lee et al. 2001, Aller und Unger 2006)
Metallothioneine (MT)	- Superfamilie: Bekannte Isoformen beim Säuger sind MT1 bis MT4. - Bindung von Metallionen und Sauerstoffradikalen zum Schutz vor oxidativem Stress - Kupferspeicherung	(Suzuki et al. 2002, Palacios et al. 2011, Vašák und Meloni 2011)
Synthesis of Cytochrom-C-Oxidase - Proteine (Sco1 und Sco2)	CCO-Chaperone in der inneren Mitochondrienmembran: Übertragung von Cu(I) auf CCO, CCO-Faltung und -Aktivierung	(O'Halloran und Culotta 2000)
X-linked Inhibitor of Apoptosis (XIAP)	- Mitglied der Familie der IAPs (Inhibitor of Apoptosis Proteins): Apoptose-Inhibition durch Hemmung der Enzymaktivität von Caspasen - „Sensor“ für intrazellulären Kupfermangel: Reduktion des Kupferexports durch Förderung der Degradation von COMMD1 im Proteasom	(Mufti et al. 2007, Liang et al. 2014).

2.5.2 Metabolismus

Wie die einzelnen kupferbindenden Proteine und Cuproenzyme interagieren und dabei den Kupfermetabolismus von der Absorption im Darm bis hin zu Speicherung und Ausscheidung regulieren, soll im Folgenden an ausgewählten beteiligten Zelltypen beschrieben werden. Abbildung 4 gibt einen graphischen Überblick über die Zusammenhänge.

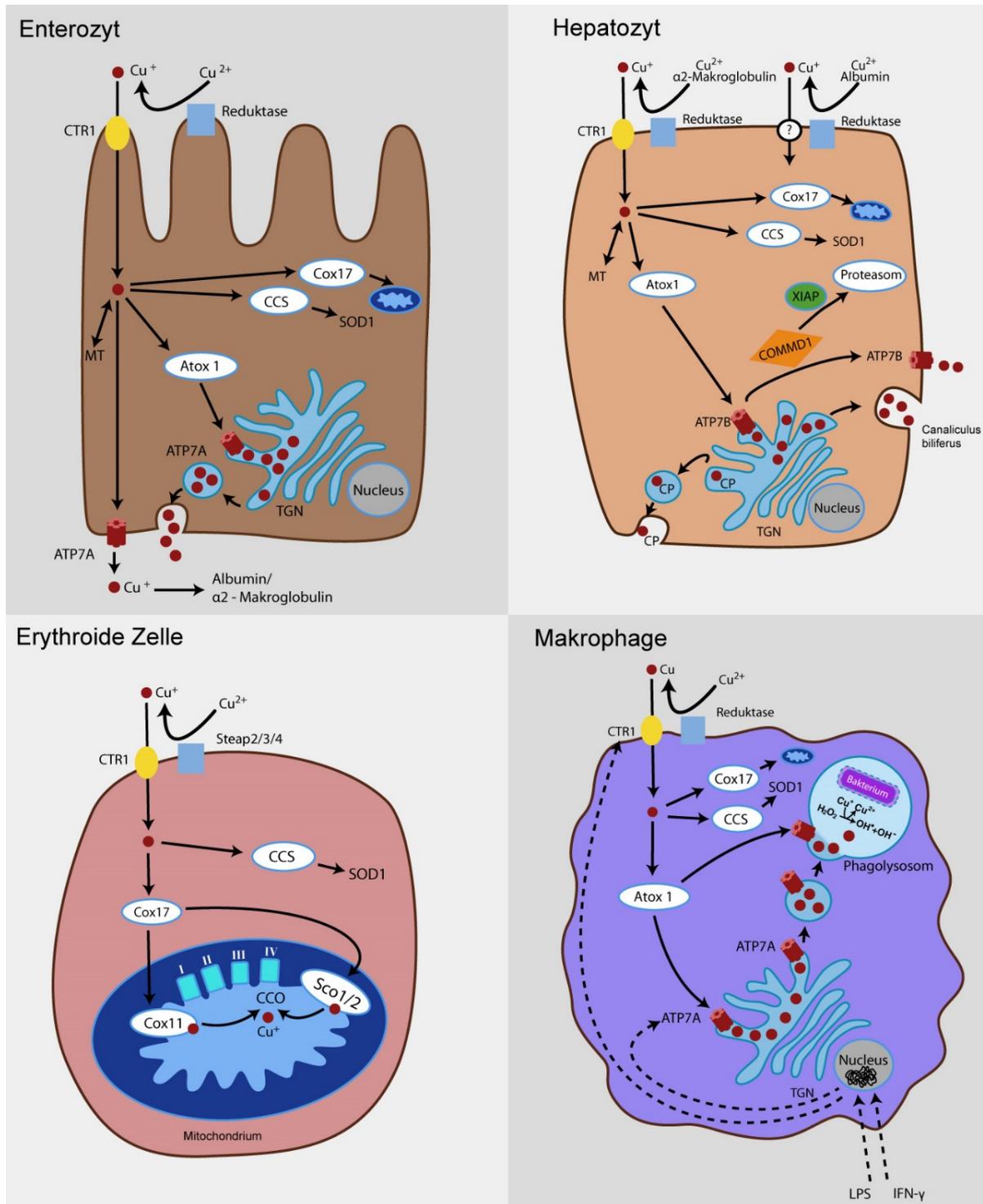


Abbildung 4: Schematische Darstellung der Kupferhomöostase in Enterozyten, Hepatozyten, erythroide Zellen und Makrophagen; Quelle: Collins et al. (2010), modifiziert

2.5.2.1 Absorption aus dem Darmlumen

Die Aufnahme von Kupfer aus dem Darmlumen findet überwiegend im Duodenum statt. Sie erfolgt sehr wahrscheinlich über das in der apikalen Enterozytenmembran ständige Carrierprotein Ctr1. Hierfür muss zweiwertiges Kupfer Cu^{2+} zunächst zu Cu^+ reduziert werden. Dieser Prozess ist noch nicht hinreichend geklärt. Man nimmt jedoch an, dass er von den Reduktasen Dcytb, CYBRD1 oder Steap2 übernommen wird (Wyman et al. 2008, Collins et al. 2010). Die molekularen Regulationsmechanismen, die den Umfang des Kupferimports in den Enterozyten steuern, bleiben nach wie vor unbekannt. Es lässt sich jedoch beobachten, dass die Aufnahme von verfügbarem Kupfer mit sinkendem Angebot in der Nahrung steigt. Ingesta, die niedrige Kupferquellen darstellen, werden also stärker ausgenutzt. Die Resorptionsrate erhöht sich (Collins et al. 2010).

2.5.2.2 Zelluläre Homöostase

Enterozyt

Im Zytosol des Enterozyten bindet Cu^+ an die Chaperone Atox1, Cox17 oder CCS. Diese geben Cu^+ wiederum an verschiedene Zielproteine ab. Das Chaperon Atox1 überträgt Cu^+ auf ATP7A, das über primär aktiven Transport die Aufnahme von Cu^+ in das Trans-Golgi-Netzwerk (TGN) vermittelt. Innerhalb des TGN dienen die Kupferionen der Synthese kupferabhängiger Proteine, wie beispielsweise des intestinalen Hephaestins. Bei hoher Kupferkonzentration im Enterozyten schnüren sich aus dem Golgi-Netzwerk Vesikel ab, die mit der basolateralen Membran der Enterozyten verschmelzen und so Cu^+ durch Exozytose an den Extrazellulärraum abgeben (Monty et al. 2005). Auch der aktive Export über basolateral verankerte ATP7A-Moleküle ist möglich. Im Blutplasma wird Cu^+ an Albumin und α 2-Makroglobulin gebunden und mit dem portalen Blutstrom zur Leber transportiert (Collins et al. 2010, Prohaska 2012).

Hepatozyt

Die Aufnahme von Cu^+ in den Hepatozyten erfolgt vermutlich abhängig vom Trägerprotein. So ergaben Studien an humanen Hepatomzellen, dass α 2-Makroglobulin-gebundenes Kupfer an Ctr1 abgegeben und so in den Hepatozyten aufgenommen wird. Die Aufnahme von albumingebundenem Kupfer folgt dagegen einem anderen, bisher noch ungeklärten Mechanismus (Moriya et al. 2008).

In der Leberzelle bindet Kupfer nun, ähnlich wie im Enterozyten, an die Chaperone Atox1, Cox17 oder CCS, die es wiederum an verschiedene Zielproteine weitergeben. Über das Chaperon Atox1 wird Kupfer auf das Carrierprotein ATP7B übertragen und gelangt so in das

TGN, wo die Synthese von CP oder GPI-CP stattfindet (Prohaska 2012). An CP gebunden wird Kupfer an das Blutgefäßsystem abgegeben und zu anderen Organen transportiert, wo es für den Zellstoffwechsel und die Synthese gewebespezifischer Cuproenzyme (vgl. Tab.4) benötigt wird. Die Leber dient somit als zentrales Verteilerorgan des Spurenelements. Da jedoch auch unter CP-Mangel, wie er beispielsweise bei Menschen mit der Erkrankung Acaeruloplasminämie vorkommt (Hellman und Gitlin 2002), physiologische Kupferkonzentrationen in den verschiedenen Geweben auftreten, liegt die Vermutung nahe, dass es noch andere, bisher unentdeckte Kupferliganden im Plasma gibt (Collins et al. 2010, Prohaska 2012).

Erythroide Vorläuferzelle

Man nimmt an, dass Cu^{2+} an der Plasmamembran erythroider Vorläuferzellen des Knochenmarks zunächst von den membranständigen Metalloreduktasen Steap2, Steap3 und Steap4 zu Cu^+ reduziert und anschließend über Ctr1 nach intrazellulär transportiert wird. Im Zytosol bindet Cu^+ vorrangig an CCS, das Chaperon von SOD1 (Collins et al. 2010). In reifen Erythrozyten sind etwa 60 % des Kupfers SOD1-assoziiert (Evans 1973, Collins et al. 2010). Wie in allen anderen mitochondrienhaltigen Zellen ist das Chaperon Cox17 auch in erythroiden Vorläuferzellen für die Übertragung von Kupferionen aus dem Zytosol auf das Mitochondrium verantwortlich. Dort wird Kupfer mit Hilfe der Chaperone Cox11, Sco1 und Sco2 in die CCO-Untereinheiten I und II integriert (Hamza und Gitlin 2002) und nimmt so als essentieller Bestandteil von CCO seine katalytische Funktion in der Atmungskette wahr (Prohaska 2012).

Makrophagen

Kupfer gilt als essentielles Spurenelement für ein funktionierendes Immunsystem. Auch wenn die molekularen Mechanismen noch weitestgehend ungeklärt sind, zeigt die Studie von White et al. (2009), dass Entzündungsmediatoren wie Interferon- γ (IFN- γ) und Lipopolysaccharide (LPS) die Kupferhomöostase von Makrophagen beeinflussen und hierdurch deren bakterizide Aktivität steigern. Die in-vitro-Versuche an murinen Makrophagenzelllinien ergaben, dass durch Stimulation von IFN- γ und LPS die Genexpression der Kupfertransporter CTR1 und ATP7A erhöht wurde. Als Folge ließ sich sowohl ein gesteigerter Kupferimport ins Zytosol des Makrophagen als auch eine vermehrte Aufnahme ins TGN über ATP7A beobachten. Wie bereits frühere Studien gezeigt haben, findet bei erhöhter Kupferkonzentration eine Umverteilung (Trafficking) von ATP7A vom TGN auf Post-Golgi-Vesikel statt (Cobbold et al. 2002, Monty et al. 2005). White et al. (2009) konnten zudem feststellen, dass ATP7A unter Einfluss von IFN- γ auch vermehrt auf die Membran des Phagosoms umverteilt wird. Dies lässt die Vermutung zu, dass IFN- γ das Trafficking von ATP7A vom TGN zum phagosomalen Kompartiment triggert und so die Aufnahme von Kupferionen ins Phagosom des Makrophagen

fördert. Dass dieser ATP7A-vermittelte Kupfertransport eine entscheidende Rolle für die bakterielle Killing-Aktivität des Makrophagen spielt, konnte in einem Folgeexperiment beobachtet werden: Makrophagen, die aufgrund von Gen-Silencing kein ATP7A exprimierten, konnten weniger E.coli-Bakterien abtöten als die Kontrollzellen. Die konkrete Wirkung der angereicherten Kupferionen im Phagolysosom ist hierbei vermutlich eine kupferkatalysierte Freisetzung von Hydroxylradikalen aus Wasserstoffperoxid, die durch oxidativen Burst die Zerstörung des phagozytierten Erregers einleiten.

2.5.2.3 Speicherung

Auf Schwankungen in der alimentären Kupferversorgung reagiert der tierische Organismus durch eine veränderte Kupferabsorption im Darm, Kupferspeicherung in der Leber oder biliäre Kupfersekretion. Welcher dieser Kontrollmechanismen stärker ausgeprägt ist, hängt von der Spezies ab. Grundsätzlich lässt sich aber feststellen, dass Nicht-Wiederkäuer, die unter natürlichen Bedingungen selten Kupfermangelkrankungen entwickeln, vergleichsweise schlechte Kupferspeicherer sind. Bei einem Überangebot an Kupfer in der Nahrung reagieren sie mit verminderter Kupferaufnahme oder erhöhter Elimination, sodass der Kupferspiegel in der Leber konstant niedrig gehalten wird. Wiederkäuer hingegen, die als Herbivoren aufgrund ihrer Verdauungsphysiologie eher dem Risiko einer Kupfermangelkrankung ausgesetzt sind, scheinen relativ schwache Kontrollmechanismen für eine verminderte Kupferresorption bzw. erhöhte Elimination aufzuweisen. Sie können überschüssiges Kupfer dafür im Gegensatz zu anderen Spezies großzügig speichern (Suttle 2010). Abbildung 5 veranschaulicht die unterschiedliche Kupferspeicherfähigkeit von Wiederkäuern und Nicht-Wiederkäuern anhand einer Grafik von Suttle (2010).

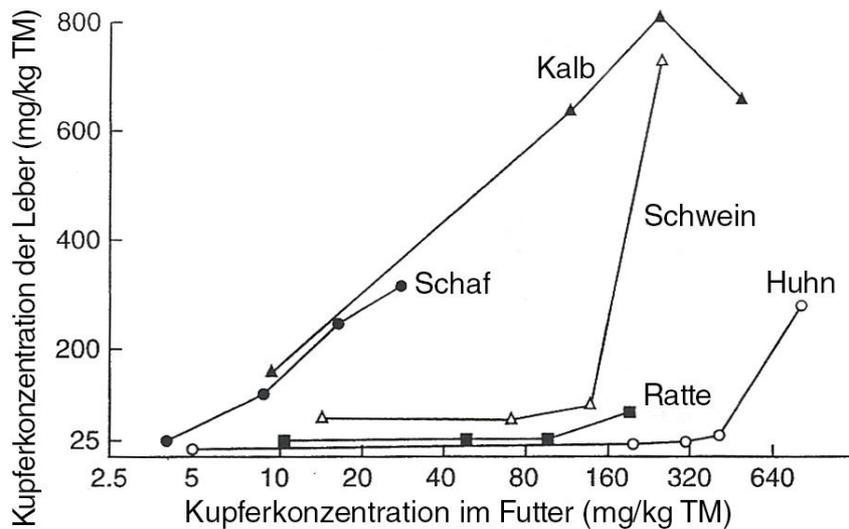


Abbildung 5: Unterschiede in der Kupferspeicherkapazität der Leber zwischen Wiederkäuern (Kalb, Schaf) und anderen Spezies (Schwein, Ratte, Huhn); Quelle: Suttle (2010), modifiziert

Als Speichermechanismus dient vorrangig die Akkumulation von Kupferionen in verschiedenen subzellulären Kompartimenten der Hepatozyten (López-Alonso et al. 2005, Prohaska 2012). López-Alonso et al. (2005) fanden heraus, dass sich bei Rindern mit steigender Kupferkonzentration in der Leber das Verteilungsmuster innerhalb dieser Zellkompartimente ändert. So reichert sich Kupfer im Bereich physiologischer Kupferkonzentrationen von 25-100 mg/kg Leber-Frischgewicht (Puls 1994) v.a. in Mitochondrien und lysosomalen Vesikeln an. Mit steigendem Spiegel, über den physiologischen Normbereich hinaus, scheint sich die Kapazität dieser Kompartimente, Kupfer zu sequestrieren, jedoch schnell zu erschöpfen. Überschüssiges Kupfer akkumuliert nun vorrangig in Nucleus und Zytosol. Die mikrosomalen Kompartimente, Endoplasmatisches Retikulum und Golgiapparat, spielen bei Rindern eher eine untergeordnete Rolle bei der Kupferspeicherung (López-Alonso et al. 2005).

Unter bestimmten Bedingungen scheint zusätzlich Metallothionein als Speicherprotein für Kupfer zu dienen. So bindet es bei einem Überangebot an Kupfer die aus der Nahrung absorbierten Kupferionen temporär im Zytosol des Enterozyten (Collins et al. 2010). Bei Kupfermangel wiederum fungiert es in der Leber als Speicherpool für Kupfer aus degradierten, weniger wichtigen Cuproenzymen, um es bei Bedarf für die Synthese von wichtigeren Cuproenzymen, wie beispielsweise der SOD, bereitzustellen (Suzuki et al. 2002).

2.5.2.4 Elimination

Die renale Elimination von Kupfer ist eher gering ausgeprägt, da es als kationisches Spurenelement eine starke Bindung an Proteine aufbaut und damit kaum in der Niere filtriert

werden kann (Kirchgeßner 2014). Laut Suttle (2010) erfolgt die renale Elimination unabhängig vom Ausmaß der Kupferaufnahme oder der Kupferkonzentration im Körper in gleichbleibender Höhe und ist daher zur Regulation der Kupferhomöostase bei Versorgungsschwankungen ungeeignet.

Die Haupteliminationsroute stellt die biliäre Exkretion dar. Über das Chaperon Atox1 wird Cu^+ zunächst auf ATP7B übertragen und gelangt so in das Golgi-Netzwerk des Hepatozyten. Durch anschließende Abschnürung kupferbeladener Vesikel und deren Fusion mit der kanalikulären Membran wird überschüssiges Cu^+ über Exozytose an das Gallengangssystem der Leber abgegeben. Mit der Gallenflüssigkeit gelangt Cu^+ schließlich in den Darm, wo es über Reabsorption entweder recycelt oder mit den Faeces ausgeschieden wird. Spezifische kupferbindende Proteine im Hepatozyten, COMMD1 und XIAP, fungieren wahrscheinlich als Regulatoren des Kupferefflux. Man vermutet, dass bei intrazellulärem Kupferüberschuss durch Interaktion mit COMMD1 die Translokation von ATP7B vom Golgi-Netzwerk an die kanalikuläre Membran des Hepatozyten stattfindet. Dort verankert, kann ATP7B überzählige Cu^+ -Ionen über aktiven Transport in den Gallengang pumpen und fördert somit deren biliäre Exkretion. XIAP wiederum reguliert vermutlich die Ubiquitinierung und proteasomale Degradation von COMMD1 und mindert dadurch den Kupferefflux (Collins et al. 2010, Prohaska 2012). Der genaue molekulare Wirkungsmechanismus von COMMD1 und die Frage nach seiner Rolle bei der Degradation von ATP7B bleiben jedoch ungeklärt (Fedoseienko et al. 2014). Auch gilt es noch zu untersuchen, wie der beschriebene biliäre Eliminationsmechanismus speziell beim Rind reguliert ist. Die hohe Kupferspeicherfähigkeit der Rinderleber lässt vermuten, dass er entweder erst bei einer wesentlich höheren intrazellulären Kupferkonzentration anspringt als in den Hepatozyten von Nicht-Wiederkäuern und/oder der Umfang der Elimination vergleichsweise niedrig ist.

Bei laktierenden Tieren wird ein Großteil des intestinal resorbierten albumin- oder α 2-Makroglobulin-gebundenen Kupfers nicht von der Leber aufgenommen, sondern direkt zur Milchdrüse transportiert. Grund hierfür ist vermutlich eine laktationsbedingte Down-Regulierung von Kupferimportern in der Leber bei gleichzeitiger Up-Regulierung in der Milchdrüse (Moriya et al. 2008). Kelleher und Lönnerdal (2006) beobachteten bei In-vitro-Versuchen an Milchdrüsenepithelzellen von Mäusen eine erhöhte Expression von CTR1 und ATP7A an der basolateralen Membran unter dem Einfluss von Prolaktin. Das Hormon, das beim laktierenden Tier die Milchsekretion anregt, scheint also gleichermaßen auf die Zusammensetzung der Milch bzgl. deren Kupfergehalt Einfluss zu nehmen und diesen zu erhöhen. Mit fortschreitendem Laktationsstadium nimmt der Kupferspiegel in der Milch ab, was Kelleher und Lönnerdal (2006) in ihrem Versuch mit einer verminderten Expression von ATP7B an der luminalen Membran von Drüsenepithelzellen assoziierten. Welche molekularen Mechanismen jedoch genau hinter der Regulation der Kupfersekretion in die Milch stecken,

bleibt, auch speziell beim Rind, noch zu klären. Die Ergebnisse eines Fütterungsversuchs mit Milchkühen von Schwarz und Kirchgeßner (1978), bei dem auch nach hohen nutritiven Kupferzulagen keine Erhöhung der Kupferkonzentration in der Milch festgestellt werden konnte, lässt jedoch darauf schließen, dass die Elimination des Spurenelements über die Milch keine bedeutende Rolle spielt. Abbildung 6 stellt die Dynamik des Kupferstoffwechsels von der Kupferaufnahme über die Verteilung im Organismus bis hin zur Exkretion nochmals graphisch dar.

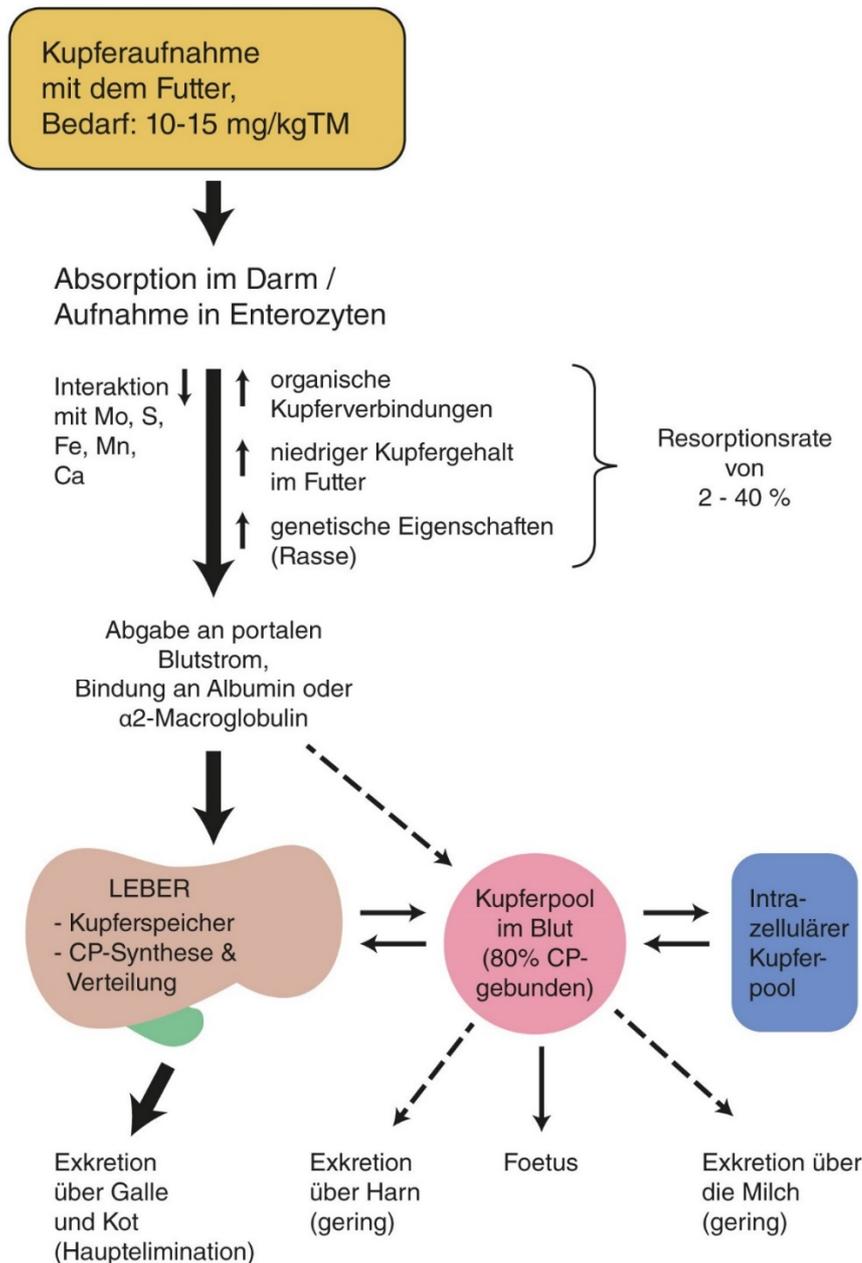


Abbildung 6: Dynamik des Kupferstoffwechsels beim Rind; Quelle: eigene Darstellung

2.6 Bedarf und Versorgungsempfehlungen

Der Kupferbedarf einer Milchkuh kann grundsätzlich auf zwei verschiedene Arten ermittelt werden. Eine Methode stellt die faktorielle Bedarfskalkulation dar. Hierbei wird unter Berücksichtigung verschiedener Einflussfaktoren wie der Leistung, dem Alter und Gewicht des Tieres, der Absorbierbarkeit von Kupfer aus dem Futter, der zu erwartenden Verluste sowie der intermediären Verwertung des Spurenelements die Bedarfsmenge pro Tier und Tag berechnet. Die Ergebnisse, die der US-amerikanische National Research Council (NRC) für Milchvieh kalkuliert hat, sind in Tabelle 6 dargestellt (National Research Council 2001).

Tabelle 6: Kupferbedarf von Milchvieh gemäß faktorieller Bedarfsableitung des NRC (2001)

Tiergruppe	Kupferbedarf (mg/Tag)
Färse 300 kg KGW; 0,7 kg Lebendtagzunahme	72,6
Kalbin 500 kg KGW; 0,5 kg Lebendtagzunahme; 250. Trächtigkeitstag	152
Kuh 650 kg KGW; 40 kg Milch/Tag	313
Kuh 650 kg KGW; 270. Trächtigkeitstag	163,5

KGW=Körpergewicht

Die zweite Methode ist die Ermittlung eines bedarfsgerechten Kupfergehalts im Futtermittel über sog. Dosis-Wirkungs-Versuche. Hierbei wird unter Verabreichung unterschiedlicher Kupferdosen beobachtet, welche Kupferzufuhr optimale Leistung und Tiergesundheit gewährleistet und ab welcher Dosis Mangel- oder Vergiftungssymptome auftreten. Aus den Ergebnissen werden anschließend Versorgungsempfehlungen abgeleitet. In Ermangelung belastbarer experimenteller Daten zu unvermeidbaren Verlusten und intermediärer Verwertung wird diese Methode der faktoriellen Bedarfsableitung meist vorgezogen (Kirchgeßner 2014). Zahlreiche Autoren empfehlen eine Konzentration von 10-15 mg Cu/kg TM im Futtermittel, um den täglichen Bedarf bei Rindern zu decken (Puls 1994, Matzke 1995, Jeroch et al. 1999, Dirksen et al. 2006, Meyer et al. 2014, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft 2017). Bei Kälbern sollen 2-4 mg Cu/kg TM im Milchaustauscher und bei Jungrindern 4-6 mg Cu/kg TM ausreichen. Bei hohem Anteil an Antagonisten im Grundfutter

wird eine Erhöhung auf 20 mg Cu/kg TM als sinnvoll erachtet (Hofmann 2005). Bei diesen Versorgungsempfehlungen sind bereits Sicherheitszuschläge mit eingerechnet, da die Konzentration an bioverfügbarem Kupfer im Grundfutter stark variieren kann und die tatsächlich absorbierbare und im Intermediärstoffwechsel verwertbare Kupfermenge oftmals geringer ausfällt als der analytische Gehalt des Spurenelements im Futter (vgl. Kap. 2.4). Die Kupferkonzentration einer Ration sollte daher immer bis zur Höhe der Versorgungsempfehlung ergänzt werden (Kirchgeßner 2014). Um negative Effekte auf die Absorbierbarkeit zu verhindern, schlägt Puls (1994) zudem vor, den Kupfer-Molybdän-Quotient im Futter bei mindestens 3,0 und idealerweise bei 6,0 bis 10,0 zu halten.

Auch wenn bei den Versorgungsempfehlungen nicht zwischen einzelnen Rinderrassen unterschieden wird, finden sich in der Literatur zahlreiche Hinweise darauf, dass der Kupferbedarf rasseabhängig schwankt. Nach Puls (1994) ist der Bedarf bei Shorthornrindern am geringsten und steigert sich jeweils bei den Rassen Hereford, Charolais, Galloway und Simmental, wobei Simmentaler den vergleichsweise höchsten Bedarf aufweisen sollen. Mullis et al. (2003) stellten ähnliche Vermutungen an. In einem Fütterungsversuch mit Angus- und Simmentaler Rindern beobachteten sie, dass Simmentaler unter gleichen Bedingungen einen deutlich geringeren Kupferspeicher in der Leber entwickelten als Angusrinder. Hieraus leiteten sie ab, dass bei Simmentaler Rindern der tägliche Bedarf höher liegen muss. Nach Puls (1994) ist er sogar doppelt so hoch wie bei Angusrindern. Miranda et al. (2006) verglichen in einer Region Nordspaniens den Kupfergehalt in Lebern geschlachteter Kälber der Rassen Holstein-Friesian und Galizisches Blondvieh und stellten dabei fest, dass Holstein-Friesian-Kälber einen signifikant höheren Leberkupfergehalt aufwiesen als das Galizische Blondvieh. Als vermutliche Ursachen kommen genetisch bedingte Unterschiede im Kupfermetabolismus bzw. der Speicherfähigkeit und Exkretion des Spurenelements bei den einzelnen Rinderrassen in Frage.

Nutzungsrichtung und Leistung haben laut Suttle (2010) wenig zusätzlichen Einfluss auf den Optimalbedarf, was er damit begründet, dass der Kupfergehalt in den Leistungsprodukten vergleichsweise gering ist. Die Richtwerte von Puls (1994) für einen adäquaten Kupfergehalt in Milch (0,05-0,60 mg/l) und Muskel (1,2 – 1,5 mg/kg) bestätigen dies.

Liegt die Versorgung unter- oder oberhalb der empfohlenen Menge, leiden Gesundheit und Leistung des Tieres. Je nach Ausmaß der Fehlversorgung wird zwischen folgenden Bereichen unterschieden (Kirchgeßner 2014):

- **Mangelversorgung:** geringe Spurenelementzufuhr, die sich in klinischen Mangelsymptomen manifestiert
- **Minimalbedarf:** Spurenelementmenge, die zwar keine Mangelsymptomatik hervorruft, aber auch keine maximale Leistung gewährleistet (z.B. fehlende Reserven)

- **Optimalbedarf:** Spurenelementmenge zur Optimierung der Leistung und Reserven
- **Empfehlung:** Optimalbedarf zuzüglich Sicherheitszuschlag für schwankenden Nettobedarf und wechselnde Verwertung des Spurenelements im Futter
- **Bereich pharmakologischer Wirkung:** Spurenelementmenge oberhalb der Empfehlung, die eine Leistungssteigerung bewirkt (für Kupfer bei wachsenden Schweinen bekannt, beim Rind nicht nachgewiesen)
- **Toxischer Bereich:** Spurenelementmenge, die Vergiftungssymptome auslöst, da die vom Tier tolerierbare Menge überschritten wird und sich das Spurenelement nach Erliegen der homöostatischen Kompensationsmechanismen im Körper anreichert

2.7 Kupfermangel

2.7.1 Vorkommen und Bedeutung

Kupfermangel (Hypocuprose) stellt als zweithäufigster Spurenelementmangel bei Rindern ein weltweites Problem dar (Heimberg und Holsteg 2007). Er tritt, wie Veröffentlichungen aus zahlreichen Ländern belegen, vor allem bei Weidetieren auf und kann neben Rindern vor allem auch Schafe betreffen (Suttle 2010). Neal et al. (1931) berichteten bereits im Jahr 1931 über Ursachen und Folgen von Kupferdefizienz bei Rinderbeständen im US-Staat Florida und reklamierten die erste wissenschaftliche Veröffentlichung über das Vorkommen dieser Erkrankung für sich. Auf dem südamerikanischen Kontinent gilt das weite Talbecken des Salado-Flusses in der Provinz von Buenos Aires, Argentinien, als Gebiet für endemischen Kupfermangel bei Millionen von extensiv gehaltenen Rindern (Abba et al. 2000). Über die Bedeutung der enzootischen Ataxie bzw. Swayback-Erkrankung in Island, die hohe Verluste bei Lämmern forderte, berichteten Palsson und Grimsson (1953). Ursächlich war hierbei die Weidehaltung der Mutterschafherde auf küstennahen, seegrasreichen Standorten. Seegras kann, wie mittlerweile bekannt ist, durch seinen hohen Molybdängehalt die Kupferabsorption drastisch reduzieren und Hypocuprose verursachen. Auch aus anderen Teilen der Welt, wie beispielsweise aus Ägypten (Saleh et al. 2008), Neuseeland (Griffiths et al. 2007), Indien (Sharma et al. 2005) und Europa wird vom Auftreten der Hypocuprose bei Rindern und Schafen berichtet. Eine belgische Studie von Guyot et al. (2009) ergab, dass 70 % der untersuchten Fleischrindherden und 48 % der Milchviehherden, die aufgrund erhöhter Mortalitätsraten, häufiger Fruchtbarkeitsstörungen und anderer Erkrankungen als „kranke Herden“ eingestuft wurden, einen mangelhaften Kupferstatus aufwiesen. Enjalbert et al. (2006) untersuchten in einer ähnlich konzipierten Studie die Spurenelementversorgung von über 2000 Rinderbeständen in Belgien und Frankreich. Aus ihren Ergebnissen schlussfolgerten sie, dass insbesondere Kälber von Kupferdefizienz betroffen waren und bewerteten dies als Mitursache

für erhöhte perinatale Mortalitätsraten. In Deutschland gilt gemäß Bauer et al. (2014) vor allem der Norden des Landes aufgrund seiner geologischen Besonderheiten als Kupfermangelregion. Im Jahr 2005 wurden durch den Rindergesundheitsdienst von Nordrhein-Westfalen in 55 Betrieben Blutproben von Hochleistungskühen, Erstkalbinnen und Jungrindern untersucht, wobei die beiden letzteren zuvor überwiegend auf der Weide gehalten wurden (Heimberg und Holsteg 2007). Während der Blutkupferstatus bei über 90 % der Kühe mit zwei oder mehr Laktationen als gut beurteilt wurde, fiel der Blutkupferspiegel bei Erstkalbinnen und Jungrindern signifikant niedriger aus - bei Jungrindern sogar soweit, dass die Versorgung von nahezu 50 % der Tiere als mangelhaft eingestuft wurde. Die Studie ergab deutliche Hinweise darauf, dass die Kupferversorgung alters- und damit v.a. haltungsabhängig ist. Während die Versorgung von aufgestellten Tieren durch Einmischung von Mineralergänzungsfutter in die Totale Mischration (TMR) sehr gut gewährleistet werden kann und die Versorgungsempfehlung hierdurch teils sogar um ein Vielfaches überschritten wird, wie die Studie von Steinhöfel et al. (2013) in sächsischen Milchviehbetrieben zeigte, sind extensiv oder saisonal auf der Weide gehaltene Tiere vom Spurenelementgehalt des Grundfutters abhängig – eine Problematik, deren Bedeutung bereits häufig in landwirtschaftlichen Zeitschriften thematisiert wurde (Top Agrar Online 2006, 2007a, 2007b, Engels 2007, 2014).

2.7.2 Ätiologie und Pathogenese

Ätiologisch gilt es zwischen dem primären und dem sekundären Kupfermangel zu unterscheiden. Ein primärer Kupfermangel liegt vor, wenn die Kupferkonzentration im Futter zu gering ist, um eine bedarfsdeckende Versorgung des Tieres zu gewährleisten. Je nach Bodenbeschaffenheit reichern manche Futterpflanzen nur geringe Kupfermengen an (vgl. Kap. 2.3), was insbesondere während der Weideperiode zu Schwankungen in der Spurenelementversorgung der Tiere führt. Leckeimer mit Mineralfutter, die an betroffenen Standorten aufgestellt werden, um den Spurenelementgehalt des Grundfutters zu ergänzen, werden oftmals nicht in ausreichendem Maße angenommen, um einer Mangelkrankung vorbeugen zu können (Heimberg und Holsteg 2007).

Im Gegensatz hierzu ist bei einem sekundären Kupfermangel zwar die Konzentration im Futter ausreichend. Gleichzeitig ist jedoch der Gehalt an Kupferantagonisten wie Molybdän, Schwefel, Eisen und Calcium so hoch, dass die Absorbierbarkeit von Kupfer drastisch reduziert wird (vgl. Kap. 2.4). Den im Pansen durch Molybdän und Schwefel gebildeten Thiomolybdaten kommt hierbei eine besondere Rolle zu. So gilt es mittlerweile als gesichert, dass sie nicht nur die Kupferabsorption im Darm herabsetzen. Sie können, sofern im Pansen kein freies Kupfer zur Komplexbildung verfügbar ist, auch über die Pansen- oder Darmwand

Tabelle 7: Folgen einer gestörten Cuproenzymaktivität durch Kupfermangel

NAME (Abkürzung)	PATHOLOGIE	LITERATUR
Caeruloplasmin (CP, GPI-CP)	Gestörter Eisenefflux aus der Zelle: → intrazelluläre Eisenakkumulation in Organen wie Leber, Milz, Pankreas und Gehirn → Neuropathie, Hämoglobinsynthese ↓	(Hellman und Gitlin 2002, Collins et al. 2010, Suttle 2010, Mostad und Prohaska 2011)
Cytochrom-C- Oxidase (CCO)	gestörte Zellatmung und ATP-Synthese: → Neuropathie, Kardiomyopathie, Hepatopathie Ein vollständiger Funktionsverlust wirkt sehr wahrscheinlich letal.	(Hamza und Gitlin 2002, Rassow 2016, Prohaska 2012)
(Di-)Aminoxidasen (AO, DAO)	gestörte Freisetzung von Aldehyden, NH ₃ und H ₂ O ₂ , gestörtes Leukozytentracking / Lymphozytenhoming: → Schwächung von Entzündungsreaktionen und der Immunantwort im Allgemeinen	(Brazeau et al. 2004, Stolen et al. 2005, Prohaska 2012)
Dopamin-β- Monooxygenase (DBM)	gestörte Katecholaminbiosynthese: → embryonale Entwicklungsstörungen: letale Wirkung bei Mäuseembryos mit DBM- Gendeletion → Verhaltensstörungen?	(Thomas et al. 1995, Suttle 2010, Prohaska 2012)
Hephaestin (HEP)	gestörter Export intestinal resorbierten Eisens in den portalen Blutstrom: → Eisenretention im Darm, Hämoglobinsynthese ↓	(Kuo et al. 2004, Collins et al. 2010, Prohaska 2012)
Lysyloxidase (LO)	gestörte Bindegewebssynthese: → erhöhte Fragilität von Gefäßwänden, Osteoporose, Arthropathie	(Kagan und Li 2003, Suttle 2010)

Peptidylglycin- α -amidating Monooxygenase (PAM)	gestörte Aktivierung von Peptidhormonen, wie bspw. Calcitonin, Gastrin, Thyrotropin releasing Hormon und Vasopressin	(Bousquet-Moore et al. 2010, Prohaska 2012)
Superoxid-Dismutasen (SOD1, EC-SOD)	→ Oxidativer Stress durch reduzierte Umwandlung von Superoxid O_2^- zu Wasserstoffperoxid H_2O_2 → gestörte Vasotonusregulation (EC-SOD-Mangel)	(Boyne und Arthur 1981, Xin et al. 1991, Fattman et al. 2003, Prohaska 2012)
Thioloxygenase (TO)	gestörte Bildung von Disulfidbrücken in Proteinen: → Verlust von Haar- und Wollstärke	(Suttle 2010)
Tyrosinase (TY)	gestörte Melaninsynthese: → Depigmentierung des Haarkleids	(Suttle 2010, Prohaska 2012)
Zyklopen (Zp)	gestörter Eisenmetabolismus in der Plazenta: → fetale Anämie	(Chen et al. 2010, Prohaska 2012)

Der Aktivitätsverlust der einzelnen Enzyme hängt natürlich vom Ausmaß und der Dauer der Kupfermangelsituation ab. So schreibt Suttle (2010), dass das Enzym CCO in den einzelnen Geweben normalerweise im Überschuss vorhanden ist und daher bei Kupfermangel keine sofortige Beeinträchtigung der Zellatmung eintreten muss. Auch die SOD-Aktivität muss nicht notwendigerweise reduziert sein. Hierbei kommt vermutlich dem kupferbindenden Protein MT eine besondere Rolle zu. Während es bei ausreichender Kupferversorgung im Organismus nur wenig Kupfer bindet, fungiert es bei Hypocuprose in der Leber als eine Art Sammelstelle für Kupferionen: Weniger wichtige Cuproenzyme werden abgebaut, um die dabei anfallenden Kupferionen für die Synthese wichtigerer Cuproenzyme bereitzustellen. MT sequestriert diese Kupferionen vorübergehend und überträgt sie anschließend auf die Chaperone CCS und Cox17. Metallierung und Aktivität der Cuproenzyme SOD-1 und CCO bleiben dadurch auch im Falle schweren Kupfermangels zunächst erhalten (Suzuki et al. 2002).

2.7.3 Klinik

Das klinische Bild eines Rindes mit manifester Hypocuprose umfasst, abhängig vom Aktivitätsverlust der obengenannten Cuproenzyme, folgende Symptomatik:

Fellveränderungen

Verändertes Fellwachstum in Verbindung mit spröder, gewellter Haarstruktur gilt als eines der ersten äußeren Anzeichen von Kupfermangel. Hinzu kommt der Verlust der Fellfarbe (Achromotrichie) - bei Rinderrassen mit pigmentiertem Fell das vermutlich augenscheinlichste Symptom. Durch Ergrauen von schwarzem oder Erbleichen von braunem Haar kann es insbesondere rund um die Augen zur Bildung einer sogenannten Kupferbrille kommen (Heimberg und Holsteg 2007, Suttle 2010).

Lahmheit

Stellungsanomalien der Extremitäten und abnorme Gangarten bis hin zu schmerzhaften Lahmheiten entstehen bei schweren Hypocuprosen als Folge von Knochenanomalien und Bindegewebsschwächen in Sehnen und Bändern. Bei im Wachstum befindlichen Jungtieren ist insbesondere die enchondrale Ossifikation gestört. Osteochondrose, rachitisähnliches ungleichmäßiges Knochenwachstum (Suttle 2010) und druckempfindliche Auftreibungen im Bereich der distalen Epiphysenfuge von Metacarpus und Metatarsus (Smith et al. 1975) können als Folgeschäden auftreten. Das Ausmaß der morphologischen Knochenanomalie ist hierbei abhängig von Faktoren wie der Wachstumsrate und dem Körpergewicht zum Zeitpunkt des Kupfermangels. Bei adulten Rindern kann Osteoporose mit erhöhter Prädisposition für spontane Knochenfrakturen beobachtet werden (Suttle 2010). So ergaben die Untersuchungen von Dittmer et al. (2016) zur Pathophysiologie von Humerusfrakturen bei Erstkalbinnen, dass ein Teil der betroffenen Tiere zeitgleich mangelhafte Kupferkonzentrationen in der Leber aufwies.

Kardiovaskuläre Störungen und Anämie

Bennets und Hall (1939) berichteten bereits im Jahr 1939 von plötzlichen Todesfällen durch Herzversagen bei australischen Milchkühen, die auf kupferarmem Grasland gehalten wurden und einen niedrigen Kupferstatus aufwiesen. Da die Kühe, zumeist beim Gang zum Melken oder zurück zur Weide, scheinbar unvermittelt in sich zusammenbrachen und starben, erhielt die Erkrankung den Namen „Falling-Disease“. Sie erreichte saisonal Mortalitätsraten von bis zu 40 % einer Herde (Bennets und Hall 1939, zitiert nach Klevay 2000 und Suttle 2010). Während Bennets und Hall (1939) es damals noch für unwahrscheinlich hielten, dass der Kupfermangel der Tiere die Ursache für das Herzversagen war, ist heute bekannt, dass ein Aktivitätsverlust wichtiger kardialer Cuproenzyme wie LO, DBM, CCO, PAM oder SOD1 die

HerzKreislauf funktion in hohem Maße schwächen kann. Die möglichen Störungen reichen von Herzrhythmusstörungen, Hypertonie bis hin zu Kardiomegalie, Kardiomyopathie sowie zu Herzkammer- und Gefäßrupturen (Mills 1987, Prohaska 2012).

Auch die mit schwerer chronischer Hypocuprose einhergehende Anämie fördert die Herzkreislaufinsuffizienz und mindert die Leistung des Tieres. Betroffene Rinder leiden an einer hypochromen, makrozytären Anämie (Suttle 2010), die auf der komplexen Verwobenheit von Kupfer- und Eisenstoffwechsel beruht. Man vermutet, dass die Hämoglobinsynthese kupferabhängig ist. Die genauen Mechanismen sind jedoch ungeklärt (Collins et al. 2010).

Erhöhte Disposition für Infektionserkrankungen

Schwere Kupfermangelkrankungen gehen häufig mit einem erhöhten Infektionsrisiko einher (Stabel et al. 1993, Prohaska 2012). Die zugrunde liegenden Mechanismen werden in der Literatur kontrovers diskutiert, wobei es als sehr wahrscheinlich gilt, dass durch Hypocuprose die unspezifische Immunantwort geschwächt wird (Minatel und Carfagnini 2000). So erleiden beispielsweise Makrophagen (Saker et al. 1998) und neutrophile Granulozyten (Spears 2000) einen Verlust ihrer antimikrobiellen Aktivität, was vermutlich mit dem Cuproenzym SOD1 zusammenhängt (Xin et al. 1991). Bei schwerer Kupferdefizienz ist die Aktivität von SOD1 im Zytosol der Immunzellen reduziert. Hierdurch können sich Superoxid-Radikale, die zuvor im Phagolysosom gebildet wurden, anreichern und durch oxidative Schädigung einen Funktionsverlust der Immunzelle hervorrufen. Gleichzeitig wird bei schwacher SOD1-Aktivität weniger H_2O_2 gebildet, welches im Phagolysosom in Hydroxid-Ionen und freie Hydroxyl-Radikale gespalten wird. Letztere dienen wie Superoxid dem respiratorischen Burst. Ist ihre Konzentration erniedrigt, wirkt sich dies negativ auf die Zerstörung des phagozytierten Erregers aus (Jones und Suttle 1981, zitiert nach Minatel und Carfagnini 2000). White et al. (2009) vermuten darüber hinaus, dass für die Freisetzung der Hydroxyl-Radikale im Phagolysosom Kupfer als Katalysator notwendig ist – ein weiterer Grund für die Schwächung des respiratorischen Burst bei Kupfermangel (vgl. Abb. 4 Makrophage und Kap. 2.5.2.2).

Neben reduzierter phagozytärer Aktivität von Neutrophilen oder Makrophagen kann bei Hypocuprose auch die Produktion von Zytokinen verändert sein – Stoffen, die an der Steuerung der Immunantwort maßgeblich beteiligt sind. So zeigte die Studie von Torre et al. (1995), dass mononukleäre Zellen, die aus Blutproben von kupferdefizienten Rindern isoliert wurden, *in vitro* signifikant weniger Interferone und Interleukin 2 produzierten als Zellen der kupfersupplementierten Kontrollgruppe. Im Versuch von Gengelbach et al. (1997) wiesen Kälber mit adäquater Kupferversorgung nach einer experimentellen Infektion mit Bovinen Rhinotracheitis Viren einen höheren Plasmaspiegel an Tumornekrosefaktor (TNF) auf als Kälber mit sekundärem Kupfermangel.

Scaletti et al. (2003) beurteilten den Effekt der Kupferversorgung auf den Verlauf einer experimentellen E.coli-Mastitis bei erstlaktierenden Holstein-Friesian Kühen. Die Milchproben der Kühe, die eine Ration mit 20 mg Cu/kg TM von Tag 60 a. p. bis Tag 42 p. p. erhalten hatten, wiesen weniger somatische Zellen und E.coli- Bakterien auf als die von Tieren der Kontrollgruppe, deren Ration nur 6,5 mg Cu/kg TM enthielt. Die Dauer der Mastitis war bei beiden Gruppen gleich. Jedoch zeigte die erste Gruppe schwächere klinische Anzeichen, was die Vermutung zuließ, dass sich eine adäquate Kupferversorgung mildernd auf den Krankheitsverlauf auswirkte.

Fruchtbarkeitsstörungen

Fruchtbarkeitsstörungen stellen insbesondere bei Milchvieh ein komplexes, multifaktorielles Problem dar, an dem auch ein mangelhafter Kupferstatus beteiligt sein kann. So fördert Hypocuprose bei betroffenen Herden das Auftreten von Stillbrunst, Gelbkörperschwäche, Aborten und embryonalem Fruchttod. Von chronischem Kupfermangel betroffene Herden fallen insbesondere durch einen höheren Besamungsindex auf (Hofmann 2005, Heimberg und Holsteg 2007).

Wachstums- und Leistungsdepression bei Kälbern

In einem Fütterungsversuch beobachteten Suttle und Angus (1976) bei Jersey-Kälbern, die ab dem dritten Lebenstag Milchaustauscher mit lediglich 0,8 mg Cu/kg TM und ab der sechsten Lebenswoche Futter mit 1,3 mg Cu/kg TM erhalten hatten, deutliche Wachstumsverzögerungen (ca. 30 %) im Vergleich zur Kontrollgruppe, deren Ration nach dem Absetzen mit 7 mg Cu/kg TM ergänzt worden war. Während bei dieser Studie die Ausbildung eines primären Kupfermangels als Ursache für die niedrigen Lebendtagzunahmen angesehen wurde, steht nach Ansicht anderer Autoren für die Wachstumsverzögerung vielmehr die Wirkung von Kupferantagonisten wie Molybdän (Gengelbach et al. 1994) oder Mangan (Hansen et al. 2009) im Vordergrund. Die zugrunde liegenden Mechanismen der Wachstumsverzögerung sind noch nicht hinreichend geklärt. Jedoch kommen neben einer erniedrigten Trockenmasseaufnahme (Hansen et al. 2009) auch organische Ursachen wie Herzkreislaufinsuffizienz oder Anämie infrage, welche bei kupferdefizienten Kälber auftreten und die körperliche Entwicklung beeinträchtigen können (Suttle und Angus 1976). In schweren Fällen spricht man vom sog. Pine-Syndrom (=Dahinsiechen). Betroffene Kälber verenden innerhalb von vier bis fünf Monaten in kachektischem Zustand (Rosenberger et al. 1994).

Neurologische Störungen/ Ataxie

Zentralnervöse Ausfallerscheinungen durch Hypocuprose treten in erster Linie bei Schaf- und Ziegenlämmern infolge prä- und postnataler Entwicklungsstörungen der weißen Substanz in

Großhirn und Rückenmark durch Demyelinisierungsprozesse auf (Behrens et al. 2009). Eine vergleichbare enzootische Ataxie bei Kälbern gilt als sehr selten (Hofmann 2005). Betroffene Tiere zeigen nach körperlicher Anstrengung wie bspw. nach dem Treiben unkoordinierte Bewegungen der Hintergliedmaßen, fallen um oder verharren in hundesitziger Stellung bis sich nach einiger Ruhezeit das Bewegungsmuster wieder normalisiert (Rosenberger et al. 1994).

2.7.4 Diagnostik

Da das klinische Bild eines an Hypocuprose erkrankten Rindes relativ unspezifisch sein kann, sind zum Ausschluss von Differentialdiagnosen weiterführende Untersuchungen notwendig. Die Diagnostik einer Kupfermangelkrankung gilt als komplex; die Eignung der verfügbaren Untersuchungsmedien wird kontrovers diskutiert. Einen Goldstandard zur Evaluierung des Kupferstatus einer Herde oder eines Einzeltiers gibt es bislang nicht (Laven et al. 2007). Oftmals ist daher die Kombination einzelner Tests zur Diagnosesicherung einer Hypocuprose notwendig.

2.7.4.1 Untersuchungsmaterial

- **Bodenproben**

Bodenproben können hilfreich sein, um eine Kupfermangelregion zu identifizieren. Da die Aufnahme von Kupfer durch Futterpflanzen jedoch von vielen Faktoren beeinflusst wird, kann auch bei hohen Bodenkupferwerten nicht automatisch auf eine adäquate Anreicherung in den Futterpflanzen geschlossen werden (Guyot et al. 2009).

- **Futterproben und Tränkwasser**

Nach eingehender Fütterungsanamnese kann im Verdachtsfall eine Futtermittelanalyse durchgeführt werden. Kupfergehalte im Futter bzw. der TMR, die deutlich unterhalb der Versorgungsempfehlung von 10 mg/kg TM liegen, können bereits einen klaren Hinweis auf einen primären Kupfermangel bei Rindern liefern. Um einen sekundären Kupfermangel zu diagnostizieren, muss jedoch neben dem Kupfergehalt auch der der Antagonisten, allen voran Molybdän und Schwefel, im Futter überprüft werden (Guyot et al. 2009). So kann ein Kupfer-Molybdän-Quotient von weniger als 3,0 (Puls 1994) auf einen sekundären Kupfermangel hinweisen. Da im Tränkwasser ebenfalls Kupferantagonisten wie Eisen oder Schwefel enthalten sein können, sollten im Verdachtsfall auch hiervon Proben analysiert werden.

- **Blutproben**

Blutprobenanalysen stellen die bislang meistgenutzte Methode dar, um den Kupferstatus einer Herde oder eines Einzeltiers zu überprüfen. Während Vollblut üblicherweise nicht zu diagnostischen Zwecken herangezogen wird (Suttle 2010), gelten sowohl Plasma als auch Serumproben als grundsätzlich geeignet, um einen Mangel anzuzeigen (Bauer et al. 2014). Es muss jedoch bedacht werden, dass Kupfer im Blut nicht als freies Ion, sondern proteingebunden transportiert wird. Bei der Blutgerinnung wird ein Teil dieser Proteine im Koagulat gebunden, weshalb die Kupferkonzentration im Serum signifikant niedriger ausfällt als im Plasma (Laven und Livesey 2006, Heggemann 2013). Laven et al. (2007) halten aufgrund der Variabilität dieses gerinnungsbedingten Kupferverlustes Plasmaproben für besser geeignet als Serumproben. Plasma-Kupfer-Analysen liefern ihren Studien zufolge die genaueren Ergebnisse und stellen insbesondere bei der Erkennung einer marginalen Hypocuprose die sensitivere Methode dar. Unabhängig von der Art der Blutprobe gilt es bei der Interpretation der Ergebnisse zu beachten, dass Albumin und Caeruloplasmin neben ihrer Funktion als Kupfertransporter bzw. Cuproenzym auch zu den Akute-Phase-Proteinen gehören. Bei schweren Infektionserkrankungen kann die Serumkonzentration von Caeruloplasmin beispielsweise um ein Vielfaches ansteigen und so einen möglichen Kupfermangel des Tieres verschleiern. Negative Akute-Phase-Proteine, zu denen auch Albumin gehört, sinken hingegen in Belastungssituationen und mit ihnen auch die Serumkonzentration des gebundenen Spurenelements (Bauer et al. 2014). Suttle (1991) gibt außerdem zu bedenken, dass Kupfer bei einer Thiomolybdatvergiftung im Blut in Kupfer-Thiomolybdat-Protein-Komplexe eingebunden sein kann. Das Spurenelement ist hierbei in scheinbar ausreichender Serumkonzentration vorhanden, für den Organismus jedoch nicht verfügbar. Gleichzeitig können Rinder einen niedrigen Plasmakupfergehalt aufweisen, während ihr Kupferspeicher in der Leber in adäquater Konzentration vorliegt (Mulryan und Mason 1992). Im Zweifelsfall ist daher die Kupferkonzentration in der Leber oder auch im Deckhaar zu untersuchen.

- **Leberbioptate**

Spolders et al. (2008) stellten in einem 16-wöchigen Fütterungsversuch mit zwanzig Milchkühen eine signifikante Korrelation zwischen der Kupferaufnahme und der Kupferkonzentration in der Leber fest. Während Blutproben eher Momentaufnahmen des Kupferstatus darstellen, spiegelt die Leber als Speicherorgan die Spurenelementversorgung über einen längeren Zeitraum wider. Die Untersuchung eines Leberbiopats dient daher der Absicherung einer Verdachtsdiagnose durch die Blutkupferanalyse (Bauer et al. 2014) und ist nach Meinung einiger Autoren ohnehin die Methode der Wahl, um eine Mangelversorgung aufzudecken (Maas 2007, Spolders et al.

2008). Von Nachteil ist dabei jedoch die aufwändige Probenentnahme, weshalb gerade bei großen Herden lediglich stichprobenartige Einzeltieruntersuchungen stattfinden können.

- **Haarproben**

Auch die Kupferwerte im Deckhaar spiegeln die Spurenelementversorgung über einen längeren Zeitraum wider und können zur Abklärung niedriger Blutkupferwerte ergänzend untersucht werden. Von Vorteil sind hierbei die problemlose Probennahme, die gute Haltbarkeit und die Lagerfähigkeit der Probe. Die Probenaufbereitung ist allerdings relativ aufwändig. Da dem Haar anhaftende, teilweise in einen Fettfilm eingebettete Verunreinigungen das Ergebnis stark verfälschen können, muss vor der Analyse eine sorgfältige Reinigung mittels Ätherextraktion und Spülung mit destilliertem Wasser erfolgen (Bauer et al. 2014). Bei der Interpretation der Ergebnisse kommt erschwerend hinzu, dass der Spurenelementgehalt im Haar zusätzlich von zahlreichen endogenen Faktoren wie der Haarart, dem Haaralter und dem Trächtigkeitsstadium des Tiers sowie von der Schnitttiefe bei der Probennahme beeinflusst wird (Anke und Risch 1979). Eine mangelbedingte Abnahme der Spurenelementkonzentration im Haar kann zudem unterschiedlich schnell oder träge erfolgen, weshalb eine Haarprobenanalyse nur als zusätzliches Diagnostikum und nicht als alleinige Untersuchungsmethode des Kupferstatus angeraten wird (Spolders et al. 2008).

- **Alternative Methoden: Untersuchung von Biomarkern**

Alternativ zu den bereits genannten Methoden können bestimmte Biomarker bzw. Enzymaktivitäten zur Analyse des Kupferstatus untersucht werden. Nach Suttle (2010) liegt dann eine Hypocuprose vor, wenn der Kupferspeicher in der Leber und letztendlich der Gesamtkupfergehalt im Organismus in dem Maße gesunken sind, dass die Synthese kupferabhängiger Enzyme nur noch eingeschränkt möglich ist. Es liegt daher nahe, zur Beurteilung des Kupferstatus eines Tiers die Aktivität ebendieser Enzyme im Körper zu messen.

Im Probenmedium Blut ist Kupfer fester Bestandteil des Cuproenzym CP. Ca. 80 % des Blutkupfers ist CP-gebunden (Laven et al. 2007), weshalb in der Literatur die Frage diskutiert wird, ob die Messung der Enzymaktivität von CP ein geeigneter Ersatz für die Messung des Plasma- oder Serumkupfers sein könnte. Hierbei muss bedacht werden, dass die Serum-CP-Aktivität signifikant niedriger ist als die Plasma-CP-Aktivität, wie Paynter (1982) nachweisen konnte. Grund hierfür ist höchstwahrscheinlich die Zugehörigkeit von CP zu ebensolchen Proteinen, die während der Blutgerinnung teilweise im Koagulat gebunden und dadurch bei der Messung im Serum nicht vollständig erfasst

werden können. Da der Umfang der Bindung und damit des Verlusts zwischen 13 % und 40 % in Poolproben und bei Einzeltierproben sogar zwischen 10 % und 65 % variieren kann (Paynter 1982), ist fraglich, ob eine Serum-CP-Analyse überhaupt zuverlässige Werte generiert und allgemeingültige Referenzwerte definiert werden können (Laven et al. 2007). Zudem kann die CP-Aktivität im Rahmen von Akute-Phase-Reaktionen oder unter Östrogeneinwirkung im Blut ansteigen und falsche Rückschlüsse auf eine bessere Kupferversorgung generieren (Prohaska 2012). Im Gegensatz hierzu reagiert der Gesamtkupfergehalt im Plasma weniger empfindlich auf Entzündungsreaktionen, weshalb der diagnostische Mehrwert einer CP-Messung gegenüber einer Plasma-Kupfer-Messung in Frage gestellt wird (Laven et al. 2007). Die Bildung eines Quotienten aus der CP-Aktivität und der Blutkupferkonzentration soll derartige CP-Schwankungen relativieren (Bauer et al. 2014). Gleichzeitig soll der Quotient der Diagnose einer Thiomolybdatvergiftung dienen und bei niedrigen Werten das Ausmaß der CP-Inaktivierung widerspiegeln. Die kontroverse Diskussion um den diagnostischen Nutzen und die Verlässlichkeit dieser Methode zeigt jedoch, dass für die Etablierung des Quotienten noch erheblicher Forschungsbedarf besteht (Telfer et al. 2006, Laven et al. 2007, Suttle 2008).

Die Aktivitätsmessung anderer Cuproenzyme wie der Plasma-DAO (Legleiter und Spears 2007) und der SOD1 in Erythrozyten oder Neutrophilen (Xin et al. 1991, Ward und Spears 1997, Suttle 2010) sowie die Bestimmung der mRNA von CCS in mononukleären Zellen des peripheren Blutstroms (Suttle 2010; Prohaska 2012) wurden ebenfalls auf ihre jeweilige Eignung zur Bestimmung des Kupferstatus untersucht. Auch wenn Hepburn et al. (2009) die Messung der SOD1-Aktivität als geeignetes Diagnostikum für den Kupfermangel beim Rind beschrieben haben, konnte sich bislang keine der genannten Methoden als konventionelles Diagnostikum in der Rinderpraxis durchsetzen (Suttle 2010).

2.7.4.2 Organisation der Probennahme

Handelt es sich nicht um eine Einzeltieruntersuchung, sondern um die Ermittlung des Kupferstatus einer Herde, kommt es auf die Organisation der Probennahme an, um repräsentative Ergebnisse zu erhalten. An erster Stelle steht hierbei die Auswahl der Probanden. Da Erkrankungen Einfluss auf den Kupfergehalt der Probe nehmen und die Ergebnisse beispielsweise durch Akute-Phase-Reaktionen verzerren können, sollten nur klinisch gesunde Tiere berücksichtigt werden. Diese Tiere sind in verschiedene Leistungsgruppen einzuteilen. Bei Milchviehhaltungen empfiehlt sich die Zuordnung zur Gruppe der Trockensteher (8 bis 3 Wochen a. p.), Vorbereiter (3 bis 0 Wochen a. p.), Frischkalbinnen (0 bis 1 Woche p. p.), Kühe zu Beginn der Früh-laktation (3 bis 5 Wochen p. p.) und Kühe am Ende der Früh-laktation (15 bis 18 Wochen p. p.). Diese fünf Leistungsgruppen

decken die Periode mit der höchsten metabolischen Belastung der Tiere von der Trockenstehphase bis zum Ende der Früh lactation ab – eine Zeit, in der die meisten Rationswechsel stattfinden und somit die Stoffwechselfparameter großen Schwankungen unterworfen sind. Im Stichprobenverfahren sollten nun aus jeder Gruppe mindestens sieben, für eine höhere Repräsentativität jedoch vorzugsweise zehn Kühe ausgewählt und beprobt werden. Zur Kostenreduktion wird auch empfohlen, die Proben innerhalb einer Gruppe zu poolen (Staufenbiel et al. 2004).

2.7.4.3 Analytische Methoden

2.7.4.3.1 Atomspektroskopie

Für die Bestimmung von Kupfer in biologischem Material wird die Atomspektroskopie häufig als Methode der Wahl bezeichnet. Sie umfasst alle spektroskopischen Verfahren, die der qualitativen und quantitativen Bestimmung von chemischen Elementen dienen und auf Absorption, Emission oder Fluoreszenz von Atomen beruhen (Latscha et al. 2004). Man unterscheidet zwischen folgenden Methoden:

- **Atomemissionsspektroskopie mit Flammen (AES)**

Die AES oder auch Flammenphotometrie basiert auf einer Emissionsspektralanalyse und gehört zu den meist genutzten Methoden zur Bestimmung von Elementen. Das Probenmaterial wird als Lösung in eine Flamme eingesprüht. Den zu bestimmenden Atomen wird hierbei Wärmeenergie zugeführt, die dafür sorgt, dass Ihre Valenzelektronen kurzfristig auf ein höheres Energieniveau angehoben werden. Beim Rückfall in den Grundzustand geben sie die zugeführte Energie in Form von Lichtenergie ab und emittieren ein für das jeweilige Element spezifisches Spektrum, das photoelektrisch gemessen werden kann. Die quantitative Messung des Elementgehalts in der Probe erfolgt anschließend mit einer Eichkurve (Latscha et al. 2004).

- **Optische Emissions-Spektroskopie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES)**

Statt durch Flammen werden die Atome hierbei durch sog. induktiv gekoppeltes Plasma angeregt. Die Probenlösung wird zunächst in Argongas zerstäubt und anschließend in sehr heißes Argonplasma geblasen (Temperatur = 6000 bis 10 000 K). Freie Atome und Ionen werden dabei zu optischer Emission angeregt, was wiederum eine sowohl qualitative als auch quantitative Analyse des zu untersuchenden Elements ermöglicht (Latscha et al. 2004).

- **Atomabsorptionsspektroskopie (AAS)**

Das Messverfahren der AAS beruht auf Lichtabsorption durch Atome im Dampfungszustand und der Tatsache, dass jedes Element ein charakteristisches Strahlenspektrum absorbieren oder emittieren kann. Die Probenlösung wird zunächst atomisiert, d.h. ihre Bestandteile werden durch ein Zerstäubungssystem beispielsweise in eine Flamme eingebracht und so in einzelne Atome überführt. Durch diese Atomwolke wird nun ein Lichtstrahl mit einer bestimmten Wellenlänge und Intensität geschickt. Der Lichtstrahl stammt von einer Hohlkathodenlampe, deren Kathode aus dem Element besteht, das untersucht werden soll. Hierdurch ist es möglich, genau das Linienspektrum auszustrahlen, das für das zu bestimmende Element charakteristisch ist und daher von dessen Atomen in der Wolke absorbiert werden kann. Durch die Absorption der Strahlung wird die Intensität des Lichtstrahls geschwächt. Das Ausmaß der Schwächung ist messbar und wird über eine Eichkurve ausgewertet. Je größer die Schwächung der Lichtintensität, desto höher ist die Konzentration des zu untersuchenden Elements in der atomisierten Probenlösung (Latscha et al. 2004).

2.7.4.3.2 Massenspektrometrie

Bei der Massenspektrometrie wird im Gegensatz zu den bisherigen Methoden kein von Atomen absorbiertes oder emittiertes Licht gemessen, sondern das Auftreffen von Ionen bzw. der Massen auf einem Detektor. Die zu analysierende Probe wird zunächst in gasförmigem Zustand im Hochvakuum ionisiert und in Molekülfragmente zerlegt. Die geladenen Partikel werden nun in einem elektrischen Feld beschleunigt, in einem Magnetfeld nach ihrem Masse-Ladungs-Verhältnis (m/e -Wert) aufgetrennt und von einem Detektor aufgefangen, der die Anzahl der Ionen pro Masse aufzeichnet und damit eine qualitative und quantitative Analyse des Elementgehalts in der Probe ermöglicht (Latscha et al. 2004). Diese Methode eignet sich insbesondere für Organanalysen (Bauer et al. 2014).

2.7.4.4 Referenzwerte

Zur Beurteilung der Laborergebnisse folgt nach Probennahme und –analyse der Vergleich mit den Referenzwerten für eine physiologische Kupferkonzentration. Referenzwerte sind allgemein definiert als quantitative Parameter, die unter exakt definierten Bedingungen von einer ausreichend charakterisierten, gesunden Gruppe von Probanden gewonnen und anschließend nach einer bestimmten mathematisch-statistischen Methode berechnet wurden (Kraft und Dürr 2005, Bauer et al. 2014). Tabelle 8 stellt eine Übersicht über Referenzbereiche für die Kupferkonzentration in verschiedenen Untersuchungsmedien dar. Die Angaben

stammen aus einschlägigen Lehrbüchern sowie wissenschaftlichen Publikationen. Die mehr oder minder starken Variationen zwischen den Referenzbereichen der einzelnen Autoren lassen sich vermutlich durch Unterschiede in den Analysemethoden und Referenzpopulationen (z.B. Rasse, Geschlecht, Alter, Haltung, Fütterung der Probanden etc.) erklären, die zur Gewinnung der Laborwerte herangezogen wurden. Ein Referenzintervall ist jedoch definitionsgemäß nur für Werte gültig, die nach der gleichen Methodik gewonnen wurden. Genaue Angaben zur Methodik fehlen jedoch häufig in der Literatur (Lumsden 1998, Bauer et al. 2014). Für die Beurteilung der eigenen Ergebnisse ist es daher ratsam, die zur Verfügung stehenden Referenzbereiche zwar als klare Orientierungshilfen zu nutzen, in die Interpretation der Ergebnisse aber auch andere Faktoren, wie Alter, Nutzungsrichtung sowie rasse- und geschlechtsspezifische Besonderheiten der Probanden mit einfließen zu lassen, da diese, wie die Studie von Miranda et al. (2006) verdeutlicht, erheblichen Einfluss auf die Kupferverwertung und somit die Laborergebnisse der Probanden haben können.

Tabelle 8: Referenzbereiche für eine adäquate Kupferkonzentration

Blut		Serum - CP	Leber (mg/kg TM)	Deckhaar (mg/kg TM)	Großhirn** (mg/kg TM)	Quelle		
Plasma ($\mu\text{mol/l}$)	Serum ($\mu\text{g/l}$)							
8-32,8	510-2089*	8-32,8	510-2089*	> 35	> 0,1	> 9	(Bauer et al. 2014)	
	639 - 1326		454-1100	106-901	6,9-39,9		(Heggemann 2013)	
7,9-23,6	503-1503*	7,9-23,6	503-1503*	20-150			(Kaneko et al. 2008)	
		12,56-20,41*	800-1300	100-300			(Maas 2007)	
12-20	800-1200			>40 U/l	> 30-350	6,6-10,4	(Dirksen et al. 2006)	
13-19	828-1210*				> 35	> 6	> 9	(Hofmann 2005)
		12,6-23,6	802-1503*	130-250 mg/l	25-100	6,7-32	9-18	(Puls 1994)
					100 - > 200	6,6-10,4		(Rosenberger et al. 1994)
		16-32	1019-2038*					(Schmidl und Forstner 1985)
					35-150	> 6		(Anke und Risch1979)

* Umrechnung der Einheit $\mu\text{g/l}$ in die SI-Einheit $\mu\text{mol/l}$ erfolgte durch Multiplikation mit dem Faktor 0,0157 und in umgekehrter Richtung durch Division (IDEXX Labor 2017); ** bei Untersuchung post mortem

2.7.5 Therapie und Prophylaxe

Zur Therapie von primärem Kupfermangel werden über einige Wochen hinweg tägliche orale Gaben von 1 g Cu-Sulfat bei Jungrindern und 2 g Cu-Sulfat bei adulten Tieren empfohlen. Je nach Schweregrad ist aber auch eine wöchentliche Verabreichung von 2 g Cu-Sulfat beim Jungrind bzw. 4 g Cu-Sulfat beim erwachsenen Tier oder das Anbieten von Salzlecksteinen mit 1-5 % Cu-Sulfat möglich. Die Beimischung von Kupfer in das Tränkwasser (2-3 mg Cu/l) ist technisch schwieriger umsetzbar und garantiert, ähnlich wie der Salzleckstein, keine ausreichende Aufnahme durch das betroffene Tier. Kupferinjektionslösungen (z.B. Cu-Ca-Versenat, Cu-DEA-Oxychinolinsulfonat, Cu-Glycinat), die subkutan verabreicht werden können und damit mögliche antagonistische Wechselwirkungen im Magen-Darm-Trakt umgehen, werden in angelsächsischen Ländern erfolgreich angewandt, sind in Deutschland jedoch nicht zugelassen (Dirksen et al. 2006, Engels 2014, Vetidata 2020). Alternativ werden kombinierte Spurenelement-Präparate angeboten, die als Langzeit-Bolus im Netzmagen verbleiben und über 4,5 bis 6 Monate kontinuierlich freies Kupfer abgeben sollen (Top Agrar Online 2006, Engels 2014, Vetidata 2020).

Bei sekundärem Kupfermangel richten sich die notwendigen Maßnahmen nach den im Futter oder Tränkwasser diagnostizierten Antagonisten. Durch Einbau geeigneter Filter ist es beispielsweise möglich, Bohrbrunnenwasser zu entschwefeln (Dirksen et al. 2006). Wird ein hoher Molybdängehalt im Grundfutter festgestellt, kann die antagonistische Wirkung durch eine entsprechende Erhöhung der Kupferzufuhr ausgeglichen werden (Ward und Spears 1997). Für die Supplementierung der Ration stehen grundsätzlich zwei Arten von Mineralergänzungsfutter zur Verfügung: Mischungen mit anorganisch gebundenem Kupfer wie Kupfersulfat und Mischungen mit organisch gebundenem Kupfer wie beispielsweise Cu-Glycinat oder Cu-Methionat. Letztere sollen komplexresistenter sein und auch in Anwesenheit antagonistisch wirksamer Futtermittelkomponenten eine gute Bioverfügbarkeit aufweisen. Ob hierdurch eine Reduktion der in der Bedarfsempfehlung inbegriffenen Sicherheitszuschläge möglich ist, bleibt allerdings noch zu klären (Dirksen et al. 2006, Männer 2009). Diese können insbesondere notwendig sein, um im Pansen genügend freies Kupfer für die Bindung von Thiomolybdaten bereitzustellen und damit deren Absorption zu verhindern. Bereits bestehende Thiomolybdatergiftungen können hierdurch rückgängig gemacht werden. Nach Ende der Exposition klingen die Symptome langsam ab (Gould und Kendall 2011).

Um der Manifestierung eines primären oder sekundären Kupfermangels prophylaktisch entgegenzuwirken, ist ein geeignetes Fütterungsmanagement mit ergänzenden Mineralfuttergaben notwendig. In der Milchviehfütterung ist davon auszugehen, dass die Kupferversorgung über das Einzelfuttermittel die Bedarfsempfehlung bei üblichen Rationen

durchschnittlich um 20 % unterschreitet. Zur Realisierung der Bedarfsdeckung werden daher folgende Schritte empfohlen (Männer 2009):

1. Ermittlung des Spurenelementgehalts in den Rationskomponenten (Grund- und Kraftfutter), idealerweise mittels betriebsspezifischer Futterprobenanalyse
2. Kalkulation der zu supplementierenden Mineralstoffmenge, wenn der Gesamtkupfergehalt der Rationskomponenten die Bedarfsempfehlung nicht erreicht:
Bedarfsempfehlung – Aufnahme über die Rationskomponenten = erforderliche Ergänzung
3. Auswahl des geeigneten Mineralfutters (anorganisch oder organisch gebundenes Kupfer; hoch, mittel oder niedrig konzentriert)
4. Berechnung der Menge an Mineralfutter, die je nach dessen Kupferkonzentration notwendig ist, um die erforderliche Ergänzung in der Gesamtration zu leisten
5. Controlling

Bei der Höhe der Bedarfsempfehlung (vgl. Kap. 2.6), auf der die obige Kalkulation fußt, finden sich in der Literatur für adulte Rinder Angaben von 10 – 15 mg Cu/kg TM, bei höherem Gehalt an Antagonisten im Futtermittel auch bis zu 20 mg Cu/kg TM. Puls (1994) schlägt dagegen einen Cu : Mo - Quotienten von 3,0 bis idealerweise 10,0 vor. Bei hohen Molybdängehalten in den Futterkomponenten ist demnach eine Kupfersupplementierung vorgesehen, die die Gehalte in der Gesamtration auf mindestens das Dreifache der Molybdänkonzentration erhöht. Da Spurenelemente jedoch rein rechtlich als Futterzusatzstoffe definiert sind, gilt es im Rahmen der Rationsberechnung die Höchstgehalte aus Tabelle 9 im Milchaustauscher oder im Alleinfuttermittel (= Gesamtration bzw. TMR inkl. Mineralfutter) zu berücksichtigen:

Tabelle 9: Gesetzliche Rahmenbedingungen für die Fütterung des Spurenelements Kupfer bei Rindern gemäß VO (EG) 1334/2003 i. V. m. VO (EG) 479/2006

Zulässige Höchstgehalte für Kupfer in mg/kg lufttrockenem Alleinfutter (88 % TM)	Tiergruppe
15 mg	Rinder vor dem Wiederkäueralter
35 mg	Sonstige Rinder

2.8 Intoxikation

2.8.1 Vorkommen und Bedeutung

Im Gegensatz zum Kupfermangel kommt die Kupfervergiftung (Kuprismus) beim Rind verhältnismäßig selten vor (Hofmann 2005). Dies mag in Deutschland zum einen an den Auflagen für Industrie und Landwirtschaft liegen, die Schwermetalleinträge in die Umwelt beschränken. Durch Gesetze wie die Klärschlammverordnung (AbfKlärV) oder die Düngemittelverordnung (DüMV) und den weitgehenden Ersatz kupferhaltiger Schädlingsbekämpfungsmittel durch andere Pestizide ist das Risiko einer Kupfervergiftung über natürliche Quellen wie das Tränkewasser, Rau- oder Kraffutter eher gering (Rosenberger et al. 1994, Staufenbiel et al. 2016). Zum anderen weisen ruminierende Rinder im Gegensatz zu kleinen Wiederkäuern eine relativ hohe Kupfertoleranz auf. Während Schafe bei andauernder Kupferkonzentration von > 15 mg/kg TM im Futter bereits chronische Kupfervergiftungen entwickeln können (Behrens et al. 2009), liegt die Toleranzschwelle von Rindern bei bis zu 50 mg/kg TM (Staufenbiel et al. 2016, CliniPharm/CliniTox 2017). Kälber gelten jedoch als empfindlicher als adulte Tiere (Hofmann 2005). Ob Rinderrassen, denen eine höhere Speicherfähigkeit von absorbiertem Kupfer unterstellt wird, auch eine höhere Disposition für die Entwicklung von Kupfertoxikosen aufweisen, ist noch nicht abschließend geklärt. Du et al. (1996) halten dies jedoch für wahrscheinlich, nachdem Sie in einem Fütterungsversuch feststellten, dass Jersey-Kühe unter den gleichen Bedingungen mehr Kupfer in der Leber anreicherten als Holstein-Kühe. Ob sie hierdurch auch schneller die Symptome einer Kupfertoxikose entwickeln, während Holstein-Rinder erst nach längerer Exposition gegenüber hohen Kupfergaben erkranken, muss noch erforscht werden.

2.8.2 Ätiologie und Pathogenese

Obwohl die Kupferintoxikationsgefahr durch natürliche Quellen niedrig ist, wurden in den letzten Jahren vereinzelt Fälle von Kuprismus in Rinderbeständen beschrieben (Bidewell et al. 2012, Johnston et al. 2014, Staufenbiel et al. 2016, Wolf et al. 2017). Ätiologisch gilt es hierbei zwischen zwei Arten der Kupfervergiftung zu unterscheiden, der akuten und der chronischen Form. Der akuten Form liegt eine plötzliche Exposition gegenüber einer massiven Kupferdosis zu Grunde, die dem Tier oral oder parenteral zugeführt wurde. Bei adulten Rindern gelten einmalige orale Aufnahmen von > 200 mg Kupfersalz/kg KGW als akut toxisch. Für Kälber liegt die minimal toxische Dosis zwischen 20-100 mg/kg KGW p. o.. Kupferchlorid gilt unter den Kupfersalzen als bis zu viermal toxischer als Kupfersulfat (Hofmann 2005, CliniPharm/CliniTox 2017). Solch extreme Kupferdosierungen können vereinzelt bei kochsalzhungrigen Tieren durch Zugang zu kupferhaltigen Lecksteinen, unachtsamem

Umgang mit kupferhaltigem Spritzmittel auf beweideten Flächen oder durch Futter, das in grüspanhaltigen Kupferkesseln aufbewahrt wurde, erreicht werden (Rosenberger et al. 1994, Hofmann 2005).

Häufiger treten jedoch Fälle chronischer Kupferintoxikation auf. Hierbei werden Mengen des Spurenelements aufgenommen, die als Einzeldosis nicht toxisch wären, jedoch nach mehrwöchiger oder monatelanger Aufnahme Vergiftungssymptome auslösen. Die Dosen bewegen sich in einem Bereich von 3-5 g Kupfersulfat/Tag bei erwachsenen Rindern und 1-2 g Kupfersulfat/Tag bei Kälbern (Hofmann 2005). Auf das Körpergewicht bezogen gelten Dosen ab 3 mg/kg KGW/Tag als giftig (CliniPharm/CliniTox 2017). Grund für die chronische Kupfervergiftung ist meist eine übermäßige Mineralstoffversorgung durch Ergänzungsfuttermittel, die insbesondere in der Mast- oder Milchviehhaltung zur Vorbeugung von Mangelerscheinungen eingesetzt werden, jedoch ohne vorherige Bedarfskalkulation oder routinemäßige Kontrolluntersuchungen der Tiere (Johnston et al. 2014, Staufenbiel et al. 2016). Eine Veröffentlichung von Wolf et al. (2017) zeigte, dass von 131 Rinderlebern, die in den Jahren 2008 bis 2016 am Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei (LALLF) in Mecklenburg-Vorpommern untersucht wurden, 21 % auf einen Kupferüberschuss (> 125 mg/kg FS) und 12 % sogar auf eine Intoxikation (> 200 mg/kg FS) der geschlachteten Tiere hinwiesen. Alle Tiere stammten aus Intensivhaltung. Da die Niedermoorböden in Mecklenburg-Vorpommern als Kupfermangelstandorte gelten, liegt die Vermutung nahe, dass den Tieren weit über die Versorgungsempfehlung hinaus kupferreiches Mineralfutter zugefüttert worden war, sodass sich das Spurenelement in toxischer Dosis in der Leber anreichern konnte. Daneben können auch die Verabreichung von Spurenelement-Boli in Überdosis oder Tränkewasser aus korrodierten Kupferrohren zur Aufnahme toxischer Kupfermengen führen (Klee 2016). Bei Kälbern entstehen chronische Vergiftungen meist durch Einsatz kupferreicher Milchaustauschermehle oder Magermilchaufwerter. Diese gelten ab einem Kupfergehalt von 50 mg/kg TM als giftig. Bei den Milchaufwertern werden die Dosierungsempfehlungen des Herstellers oft aus falschem Sicherheitsdenken überschritten, was fatale Folgen für das Kalb haben kann (Hofmann 2005). Bei extensiv gehaltenen Rindern kann eine Kontamination der Weideflächen mit kupferhaltigem Dünger wie beispielsweise Schweinegülle zu Vergiftungen führen. In Schweinehaltungen wird Kupfer typischerweise als Wachstumsförderer eingesetzt. López-Alonso et al. (2000) konnten in ihrer Studie über nutritive Kupferakkumulation bei Kälbern im spanischen Galizien aufzeigen, dass zwischen der Dichte intensiver Schweinehaltungen einer Region und dem Auftreten toxischer Kupferkonzentrationen in Kalbslebern ein signifikanter positiver Zusammenhang bestand. Bevor bei exponierten Tieren klinische Anzeichen einer Kupfervergiftung auftreten, wird überschüssiges Kupfer zunächst in der Leber gespeichert. Dem Rind wird hierbei seine Eigenschaft als „guter Kupferspeicherer“ zum Verhängnis. Durch die vergleichsweise schwach

ausgeprägten Ausscheidungsmechanismen führt die kontinuierliche Zufuhr von Überdosen zu einer progressiven hepatischen Kupferakkumulation. Ist die Speicherkapazität subzellulärer Kompartimente wie Mitochondrien und Lysosomen überschritten, reichert sich Kupfer vermehrt in Zytosol und Nucleus der Hepatozyten an (vgl. Kap. 2.5.2.3). Nach Erschöpfung der Kompensationsmechanismen von kupferbindenden Proteinen liegt das Spurenelement schließlich in Form freier, hochreaktiver Ionen vor, durch deren Redoxpotential die Bildung von Hydroxylradikalen ermöglicht wird. Irreversible, oxidative Zellschäden sind die Folge (Nose et al. 2006). Mit der Gewebsnekrose einher geht zudem die Freisetzung großer Kupfermengen in die Blutbahn, was durch massive Schädigung der Erythrozyten final zu einer schweren hämolytischen Krise führt (Klee 2016). Da nicht alle Tiere mit abnormer Kupferakkumulation in der Leber erkranken, geht man davon aus, dass die Auslösung dieser hämolytischen Krise durch Stressfaktoren beschleunigt wird. Laut Fallbericht von Johnston et al. (2014) zeigten sechs Tiere einer von Kuprismus betroffenen Herde unmittelbar nach dem Trockenstellen die ersten Symptome und starben innerhalb der nächsten neun Tage. Auch Futterumstellung, Transport oder Hungern zählen zu auslösenden Faktoren (Rosenberger et al. 1994). Mufti et al. (2007) beschreiben einen weiteren Aspekt der Pathogenese einer Kupfervergiftung. Er bezieht sich auf die Rolle des Proteins XIAP, das bei steigender Kupferkonzentration in der Zelle selbst Kupferionen bindet und durch eine damit einhergehende Konformationsänderung deaktiviert wird. In deaktivierter Form steht es zwar dem Kupferefflux nicht mehr im Wege (vgl. Kap. 2.5.2.4), ist aber auch in seiner Funktion als Caspase- bzw. Apoptose-Inhibitor geschwächt. Die Zelle wird hierdurch empfindlicher gegenüber apoptotischen Stimuli, die bei Auslösung der Caspase-Kaskade zum Zelltod führen können. Intrazellulärer Kupferüberschuss fördert neben dem nekrotischen also auch den apoptotischen Zelluntergang im Gewebe.

2.8.3 Klinik

Bei der akuten Kupfervergiftung kommt es bereits ein bis drei Tagen nach der Aufnahme der toxischen Dosis zu klinischen Symptomen. Die ätzende Wirkung der Kupfersalze im Gastrointestinaltrakt sorgt für Fressunlust, vermehrten Durst und Speichelfluss, Koliken, Hervorwürgen blaugrüner Massen sowie für heftige Durchfälle, die sich blutig bis bläulich-grün darstellen können. Die eigentümliche Farbe entsteht durch Komplexbildung von Kupfer und Pflanzenchlorophyll. Zusätzlich zu hochgradigem Abdominalschmerz und Kreislaufinsuffizienz treten Muskelkrämpfe und zunehmende Nachhandparese auf, bis die Tiere schließlich festliegen. Der Tod tritt innerhalb weniger Stunden nach Einsetzen der ersten Symptome ein (Rosenberger et al. 1994; Hofmann 2005).

Im Gegensatz zur akuten Form verläuft die chronische Kupfervergiftung während die Phase der Kupferakkumulation in der Leber nahezu symptomlos und bleibt daher oft unentdeckt. Das klinische Geschehen nach Eintreten der Hämolyse ist jedoch immer akut (Klee 2016). Die Symptome reichen von zunächst unspezifischen Krankheitsanzeichen wie Inappetenz, Gewichtsverlust, Schwäche, Apathie und Rückgang der Milchleistung bis hin zu ikterischen Schleimhäuten, Ödemen und braun-rot verfärbtem Harn. Die fortschreitende hämolytische Anämie führt zu einer raschen Verschlechterung des Allgemeinbefindens. Herz- und Atemfrequenz steigen an. Festliegen, Pansenstillstand, Aborte und plötzliche Todesfälle werden ebenfalls beobachtet. Nach ein bis drei Tagen, seltener nach einer Woche, endet die chronische Kupfervergiftung meist mit dem Tod. Überlebende Tiere bleiben lebenslang lebergeschädigt und kümmern (Rosenberger et al. 1994, Hofmann 2005).

2.8.4 Diagnostik

Die Diagnose einer Kupferintoxikation erfolgt grundsätzlich nach dem gleichen Prinzip wie die eines Kupfermangels. Da das klinische Bild, v.a. vor Einsetzen der hämolytischen Krise, eher unspezifischer Art ist und nicht eindeutig auf eine Kupfervergiftung schließen lässt, sind nach einer gründlichen (Fütterungs-) Anamnese Futterproben sowie Blut- und Organproben betroffener Tiere zu analysieren. Es gilt dabei zwischen der akuten und der chronischen Form der Kupfervergiftung zu unterscheiden:

Akute Form

Die seltene Form der akuten Kupfervergiftung ist schwieriger zu diagnostizieren, da die Tiere bereits verenden, bevor sich Kupfer im Blut oder der Leber als Speicherorgan anreichern kann. Trotz massiver Kupferexposition bleiben die Werte paradoxerweise im Normbereich. Die Diagnose setzt sich daher aus dem klinischen Bild, der (Fütterungs-) Anamnese inklusive Kontrolle der Umgebung der Tiere und ihrer Zugangsmöglichkeiten zu kupferhaltigen Stoffen, einer Futterprobenanalyse sowie aus dem Sektionsbefund verendeter Tiere zusammen (Rosenberger et al. 1994). Dieser zeichnet sich v.a. durch hochgradige katarrhalische bis hämorrhagisch-ulzerierende Abomasoenteritiden aus, wobei der Inhalt und die Schleimhäute von Labmagen und Darm oftmals auffallend bläulich-grün gefärbt sind. Am lebenden oder verendeten Tier können außerdem Analysen von Kotproben durchgeführt werden. Kupfermengen von 0,1 - 1 % sollen eindeutige Hinweise auf eine akute Vergiftung geben (Rosenberger et al. 1994; Hofmann 2005).

Chronische Form

Für die Diagnose einer chronischen Kupfervergiftung eignen sich nur bestimmte Probenmedien. In der Fachliteratur besteht jedoch, anders als etwa bei der Diagnostik eines Kupfermangels, Einigkeit über ihre diagnostische Aussagekraft und Zuverlässigkeit.

- **Futterproben**

Die Futterprobenanalyse ist ein wichtiger Schritt der Diagnosefindung. TMR-Rationen, deren Kupfergehalt die Versorgungsempfehlung von 10 - 15 mg/kg TM deutlich überschreitet, sind bereits hinweisgebend für eine Überversorgung der Tiere.

- **Blutproben**

Der Blutspiegel ist bemerkenswerterweise erst ab Beginn der hämolytischen Krise erhöht (Hofmann 2005). Die Fallberichte von Staufenberg et al. (2016) und Johnston et al. (2014) über chronische Kupfervergiftungen in Milchviehbeständen bestätigen dies. Eine mögliche Erklärung liegt in der ausgeprägten Speicherfähigkeit der Rinderleber, die überschüssiges Kupfer konsequent sequestriert und so die Homöostase des Blutkupferspiegels aufrechterhält. Kupferwerte in Serum, Plasma oder EDTA-Vollblut gelten daher nicht als zuverlässige Messgrößen, um eine Überversorgung zu diagnostizieren (Bauer et al. 2014). Gerade bei der Bestandsdiagnostik bietet die Blutuntersuchung jedoch die Möglichkeit, subklinisch erkrankte Tiere zu identifizieren. So kann eine Erhöhung der Leberenzyme AST, GLDH und GGT sowie des Bilirubins bereits vor Einsetzen der hämolytischen Krise deutliche Hinweise auf eine progressive Hepatopathie geben. Hat die hämolytische Krise bereits eingesetzt, können neben einer Erhöhung des Kupferspiegels im Plasma auf > 50 µmol/l auch eine mit dem Zerfall der roten Blutkörperchen einhergehende Erythrozytopenie und Hämoglobinämie festgestellt werden (Rosenberger et al. 1994, Hofmann 2005, Klee 2016).

- **Leberbiopate**

Liefern Futter- und Blutproben Hinweise auf eine Überversorgung mit Kupfer bei gleichzeitiger Leberzellschädigung, sollten im betroffenen Bestand stichprobenartig Leberbiopsien entnommen werden. Die Bestimmung der Kupferkonzentration im Leberbiopate gilt als Goldstandard bei der Diagnose einer chronischen Kupfervergiftung. Werte über 800 mg/kg TM gelten als beweisend, Werte zwischen 500 - 800 mg/kg TM als verdächtig (Hofmann 2005).

- **Kotproben**

Die Kupferkonzentration im Kot kann, wie der Fallbericht von Staufenbiel et al. (2016) zeigt, ebenfalls von diagnostischem Wert sein. Da sich in der Literatur zum Zeitpunkt des Fallberichts keine Referenzwerte für eine physiologische Kupferkonzentration im Kot fanden, wurde die Kotkonzentration von Tieren einer verdächtigen Herde mit dem Durchschnittswert aller anderen Herden verglichen, die im Rahmen routinemäßiger Bestandsbetreuung untersucht worden waren. Die Ergebnisse zeigten, dass die durchschnittliche Kupferkonzentration im Kot verdächtiger Tiere (136 mg/kg TM bei Vorbereitern und 145 mg/kg TM bei Hochleistungskühen) mehr als doppelt so hoch war wie die der Vergleichspopulation. Herold (2017) leitete aus ihren Untersuchungen zum Kupfergehalt von Rinderkotproben einen physiologischen Referenzbereich von 25 - 125 mg Cu/kg TM ab.

- **Urinproben**

Die Kupferbestimmung im Urin scheint kein geeignetes Diagnostikum für eine Kupferintoxikation darzustellen. Auch wenn in der Leber bereits toxische Konzentrationen festgestellt werden, bleiben die Werte im Harn unauffällig (Staufenbiel et al. 2016). Als Folge der Hepatopathie kann jedoch eine Bilirubinurie bzw. eine mit der Hämolyse einhergehende Hämoglobinurie mit braun-rot verfärbtem Harn festgestellt werden (Rosenberger et al. 1994, Klee 2016).

- **Haarproben**

Deckhaaranalysen stellen kein geeignetes Diagnostikum dar. Ihr Kupfergehalt steht nicht im Zusammenhang mit der Kupferakkumulation in der Leber und bleibt auch bei manifester Kupfertoxikose noch im Normbereich (Staufenbiel et al. 2016).

- **Sektionsbefund**

Der Sektionsbefund am verendeten Tier besteht vorrangig aus einer ockerfarbenen bis orangegelben Leber mit peripherer Verfettung und nekrotischen Herden, einem generalisierten Ikterus und leicht vergrößerten Nieren, die in der histopathologischen Untersuchung Glomerulo- und Tubulonephritiden mit hämoglobinhaltigen Ausgüssen im Tubulussystem aufweisen (Rosenberger et al. 1994, Bidewell et al. 2012).

2.8.5 Therapie und Prophylaxe

Die Behandlung einer akuten Kupfervergiftung kommt i.d.R. zu spät und bleibt daher meist erfolglos. Ein Therapieversuch kann mit einhüllenden, neutralisierenden Mitteln p. o. versucht werden wie beispielsweise durch Eingabe von reichlich Leinsamenschleim, 100 g Magnesiumkarbonat, 10 g Tannin oder 200 – 300 g Kohlepulver (Rosenberger et al. 1994). Als Antidot gilt Ferrozyankalium bzw. Kaliumferrozyanid, das jedoch, im Gegensatz zu den anderen genannten Mitteln, bei Lebensmittel liefernden Tieren nicht zugelassen ist (Vetidata 2020).

Bei der chronischen Kupfervergiftung hängen Behandlung und Prognose vom Stadium der Kupferakkumulation ab. Für Tiere, die sich bereits in der hämolytischen Krise befinden, gibt es kaum Heilungschancen. Die Therapie konzentriert sich daher auf die gleichermaßen exponierten, aber noch nicht klinisch erkrankten Tiere der Herde. Aufgrund arzneimittelrechtlicher Bestimmungen ist jedoch auch hier eine Behandlung erschwert. Mittel, wie beispielsweise Ammonium-Molybdat und Natriumsulfat, die nach gemeinsamer intravenöser Verabreichung die biliäre Ausscheidung des akkumulierten Leberkupfers fördern (Johnston et al. 2014), sind in Deutschland bei Lebensmittel liefernden Tieren nicht zugelassen (Vetidata 2020). Andere in der Literatur empfohlene Mittel wie Natrium-Thiosulfat oder Kalzium-EDTA (Rosenberger et al. 1994, Klee 2016), die keiner Anwendungsbeschränkung unterliegen, sind in Deutschland nicht als Tierarzneimittel verfügbar und müssten in Form umgewidmeter Humanpräparate angewandt werden (Vetidata 2020). Die Behandlung besteht daher hauptsächlich in der Zufütterung von Leberschutzpräparaten und ggf. der Verabreichung von Glukokortikosteroiden (Hofmann 2005). Eine Futterumstellung mit Stopp der Kupferzufuhr und unbedingter Vermeidung von Stresssituationen, die die Auslösung der hämolytischen Krise triggern könnten, gehören zu den wichtigsten Schutzmaßnahmen für subklinisch erkrankte Tiere (Rosenberger et al. 1994).

Da die Therapiemöglichkeiten bei Kupfervergiftungen beschränkt sind, kommt der Prophylaxe eine umso größere Bedeutung zu. Vor dem Beweiden oder dem Abernten von Flächen, auf die kupferhaltiger Dünger oder Schweinegülle ausgebracht wurden, sollten daher mindestens drei Monate sowie ausgiebige Regenfälle abgewartet werden (Dirksen et al. 2006). Mineralergänzungsfutter sollte nie kritiklos, sondern stets unter Beachtung der natürlichen Kupfergehalte der Rationskomponenten und erst nach anschließender Kalkulation der zu ergänzenden Mengen eingesetzt werden (vgl. Kap. 2.7.5). Der Meinung, dass mit steigender Leistung der Tiere auch die alimentäre Spurenelementzufuhr steigen müsse, kann entgegengesetzt werden, dass auch die Futterraufnahme der Tiere zunimmt und sich damit die Spurenelementaufnahme automatisch erhöht (Steinhöfel et al. 2013). Staufenbiel et al. (2016) empfehlen zur Überwachung der Versorgungssituation einer Herde routinemäßige

Profiluntersuchungen der wichtigsten Spurenelemente, wozu bei Verdacht oder zur Prophylaxe einer Kupferübersversorgung auch stichprobenartige Leberpunktionen gehören sollten. Ziel ist es, die Supplementierung von Kupfer dem tatsächlichen Bedarf anzupassen. Nur so können unnötige Futterkosten, gesundheitliche Risiken für die Tiere sowie die übermäßige Ausscheidung des Spurenelements über den Kot und damit die Anreicherung in Wirtschaftsdünger und Umwelt vermieden werden (Männer 2009). Auch aus Verbraucherschutztechnischen Gründen kommt der Prophylaxe der Kupferübersversorgung eine wichtige Rolle zu. Zwar finden sich in der Literatur keine Hinweise darauf, dass diese zu einer schädlichen Anreicherung von Kupfer in Lebensmitteln tierischer Herkunft wie Fleisch und Milch führt und auch der Verzehr von Rinderleber stellt nach Wolf et al. (2017) kein tatsächliches Verbraucherschutzproblem dar. Die Europäische Verbraucherschutzbehörde EFSA führt in einem Bericht jedoch Studien auf, die den Verdacht zulassen, dass eine Schwermetallkontamination der Umwelt, beispielsweise durch die Ausbringung kupferhaltiger Gülle, die Selektion multiresistenter Bakterienstämme fördert. So konnten bei Bakterien, die aus kontaminierten Böden isoliert wurden, gleichzeitige Resistenzen gegen Kupfer und Antibiotika nachgewiesen werden, was zumindest mittelbar zu einer Gesundheitsgefährdung des Menschen führen kann (European Food Safety Authority 2016).

3 Material und Methoden

Im Rahmen der Bestandsbetreuung durch die Klinik für Klautiere der FU-Berlin wurden im Zeitraum vom 16.08.2007 bis 11.12.2014 insgesamt 243 verschiedene Milchviehbetriebe in den Bundesländern Sachsen-Anhalt, Brandenburg, Mecklenburg-Vorpommern, Sachsen und Thüringen besucht. Hierbei wurden mit dem Ziel des Herdenmonitorings Blut-, Haar-, Urin- und Kotproben von Milchkühen gewonnen und auf hämatologische sowie chemische Parameter hin untersucht, darunter auch die Konzentration des Spurenelements Kupfer. Um ganzheitliche Informationen über die Herde zu erlangen, wurde am Tag der Bestandsuntersuchung zusätzlich ein Fragebogen ausgefüllt sowie ein Datenblatt aus dem Herdenverwaltungsprogramm zur späteren Auswertung kopiert. So konnten Informationen zur durchschnittlichen Jahresmilchleistung der Herde, zu Zellzahlen sowie Fruchtbarkeitskennzahlen der Herde (Zwischentragezeit, Zwischenkalbezeit, Besamungsindex, Rastzeit) gewonnen und in die vorliegende Studie einbezogen werden.

3.1 Stichprobenverfahren zur Auswahl der Probanden

Das angewandte Stichprobenverfahren richtete sich nach der Größe der besuchten Betriebe. In großen Betrieben mit einem Bestand von über 200 Milchkühen wurde die Herde in jeweils fünf Gruppen unterteilt: in Trockensteher (8 - 3 Wochen a. p.), Vorbereiter (3 - 0 Wochen a. p.), Frischmelker (0 - 1 Woche p. p.), Früh-laktationskühe (3 - 5 Wochen p. p.) und Hochlaktationskühe (15 - 18 Wochen p. p.). In kleineren Betrieben mit weniger als 200 Milchkühen hingegen wurden zur Sicherung der Stichprobenzahl Laktationsgruppen zusammengefasst und so eine Einteilung in nur vier Untersuchungsgruppen vorgenommen: Trockensteher (8 - 3 Wochen a. p.), Vorbereiter (3 - 0 Wochen a. p.), Früh-laktationskühe (0 - 5 Wochen p. p.) und Hochlaktationskühe (6 - 20 Wochen p. p.). Aus jeder Gruppe wurden anschließend stichprobenartig zehn klinisch gesunde, multipaare Kühe als Probanden ausgewählt und beprobt. In Ausnahmefällen, in denen pro Gruppe keine zehn Tiere als mögliche Probanden zur Verfügung standen, wurden weniger beprobt, wobei die Mindestanzahl von sieben Tieren pro Untersuchungsgruppe nicht unterschritten wurde.

Mit einem Anteil von 94,8 % stammt die Mehrheit der Proben von Kühen der Rasse Holstein Friesian. 0,2 % der Proben stammen von Schwarzbunten Milchrindern und 0,4 % aus Mischherden, die sich aus Holstein-Friesian-Kühen und anderen Rassen zusammensetzten. Bei den restlichen Proben wurde die Rassezugehörigkeit der Probanden nicht erfasst.

3.2 Probengewinnung und Probenaufbereitung

3.2.1 Blutproben

Die Blutproben wurden am Schwanz der Kühe aus der Arteria oder Vena caudalis mediana bzw. coccygea mediana entnommen. Pro Tier wurden hierbei jeweils zwei Probenröhrchen gefüllt, ein antikoagulansfreies zur Gewinnung von Serum und ein EDTA-haltiges Probenröhrchen zur Gewinnung von Vollblut und Plasma.

Die antikoagulansfreien Probenröhrchen wurden 15 min bei 3500 U/min (2000 g) zentrifugiert. Anschließend fand eine Poolung der Proben statt, d.h. aus allen Röhrchen von Tieren derselben Untersuchungsgruppe wurde jeweils 1 ml des überstehenden Serums abpipettiert und in ein Sammelröhrchen überführt.

Die EDTA-haltigen Röhrchen wurden in einem Rollenschüttler zur gleichmäßigen Durchmischung des Blutes für 15 min geschwenkt. Anschließend wurde aus allen Röhrchen, die zur selben Untersuchungsgruppe gehörten, je ein 1 ml Blut in zwei separate Sammelröhrchen gegeben. Eines hiervon diente als EDTA-Vollblut-Poolprobe. Das zweite Sammelröhrchen wurde 15 min bei 3500 U/min (2000 g) zentrifugiert, um eine Plasma-Poolprobe der Untersuchungsgruppe zu gewinnen.

Die Serum-, Plasma- und EDTA-Vollblutpoolproben wurden bis zu ihrem Versand an das externe Untersuchungslabor bei 4 °C in einem Kühlschrank gelagert.

3.2.2 Haarproben

Die Haarproben wurden mittels einer Schere aus dem pigmentierten Fell an der seitlichen Brustwand der Kühe entnommen und zu gleichen Teilen in einem gemeinsamen Probenbeutel pro Untersuchungsgruppe aufgefangen.

3.2.3 Urinproben

Die Urinprobe wurde durch Katheterisierung der Blase entnommen. Zur Poolung der Proben pro Untersuchungsgruppe wurden die Einzeltierproben aufgeschüttelt, um anschließend jeweils 1 ml daraus in ein Sammelprobengefäß zu überführen. Die Sammelprobengefäße wurden bis zum Versand bei 4 °C im Kühlschrank aufbewahrt.

3.2.4 Kotproben

Die Kotproben wurden aus dem Rektum der Probanden entnommen, zu gleichen Teilen in ein Sammelprobengefäß pro Untersuchungsgruppe zusammengefasst und anschließend ebenfalls bei 4 °C bis zum Versand gekühlt.

3.3 Analyse des Probenmaterials

Zur Analyse des Kupfergehalts sowie weiterer chemischer und hämatologischer Parameter wurden die Poolproben jeweils am Folgetag der Gewinnung per Kurier an die Vet Med Labor GmbH der IDEXX Laboratories mit Sitz in der Mörikestraße 28/3, 71636 Ludwigsburg versandt. Das Labor ist gemäß DIN EN ISO/IEC 17025:2005 im veterinärmedizinischen Prüfgebiet der klinischen Chemie inklusive der Hämatologie akkreditiert. Die aktuelle Akkreditierung (Akkreditierungsnummer D-PL-13356-01) ist bis zum 13.11.2022 gültig.

Im Rahmen der Qualitätssicherung des akkreditierten Prüflabors wurden die Vorbereitung und die Analyse der Proben streng nach den Standardarbeitsanweisungen zur Bearbeitung von Flüssigkeiten und Feststoffen durchgeführt. Kot wurde hierbei zunächst getrocknet, gesiebt und anschließend wie Haar nach der Standardarbeitsanweisung für Feststoffe bearbeitet. Die Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien wurde mit dem Messgerät Vista Pro von Varian Medical Systems nach der Methode der optischen Emissions-Spektroskopie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES) gemessen. Die Emissionwellenlänge betrug 324,754 nm. Zur Überprüfung der Messgenauigkeit des Geräts wurden im Rahmen des Qualitätsmanagements regelmäßig Präzisionsmessungen durchgeführt. Die Variationskoeffizienten in Tabelle 10 geben für die einzelnen Probenmatrices das relative Streuungsmaß der Messwerte bei 10-fach-Messung in Serie (Intra-day-Assay) und 10 Messungen an aufeinanderfolgenden Tagen (Inter-day-Assay) an.

Tabelle 10: Angaben der Vet Med Labor GmbH der IDEXX Laboratories zu den Variationskoeffizienten des Intra-day- und Inter-day-Assays (10-fach Messung) für das Spurenelement Cu in den einzelnen Probenmatrices

	Probenmatrices					
	Serum	Plasma	EDTA-Vollblut	Haar	Urin	Kot
Intra-day-VK (%)	0,6	5,2	3,7	2,6	3,0	1,9
Inter-day-VK (%)	3,6	9,1	8,5	5,6	5,5	5,7

VK= Variationskoeffizient

3.4 Statistische Auswertung

Die Probenergebnisse des Untersuchungslabors sowie die Informationen aus den Fragebögen der einzelnen Betriebe wurden bis zum Abschluss der Datenerhebung in ein kontinuierlich geführtes Excel-Datenblatt übertragen und anschließend mit der Statistik-Software IBM SPSS Statistics 22 und 24 ausgewertet. Das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha = 5$

% ($p < 0,05$) festgelegt. Die in die statistische Auswertung einbezogenen Untersuchungsgrößen sind in Tabelle 11 zusammengefasst.

Tabelle 11: Übersicht über die statistisch ausgewerteten Messgrößen

Messgröße	Maßeinheit
Kupferkonzentration im Serum	mg/l
Kupferkonzentration im Plasma	mg/l
Kupferkonzentration EDTA-Vollblut	mg/l
Kupferkonzentration Haar	mg/kg
Kupferkonzentration Urin	mg/l
Kupferkonzentration Kot	mg/kg TM
Kalziumkonzentration im Serum	mg/l
Schwefelkonzentration im Serum	$\mu\text{g/l}$
Molybdänkonzentration im Serum	$\mu\text{g/l}$
Eisenkonzentration im Serum	$\mu\text{g/l}$
Mangankonzentration im Serum	$\mu\text{g/l}$
Bilirubin gesamt	$\mu\text{mol/l}$
Gallensäuren	$\mu\text{mol/l}$
GLDH	U/l
AST	U/l
GGT	U/l
AP	U/l
Erythrozytenzahl	T/l
Hämatokrit	%
Hämoglobin	g/l
Thrombozytenzahl	G/l
Leukozytenzahl	G/l
Milchleistung	kg
Zellzahl	1000/ml
Zwischentragezeit	Tage
Zwischenkalbezeit	Tage
Besamungsindex	-
Rastzeit	Tage

3.4.1 Deskriptive Statistik

Zunächst wurden die Kupferkonzentrationen untersucht und mit den Kennzahlen der deskriptiven Statistik beschrieben. Für jedes der einzelnen Probenmedien Serum, Plasma, EDTA-Vollblut, Haar, Urin und Kot wurden hierbei der Mittelwert der Kupferkonzentration, die Standardabweichung, der Median, das Minimum und Maximum, die Spannweite, die Schiefe sowie die Kurtosis berechnet.

Zur graphischen Darstellung der Lage und Verteilung der Daten wurden Boxplot-Diagramme und Histogramme erstellt. Anhand der Form der Häufigkeitsverteilung, der Symmetrie und Steilheit der Verteilung im Histogramm sowie der Anpassung an die Gaußsche Glockenkurve wurden die Daten auf Normalverteilung überprüft. Lag keine Normalverteilung vor, wurde durch Logarithmierung der Daten getestet, ob eine Normalverteilung erreicht werden kann. Im Boxplot-Diagramm wurden insbesondere die Lage des Medians sowie die Spannweite der Daten sichtbar gemacht. Mithilfe eines Kreissymbols \circ wurden Ausreißer-Werte, die das 1,5-fache des Interquartilsabstands überschritten, gekennzeichnet. Extreme Ausreißer, die sogar das 3-fache des Interquartilsabstands überschritten, wurden mit einem Sternsymbol $*$ markiert. Die Whiskers des Boxplot-Diagramms beschreiben jeweils den kleinsten oder größten Wert, der noch nicht als Ausreißer gilt.

3.4.2 Korrelationsanalyse

Um die Frage zu klären, ob und in welcher Stärke ein Zusammenhang zwischen den Kupferkonzentrationen in den einzelnen Probenmedien besteht, wurde eine Korrelationsanalyse nach Spearman durchgeführt. Dieser nicht-parametrische Test wurde ausgewählt, da nicht bei allen Variablen eine Normalverteilung der Werte zu Grunde lag. Bei $p < 0,05$ wurde der Zusammenhang symbolisch mit $*$ als signifikant und bei $p < 0,01$ mit $**$ als sehr signifikant gekennzeichnet. Die Stärke des Zusammenhangs wird durch den Betrag des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman r_s ausgedrückt. Tabelle 12 gibt an, wie die Werte von r_s zu interpretieren sind (Bühl 2014).

Tabelle 12: Interpretation des Rangkorrelationskoeffizienten r_s

Betrag des Rangkorrelationskoeffizienten r_s	Interpretation
bis 0,2	sehr geringe Korrelation
bis 0,5	geringe Korrelation
bis 0,7	mittlere Korrelation
bis 0,9	hohe Korrelation
über 0,9	sehr hohe Korrelation

Weiterhin wurde getestet, ob die Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien auch signifikant mit anderen Variablen zusammenhängt, wie mit den Serummesswerten ausgewählter Mengen- und Spurenelemente, Parametern der Blutchemie und des Blutbildes sowie den Produktions- und Fruchtbarkeitskennzahlen der Herden. Ausgewählte Zusammenhänge wurden in Streudiagrammen graphisch dargestellt.

Da die Messwerte mancher Spuren- und Mengenelemente sowie chemischer und hämatologischer Blutparameter laktationsdynamischen Schwankungen unterworfen sein können, wurden zur Berücksichtigung des Laktationsstatus zusätzlich Korrelationsanalysen getrennt nach Untersuchungsgruppen vorgenommen. Die Ergebnistabellen befinden sich im Anhang (Tab. 38 - 55). Die Untersuchungsgruppe der Trockensteher wurde nicht untersucht, da die Stichprobenanzahl mit $N \leq 3$ zu gering war.

3.4.3 Varianzanalyse

Mittels einfaktorieller Varianzanalyse (ANOVA) wurde überprüft, ob Faktoren wie das Untersuchungsjahr, das Bundesland oder die Jahreszeit Einfluss auf die Plasmakupferkonzentration ausüben. Zusätzlich wurde der Einfluss des Laktationsstatus auf den Kupfergehalt aller Probenmedien untersucht. Bei Normalverteilung der jeweiligen Kupferkonzentration und Varianzhomogenität in den zu untersuchenden Gruppen wurde die Ausgabeergebnistabelle der einfaktoriellen Varianzanalyse verwendet, bei Ungleichheit der Varianzen hingegen die Ausgabetablelle für den Welch-Test als robustes Testverfahren zur Prüfung von Mittelwerten. Ergaben diese Tests das allgemeine Vorhandensein signifikanter Unterschiede zwischen den Gruppenmittelwerten bzw. Gruppenmedianen, wurde anschließend mittels Post-Hoc-Test nach Bonferroni ermittelt, welche Gruppen (Bundesländer, Jahreszeiten, Laktationsstadien) sich in ihrer mittleren Kupferkonzentration jeweils signifikant unterschieden. Bei mehr als sieben zu vergleichenden Mittelwerten einer Gruppe (Untersuchungsjahre) wurde aufgrund der exponentiellen Zunahme von paarweisen Vergleichsmöglichkeiten auf den Bonferroni-Test verzichtet. Bei der Kupferkonzentration im Haar konnte nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden. Deshalb wurde der Kruskal-Wallis-Test als nicht-parametrisches Verfahren gewählt.

Gruppenmittelwerte bzw. -mediane ohne signifikanten Unterschied wurden mit dem gleichen Buchstaben gekennzeichnet. Lag ein signifikanter Unterschied vor, wurden sie mit unterschiedlichen Buchstaben markiert.

Beim Vergleich der Plasmakupferkonzentration von Kühen verschiedener Bundesländer wurde die Gruppe „Bundesland 0“ bei der Varianzanalyse herausgefiltert, da sie zum einen nur wenige Beobachtungen enthielt und zum anderen keinem konkreten Bundesland zuzuordnen war. Auch beim Vergleich der Kupferkonzentration von Kühen verschiedener

Laktationsstadien wurden nur Gruppen berücksichtigt, die über eine ausreichende Anzahl an Beobachtungen verfügten. Gruppen mit einer Beobachtungsanzahl von $N \leq 3$ wurden herausgefiltert.

3.4.4 Berechnung der Referenzbereiche

Abschließend wurden nach nicht-parametrischem Verfahren die Referenzbereiche für die Kupferkonzentration in den einzelnen Untersuchungsmedien getrennt nach Laktationsgruppen berechnet. Als unterer und oberer Grenzwert wurden jeweils das 2,5. und das 97,5. Perzentil kalkuliert. Die Ergebnisse wurden in die Einheit $\mu\text{g/l}$ umgerechnet und gerundet.

Aufgrund von signifikanten Unterschieden der Gruppenmittelwerte im Post-Hoc-Test nach Bonferroni (vgl. Kap. 3.4.3) wurden für die Untersuchungsgruppen der Vorbereiter und der Hochlaktationskühe (15 - 18 und 16 - 20 Wochen p. p.) getrennte Referenzbereiche für Kupferkonzentration in den Blutprobenmedien festgelegt. Die Grenzwerte der übrigen Gruppen (0 - 1, 0 - 5 und 3 - 5 Wochen p. p.) wurden mangels signifikanter Unterschiede zu einem gemeinsamen Referenzbereich für Frühlaktationskühe zusammengefasst.

Für die Kupferkonzentration im Haar wurden unter Beachtung der signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppenmittelwerten der Vorbereiter und der Früh- und Hochlaktationskühe (3 - 5 und 6 - 20 Wochen p. p.) ebenfalls getrennte Referenzbereiche angegeben.

Bei den Untersuchungsmedien Urin und Kot wurde jeweils nur ein Referenzbereich für alle Laktationsgruppen berechnet, da sich in der Varianzanalyse zuvor nur wenige oder keine signifikanten Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen ergeben hatten.

4 Ergebnisse

4.1 Kupferkonzentration in den Probenmedien

4.1.1 Kupferkonzentration im Blutserum, Plasma und Vollblut

Tabelle 13 stellt vergleichend für die einzelnen Blutprobenmedien die Kennzahlen der deskriptiven Statistik dar. Mittelwerte und Mediane liegen bei allen drei Medien jeweils sehr nah beieinander, was sich im Boxplot-Diagramm (Abb. 8) optisch bestätigt und bereits erste Hinweise auf eine Normalverteilung der Daten gibt. Die Kupferkonzentration ist im Serum am niedrigsten. Sie bewegt sich in einem Bereich von 0,403 mg/l bis 1,060 mg/l und liegt damit deutlich unterhalb der Minimal- und Maximalwerte in Plasma und EDTA-Vollblut. Die Kupferkonzentration im Plasma nimmt mit einem Maximum von 1,490 mg/l den höchsten Wert an. Die positiven Werte der Schiefe lassen in allen drei Medien auf eine geringfügig rechtsschiefe Verteilung schließen. In den Histogrammen (Abb. 9-11) zeigt sich jedoch eine klare Annäherung der Werte an die Gaußsche Kurve, was die Annahme einer Normalverteilung der Kupferkonzentration in Serum, Plasma und Vollblut unterstützt.

Tabelle 13: Statistische Kennzahlen der Kupferkonzentration in den Blutprobenmedien

Kennzahl	Serum (mg/l)	Plasma (mg/l)	EDTA- Vollblut (mg/l)
N	1574	1571	1559
Mittelwert	0,677	0,899	0,824
Standardabweichung	0,112	0,132	0,122
Median	0,668	0,893	0,812
Minimum	0,403	0,499	0,474
Maximum	1,060	1,490	1,410
Spannweite	0,657	0,991	0,936
Schiefe	0,451	0,406	0,556
Kurtosis	0,122	0,423	0,648

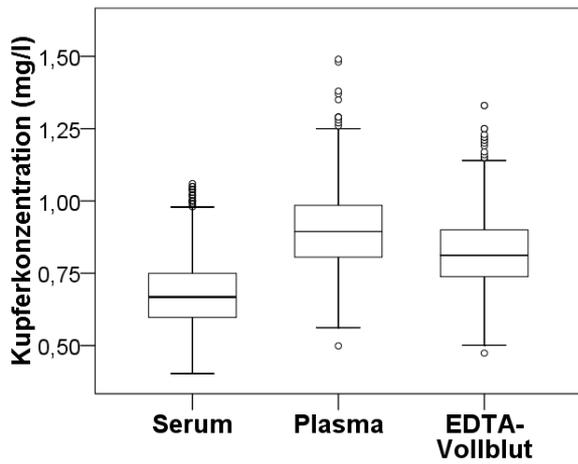


Abbildung 8: Boxplot-Diagramm der Kupferkonzentration in den Blutprobenmedien

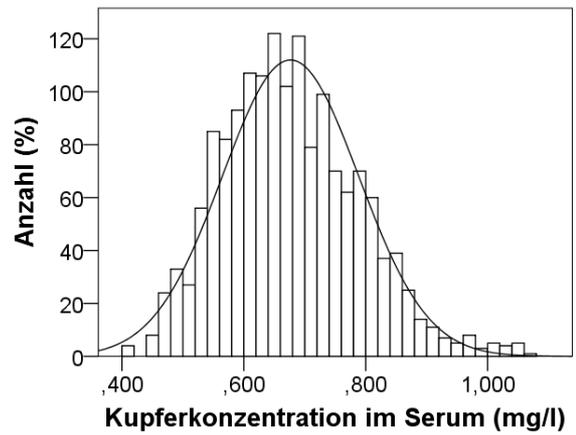


Abbildung 9: Histogramm der Kupferkonzentration im Serum

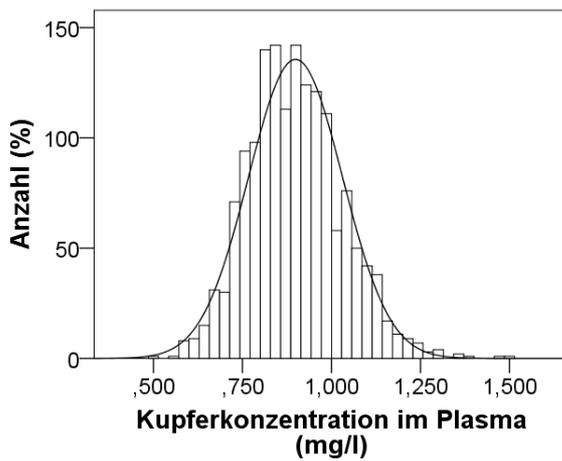


Abbildung 10: Histogramm der Kupferkonzentration im Plasma

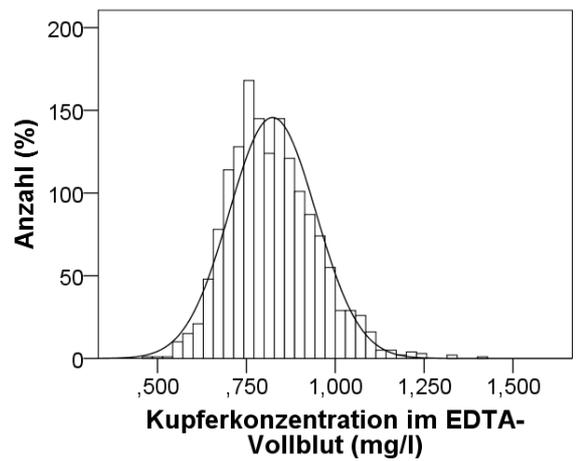


Abbildung 11: Histogramm der Kupferkonzentration im EDTA-Vollblut

4.1.2 Kupferkonzentration im Haar

Die Kennzahlen der Kupferkonzentration im Haar lassen nicht auf eine Normalverteilung der Daten schließen. Der Mittelwert von 10,2 mg/kg liegt deutlich über dem Median von 8,6 mg/kg. Im Boxplot-Diagramm (Abb. 12) sind 68 Ausreißer gekennzeichnet, die Werte zwischen 14,5 mg/kg und 79,5 mg/kg annehmen und knapp 10 % des Datenvolumens darstellen. Schiefe und Kurtosis lassen auf eine rechtsschiefe, steilgipflige Verteilung schließen, was im Histogramm (Abb. 14) bestätigt wird. Durch eine Logarithmierung der Daten haben sich Mittelwert (0,969 mg/kg) und Median (0,933 mg/kg) zwar angenähert, eine Normalverteilung konnte, wie Boxplot- und Histogramm (Abb. 13 und 15) zeigen, jedoch trotzdem nicht erreicht werden.

Tabelle 14: statistische Kennzahlen der Kupferkonzentration im Haar

Kennzahl	Haar (mg/kg)	
	original	Ig
N	693	693
Mittelwert	10,2	0,969
Standardabweichung	6,76	0,161
Median	8,6	0,933
Minimum	4,3	0,633
Maximum	79,5	1,900
Spannweite	75,2	1,267
Schiefe	5,869	2,188
Kurtosis	46,164	7,116

Ig=logarithmiert Basis 10

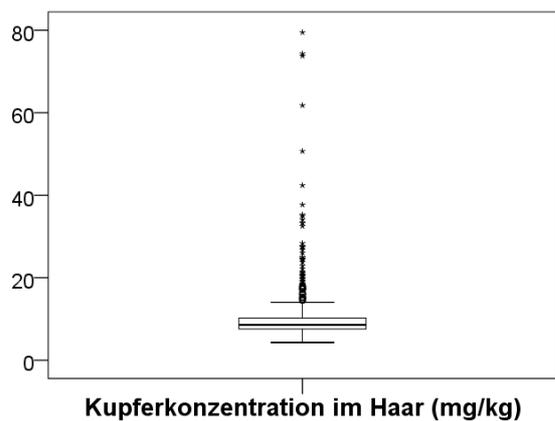


Abbildung 12: Boxplot-Diagramm der Kupferkonzentration im Haar

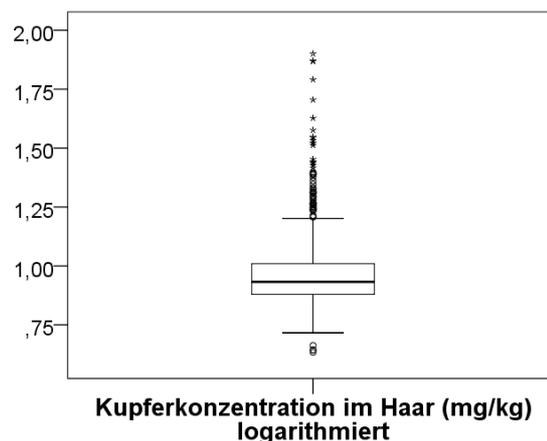


Abbildung 13: Boxplot-Diagramm der logarithmierten Kupferkonzentration im Haar

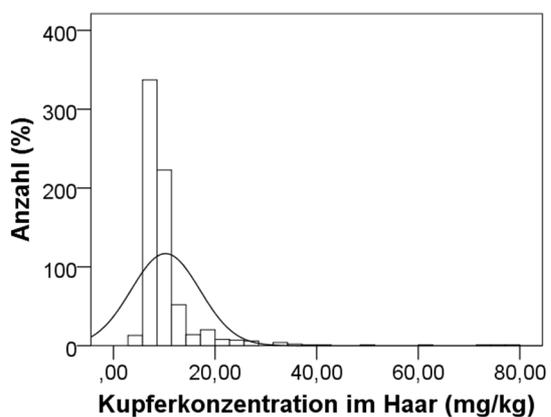


Abbildung 14: Histogramm der Kupferkonzentration im Haar

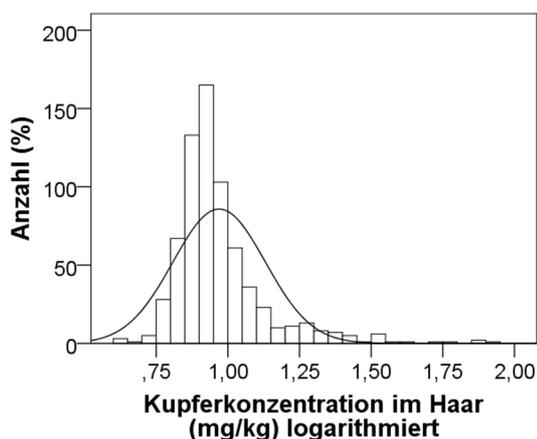


Abbildung 15: Histogramm der logarithmierten Kupferkonzentration im Haar

4.1.3 Kupferkonzentration im Urin

Die Werte der Kupferkonzentration im Harn liegen zwischen 0,000 und 1,930 mg/l. Sie folgen, wie sich aus den Kennzahlen in Tabelle 15 und der Abweichung von der Gaußschen Kurve im Histogramm (Abb. 18) erkennen lässt, zunächst keiner Normalverteilung, weshalb eine logarithmische Transformation vorgenommen wurde. Mittelwert (-0,876 mg/l) und Median (-0,889 mg/l) sind im Ergebnis nahezu identisch. Schiefe (0,480) und Kurtosis (1,232) haben sich deutlich dem Wert 0 angenähert, was sich auch an der symmetrischen Verteilung der Konzentrationswerte im Boxplot (Abb. 17) erkennen lässt. Das Histogramm (Abb. 19) zeigt eine deutliche Annäherung an die Normalverteilungskurve.

Tabelle 15: Statistische Kennzahlen der Kupferkonzentration im Urin

Kennzahl	Urin (mg/l)	
	original	lg
N	2031	2019
Mittelwert	0,160	-0,876
Standardabweichung	0,133	0,251
Median	0,129	-0,889
Minimum	0,000	-1,745
Maximum	1,930	0,286
Spannweite	1,930	2,030
Schiefe	5,046	0,480
Kurtosis	44,419	1,232

lg=logarithmiert Basis 10

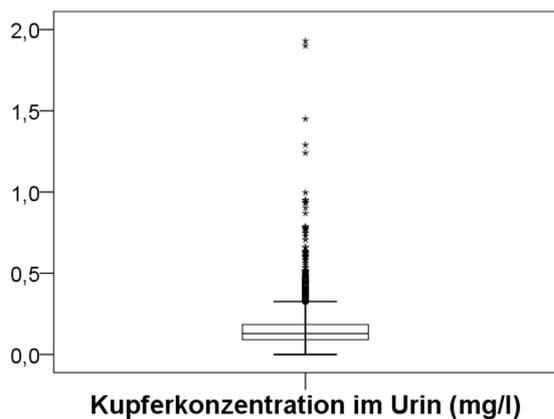


Abbildung 16: Boxplot-Diagramm der Kupferkonzentration im Urin

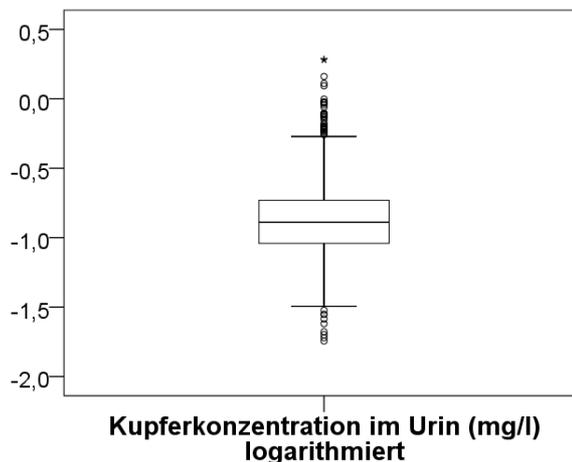


Abbildung 17: Boxplot-Diagramm der logarithmierten Kupferkonzentration im Urin

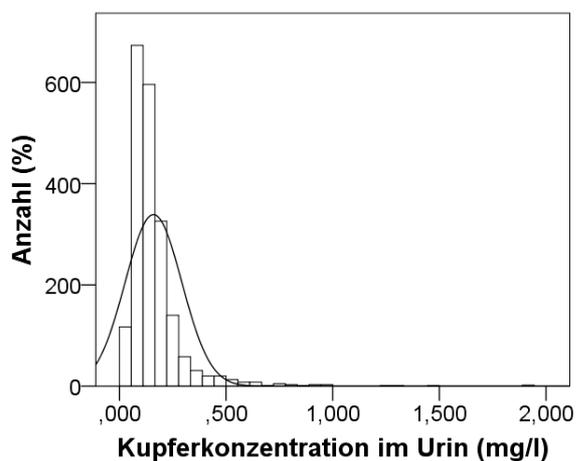


Abbildung 18: Histogramm der Kupferkonzentration im Urin

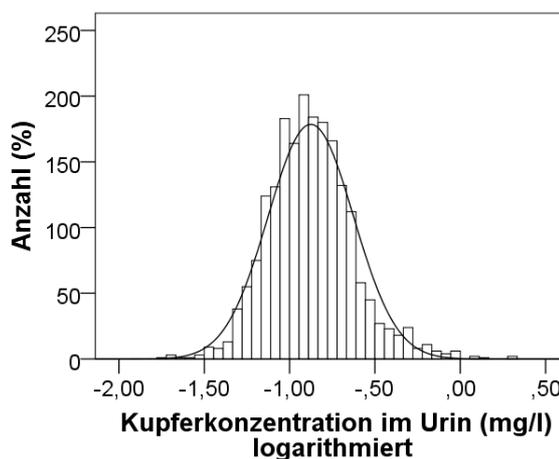


Abbildung 19: Histogramm der logarithmierten Kupferkonzentration im Urin

4.1.4 Kupferkonzentration im Kot

Die Kennzahlen der Kupferkonzentration im Kot sprechen für eine Normalverteilung der Daten. Bei einem vergleichsweise geringen Datenvolumen von 78 Stichproben liegen Mittelwert (57,8) und Median (55,4) nahe beieinander. Schiefe und Kurtosis nähern sich dem Wert 0 an, was für eine nahezu symmetrische Verteilung der Daten spricht. Was die Größenordnung der Kupferkonzentration im Kot betrifft, so liegen die Daten in einem Bereich von 24,7 mg/kg TM bis 108 mg/kg TM.

Tabelle16: Statistische Kennzahlen der Kupferkonzentration im Kot

Kennzahl	Kot (mg/kg TM)
N	78
Mittelwert	57,8
Standardabweichung	18,81
Median	55,4
Minimum	24,7
Maximum	108,0
Spannweite	83,3
Schiefe	0,421
Kurtosis	-0,429

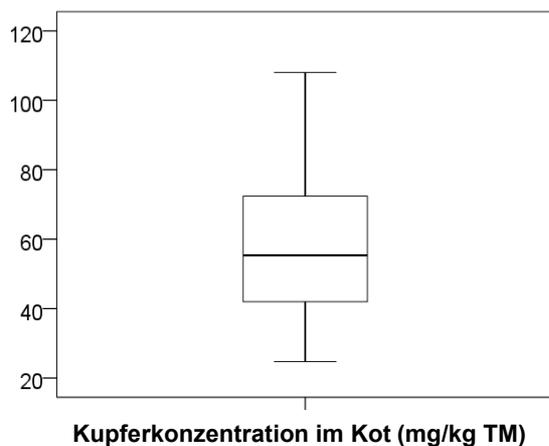


Abbildung 20: Boxplot-Diagramm der Kupferkonzentration im Kot

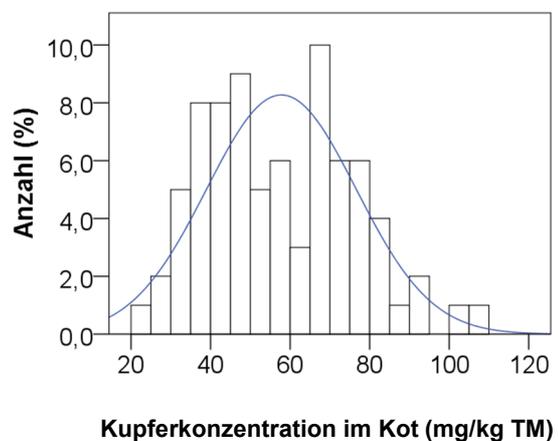


Abbildung 21: Histogramm der Kupferkonzentration im Kot

4.2 Beziehung der Probenmedien untereinander

In Tabelle 17 beschreibt der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman r_s , ob und in welcher Stärke ein Zusammenhang zwischen den Kupferkonzentrationen in den einzelnen Probenmedien besteht. Mittlere bis hohe, positive Korrelationen finden sich nur zwischen den Blutprobenmedien Serum, Plasma und EDTA-Vollblut, wobei die Korrelation zwischen letzteren beiden am höchsten ist ($r_s = 0,782^{**}$). Zwischen den Kupferkonzentrationen im Haar und in den Blutprobenmedien sind nur geringe Korrelationen ausgeprägt. Bei den Ausscheidungsprodukten weist die Kupferkonzentration im Kot mit einer vergleichsweise niedrigen Stichprobenzahl zwischen 54 bis 78 keine signifikanten Korrelationen mit anderen Probenmedien auf. Die Kupferkonzentration im Urin korreliert dagegen schwach mit den Konzentrationen in Plasma bzw. EDTA-Vollblut.

Tabelle 17: Korrelation der Kupferkonzentration zwischen den einzelnen Probenmedien

		Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Kupfer Serum (mg/l)	r_s	0,667**	0,610**	0,244**	0,047	0,113
	p	0,001	0,001	0,001	0,066	0,339
	N	1571	1559	683	1566	74
Kupfer Plasma (mg/l)	r_s		0,782**	0,191**	0,113**	0,156
	p		0,001	0,001	0,001	0,184
	N		1559	682	1563	74
Kupfer EDTA (mg/l)	r_s			0,231**	0,073**	0,028
	p			0,001	0,004	0,810
	N			677	1551	74
Kupfer Haar (mg/kg)	r_s				-0,021	-0,002
	p				0,573	0,991
	N				689	54
Kupfer Urin (mg/l)	r_s					0,016
	p					0,888
	N					78

r_s =Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p=Signifikanz; N=Stichprobenanzahl;

** Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant (zweiseitig)

In den Streudiagrammen (Abb. 22 - 25) ist der Zusammenhang zwischen den Kupferkonzentrationen ausgewählter Probenmedien graphisch dargestellt. In den Abbildungen 22 und 23 wird der starke, linear ansteigende Zusammenhang zwischen den Konzentrationen in Plasma und Serum bzw. EDTA-Vollblut optisch verdeutlicht. Auffällig am Bild der Streuung in Abbildung 23 ist, dass die Kupferwerte im Plasma stärker ansteigen als die zugehörigen Werte im EDTA-Vollblut. Die Streuung der Werte in Abbildung 24 bestätigt die sehr schwach ausgeprägte Korrelation ($r_s = 0,073^{**}$) zwischen Kupfer in Urin und EDTA-Vollblut, da die Kupferkonzentrationen im Urin auch bei ansteigenden Vollblutwerten vergleichsweise gering bleiben. Zwischen der Kupferkonzentration in Kot und Vollblut ist, wie Abbildung 25 zeigt, kein linearer Zusammenhang erkennbar.

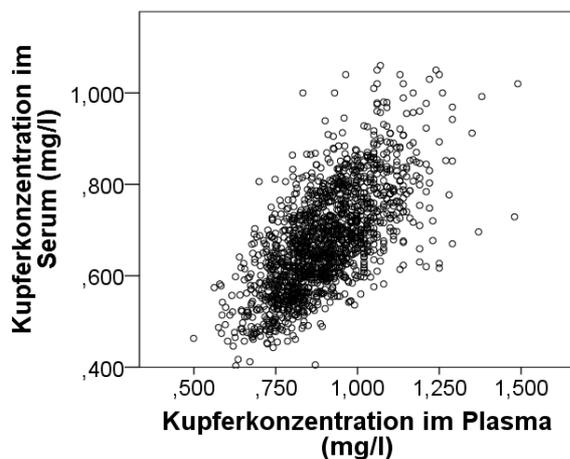


Abbildung 22: Streudiagramm der Kupferkonzentration im Plasma und Serum ($r_s=0,667^{**}$; $p=0,001$; $N=1571$)

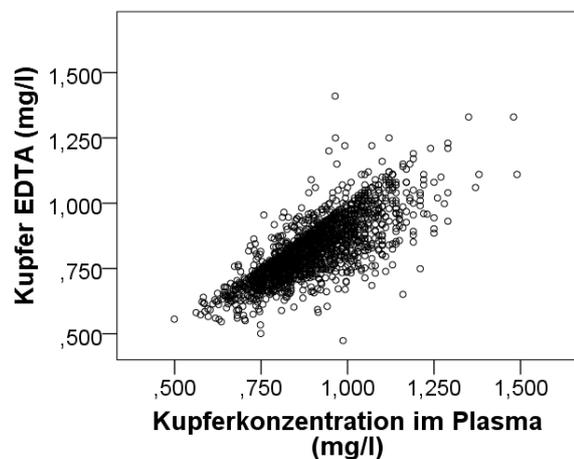


Abbildung 23: Streudiagramm der Kupferkonzentration im Plasma und EDTA - Vollblut ($r_s=0,782^{**}$; $p=0,001$; $N=1559$)

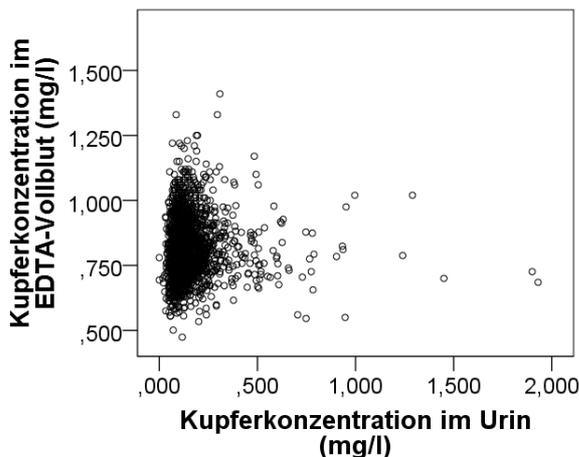


Abbildung 24: Streudiagramm der Kupferkonzentration im Urin und EDTA-Vollblut ($r_s=0,073^{**}$; $p=0,004$; $N=1551$)

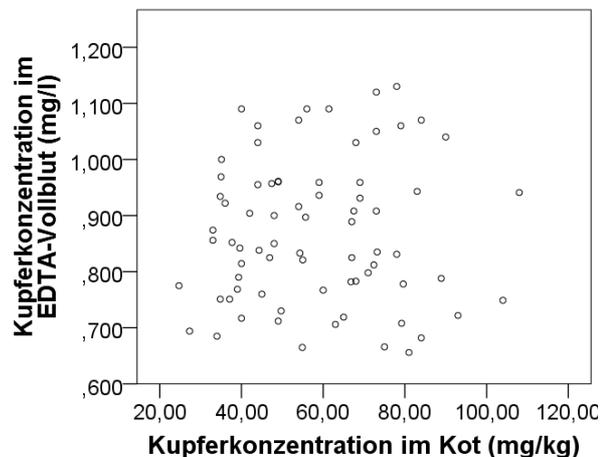


Abbildung 25: Streudiagramm der Kupferkonzentration im Kot und EDTA-Vollblut ($r_s=0,028$; $p=0,810$; $N=74$)

4.3 Beziehung der Kupferkonzentration zu anderen Mengen- und Spurenelementen

Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman r_s in Tabelle 18 beantwortet die Frage, ob zwischen der Kupferkonzentration der jeweiligen Probenmedien und den Serummesswerten anderer Mengen- oder Spurenelemente ein signifikanter Zusammenhang besteht. Auffällig hierbei ist, dass die Serumkupferkonzentration mit allen aufgeführten Elementen signifikant korreliert. Die Korrelationen zwischen Serumkupfer und Serumkalzium ($r_s = 0,245^{**}$) bzw. Serumschwefel ($r_s = 0,231^{**}$) sind am stärksten. Signifikant negative Zusammenhänge sind in der Minderheit, wobei Eisen als einziges Element ausschließlich negative signifikante Korrelationen ausbildet. Sie bestehen zwischen Serumeisen und den Kupferkonzentrationen in Serum, Plasma und Haar. Von den übrigen Elementen bilden Kalzium, Schwefel und Molybdän negative Korrelationen aus. Sie befinden sich zwischen Serumkalzium und der Kupferkonzentration im Kot sowie zwischen Serumschwefel bzw. Serum-molybdän und der Kupferkonzentration im Urin. Grundsätzlich lässt sich allerdings feststellen, dass r_s lediglich Werte $< 0,5$, mehrheitlich sogar $< 0,2$ annimmt, was die vorhandenen signifikanten Korrelationen allesamt als geringfügig einstuft.

Tabelle 18: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und den Serumgehalten anderer Spuren- und Mengenelemente

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Kalzium	r_s	0,245**	0,179**	0,201*	-0,021	0,040	-0,238*
Serum	p	0,001	0,001	0,001	0,414	0,301	0,041
(mg/l)	N	1574	1571	1559	1566	683	74
Schwefel	r_s	0,231**	0,166**	0,243	-0,076**	0,119**	0,032
Serum	p	0,001	0,001	0,001	0,006	0,002	0,786
(µg/l)	N	1307	1304	1294	1303	678	74
Molybdän	r_s	0,093**	-0,009	-0,087	-0,079**	-0,072	0,102
Serum	p	0,001	0,746	0,002	0,005	0,105	0,387
(µg/l)	N	1235	1233	1222	1227	510	74
Eisen	r_s	-0,106**	-0,144**	-0,098	0,031	-0,109**	0,101
Serum	p	0,001	0,001	0,001	0,213	0,004	0,391
(µg/l)	N	1574	1571	1559	1566	683	74
Mangan	r_s	0,196**	0,160**	0,188	-0,046	0,089*	-0,099
Serum	p	0,001	0,001	0,001	0,067	0,020	0,400
(µg/l)	N	1572	1569	1557	1564	683	74

r_s = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p = Signifikanz; N =Stichprobenanzahl;

** Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant (zweiseitig);

* Korrelation ist auf dem Niveau 0,05 von signifikant (zweiseitig).

4.4 Beziehung der Kupferkonzentration zu chemischen Blutparametern

Tabelle 19 stellt eine Übersicht über die statistisch signifikanten Zusammenhänge zwischen der Kupferkonzentration in den beprobten Medien und der Serumkonzentration ausgewählter chemischer Blutparameter dar. Zwischen den Kupferkonzentrationen in allen drei Blutprobenmedien (Serum, Plasma, EDTA-Vollblut) und den Messwerten von Bilirubin, Gallensäuren und den Enzymen GLDH, AST, GGT finden sich ausschließlich positive signifikante Korrelationen, wobei die Korrelation zwischen Serumkupfer und AST am höchsten ist (0,282**). AP bildet mit Serumkupfer und Haarkupfer sehr geringe, negative signifikante Korrelationen aus. Zwischen dem Kupfergehalt im Kot und den Serummesswerten der aufgeführten Parameter besteht kein signifikanter Zusammenhang.

Tabelle 19: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und chemischen Blutparametern

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Bilirubin gesamt (μmol/l)	r_s	0,064*	0,187**	0,180**	0,028	0,062	0,020
	p	0,011	0,001	0,001	0,263	0,102	0,862
	N	1570	1568	1556	1606	692	78
Gallensäuren (μmol/l)	r_s	0,248**	0,187**	0,184**	-0,032	0,126**	-0,196
	p	0,001	0,001	0,001	0,203	0,001	0,086
	N	1572	1570	1558	1608	693	78
GLDH (U/l)	r_s	0,245**	0,125**	0,168**	-0,055**	0,130**	-0,024
	p	0,001	0,001	0,001	0,026	0,001	0,836
	N	1572	1570	1558	1608	693	78
AST (U/l)	r_s	0,282**	0,280**	0,231**	0,009	0,141**	-0,102
	p	0,001	0,001	0,001	0,731	0,001	0,373
	N	1572	1570	1558	1608	693	78
GGT (U/l)	r_s	0,264**	0,151**	0,164**	-0,088**	0,161**	-0,015
	p	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,895
	N	1572	1570	1558	1608	693	78
AP (U/l)	r_s	-0,077**	-0,040	0,004	-0,027	-0,134**	0,039
	p	0,002	0,109	0,877	0,279	0,001	0,736
	N	1572	1570	1558	1608	693	78

** Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant (zweiseitig).

* Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 signifikant (zweiseitig).

4.5 Beziehung der Kupferkonzentration zu Parametern des Blutbildes

Die Ergebnisse der Korrelationsanalyse zwischen der Kupferkonzentration in den einzelnen Probenmedien und den Standardparametern des Blutbildes sind in Tabelle 20 dargestellt. Die Erythrozytenzahl sowie damit assoziierte Parameter wie Hämatokrit und Hämoglobinkonzentration weisen allesamt negative signifikante Korrelationen mit der Kupferkonzentration in den Blutprobenmedien (Serum, Plasma, EDTA-Vollblut) und im Haar auf, die Thrombozytenzahl hingegen positive. Die Leukozytenkonzentration korreliert nur in sehr geringem Maße signifikant mit Kupfer in Plasma und EDTA-Vollblut.

Tabelle 20: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und Parametern des Blutbildes

		Kupfer Serum mg/l	Kupfer Plasma mg/l	Kupfer EDTA mg/l	Kupfer Urin mg/l	Kupfer Haar mg/kg	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Erythrozyten (T/l)	r_s	-0,157**	-0,173**	-0,139**	-0,074**	-0,094*	0,135
	p	0,001	0,001	0,001	0,003	0,014	0,240
	N	1561	1559	1547	1600	687	78
Hämatokrit (%)	r_s	-0,220**	-0,138**	-0,178**	0,119**	-0,161**	0,237*
	p	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,037
	N	1571	1569	1557	1608	693	78
Hämoglobin (g/l)	r_s	-0,106**	-0,140**	-0,136**	-0,066**	-0,174**	0,235*
	p	0,001	0,001	0,001	0,008	0,001	0,038
	N	1571	1569	1557	1608	693	78
Thrombozyten (G/l)	r_s	0,265**	0,219**	0,140**	-0,062*	0,146**	-0,214
	p	0,001	0,001	0,001	0,014	0,001	0,060
	N	1536	1534	1522	1578	677	78
Leukozyten (G/l)	r_s	-0,033	-0,076**	-0,062*	0,009	-0,048	0,004
	p	0,201	0,003	0,015	0,716	0,211	0,970
	N	1532	1530	1518	1574	675	78

** Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant (zweiseitig).

* Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 signifikant (zweiseitig).

4.6 Beziehung der Kupferkonzentration zu Produktions- und Fruchtbarkeitskennzahlen

Der Kupferstatus korreliert in überwiegend sehr geringem Maße mit Produktions- und Fruchtbarkeitskennzahlen. Die meisten signifikanten Korrelationen bildet die Zellzahl aus, und zwar mit den Kupferkonzentrationen in Serum, Plasma und EDTA-Vollblut. Die Milchleistung korreliert lediglich mit dem Kupfergehalt im Urin signifikant. Unter den Fruchtbarkeitsparametern fällt auf, dass die Zwischentragezeit, die Zwischenkalbezeit und die Rastzeit ausschließlich negative signifikante Korrelationen mit dem Kupferstatus bestimmter Untersuchungsmedien ausbilden: die Zwischentragezeit mit Kupfer in EDTA-Vollblut und Kot, die Zwischenkalbezeit mit Kupfer im Urin und die Rastzeit mit dem Kupfergehalt im Kot. Der Besamungsindex korreliert signifikant positiv mit Kupfer in Haar und Urin.

Tabelle 21: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und Produktions- und Fruchtbarkeitsparametern

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
ML (kg)	r_s	0,033	0,026	0,037	0,065**	-0,067	-0,056
	p	0,207	0,318	0,163	0,005	0,093	0,633
	N	1442	1439	1427	1862	636	76
Zellzahl (1000/ml)	r_s	0,073**	0,129**	0,094**	-0,032	-0,013	-0,135
	p	0,005	0,001	0,001	0,164	0,746	0,259
	N	1454	1452	1440	1879	636	72
ZTZ (Tage)	r_s	-0,033	-0,047	-0,068*	-0,019	0,013	-0,333**
	p	0,221	0,084	0,013	0,437	0,748	0,004
	N	1367	1365	1356	1766	601	74
ZKZ (Tage)	r_s	-0,022	0,006	0,001	-0,049*	0,052	-0,012
	p	0,416	0,824	0,983	0,035	0,197	0,922
	N	1405	1402	1393	1813	617	74
BI	r_s	-0,003	0,034	0,043	0,091**	0,088*	-0,118
	p	0,920	0,204	0,116	0,001	0,032	0,316
	N	1368	1366	1357	1764	598	74
RZ (Tage)	r_s	-0,005	0,010	-0,021	-0,003	-0,064	-0,303**
	p	0,867	0,704	0,438	0,888	0,114	0,008
	N	1390	1388	1379	1794	610	76

** Korrelation ist auf Niveau von 0,01 signifikant (zweiseitig); * Korrelation ist auf Niveau von 0,05 signifikant (zweiseitig); Herdenparameter: ML=durchschnittliche Jahresmilchleistung im Betrieb, Zellzahl=durchschnittlicher Zellgehalt der Milch, ZTZ=Zwischentragezeit, ZKZ=Zwischenkalbezeit, BI=Besamungsindex, RZ=Rastzeit

4.7 Einfluss verschiedener Faktoren auf den Kupfergehalt im Probenmedium

4.7.1 Einfluss des Untersuchungsjahres auf den Kupfergehalt im Plasma

Tabelle 22 stellt die Mittelwerte der Plasmakupferkonzentration getrennt nach Untersuchungsjahren dar. Im Jahr 2014 war die mittlere Kupferkonzentration mit 0,933 mg/l am höchsten, im Jahr 2007 mit 0,832 mg/l am niedrigsten. Zwischen den einzelnen Mittelwerten bestehen gemäß Welch-Test signifikante Unterschiede. Im Boxplot-Diagramm (Abb. 26) lässt sich von 2007 bis 2014 eine unregelmäßige, wellenförmige Dynamik der Kupferkonzentration erkennen.

Tabelle 22: Mittelwerte der Plasmakupferkonzentration getrennt nach Untersuchungsjahren

	N	Mittelwert (mg/l)	Standardfehler	95 % Konfidenzintervall für Mittelwert	
				Untergrenze	Obergrenze
2007	51	0,832	0,020	0,791	0,872
2008	301	0,892	0,008	0,876	0,909
2009	200	0,878	0,009	0,861	0,895
2010	230	0,928	0,008	0,913	0,944
2011	194	0,894	0,009	0,877	0,911
2012	205	0,910	0,009	0,892	0,927
2013	188	0,872	0,008	0,855	0,888
2014	202	0,933	0,010	0,913	0,952
Gesamt	1571	0,899	0,003	0,892	0,906

N=Anzahl der Fälle; Welch-Test: $W=7,79$, $p < 0,001$

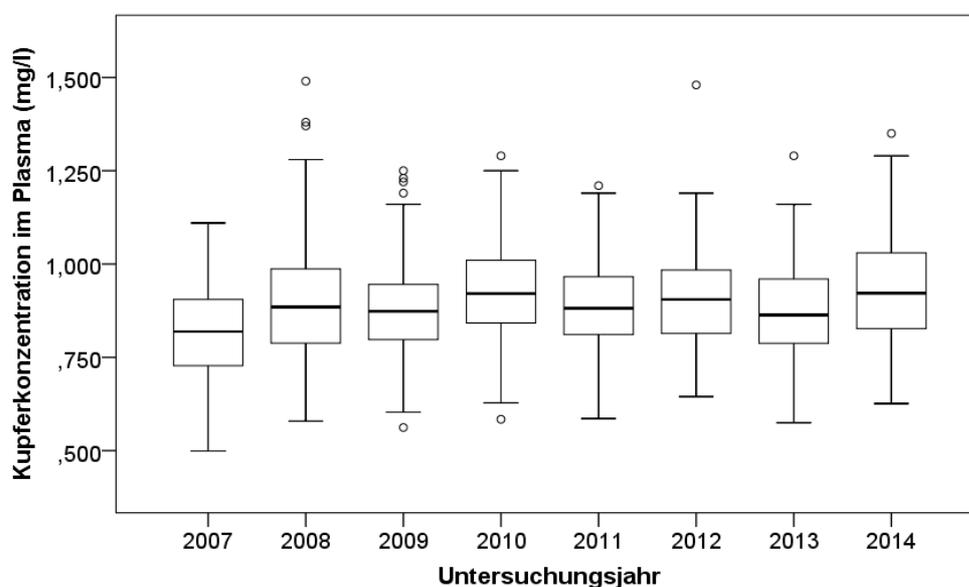


Abbildung 26: Boxplot-Diagramm zum Vergleich der Kupferkonzentration in den einzelnen Untersuchungsjahren

4.7.2 Einfluss der Jahreszeit auf den Kupfergehalt im Plasma

Wie Tabelle 23 zeigt, gibt es auch in Abhängigkeit von der jeweiligen Jahreszeit statistisch signifikante Unterschiede zwischen mittleren Kupferkonzentrationen im Plasma der untersuchten Kühe. So ist der Mittelwert im ersten Quartal (Januar bis März) signifikant niedriger als im zweiten (April bis Juni) und vierten Quartal (Oktober bis Dezember). Der Mittelwert des vierten Quartals ist am höchsten, was sich auch im Boxplot-Diagramm (Abb. 27) widerspiegelt. Er unterscheidet sich damit zusätzlich signifikant von der mittleren Kupferkonzentration im 3. Quartal.

Tabelle 23: Mittelwerte der Kupferkonzentration im Plasma getrennt nach Jahreszeiten

	N	Mittelwert (mg/l)	Standardfehler	95 % Konfidenzintervall für Mittelwert	
				Untergrenze	Obergrenze
Januar-März	275	0,873 ^a	0,009	0,856	0,890
April-Juni	528	0,900 ^{b,c}	0,005	0,889	0,910
Juli-September	321	0,893 ^{a,b}	0,007	0,879	0,906
Oktober-Dezember	447	0,919 ^c	0,007	0,906	0,932
Gesamt	1571	0,899	0,003	0,892	0,906

N=Anzahl der Fälle; Welch-Test: $W=6,9$, $p < 0,001$; Post-Hoc-Test Bonferroni: $p < 0,05$, Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten sind durch unterschiedliche Kleinbuchstaben gekennzeichnet.

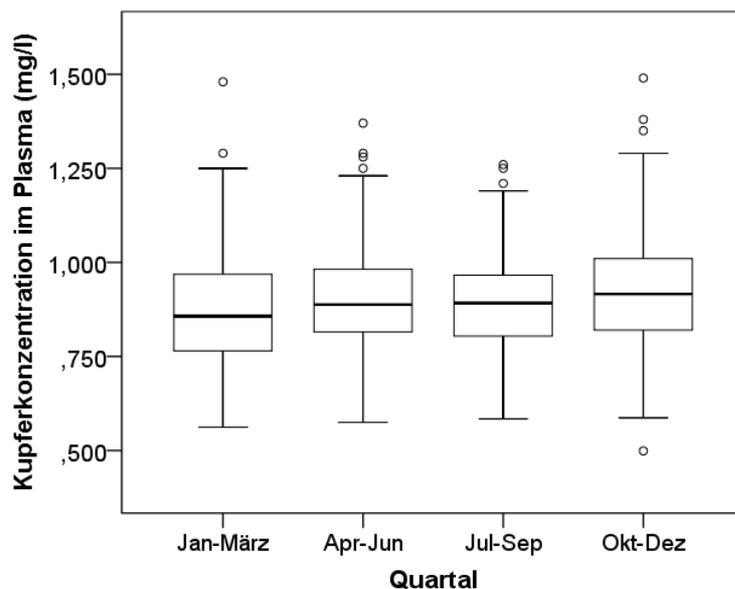


Abbildung 27: Boxplot-Diagramm zum Vergleich der Kupferkonzentration in den verschiedenen Jahreszeiten

4.7.3 Einfluss des Bundeslands auf den Kupfergehalt im Plasma

Wie in Abbildung 28 graphisch dargestellt, weisen die untersuchten Milchkühe aus Sachsen-Anhalt, Sachsen, Brandenburg, und Mecklenburg-Vorpommern keine signifikanten Unterschiede in ihrem mittleren Kupferstatus auf, auch wenn der Mittelwert von Kühen aus Mecklenburg-Vorpommern mit 0,927 mg/l am höchsten ist (Tab. 24). Kühe aus Betrieben in Thüringen weisen dagegen den niedrigsten Mittelwert auf. Er unterscheidet sich signifikant von den Mittelwerten in Sachsen-Anhalt, Mecklenburg-Vorpommern und Sachsen. Der mittlere Kupferstatus von Milchkühen aus Brandenburg weist mit keinem der anderen Bundesländer signifikante Unterschiede auf.

Tabelle 24: Mittelwerte der Kupferkonzentration im Plasma getrennt nach Bundesländern

	N	Mittelwert (mg/l)	Standardfehler	95 % Konfidenzintervall für	
				Mittelwert	
				Untergrenze	Obergrenze
Sachsen-Anhalt	678	0,897 ^a	0,005	0,886	0,907
Brandenburg	306	0,895 ^{a,b}	0,007	0,881	0,909
Mecklenburg-Vorpommern	136	0,927 ^a	0,014	0,900	0,954
Sachsen	325	0,909 ^a	0,007	0,895	0,922
Thüringen	115	0,856 ^b	0,009	0,837	0,874
Gesamt	1560	0,898	0,003	0,892	0,905

N=Anzahl der Fälle; Welch-Test: $W=6,7$, $p < 0,001$; Post-Hoc-Test Bonferroni: $p < 0,05$, Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten sind durch unterschiedliche Kleinbuchstaben gekennzeichnet.

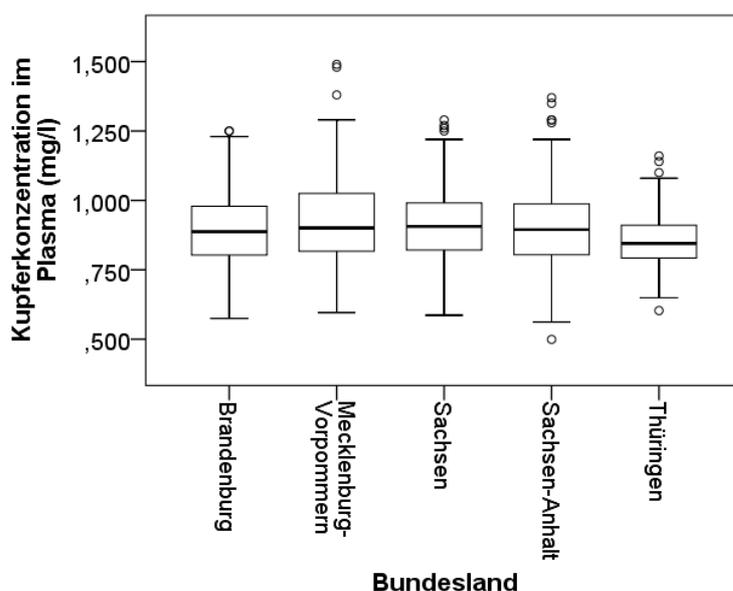


Abbildung 28: Boxplot-Diagramm zum Vergleich der Kupferkonzentration in den verschiedenen Bundesländern

4.7.4 Einfluss des Laktationsstadiums auf die Kupferkonzentration in den verschiedenen Probenmedien

4.7.4.1 Laktationsdynamik im Serum

Bereits bei Betrachtung des Boxplot-Diagramms (Abb. 29) wird deutlich, dass die Gruppe der Vorbereiter einen niedrigeren Kupfergehalt aufweist als die übrigen Laktationsgruppen. Mit einem Mittelwert von 0,600 mg/l unterscheidet sie sich signifikant von den Gruppenmittelwerten der früh- und der hochlaktierenden Kühe. Der mittlere Kupfergehalt innerhalb der ersten Woche p. p. erreicht den höchsten Wert (0,722 mg/l). Ab der sechsten Woche p. p. sinkt der Kupferstatus, sodass sich zwischen den Frühlaktationsgruppen (0 - 1 und 3 - 5 Wochen p .p.) und den Hochlaktationsgruppen (15 - 18 und 6 - 20 Wochen p. p.) ebenfalls ein signifikanter Unterschied ergibt.

Tabelle 25: Mittelwerte der Kupferkonzentration im Serum getrennt nach Laktationsgruppen

	N	Mittelwert (mg/l)	Standardfehler	95 % Konfidenzintervall für Mittelwert	
				Untergrenze	Obergrenze
Vorbereiter	421	0,600 ^a	0,005	0,591	0,609
0-1 Woche p.p.	305	0,722 ^b	0,006	0,710	0,735
0-5 Wochen p.p.	117	0,706 ^{b, c}	0,009	0,688	0,724
3-5 Wochen p.p.	309	0,716 ^b	0,006	0,705	0,727
15-18 Wochen p.p.	303	0,688 ^c	0,006	0,676	0,700
6-20 Wochen p.p.	116	0,672 ^c	0,008	0,655	0,689
Gesamt	1571	0,677	0,003	0,682	0,682

N=Anzahl der Fälle; ANOVA: F=73,4, p <0,001; Post-Hoc-Test Bonferroni: p<0,05, Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten sind durch unterschiedliche Kleinbuchstaben gekennzeichnet.

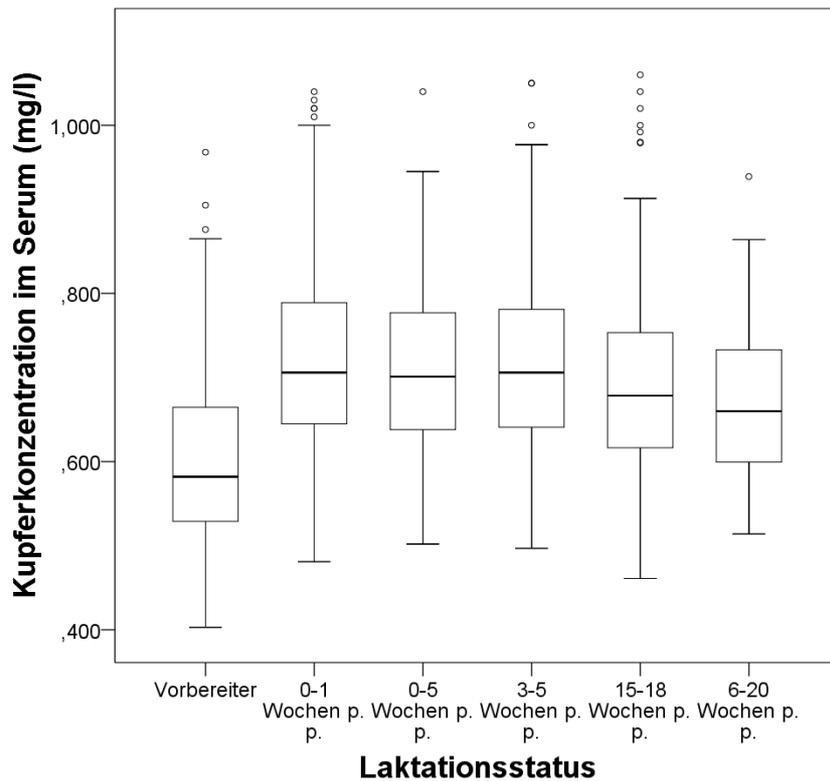


Abbildung 29: Boxplot-Diagramm zum Vergleich der Serum-Kupferkonzentration bei verschiedenen Laktationsgruppen

4.7.4.2 Laktationsdynamik im Plasma

Die Laktationsdynamik im Plasma ähnelt derjenigen im Serum. Wieder weist die Gruppe der Vorbereiter einen signifikant niedrigeren Kupferstatus auf als die Gruppen der früh- und hochlaktierenden Kühe. Der höchste Mittelwert (0,978 mg/l, Tab. 26) findet sich erneut in der ersten Laktationswoche. Er unterscheidet sich im Plasma zudem signifikant von allen anderen Gruppen, was in Abbildung 30 durch die erhöhte Lage des Boxplots graphisch dargestellt wird. Weitere signifikante Unterschiede bestehen zwischen der mittleren Kupferkonzentration frühlaktierender Kühe (3 - 5 Wochen p. p.) und Kühen in der Hochlaktation (15 - 18 und 6 - 20 Wochen p. p.).

Tabelle 26: Mittelwerte der Kupferkonzentration im Plasma getrennt nach Laktationsgruppen

	N	Mittelwert (mg/l)	Standardfehler	95 % Konfidenzintervall für Mittelwert	
				Untergrenze	Obergrenze
Vorbereiter	420	0,819 ^a	0,005	0,808	0,830
0-1 Woche p.p.	305	0,978 ^b	0,008	0,963	0,994
0-5 Wochen p.p.	117	0,928 ^{c,d}	0,011	0,906	0,949
3-5 Wochen p.p.	309	0,928 ^c	0,007	0,915	0,941
15-18 Wochen p.p.	302	0,892 ^d	0,007	0,879	0,906
6-20 Wochen p.p.	116	0,889 ^d	0,010	0,868	0,909
Gesamt	1569	0,899	0,003	0,892	0,906

N=Anzahl der Fälle; Welch-Test: $W=67,76$, $p < 0,001$; Post-Hoc-Test Bonferroni: $p < 0,05$, Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten sind durch unterschiedliche Kleinbuchstaben gekennzeichnet.

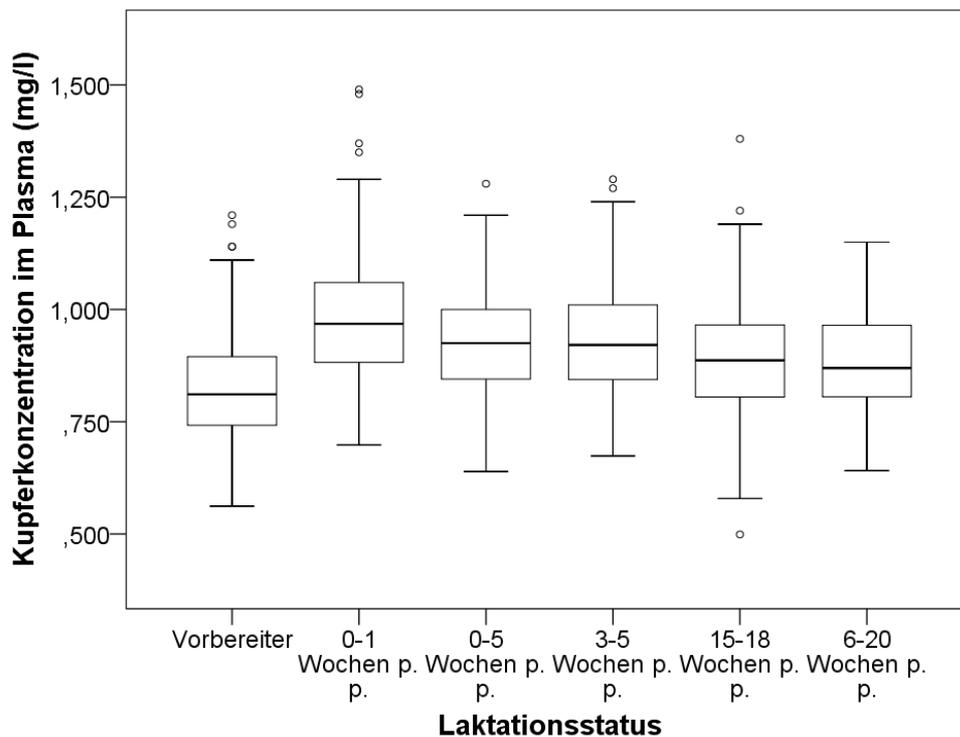


Abbildung 30: Boxplot-Diagramm zum Vergleich der Plasma-Kupferkonzentration bei verschiedenen Laktationsgruppen

4.7.4.3 Laktationsdynamik im EDTA-Vollblut

Im EDTA-Vollblut findet sich der signifikant niedrigste Mittelwert erneut bei der Gruppe der Vorbereiter. Frischmelker (0 - 1 Woche p. p.) weisen mit 0,870 mg/l die höchste durchschnittliche Kupferkonzentration auf. Diese unterscheidet sich jedoch nur vom Mittelwert

der Hochleistungsgruppen (15 - 18 und 6 - 20 Wochen p. p.) signifikant. Die übrigen Früh-laktationsgruppen (0 - 5 und 3 - 5 Wochen p. p.) und die Hochleistungsgruppen zeigen im EDTA-Vollblut keine signifikanten Unterschiede. Ihre Boxplots unterscheiden sich, wie in Abbildung 31 erkennbar, nur gering in ihrer Lage.

Tabelle 27: Mittelwerte der Kupferkonzentration im EDTA-Vollblut getrennt nach Laktationsgruppen

	N	Mittelwert (mg/kg)	Standardfehler	95 % Konfidenzintervall für	
				Mittelwert	
				Untergrenze	Obergrenze
Vorbereiter	417	0,759 ^a	0,005	0,749	0,769
0-1 Woche p.p.	302	0,870 ^b	0,007	0,856	0,884
0-5 Wochen p.p.	116	0,843 ^{b,c}	0,011	0,821	0,865
3-5 Wochen p.p.	307	0,851 ^{b,c}	0,006	0,839	0,864
15-18 Wochen p.p.	300	0,828 ^c	0,007	0,815	0,842
6-20 Wochen p.p.	115	0,828 ^c	0,011	0,806	0,851
Gesamt	1557	0,824	0,003	0,818	0,830

N=Anzahl der Fälle; ANOVA, $F=40,5$, $p < 0,001$; Post-Hoc-Test Bonferroni: $p < 0,05$, Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten sind durch unterschiedliche Kleinbuchstaben gekennzeichnet.

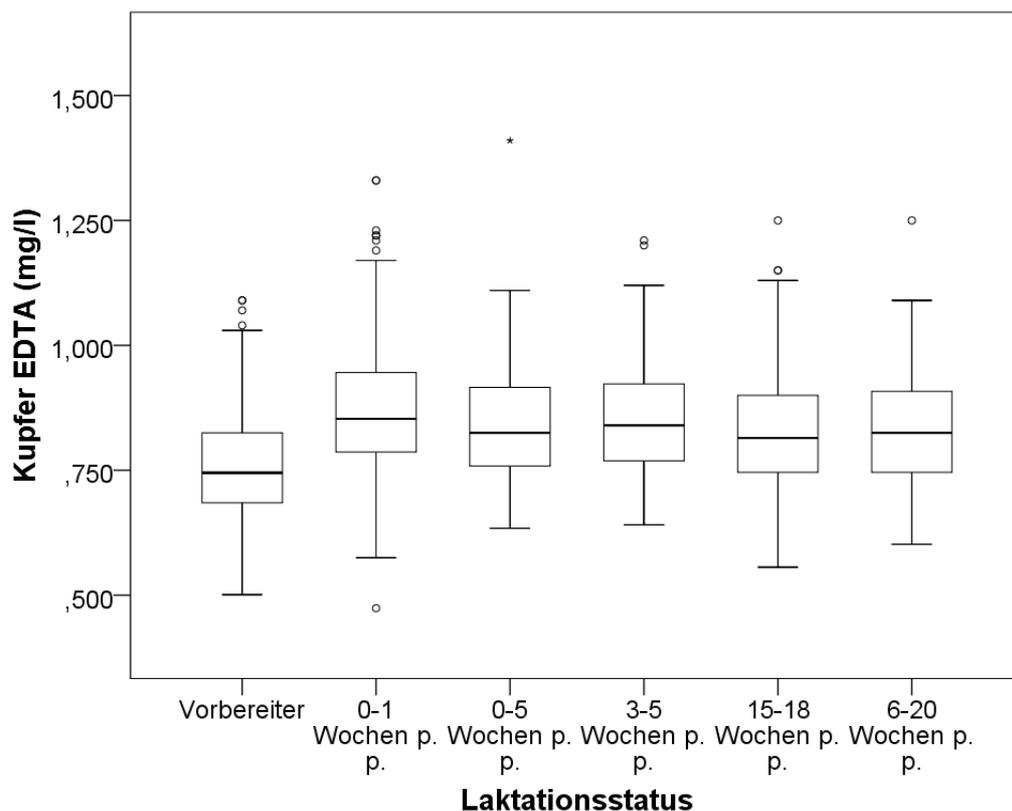


Abbildung 31: Boxplot-Diagramm zum Vergleich der EDTA-Vollblut-Kupferkonzentration bei verschiedenen Laktationsgruppen

4.7.4.4 Laktationsdynamik im Haar

Wie bei den Blutprobenmedien weist auch beim Haar die Gruppe der Vorbereiter den signifikant niedrigsten Mittelwert auf (8,3 mg/kg). Die höchste mittlere Kupferkonzentration (8,9 mg/kg) findet sich dagegen nicht bei den früh-, sondern den hochlaktierenden Kühen, wobei der Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen nicht signifikant ist. Abbildung 32 stellt die Laktationsdynamik im Haar graphisch dar. Auffällig ist die ausgeprägte Streuung der Werte, v.a. in der Gruppe der Vorbereiter und der Frühlaktationsgruppe (3 - 5 Wochen p. p.) mit Extremwerten der Kupferkonzentration nahe 80 mg/kg.

Tabelle 28: Mittelwerte der Kupferkonzentration im Haar getrennt nach Laktationsgruppen

	N	Median (mg/kg)	Perzentile	
			25	75
Vorbereiter	348	8,3 ^a	7,3	9,5
3-5 Wochen p.p.	253	8,8 ^b	7,7	10,6
6-20 Wochen p.p.	91	8,9 ^b	7,9	12,7
Gesamt	692			

N=Anzahl der Fälle; Kruskal-Wallis-Test-Wert=22,9, $p < 0,001$; Post-Hoc-Test Bonferroni: $p < 0,05$, Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten sind durch unterschiedliche Kleinbuchstaben gekennzeichnet.

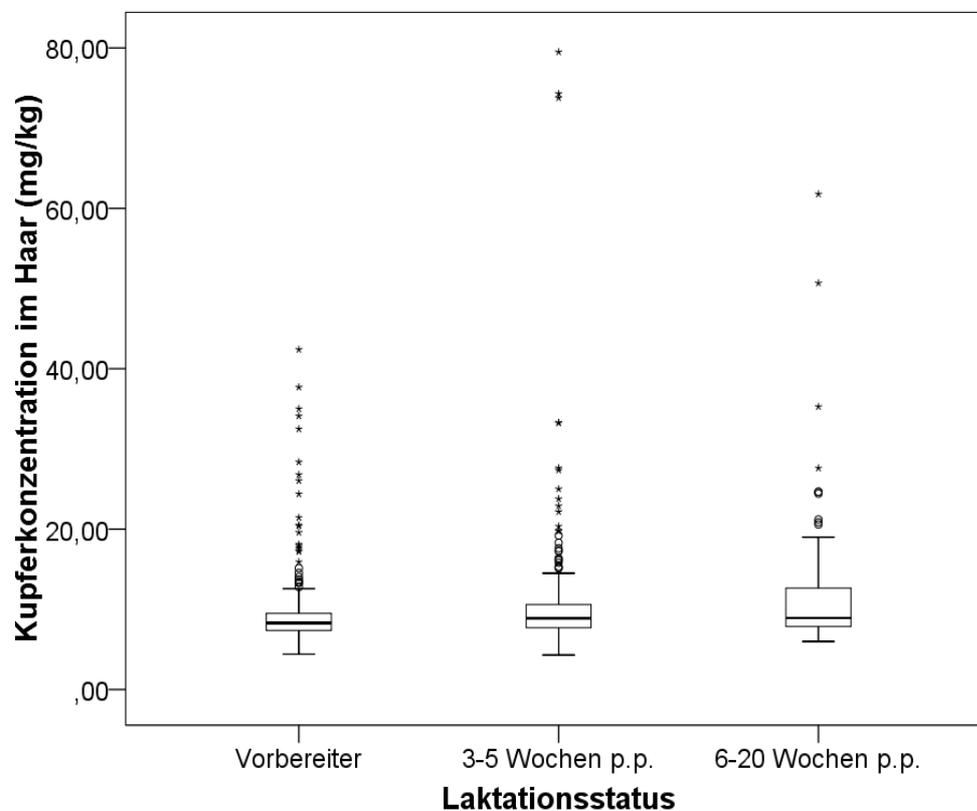


Abbildung 32: Boxplot-Diagramm zum Vergleich der Kupferkonzentration im Haar bei verschiedenen Laktationsgruppen

4.7.4.5 Laktationsdynamik im Urin

Tabelle 29 stellt die logarithmierte mittlere Kupferkonzentration der einzelnen Laktationsgruppen im Urin dar. Statistisch signifikante Unterschiede finden sich nur zwischen Vorbereitern und Frischmelkern auf der einen Seite und hochlaktierenden Kühen zwischen der 15. und 18. Laktationswoche sowie Trockenstehern auf der anderen Seite. Die Mittelwerte aller anderen Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant, was auch in Abbildung 33 optisch deutlich wird, da die Lage der einzelnen Boxplots kaum variiert.

Tabelle 29: Mittelwerte der Kupferkonzentration im Urin getrennt nach Laktationsgruppen

	N	Mittelwert* (mg/l)	Standardfehler	95 % Konfidenzintervall für Mittelwert	
				Untergrenze	Obergrenze
				Trockensteher	418
Vorbereiter	428	-0,834 ^a	0,013	-0,860	-0,808
0-1 Woche p.p.	311	-0,834 ^a	0,014	-0,861	-0,807
0-5 Wochen p.p.	118	-0,871 ^{a,b}	0,024	-0,919	-0,823
3-5 Wochen p.p.	318	-0,880 ^{a,b}	0,014	-0,908	-0,853
15-18 Wochen p.p.	308	-0,908 ^b	0,013	-0,933	-0,882
6-20 Wochen p.p.	118	-0,878 ^{a,b}	0,023	-0,924	-0,833
Gesamt	2019	-0,876	0,006	-0,887	-0,865

N=Anzahl der Fälle; *logarithmiert; ANOVA, $F=7,1$, $p < 0,001$; Post-Hoc-Test Bonferroni: $p < 0,05$, Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten sind durch unterschiedliche Kleinbuchstaben gekennzeichnet.

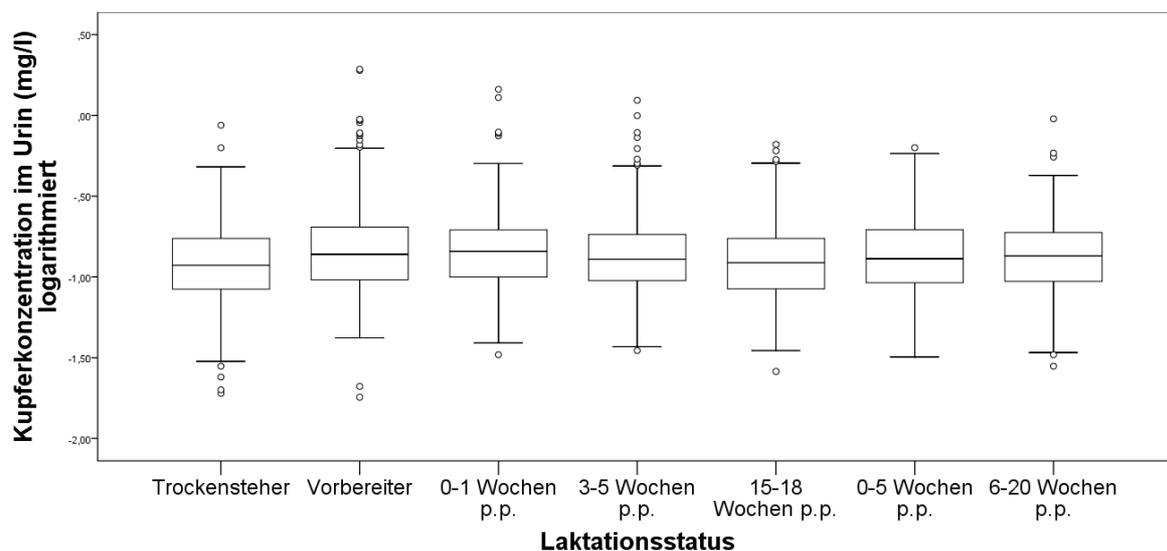


Abbildung 33: Boxplot-Diagramm zum Vergleich der Kupferkonzentration im Urin bei verschiedenen Laktationsgruppen

4.7.4.6 Laktationsdynamik im Kot

Die Mittelwerte der Kupferkonzentration im Kot sind für die einzelnen Laktationsgruppen in Tabelle 30 aufgeführt. Sie variieren zwischen 43,2 mg/kg bei Kühen in der 6. - 20. Laktationswoche und 62,0 mg/kg bei den Vorbereitern. Die Schwankungen sind in Abbildung 34 graphisch dargestellt. Statistisch signifikant sind die Unterschiede zwischen den Laktationsgruppen jedoch nicht.

Tabelle 30: Mittelwerte der Kupferkonzentration im Kot getrennt nach Laktationsgruppen

	N	Mittelwert (mg/kg)	Standardfehler	95 % Konfidenzintervall für Mittelwert	
				Untergrenze	Obergrenze
Vorbereiter	38	62,0	3,268	55,4	68,6
3-5 Wochen p.p.	12	52,2	5,131	40,9	63,5
15-18 Wochen p.p.	21	58,2	3,666	50,5	65,8
6-20 Wochen p.p.	7	43,2	3,677	34,2	52,2
Gesamt	78	57,8	2,129	53,6	62,0

N=Anzahl der Fälle; ANOVA, $F=2,5$, $p > 0,064$

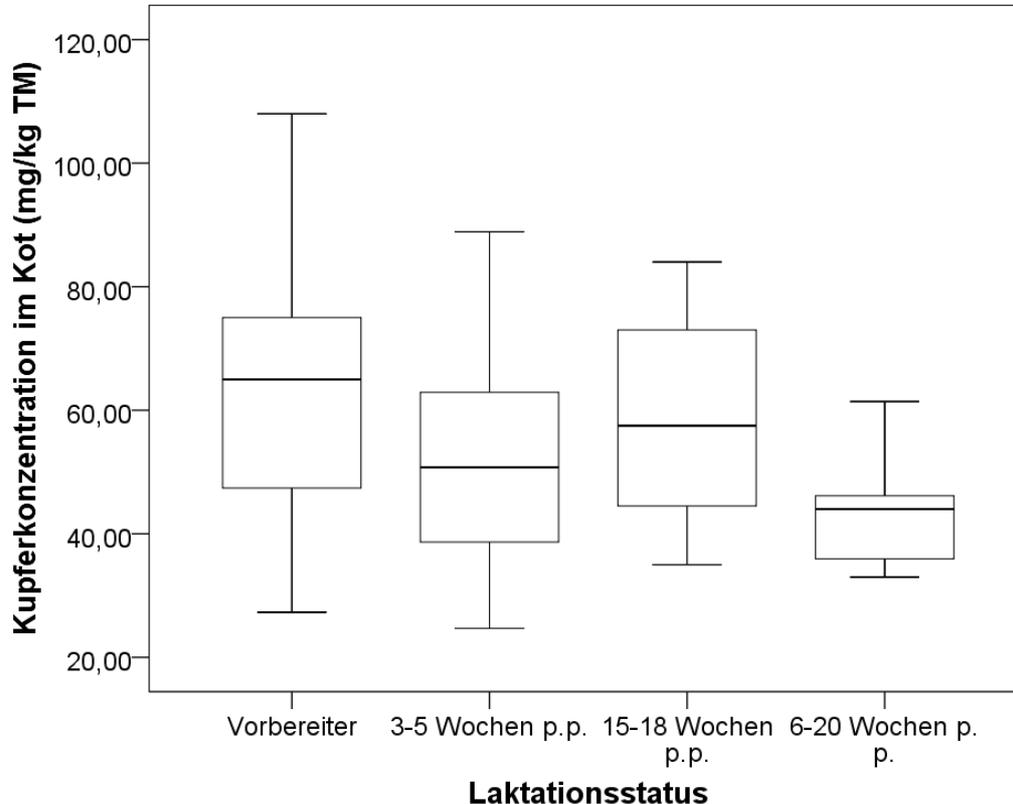


Abbildung 34: Boxplot-Diagramm zum Vergleich der Kupferkonzentration im Kot bei verschiedenen Laktationsgruppen

4.8 Berechnung von Referenzwerten

In den Tabellen 31 bis 34 sind die berechneten Referenzwerte für die jeweiligen Untersuchungsmedien nach Laktationsgruppen aufgeschlüsselt dargestellt und zu empfohlenen Referenzbereichen für Vorbereiter, früh- und hochlaktierende Kühe zusammengefasst. Die laktationsgruppenunabhängig berechneten Referenzbereiche für die Kupferkonzentration in Urin und Kot finden sich in Tabelle 35.

4.8.1 Referenzbereiche für Kupferkonzentration in Serum, Plasma und Vollblut

Bei den Blutprobenmedien liegt der Referenzbereich für die Kupferkonzentration im Plasma im Vergleich am höchsten und im Serum am niedrigsten. Vorbereiter weisen jeweils die geringsten Grenzwerte auf, frühlaktierende Kühe die höchsten. Während der Hochlaktation sinkt der Referenzbereich wieder auf ein niedrigeres Niveau ab.

Tabelle 31: Referenzbereich für die Kupferkonzentration im Serum

Stadium der Laktation	Intervall zwischen 2,5%- und 97,5%- Perzentil (mg/l)	Referenzbereich	
		Stadium der Laktation	Referenzwerte (µg/l)
Vorbereiter	0,457 - 0,813	Vorbereiter	457 - 813
0-1 Woche p.p.	0,542 - 0,993	Frühlaktation	542 - 993
0-5 Wochen p.p.	0,552 - 0,896		
3-5 Wochen p.p.	0,551 - 0,927		
15-18 Wochen p.p.	0,490 - 0,939	Hochlaktation	490 - 939
6-20 Wochen p.p.	0,529 - 0,860		
Gesamt	0,482 - 0,916	Gesamt	482 - 916

N ist Tab. 25 aus Kap. 4.7.4.1 zu entnehmen.

Tabelle 32: Referenzbereich für die Kupferkonzentration im Plasma

Stadium der Laktation	Intervall zwischen 2,5%- und 97,5%- Perzentil (mg/l)	Referenzbereich	
		Stadium der Laktation	Referenzwerte (µg/l)
Vorbereiter	0,617 - 1,055	Vorbereiter	617 - 1055
0-1 Woche p.p.	0,753 - 1,271	Frühlaktation	713 - 1271
0-5 Wochen p.p.	0,713 - 0,182		
3-5 Wochen p.p.	0,736 - 1,173		
15-18 Wochen p.p.	0,675 - 1,130	Hochlaktation	675 - 1130
6-20 Wochen p.p.	0,686 - 1,120		
Gesamt	0,664 – 1,177	Gesamt	664 - 1177

N ist Tab. 26 aus Kap. 4.7.4.2 zu entnehmen.

Tabelle 33: Referenzbereich für die Kupferkonzentration im EDTA-Vollblut

Stadium der Laktation	Intervall zwischen 2,5%- und 97,5%- Perzentil (mg/l)	Referenzbereich	
		Stadium der Laktation	Referenzwerte (µg/l)
Vorbereiter	0,571 - 0,970	Vorbereiter	571 - 970
0-1 Woche p.p.	0,656 - 1,179	Frühlaktation	656 - 1179
0-5 Wochen p.p.	0,671 - 1,101		
3-5 Wochen p.p.	0,669 - 1,086		
15-18 Wochen p.p.	0,627 - 1,110	Hochlaktation	627 - 1110
6-20 Wochen p.p.	0,633 - 1,081		
Gesamt	0,617 – 1,080	Gesamt	617 - 1080

N ist Tab. 27 aus Kap. 4.7.4.3 zu entnehmen.

4.8.2 Referenzbereich für die Kupferkonzentration im Haar

Wie in Tabelle 34 ersichtlich wird, weisen, anders als bei den Blutprobenmedien, Kühe in der Hochlaktation den höchsten Referenzbereich für die Haarkupferkonzentration auf. Bei Vorbereitern sind die Grenzwerte wiederum am niedrigsten.

Tabelle 34: Referenzbereich für die Kupferkonzentration im Haar

Stadium der Laktation	Intervall zwischen 2,5%- und 97,5%- Perzentil (mg/kg)	Referenzbereich	
		Stadium der Laktation	Referenzwerte (mg/kg)
Vorbereiter	5,8 - 24,8	Vorbereiter	5,8 - 24,8
3-5 Wochen p.p.	6,0 - 27,5	Früh- und Hochlaktation	6,0 - 46,1
6-20 Wochen p.p.	6,3 - 46,1		
Gesamt	6,0 - 27,2	Gesamt	6,0 - 27,2

N ist Tab. 28 aus Kap. 4.7.4.4 zu entnehmen.

4.8.3 Referenzbereich für die Kupferkonzentration in Urin und Kot

Tabelle 35 zeigt die berechneten Referenzbereiche für Urin und Kot. Es fällt auf, dass im Urin die Spannweite zwischen den Grenzwerten im Verhältnis deutlich größer ist als bei den anderen Untersuchungsmedien.

Tabelle 35: Empfohlener Referenzbereich für die Kupferkonzentration in den Ausscheidungsprodukten Urin und Kot für alle Laktationsgruppen

Medium	Einheit	Intervall zwischen 2,5%- und 97,5%- Perzentil	Referenzbereich
			Referenzwerte
Urin	(µg/l)	46,00 – 495,40	46 - 495
Kot	(mg/kg TM)	27,2 - 104,1	27,2 - 104,1

N Urin = 2031; N Kot = 78

5 Diskussion

5.1 Material und Methoden

Für die diagnostische Auswertung der Proben wurden anstelle von Einzeltierproben gepoolte Proben verwendet. Manche Autoren sehen die Eignung von Poolproben zur Einschätzung des Kupferstatus einer Herde kritisch, da hiermit unweigerlich ein gewisser Detail- und Informationsverlust zum Kupferstatus von Einzeltieren verbunden ist (Laven et al. 2007, Guyot et al. 2009). Jedoch lässt sich in der Praxis ein Herdenmonitoring nur verwirklichen, wenn die Diagnostik in bezahlbarem Rahmen bleibt und so die Motivation für den Betrieb, in Routineuntersuchungen zur Herdengesundheit zu investieren, möglichst hoch gehalten wird. Heggemann (2013) verglich in seiner Studie die Gruppenmittelwerte von Einzeltierproben mit Poolproben, die aus dem Plasma derselben Einzeltiere hergestellt worden waren. Er stellte dabei keine signifikanten Unterschiede zwischen den mittleren Kupferkonzentrationen der Gruppenmittel- und Poolwerte fest. Im Rahmen der Herdendiagnostik scheint die Verwendung von Poolproben also geeignet, um den Kupferstatus einer Herde zuverlässig zu beschreiben.

5.2 Vergleich der ermittelten Kupferkonzentrationen mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen

Tabelle 36 vergleicht die Untersuchungsergebnisse zur Kupferkonzentration in den einzelnen Probenmedien mit den Resultaten vorangegangener Untersuchungen. Trotz geringfügiger Unterschiede folgen die Werte eindeutig denselben Tendenzen und können daher stimmig miteinander in Relation gesetzt werden. Im Wesentlichen bestätigt die vorliegende Studie die Untersuchungsergebnisse der anderen aufgeführten Autoren.

Tabelle 36: Vergleich der ermittelten Kupferkonzentrationen mit den Untersuchungsergebnissen anderer Studien

Autoren		Kupferkonzentration in den Probenmedien					
		Serum (mg/l)	Plasma (mg/l)	Vollblut (mg/l)	Haar (mg/kg)	Urin (mg/l)	Kot (mg/kg TM)
eigene Studie	N	1574	1571	1559	693	2031	78
	X_{\min}	0,403	0,499	0,474	4,3	0,000	24,7
	X_{\max}	1,060	1,490	1,410	79,5	1,930	108,0
	\bar{x}	0,677	0,899	0,824	10,241	0,160	57,794
	s	0,122	0,132	0,122	6,758	0,133	18,806
Herold (2017)	N	67	66	66	40	67	69
	X_{\min}	0,537	0,750	0,564	6,17	0,045	25
	X_{\max}	1,000	1,460	1,220	37,0	0,307	168
	\bar{x}	0,701	0,974	0,910	10,7	0,143	60,9
Ehlert (2015)	N					1441	
	X_{\min}					0,02	
	X_{\max}					0,95	
	\bar{x}					0,16	
	s					0,122	
Heggemann (2013)*	N	57	58	58	58	415	
	X_{\min}	0,487	0,688	0,548	6,9	0,010	
	X_{\max}	0,970	1,290	1,080	47,4	2,490	
	\bar{x}	0,736	0,903	0,778	11,2	0,107	
	s	0,123	0,137	0,116	6,39	0,186	
Steinhöfel et al. (2013)**	N		110				
	\bar{x}		1,04				
	s		1,53				
Spolders et al. (2008)***	N	10			10		
	\bar{x}	0,854			6,8		

* Berechnung aus Poolprobenwerten bei Serum, Plasma, Vollblut und Haar; Berechnung aus Einzelwerten bei Urin;

** Werte nach Optimierung des TMR- Kupfergehalts auf max. 150 % der Versorgungsempfehlung der GfE (2001);

*** Fütterung nach Versorgungsempfehlung der GfE (2001); N=Anzahl der Fälle; x_{\min} =Minimum; x_{\max} =Maximum; \bar{x} =Mittelwert; s=Standardabweichung

5.3 Verhalten und Korrelation der Kupferkonzentrationen in den Probenmedien

5.3.1 Serum, Plasma und Vollblut

Die höchste Kupferkonzentration im Blut wurde im Plasma gemessen, gefolgt von Vollblut und Serum, wobei Serum die niedrigsten Werte aufwies. Die Untersuchungen der in Tabelle 36 aufgeführten Autoren führten zum selben Ergebnis. Der Grund dafür liegt sehr wahrscheinlich in der unterschiedlichen Verteilung des Spurenelements im flüssigen und zellulären Bestandteil des Blutes. Wie eingangs beschrieben, kommt Kupfer im Blut zu ca. 80 % CP-gebunden vor (Laven et al. 2007), wobei jedes CP-Molekül sechs bis acht Kupferatome enthält (Blakley und Hamilton 1985). Die Multi-Kupfer-Ferroxidase gilt als dominierendes Cuproenzym im Blutplasma. Bei der Gewinnung von Serum wird CP jedoch im Fibringerinnsel des Koagulats gebunden und so dem überstehenden Serum entzogen, was zu niedrigeren Messergebnissen im Vergleich zum Plasma oder zum Vollblut führt (Paynter 1982). Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung unterstützen die Feststellungen vorangegangener Forschungsarbeiten (Kincaid et al. 1986, Laven und Livesey 2006, Laven et al. 2007, Heggemann 2013), in denen die Kupfergehalte des Serums und des Plasmas vergleichend beurteilt und diagnostisch relevante Unterschiede zwischen der mittleren Serum- und der mittleren Plasmakupferkonzentration ermittelt worden sind.

Die mittlere Position des Vollbluts auf der Rangliste der Kupferkonzentrationen im Blut ist vermutlich darin begründet, dass CP-gebundenes Kupfer im Vollblut zwar in vollem Umfang mitgemessen werden kann, im zellulären Anteil des Probevolumens, in den Erythrozyten und Leukozyten, jedoch vergleichsweise weniger Kupfer enthalten ist als im Blutplasma, das neben CP auch temporäre Kupferliganden wie die Transportproteine Albumin und α 2-Macroglobulin enthält. Dieser austauschbare Kupferpool im Plasma scheint hauptverantwortlich für die Steigerung des Gesamtkupfergehalts im Blut. Dies wird auch im Streudiagramm in Abbildung 23 deutlich. Die dargestellte gemeinsame Verteilung der Kupferkonzentrationen im Vollblut und im Plasma zeigt, dass eine Erhöhung des Vollblutgehalts mit einer überproportionalen Konzentrationserhöhung im Plasma einhergeht.

Trotz dieser Unterschiede besteht, wie die positiven mittleren bis hohen signifikanten Korrelationskoeffizienten in Tabelle 17 zeigen, ein enger Zusammenhang zwischen den Kupferkonzentrationen der einzelnen Blutprobenmedien. Dass der Zusammenhang zwischen Vollblut- und Plasmakupfer stärker ausfällt als die jeweiligen Korrelationen dieser beiden Medien mit Serum, mag am CP-gebundenem Kupfer liegen, das bei der Messung im Serum nicht berücksichtigt werden konnte.

5.3.2 Haar

Bei der Messung der Kupferkonzentration im Haar wurde mit 79,5 mg/kg ein vergleichsweise hoher Maximalwert festgestellt. In der Literatur werden für den Referenzbereich der Haarkupferkonzentration Obergrenzwerte von 32 mg/kg (Puls 1994) bis 39,9 mg/kg (Heggemann 2013) angegeben. Manche Autoren legen gar keine Obergrenze fest und geben stattdessen offene Referenzbereiche mit Werten $> 0,1$ mg/kg (Bauer et al. 2014) oder > 6 mg/kg (Dirksen et al. 2006) an (vgl. Tabelle 8). Je nachdem, welchen Referenzbereich man als Grundlage zur Beurteilung der Haarkupfermesswerte dieser Studie wählt, kommt man zu unterschiedlichen Ergebnissen: Nach Puls (1994) bestünde bei ca. 2 % der vorliegenden Sammelproben der Verdacht, dass sie von Kühen mit Hypercuprose stammen. Nach Bauer et al. (2014) hingegen lägen sie innerhalb des Normbereichs. Nach den Laborergebnissen eines Fallberichts von Staufenbiel et al. (2016) über eine mit Kupfer überversorgte Milchviehherde sind Haarkupferanalysen nicht zur Diagnose einer Kupfervergiftung geeignet. Zwischen dem unstrittigen Diagnostikum bei einer Hypercuprose, der Kupferkonzentration im Leberbioptat, und der Haarkupferkonzentration besteht zudem nach Heggemann (2013) keine signifikante Korrelation. Rückschlüsse vom Haarkupferstatus auf den Leberkupferstatus und damit auf eine subklinische Überversorgung der betroffenen Probanden können in der vorliegenden Studie nicht gezogen werden, da keine Daten zur Leberkupferkonzentration erhoben wurden. Die Korrelationsanalyse ergab signifikante positive Korrelationen zwischen dem Kupfergehalt im Haar und allen drei Blutkupferkonzentrationen. Dies mag sicher damit zusammenhängen, dass der Blutkupferpool die Quelle für die Versorgung des Haarfollikels darstellt. Als Bestandteil von Thioloxygenasen ist das Spurenelement maßgeblich an der Bildung von Disulfidbrücken innerhalb der Keratinmoleküle des Haars beteiligt und wird während des Haarwachstums in das Haar inkorporiert (Kempson et al. 2007, Suttle 2010).

5.3.3 Urin

Bei der Analyse der Kupferkonzentration im Urin wurden Werte zwischen 0,000 mg/l und 1,93 mg/l gemessen. Auch in vorangegangenen Forschungsarbeiten (vgl. Tab. 36) ging der gemessene Minimalwert gegen Null. Der Mittelwert von Ehlert (2015) stimmt mit 0,16 mg/l mit dem der vorliegenden Studie genau überein. Zwei Drittel der Messergebnisse im Urin lagen unterhalb dieses Mittelwerts. Dies unterstützt die vorherrschende Meinung in der Literatur, dass beim Rind der Ausscheidung von Kupfer über den Harn nur eine geringe Bedeutung zukommt (Suttle 2010).

Die Korrelationsanalyse ergab signifikante positive, wenn auch schwache Zusammenhänge mit der Plasma- und Vollblutkupferkonzentration. Im Streudiagramm in Abbildung 24 wird

deutlich, dass bei ansteigendem Vollblutgehalt der Gehalt im Urin nur mäßig zunimmt. Dies könnte entweder daran liegen, dass das Spurenelement Kupfer aus dem Primärharn zum Großteil rückresorbiert wird oder es aufgrund seiner Bindung an negativ geladene Plasmaproteine mit hohem Molekulargewicht wie Albumin oder als Bestandteil von CP im Glomerulum kaum filtriert werden kann.

5.3.4 Kot

Die Bestimmung der Kupferkonzentration im Kot ergab Werte zwischen 24,7 mg/kg und 108 mg/kg. Nach Herold (2017) liegen diese Ergebnisse innerhalb des physiologischen Referenzbereichs von 25 - 125 mg Kupfer pro kg Kot. Sowohl in der vorliegenden Untersuchung als auch bei Herold (2017) wurden keine signifikanten Zusammenhänge mit den übrigen Probenmedien festgestellt. In der vorliegenden Studie könnte dies einerseits mit der vergleichsweise geringen Kotprobenanzahl zusammenhängen. Andererseits ist eine Korrelation zwischen Kot und Urin, da der renalen Elimination keine besondere Bedeutung zukommt, auch nicht unbedingt zu erwarten. Ähnlich verhält es sich mit den Blutprobenmedien. Während Haarwurzel und Niere direkt mit dem Kupferpool im Blut in Verbindung stehen und daher Korrelationen von Haar und Urin mit den Blutprobenmedien nachvollziehbar sind, gelangt Kupfer über die biliäre Elimination mit der Galle in den Kot. Eine Korrelation wäre daher eher zwischen dem Kupfergehalt im Kot und dem Ursprung der Galle, dem Lebergewebe, zu erwarten als mit den Blutprobenmedien. Das Vorliegen eines solchen Zusammenhangs müsste im Rahmen einer Folgeuntersuchung überprüft werden. Er könnte wichtige Hinweise darauf liefern, ob der Kupfergehalt im Kot mit dem Kupferspeicher der Leber in Verbindung steht.

5.4 Korrelationen der Kupferkonzentration mit Blut- und Leistungsparametern

5.4.1 Korrelation mit anderen Mengen- und Spurenelementen

Auch wenn die Wirkmechanismen noch nicht bis ins Detail geklärt sind, gelten die Elemente Kalzium, Schwefel, Molybdän, Eisen und Mangan als potentielle Kupferantagonisten. Auf den ersten Blick erscheint es daher widersprüchlich, dass bei der Korrelationsanalyse zwischen dem Serumgehalt von Kupfer und den Serumgehalten nahezu aller Antagonisten positive Zusammenhänge festgestellt wurden. Lediglich Eisen bildete durchweg negative signifikante Korrelationen aus, was man damit begründen könnte, dass hohe Eisengehalte im Futter die Absorption von Kupfer im Darm stören und damit auch dessen Konzentration im Blut herabsetzen (Gould und Kendall 2011). Da die Konzentration von Spurenelementen laktationsbedingten Schwankungen unterworfen sein kann, wurde die Korrelationsanalyse

nochmals nach Laktationsgruppen aufgeteilt vorgenommen. Die Ergebnisse sind im Anhang (Tab. 38 - 43) dargestellt. Die Serumkonzentration des Antagonisten Molybdän korreliert nun nur noch in der Gruppe der Hochlaktationskühe (6 - 20 Wochen p. p.) signifikant mit dem Serumkupfergehalt. Eisen bildet in keiner Gruppe mehr negative Korrelationen aus. Diese Resultate sprechen dafür, dass die Korrelationen aufgrund des großen Stichprobenumfangs zufällig zustande gekommen sind und weniger auf einen kausalen Zusammenhang zwischen den Spurenelementkonzentrationen hinweisen. Positive Zusammenhänge, wie sie zwischen der Kupferkonzentration in den Blutprobenmedien und den Elementen Kalzium und Schwefel in nahezu allen Laktationsgruppen auftreten (Tab. 38 - 42), können dadurch zustande gekommen sein, dass die Tiere vor der Probennahme gefressen und über die Nahrung gleichmäßig Mengen- und Spurenelemente aufgenommen haben. Dies kann auf eine bedarfsgerechte Versorgung hinweisen.

5.4.2 Korrelationen mit chemischen Blutparametern

Die Parameter der Blutchemie, die für die Korrelationsanalyse ausgewählt wurden, werden in der Labordiagnostik für die Beurteilung der Lebergesundheit herangezogen. Beim Rind sind vor allem die Aktivitäten der Enzyme GLDH, GGT und AST von diagnostischer Bedeutung. Bei schweren Hepatopathien, wie sie im Zusammenhang mit chronischen Kupfervergiftungen auftreten, kann es außerdem zu einem Anstieg von Bilirubin und Gallensäuren im Blut kommen. In der vorliegenden Untersuchung wurden signifikante positive, wenn auch nur schwach ausgeprägte Korrelationen der genannten Enzyme und Substrate mit der Kupferkonzentration in den Blutprobenmedien festgestellt. Diese Korrelationen könnten indirekt über einen steigenden Kupfergehalt in der Leber zustande kommen und als Hinweis auf die Gefahr einer Leberschädigung bei übermäßiger Kupferversorgung verstanden werden. Gegen diese Interpretation sprechen jedoch die Erkenntnisse, dass erst ab Eintreten der hämolytischen Krise mit einer Kupferkonzentrationserhöhung im Blut zu rechnen ist (Hofmann 2005) und davor keine relevanten Korrelationen zwischen dem Blut- und dem Leberkupfergehalt bestehen (Heggemann 2013). Die Tiere waren bei Probennahme klinisch gesund und zeigten keinerlei Symptome einer hämolytischen Krise. Eine durch Kupferintoxikation verursachte Hepatopathie als kausale Erklärung für die signifikanten positiven Zusammenhänge zwischen Leberenzymen und Kupferkonzentration ist daher unwahrscheinlich. Zudem ist zu beachten, dass nur die GLDH als streng leberspezifisch gilt und eine Erhöhung ihrer Serumaktivität auch im Zusammenhang mit Belastungen des Energie- und Fettstoffwechsels stehen kann (Fürll et al. 2002). So kann eine Aktivitätssteigerung der GLDH und anderer Leberenzyme als Folge einer negativen Energiebilanz im peripartalen Zeitraum und dem damit verbundenen Anstieg der

Lipomobilisation und Fettinfiltration des Lebergewebes auftreten. Auch der Blutkupferspiegel kann im Rahmen einer postpartalen Akute-Phase-Reaktion durch erhöhte CP-Aktivität ansteigen (Bauer et al. 2014). Als Erklärung für die signifikant positiven Zusammenhänge zwischen dem Blutkupfergehalt und den Leberenzymen aus Tabelle 19 wäre daher auch eine indirekte Verknüpfung durch die postpartale Belastungssituation denkbar. Zur Berücksichtigung der laktationsdynamischen Schwankungen wurde zusätzlich eine nach Laktationsgruppen aufgeteilte Korrelationsanalyse vorgenommen (vgl. Tab. 44 - 49). Die Ergebnistabellen im Anhang (vgl. Tab. 45, 47) zeigen für den postpartalen Zeitraum (Gruppen der Früh-laktationskühe 0 - 1 Woche p. p. und 3 - 5 Wochen p. p.) jedoch keinerlei signifikante Zusammenhänge zwischen den Blutkupferkonzentrationen und den Serumgehalten der Leberenzyme GLDH und AST. Die AP- Aktivität weist nur in den Laktationsgruppen 3 - 5 und 15 - 18 Wochen p.p. signifikante Korrelationen mit den Blutkupferkonzentrationen auf. Die GGT-Aktivität bildet dagegen in fast allen Laktationsgruppen signifikante positive Korrelationen mit Serum-, Plasma- oder Vollblutkupfer aus, die jedoch mehrheitlich als sehr schwach einzustufen sind. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass die signifikanten Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration in den Blutprobenmedien und den Leberenzymen aus Tabelle 19 eher zufällig aufgrund der hohen Stichprobenanzahl zu Stande gekommen sind. Ein direkter kausaler Zusammenhang oder eine indirekte Verknüpfung über die Laktationsdynamik werden bezweifelt. In einer weiterführenden Untersuchung wäre es sinnvoll, die Korrelation zwischen dem Leberkupfergehalt und der Konzentration an Leberenzymen im Serum genauer zu untersuchen.

5.4.3 Korrelation mit Parametern des Blutbildes

Da Kupfer an der Blutbildung beteiligt ist und auch für die Hämoglobinsynthese eine große Bedeutung hat (Collins et al. 2010, Myint et al. 2018), wären bei der Korrelationsanalyse zwischen dem Kupfergehalt im Blut und den Parametern des Blutbildes positive Zusammenhänge zu erwarten. Wie die Ergebnisse in Tabelle 20 zeigen, bestanden in der vorliegenden Studie jedoch überwiegend negative Zusammenhänge. Um mögliche laktationsbedingte Schwankungen zu berücksichtigen, wurde die Korrelationsanalyse aufgeteilt nach Laktationsgruppen noch einmal wiederholt. Die Ergebnistabellen im Anhang (Tab. 50 - 55) zeigen, dass bis auf vereinzelte Ausnahmen alle signifikanten Zusammenhänge verschwunden sind. Daher liegt die Vermutung nahe, dass die negativen Korrelationen aufgrund des großen Datenvolumens zufällig zustande gekommen sind und keine kausale Bedeutung haben. Da der Kupferstoffwechsel eng mit dem Eisenstoffwechsel verknüpft ist und eine durch Kupfermangel ausgelöste Schwächung der Multi-Kupfer-Ferroxidasen HEP und CP die Verfügbarkeit von Eisen für die Hämoglobinsynthese reduziert (Myint et al. 2018), wäre es

überlegenwert, in einer Folgeuntersuchung mit kupferdefizitären Tieren den Zusammenhang zwischen dem Kupferspeicher in der Leber oder der Kupferkonzentration im Blut auf der einen Seite und dem Hämoglobingehalt auf der anderen Seite zu testen. Denkbar wäre auch, die Erythrozytenindizes MCV, MCH und MCHC und Parameter des Differentialblutbildes in die Korrelationsanalyse mit einzubeziehen. Derartige Korrelationsanalysen zur Aufklärung möglicher Zusammenhänge zwischen dem Kupferstatus und Veränderungen des Blutbildes speziell beim Rind fehlen bislang in der Literatur. Fütterungsversuche und Fallberichte zeigen jedoch die enge Verknüpfung zwischen defizitärem Kupferstatus und einer Reduktion der CP-Aktivität, Anämie und Leukopenie infolge gestörter Hämatopoese (Cerone et al. 1998, Sharma et al. 2005). In der Humanmedizin wird im Zusammenhang mit klinischem Kupfermangel bereits von einer „neuen Triade aus Anämie, Leukopenie und Myeloneuropathie“ gesprochen (Wazir und Ghobrial 2017).

5.4.4 Korrelation mit Produktions- und Fruchtbarkeitsparametern

Fruchtbarkeit und Leistung einer Milchviehherde sind eng mit der Spurenelementversorgung der Tiere verknüpft. In der Literatur finden sich zahlreiche Hinweise, dass hierbei dem Spurenelement Kupfer eine wichtige Rolle zukommt. So soll Kupfermangel zu längeren Zwischenkalbezeiten, häufigerem Umrindern, Stillbrunst, einem höheren Besamungsindex und einer verminderten Milchleistung führen (Heimberg und Holsteg 2007, Ehlert 2015, Klee 2016). Griffiths et al. (2007) stellten in einem Fütterungsversuch fest, dass Milchkühe, die eine kupfersupplementierte Fütterung erhielten, neben ihrem Leberkupfergehalt auch die Milchleistung sowie den Fett- und Proteingehalt der Milch im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant steigerten ($p \leq 0,05$). Ein Einfluss auf den Zellgehalt der Milch war nicht nachweisbar, dafür aber die Tendenz ($p \leq 0,10$) zu einer verbesserten Konzeptionsrate im Vergleich zur Kontrollgruppe. Auch wenn in diesem Versuch neben Kupfer noch weitere Spurenelemente (Zink, Mangan, Kobalt) zugefüttert wurden und die Leistungssteigerung nicht allein der Kupfersupplementierung zugeschrieben werden kann, lassen diese Ergebnisse vermuten, dass zwischen dem Kupferstatus und der Milchleistung einer Herde ein positiver Zusammenhang besteht. Da sich bei besserer Fruchtbarkeit die Zwischentragezeit, Zwischenkalbezeit und Rastzeit verkürzen und der Besamungsindex erniedrigen sollte, wären zwischen diesen Parametern und dem Kupferstatus negative Korrelationen zu erwarten. Wie die Ergebnistabelle der Korrelationsanalyse (Tab. 21) jedoch zeigt, fanden sich in der vorliegenden Untersuchung keine dieser erwarteten Korrelationen. Die einzige Ausnahme stellt die schwache negative Korrelation der Zwischentragezeit mit dem Vollblutkupfer dar. Eine mögliche Erklärung für das Fehlen der erwarteten Korrelationen ist, dass für die Analyse Herdenparameter verwendet wurden, die den Durchschnitt der gesamten Herde und nicht den

der tatsächlich beprobten Tiere darstellten. Dies mag zur Verzerrung der Ergebnisse geführt haben. Zudem fließen in die Fruchtbarkeits- und Produktionskennzahlen auch Faktoren wie das Herdenmanagement und die Versorgung mit anderen Spurenelementen als Kupfer ein. Für die Zellzahlen spielen viele Faktoren, die die Eutergesundheit beeinträchtigen, eine Rolle. Hohe Zellzahlen infolge von Euterinfektionen können beispielsweise durch mechanische Reizungen oder Schäden der Zitzen durch Mängel in der Melktechnik, in der Haltungform oder der Stallhygiene entstehen und trotz guter Spurenelementversorgung auftreten. Die positiven Zusammenhänge zwischen der Zellzahl und der Kupferkonzentration in den Blutprobenmedien könnten also in der vorliegenden Untersuchung auch hierdurch zustande gekommen sein und müssen nicht kausal zusammenhängen.

5.5 Einflüsse auf die Kupferkonzentration in den Probenmedien

5.5.1 Zeitliche und geographische Einflüsse auf den Kupfergehalt im Plasma

Wie die Ergebnisse der Varianzanalyse (Tab. 22 und 23) zeigen, bestehen sowohl zwischen den Untersuchungsjahren als auch zwischen den Jahreszeiten signifikante Unterschiede in der mittleren Plasmakupferkonzentration der Probanden. Bedenkt man die Vielzahl an Einflüssen, die den Kupfergehalt der Futterpflanzen variieren lassen, erscheint es naheliegend, dass die Unterschiede zwischen den Untersuchungsjahren mit einem unterschiedlichen Gehalt des Spurenelements im Grundfutter zusammenhängen. Je nach Ackerboden, der im jeweiligen Jahr für die Futtermittelgewinnung bewirtschaftet wurde, je nach Löslichkeit des Spurenelements und der Verfügbarkeit für die Pflanze, dem Schnittzeitpunkt und dem Gehalt an Antagonisten kann der absorbierbare Gehalt an Kupfer im Grundfutter schwanken (vgl. Kap. 2.3). Auch das Fütterungsmanagement der Betriebe und der Einsatz von Mineralergänzungsfutter spielen eine Rolle und können von Jahr zu Jahr variiert haben. Dass die Plasmakupferkonzentration in den Monaten Oktober bis Dezember am höchsten ausfiel, mag mit den niedrigen Außentemperaturen zusammenhängen. Diese sorgen für ein kühles Stallklima, das den Kuhkomfort erhöht und die Futteraufnahme zusammen mit der Spurenelementaufnahme verbessern kann.

Beim Vergleich der Bundesländer wird deutlich, dass die mittlere Plasmakupferkonzentration von Probanden aus Thüringen signifikant niedriger war als die in den anderen östlichen Bundesländern mit Ausnahme von Brandenburg. Zu ähnlichen Ergebnissen führten die Untersuchungen von Wiese (2014) und Schmidt (2014) beim geografischen Vergleich der mittleren Molybdän- bzw. Zinkgehalte im Blut von Milchvieh. Auch hier wiesen die Probanden aus Thüringen die signifikant niedrigsten Blutkonzentrationswerte an den jeweiligen

Spurenelementen auf. Dies könnte als Hinweis darauf verstanden werden, dass die Spurenelementgehalte in den Böden Thüringens und damit im Grundfutter allgemein niedriger sind als in den anderen östlichen Bundesländern. Betrachtet man jedoch die Hintergrundwerte der LABO für den Kupfergehalt in deutschen Böden (Bund/Länderarbeitsgemeinschaft-Bodenschutz 2017), so stellt man beim Vergleich der Bundesländer Thüringen und Mecklenburg-Vorpommern - dem Bundesland, das in der vorliegenden Untersuchung die höchste mittlere Plasmakupferkonzentration bei den Probanden aufwies - fest, dass in den Oberböden von Ackerflächen in Thüringen nicht weniger, sondern augenscheinlich sogar mehr Kupfer vorhanden ist als in den Oberböden von Mecklenburg-Vorpommern. Es wäre daher auch denkbar, dass in Mecklenburg-Vorpommern, das durch seine Lage im Norden Deutschlands eher als Kupfermangelregion gilt (Bauer et al. 2014), zum Ausgleich dafür vorsorglich mehr Mineralergänzungsfutter in den Betrieben zugefüttert wurde als in den Betrieben Thüringens und die mittlere Plasmakupferkonzentration der Probanden deshalb signifikant höher ausfiel.

5.5.2 Einfluss des Laktationsstadiums auf den Kupfergehalt in den verschiedenen Probenmedien

Die Kupferkonzentration folgt in den Blutprobenmedien einer klaren wellenförmigen Dynamik: In der Vorbereitungsphase während der letzten drei Wochen vor der Kalbung sinkt der Kupfergehalt im Blut der Kühe auf einen Wert ab, der signifikant niedriger ist als die Werte aller anderen Gruppen. Unmittelbar nach der Kalbung steigt die Kupferkonzentration und erreicht in der Gruppe der Frischmelker eine Woche p. p. die höchste Konzentration der Laktationsperiode. Während der Frühaktation (3 - 5 Wochen p. p.) und der Hochaktation (15 - 18 bzw. 6 - 20 Wochen p. p.) sinkt der Kupfergehalt im Blut wieder, um bei den Vorbereitern am Ende der Trockenstehphase erneut den signifikant niedrigsten Wert anzunehmen. Zwischen den Vorbereitern, den Frischmelkern und den Hochaktationskühen bestehen in allen drei Blutprobenmedien signifikante Unterschiede in der Kupferkonzentration.

Der Rückgang des Kupfergehalts im Blut der Vorbereiter kann möglicherweise damit zusammenhängen, dass vor der Kalbung die Futteraufnahme der Kühe abnimmt (Grummer 1995, Engelhard 2014) und damit gleichzeitig auch eine Reduktion der Spurenelementzufuhr einhergeht. Da Kupfer im Blut auch an das Transportprotein Albumin gebunden vorliegt, wäre es zudem denkbar, dass der Rückgang der Kupferkonzentration mit einem antepartalen Rückgang der Albuminkonzentration in Verbindung steht, der von manchen Autoren beim Wiederkäufer beschrieben wird (Rosenberger et al. 1994, Locher 2007). Als Gründe werden neben einer reduzierten Futteraufnahmekapazität des Pansens auch die Umverteilung des vorhandenen Totalproteins auf den Fötus und der Transport von Albumin in die Milchdrüse zur

Vorbereitung auf die Laktation genannt (Locher 2007). Andere Autoren beschreiben allerdings eine stabile Albuminkonzentration während der Trockenstehzeit (Arnold 2008, Euler 2009) und entkräften damit indirekt die Bedeutung von Albumin beim Abfall der Kupferkonzentration in der Vorbereitergruppe.

Als gesichert gilt hingegen der Einfluss des Cuproenzym CP auf die Laktationsdynamik des Kupferpools im Blut. Der signifikante Kupferkonzentrationsanstieg in der Gruppe der Frischmelker unmittelbar nach der Kalbung ist dadurch zu erklären, dass CP geburtsbedingten Schwankungen unterliegt (Bauer et al. 2014) und in metabolischen Belastungssituationen wie dem peripartalen Zeitraum als positives Akute-Phase-Protein auf oxidativen Stress reagiert (Goldstein et al. 1979, Koets et al. 1998, Castillo et al. 2005). Iqbal et al. (2013) wiesen nach, dass diese oxydative Stresssituation hormonell beeinflusst sein kann. Sie verabreichten laktierenden Büffeln zweimal täglich Oxytocin und stellten im Vergleich zur Kontrollgruppe eine signifikant höhere Serum-CP-Aktivität während der ersten vier Laktationswochen fest. Hussein und Staufenbiel (2012) beurteilten in ihrer Studie den Verlauf der CP-Aktivität und der Kupferkonzentration im Blut von Holstein-Kühen während verschiedener Laktationsstadien. Wie in der vorliegenden Studie stellten auch sie im Plasma von Frischmelkern signifikant höhere Kupferkonzentrationen als in allen anderen Gruppen fest. Gleichzeitig wiesen sie eine signifikant erhöhte Plasma-CP-Aktivität nach, die mit dem Plasmakupfer positiv korrelierte. Die Untersuchungen von Heggemann (2013) führten zu ähnlichen Ergebnissen. Auch hier wurden im Plasma der Frischmelker die höchsten Kupferkonzentrationen im Laktationsverlauf gemessen. Der vom Autor errechnete Mittelwert von 0,973 mg/l ist nahezu deckungsgleich mit dem Mittelwert, der in der vorliegenden Studie aus den Kupferkonzentrationswerten der Frischmelker berechnet wurde (0,978 mg/l). Der Rückgang der Kupferkonzentration im weiteren Laktationsverlauf, wie er von den Autoren Hussein und Staufenbiel (2012) und Heggemann (2013) in den Blutprobenmedien festgestellt wurde, wird von den Ergebnissen der vorliegenden Studie ebenfalls bestätigt.

Im Haar weist die Gruppe der Vorbereiter den signifikant niedrigsten Kupferwert auf, während sich die Konzentrationen der Früh- und der Hochlaktationsgruppe nicht signifikant unterscheiden. Dass der höchste Konzentrationswert nicht zu Beginn, sondern erst in der Mitte der Laktationsperiode in der Gruppe der Hochlaktationskühe gemessen wurde, könnte daran liegen, dass das Haar den Kupferstatus des Körpers etwas zeitverzögert widerspiegelt. Kupfer, das während der Frühlaktation in die Haarzellen eingelagert wurde, kann erst einige Wochen später erfasst werden, wenn das Haar mehrere Zentimeter aus dem Follikel herausgewachsen ist und die Haarprobe gewonnen werden kann.

Im Urin sticht weder die Kupferkonzentration der Vorbereiter, noch die der Frischmelker signifikant hervor. Der peripartale Zeitraum und die Kalbung scheinen also keinen Einfluss auf die Kupferausscheidung über den Urin zu nehmen. Vorbereiter und Frischmelker weisen

weder untereinander noch mit den Gruppen der Frühaktation (3 – 5 und 0 - 5 Wochen p. p.) oder der Hochaktationsgruppe (6 - 20 Wochen p. p.) signifikante Konzentrationsunterschiede auf. Es findet sich lediglich zwischen der Hochaktationsgruppe (15 - 18 Wochen p. p.) und den Trockenstehern auf der einen Seite und den Vorbereitern und Frischmelkern auf der anderen Seite ein signifikanter Unterschied. Die wellenförmige Dynamik der Blutkupferkonzentration spiegelt sich darin nicht wider.

Im Kot finden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Aktationsgruppen. Das Aktationsstadium scheint also keinen Einfluss auf die Kupferausscheidung im Kot zu nehmen. Die Untersuchung von Herold (2017) führte zu demselben Ergebnis.

5.6 Referenzbereiche

5.6.1 Vergleich der ermittelten Referenzbereiche mit den Empfehlungen anderer Autoren

Tabelle 37 vergleicht die ermittelten Referenzbereiche mit den Empfehlungen anderer Autoren. Es fällt auf, dass sich eine nach Laktationsgruppen aufgeteilte Angabe von physiologischen Referenzwerten bislang nicht durchgesetzt hat. Für Vollblut und die Ausscheidungsprodukte Urin und Kot existieren kaum Vergleichswerte. Eine routinemäßige Beurteilung der Kupferkonzentration in diesen Probenmedien scheint keine gängige Praxis zu sein. Die meisten Angaben finden sich in der Literatur für Serum, Plasma, Haar und, wie aus Tabelle 8 ersichtlich, für die Kupferkonzentration in der Leber.

Tabelle 37: Vergleich der ermittelten Referenzbereiche mit den Empfehlungen anderer Autoren

Autoren	Referenzbereiche					
	Serum (µg/l)	Plasma (µg/l)	Vollblut (µg/l)	Haar (mg/kg)	Urin (µg/l)	Kot (mg/kg TM)
Eigene Studie						
<i>Vorbereiter</i>	457-813	617-1055	571-970	5,8-24,8	} 46-495	} 27,2- 104,1
<i>Frühlaktation</i>	542-993	713-1271	656-1179	} 6,0-46,1		
<i>Hochlaktation</i>	490-939	675-1130	627-1110			
<i>Gesamt</i>	482-916	664-1177	617-1080	6,0-27,2		
Herold (2017)						25-125
Ehlert (2015)					< 700	
Bauer et al. (2014)	510-2090*	510-2089*		> 0,1		
Heggemann (2013)	454-1100	639-1326	484-1116	6,9-39,9	17-455	
Kaneko et al. (2008)	503-1503*	503-1503*				
Dirksen et al. (2006)		800-1200		6,6-10,4		

* Umrechnung der SI-Einheit µmol/l in µg/l erfolgte durch Division mit dem Faktor 0,0157 (IDEXX Labor 2017)

5.6.2 Referenzbereiche für die Blutprobenmedien Serum, Plasma und Vollblut

Aufgrund der im Rahmen der Varianzanalyse festgestellten signifikanten Unterschiede zwischen Vorbereitern, Früh- und Hochlaktationskühen erscheint es durchaus sinnvoll, drei verschiedene Referenzbereiche für die Kupferkonzentration in den Blutprobenmedien zu verwenden. Wird der Kupferstatus eines Tieres anhand eines einheitlichen Referenzbereichs beurteilt, besteht die Gefahr, dass falsche Schlüsse gezogen werden. Würde ein Tier in der Vorbereitungsphase beispielsweise nach dem einheitlichen Referenzbereich von Dirksen et al. (2006) beurteilt und wies eine Plasmakupferkonzentration von 650 µg/l auf, könnte man fälschlicherweise auf eine Unterversorgung schließen. Dabei sind nach den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung derart niedrige Werte bei Vorbereitern durchaus normal. Einige Autoren geben für Serum und Plasma jeweils denselben Referenzwert an. Bauer et al. (2014) ergänzen diesen zwar um den Hinweis, dass die Konzentration im Serum ca. 10 % niedriger sein kann als im Plasma. Den Erkenntnissen von Laven et al. (2007) zufolge ist der gerinnungsbedingte Kupferverlust bei der Serumgewinnung jedoch hohen Schwankungen unterworfen, was pauschale Rückschlüsse von der Plasma- auf die Serumkonzentration und umgekehrt nicht zulässt. Hierzu passt auch die lediglich mittelstark ausgeprägte Korrelation zwischen Serum- und Plasmakupfer in der vorliegenden Studie. Die Kupferanalyse im Serum scheint somit keine Vorteile gegenüber einer Plasmaanalyse zu bieten. Da Plasma nach aktuellem Wissensstand den Blutkupferspiegel am umfassendsten widerspiegelt und hauptverantwortlich für eine Steigerung des Vollblutgehaltes ist, eignet es sich unter den Blutprobenmedien wahrscheinlich am besten für die Diagnostik des Kupferstatus. Mit einer Kupferkonzentration von 2089 µg/l legen Bauer et al. (2014) für Plasma den vergleichsweise höchsten Obergrenzwert fest. Er überschreitet den in der vorliegenden Studie ermittelten Obergrenzwert für Früh- und Hochlaktationskühe um über 800 µg/l. Da die Untersuchungsbedingungen, unter denen Bauer et al. (2014) diesen Grenzwert ermittelt haben, nicht bekannt sind, können leider keine Rückschlüsse auf mögliche Ursachen für diese unterschiedlichen Ergebnisse gezogen werden. Denkbar wären jedoch ein höherer Einsatz von Mineralergänzungsfutter bei den Probanden, eine andere Messmethode oder das Fehlen von Transitkühen bei der Probandenauswahl von Bauer et al. (2014). Unabhängig vom Obergrenzwert des Referenzbereichs scheint sich die Analyse des Blutkupferspiegels gemäß den Erkenntnissen von López-Alonso et al. (2006) und den Fallberichten von Staufenbiel et al. (2016) und Johnston et al. (2014) allerdings ohnehin nicht zur Diagnose einer Überversorgung zu eignen, da die Leber überschüssiges Kupfer zur Aufrechterhaltung der Homöostase im Blut lange Zeit sequestrieren kann. Eine größere Bedeutung kommt daher dem unteren Grenzwert des Referenzbereichs zu. Nach den Untersuchungen von Claypool et al. (1975) zeigen Plasmakupferkonzentrationen von weniger als 500 µg/l zuverlässig an, dass ein durch

Unterversorgung erschöpfter Leberkupferspeicher die Kupferhomöostase im Blut nicht mehr aufrechterhalten kann. Die Untergrenze des Plasmareferenzbereichs von Kaneko et al. (2008) knapp über 500 µg/l erscheint in Anbetracht dieser Erkenntnisse gefährlich niedrig. Der in der vorliegenden Studie ermittelte Untergrenzwert von 617 µg/l sowie diejenigen von Heggemann (2013) und Dirksen et al. (2006) beinhalten dagegen einen gewissen Sicherheitsabstand zum kritischen Wert von Claypool et al. (1975), auf den nicht verzichtet werden sollte.

5.6.3 Referenzbereich für Haar

Der ermittelte Referenzbereich für das Haar der Früh- und Hochlaktationskühe gleicht in seinen Grenzen der Empfehlung von Heggemann (2013). Nach Laktationsgruppen aufgeteilte Referenzbereiche finden sich in der Literatur nicht. Aufgrund des vorliegenden signifikanten Unterschieds zwischen Vorbereitern auf der einen Seite und laktierenden Kühen auf der anderen Seite erscheint es jedoch sinnvoll, zwei getrennte Referenzbereiche anzuwenden und damit zu verdeutlichen, dass bei laktierenden Tieren höhere Kupferkonzentrationen physiologisch sind. Im Vergleich mit den Empfehlungen anderer Autoren (vgl. Tab. 8 bzw. 37) fällt auf, dass zwar die oberen Grenzwerte der Referenzbereiche variieren, beim unteren Grenzwert jedoch überwiegend Einigkeit herrscht. Mit Ausnahme von Bauer et al. (2014) empfehlen alle eine Referenzuntergrenze von ca. 6 mg/kg. Auch der für die Gruppe der Vorbereiter ermittelte Grenzwert liegt mit 5,8 mg/l nur knapp darunter. Bei der Interpretation der Kupferkonzentration im Haar gilt es generell zu beachten, dass sie den Langzeitkupferstatus widerspiegelt und sich nicht für Kurzzeitbetrachtungen eignet.

5.6.4 Referenzbereich für Urin

Bei der Analyse der Kupferkonzentration im Urin wurde in der vorliegenden Untersuchung bei klinisch gesunden Kühen ein Minimalwert von 0,000 mg/l gemessen. Dies deckt sich mit den Messergebnissen der Forschungsarbeit von Ehlert (2015), bei welcher der untere Grenzwert des berechneten Referenzbereichs für die Harnkupferkonzentration von Milchvieh mit 0,05 mg/l ebenfalls gegen 0 geht und die Autorin daher vorschlägt, auf eine untere Begrenzung des Referenzbereichs ganz zu verzichten. Für die Diagnostik einer Kupferübersversorgung mittels Urin empfiehlt sie als oberen Grenzwert 700 µg/l. Nachdem das Diagnostikum der Wahl bei einer Übersversorgung, die Kupferkonzentration in der Leber, den Untersuchungen von Heggemann (2013) zufolge keine Korrelation mit dem Kupfergehalt im Urin aufweist und in der vorliegenden Studie der Kupfergehalt im Urin nur schwach mit dem in Plasma und Vollblut korrelierte, wird der diagnostische Nutzen einer Harnkupferanalyse generell in Frage gestellt.

5.6.5 Referenzbereich für Kot

Die berechneten Referenzwerte für die Kotkupferkonzentration kommen dem empfohlenen Referenzbereich von Herold (2017) sehr nah. In der Literatur finden sich keine weiteren Studien zu physiologischen Kupferkonzentrationen im Kot. Bei der Interpretation einer Kotprobenanalyse muss berücksichtigt werden, dass sich nicht nur biliär eliminiertes Kupfer im Kot befindet, sondern auch nicht absorbiertes Kupfer aus der Nahrung. Eine Unterscheidung der beiden Anteile ist in der Routinediagnostik kaum möglich. Der Kupfergehalt im Kot steht jedoch, wie die Ergebnisse der Korrelationsanalyse von Herold (2017) zeigen, in engem Zusammenhang mit dem Kupfergehalt im Futter und kann daher, sofern die Möglichkeit einer Rationsanalyse fehlt, Rückschlüsse auf eine alimentäre Unter- oder Überversorgung liefern.

6 Schlussfolgerungen

- In der vorliegenden Arbeit wurden Serum, Plasma, Vollblut, Haar, Urin und Kot von Milchkühen auf ihre jeweiligen Kupferkonzentrationen hin untersucht. Dabei wurde eine durchschnittlich gute Versorgung der Probanden mit dem Spurenelement festgestellt.
- Alle Medien außer Urin spiegeln die Kupferversorgung der Tiere wider, ihr diagnostischer Nutzen unterscheidet sich jedoch:
 - Unter den Blutprobenmedien scheint sich Plasma am besten für eine Kupferkonzentrationsanalyse zu eignen. Es enthält die höchsten Kupferkonzentrationen und spiegelt den Kupferpool im Blut damit umfänglicher wider als Serum oder Vollblut.
 - In allen drei Blutprobenmedien machen sich laktationsbedingte Schwankungen in der Kupferkonzentration bemerkbar. Diesen sollte im Rahmen von getrennten Referenzbereichen für Vorbereiter, Früh- und Hochlaktationskühe Rechnung getragen werden.
 - Die Kupferkonzentration im Haar reagiert zeitverzögert auf Versorgungsschwankungen der Kupferzufuhr. Bei laktierenden Kühen ist sie höher als bei Vorbereitern. Werte von deutlich weniger als 6 mg/kg können als Hinweis auf eine langfristige Mangelversorgung dienen.
 - Die Kupferkonzentration im Urin bleibt auch bei steigender Konzentration im Blut niedrig. Dies bestätigt die geringe Bedeutung der renalen Elimination des Spurenelements beim Rind. Da der Kupfergehalt im Urin nicht auf Versorgungsschwankungen reagiert, ist das Medium für die Diagnostik des Kupferstatus nicht geeignet.
 - Die Kupferanalyse im Kot kann zur Diagnose einer alimentären Unter- oder Überversorgung beitragen. Das diagnostische Potential mag größer sein als bisher angenommen und sollte im Rahmen von weiterführenden Studien und Erfahrungsberichten genauer untersucht werden.
- Der Kupfergehalt im Plasma von Milchkühen unterliegt (jahres-)zeitlichen und geographischen Einflüssen. Um Schwankungen im Grundfutter auszugleichen und einer fütterungsbedingten Unter- oder Überversorgung vorzubeugen, werden regelmäßige Analysen des Kupfergehalts im Futtermittel bzw. der TMR empfohlen.
- Die signifikant positiven Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration in den Blutprobenmedien Serum, Plasma und EDTA-Vollblut und den Serummesswerten

anderer Spuren- und Mengenelemente lassen auf eine gleichmäßige Aufnahme der Stoffe über die Nahrung und damit auf eine bedarfsgerechte Versorgung der Probanden schließen.

- Es wurden keine nennenswerten Zusammenhänge zwischen dem Kupfergehalt des Blutes und den Parametern des Blutbildes festgestellt. Um mögliche Zusammenhänge zwischen dem Kupferstatus und der Blutbildung aufzuklären, bedarf es weiterer Forschung und eines gezielt auf diese Fragestellung ausgerichteten Versuchsdesigns.
- Es wurden signifikante Zusammenhänge zwischen der Kupferkonzentration und der Aktivität von Leberenzymen im Blut festgestellt. Da sich diese Zusammenhänge in der nach Laktationsgruppen aufgeteilten Korrelationsanalyse jedoch kaum wiederfanden oder nur sehr schwach ausfielen, bleibt eine kausale Verbindung fraglich.
- Es wurden keine signifikanten Zusammenhänge zwischen dem Blutkupferstatus und den Leistungs- bzw. Fruchtbarkeitsparametern wie der Milchleistung, Zwischenkalbezeit, Rastzeit und dem Besamungsindex festgestellt. In einer weiterführenden Untersuchung sollten die Zusammenhänge zwischen den genannten Parametern und dem Leberkupfergehalt der Probanden überprüft und Einzeltierparameter anstelle von Herdenparametern für Leistung und Fruchtbarkeit verwendet werden.
- Aus den Erkenntnissen der vorliegenden Untersuchung und denen anderer Autoren lässt sich schließen, dass ein Diagnostikum, das sowohl einen Mangel als auch eine Überversorgung mit Kupfer zuverlässig anzeigen kann und zugleich für das Herdenmonitoring geeignet ist, bislang fehlt.

Die Kupferkonzentration im Leberbioptat gilt zwar als Diagnostikum der Wahl, von Nachteil sind jedoch die Invasivität der Probennahme sowie die mit dem Eingriff verbundenen Kosten.

Bei den übrigen diagnostischen Verfahren, wie der Bestimmung des Kupfergehalts im Blutplasma, im Haar oder im Kot, ist zwar die Probengewinnung vergleichsweise einfach, jedoch sind die Analyseergebnisse nur bedingt aussagekräftig. So kann der Kupferpool im Plasma auch dann noch innerhalb der physiologischen Grenzen liegen, wenn die Kupferkonzentration in der Leber zu niedrig oder bereits im toxischen Bereich ist. Erst wenn der Leberspeicher nach chronischer Unterversorgung erschöpft ist oder bei Überversorgung eine hämolytische Krise droht, versagen die Mechanismen zur Aufrechterhaltung der Kupferhomöostase im Blut. Der Kupferplasmaspiegel scheint

beim Rind eine Fehlversorgung also erst dann zuverlässig anzuzeigen, wenn der Ernstfall einer bedrohlichen Hypocuprose oder Intoxikation bereits eingetreten ist.

Die Kupferkonzentration im Haar eignet sich wiederum nur zur Langzeitdiagnostik, nicht aber zur Feststellung akuter Versorgungsschwankungen.

Die Kupferkonzentration im Kot kann auf eine alimentäre Unter- oder Überversorgung hinweisen. Ob es sich hierbei um biliär eliminiertes oder um komplexgebundenes, nicht absorbierbares Kupfer aus der Nahrung handelt, wird bei der Messung jedoch nicht unterschieden. Ein Rückschluss auf die Kupferversorgung des Organismus ist damit nicht zweifelsfrei möglich.

Zur Diagnosesicherung sollten daher im Verdachtsfall mehrere Untersuchungen kombiniert sowie eine TMR-Analyse durchgeführt werden. Daraus ergibt sich die Empfehlung folgender diagnostischer Leitfäden zur Beurteilung des Kupferstatus beim Rind:

	Diagnostischer Leitfaden*
Kupfermangel	<ol style="list-style-type: none"> 1. TMR-Analyse (Cu, Mo, S, Fe, Mn, Ca) und/oder Kot-Analyse (Cu) 2. Plasma-Analyse (Cu) 3. Leberbiopat (Einzeltiere, da invasiv) 4. ggf. Haarkupferanalyse zur Einschätzung des Langzeitstatus)
Kupferintoxikation	<ol style="list-style-type: none"> 1. TMR-Analyse (Cu) und/oder Kot-Analyse (Cu) 2. Plasma-Analyse (Cu) und Leberenzyme 3. Leberbiopat von verdächtigen Tieren (CAVE: Stress durch invasive Probennahme kann hämolytische Krise auslösen!)

* Die Reihenfolge der Untersuchungen wurde anhand der Invasivität der Probennahme festgelegt. Im Zweifelsfall sollten zur schnelleren Diagnosefindung mehrere Untersuchungen parallel durchgeführt oder eine Leberbiopsie vorgezogen werden.

7 Zusammenfassung

Untersuchungen zur Beurteilung der Kupferversorgung von Milchkühen

Das Spurenelement Kupfer spielt durch seine Beteiligung an zahlreichen physiologischen Prozessen eine essentielle Rolle im menschlichen und tierischen Organismus. Zur Erhaltung der Gesundheit und der Produktivität von Milchkühen ist daher eine adäquate Zufuhr von absorbierbarem Kupfer über das Futter unabdingbar. Aufgrund der besonderen Verdauungsphysiologie von Wiederkäuern stellt die optimale Futterzusammenstellung eine nicht zu unterschätzende Herausforderung dar. Gelingt die adäquate Kupferversorgung über die Nahrung nicht, kann es zu bedrohlichen Mangelerscheinungen oder Vergiftungen kommen, die nicht nur Einzeltiere, sondern auch die ganze Herde betreffen können. Um im Verdachtsfall schnell gegensteuern zu können, sind geeignete Diagnostika zur Erkennung der Versorgungslage und das Wissen um die Besonderheiten des Kupferstoffwechsels beim Rind von großer Bedeutung.

Im Fokus dieser Arbeit stand die Untersuchung der Kupferversorgung bei Milchkühen. Hierfür wurden Daten von 243 Milchviehbetrieben aus den östlichen Bundesländern ausgewertet, die zuvor im Rahmen der Bestandsbetreuung durch die Klinik für Klautiere der FU-Berlin im Zeitraum von 2007 bis 2014 erhoben worden waren. Die Daten umfassten die Analyseergebnisse der Kupferkonzentration in Blut-, Haar-, Urin- und Kotproben von Kühen in verschiedenen Laktationsabschnitten. Die anschließende statistische Auswertung der Analyseergebnisse hatte zum Ziel, die Verteilung und das Verhalten des Spurenelements Kupfer in den einzelnen Probenmedien zu ermitteln, um daraus ihre jeweilige diagnostische Eignung zur Beurteilung des Kupferstatus bei Milchkühen abzuleiten und Referenzbereiche für eine physiologische Kupferkonzentration in den Probenmedien zu definieren. Zusätzlich wurden Zusammenhänge zwischen der Kupferkonzentration in den Probenmedien und anderen Parametern, wie den Serummesswerten anderer Mengen- und Spurenelemente, chemischen und hämatologischen Blutparametern sowie Produktions- und Fruchtbarkeitskennzahlen, untersucht. Um mögliche Einflüsse der (Jahres-)zeit, des geographischen Standorts sowie des Laktationsstadiums auf die Kupferkonzentration in den Probenmedien zu identifizieren, wurde zudem eine Varianzanalyse durchgeführt.

Aus den Ergebnissen der statistischen Auswertung lässt sich schließen, dass alle Probenmedien außer Urin die Versorgungslage des Organismus mit dem Spurenelement Kupfer widerspiegeln, sie zur Diagnose einer Unter- oder Überversorgung mit Kupfer jedoch nur eingeschränkt nutzbar sind. Der Kupfergehalt im Urin bewegt sich überwiegend im niedrigen Konzentrationsbereich. Deshalb wird eine diagnostische Eignung dieses Probenmediums, Versorgungsschwankungen zuverlässig anzuzeigen, bezweifelt. Unter den

Blutprobenmedien nimmt die Kupferkonzentration im Plasma die höchsten Werte an, gefolgt von Vollblut und Serum, wobei letzteres die geringste Kupferkonzentration im Blut aufweist. Die Korrelationsanalyse zeigte, dass sich ein Anstieg der Kupferkonzentration im Blut am stärksten im Plasma niederschlägt. Deshalb wird die Konzentrationsanalyse des Plasmakupfers innerhalb der Blutprobenmedien als Diagnostikum der Wahl eingestuft. Das Probenmedium Haar spiegelt den Versorgungsstatus zeitverzögert wider. Es kann daher nicht verwendet werden, um kurzfristige Versorgungsschwankungen festzustellen, wohl aber, um sich einen Überblick über die Kupferversorgung der letzten Monate zu verschaffen. Fäkale Kupferkonzentrationen spiegeln eliminiertes und nicht aus der Nahrung absorbiertes Kupfer wider. Sie können beim Verdacht auf eine alimentäre Unter- oder Überversorgung zusätzliche Hinweise liefern.

Die Korrelationsanalysen zwischen der Kupferkonzentration in den einzelnen Probenmedien und hämatologischen sowie chemischen Blutparametern ergaben keine nennenswerten Zusammenhänge. Ähnlich verhielt es sich mit den Leistungs- und Produktionskennzahlen, die im Gegensatz zu den Erwartungen gar nicht oder nur äußerst schwach mit dem Kupferstatus korrelierten und deshalb zur Ableitung von Erkenntnissen nicht ausreichten. Um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten, müsste in einer Folgeuntersuchung das Versuchsdesign entsprechend geändert werden. Die signifikant positiven Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration in den Blutprobenmedien und den Serummesswerten anderer Mengen- und Spurenelemente ließen auf eine gleichmäßige Zufuhr dieser Nährstoffe schließen und unterstützten die Annahme einer bedarfsgerechten Versorgung der Probanden. Die Varianzanalyse zeigte deutlich, dass der Kupferstatus von Milchkühen (jahres-)zeitlichen und geographischen Einflüssen unterliegt. So verzeichneten Kühe im vierten Quartal des Jahres die höchsten mittleren Plasmakupferkonzentrationen. Dies kann als Hinweis dafür verstanden werden, dass bei herbstlichen Temperaturen der Kuhkomfort und damit auch die Futter- und Spurenelementaufnahme steigen. Kühe aus Thüringen wiesen im Vergleich der Bundesländer den niedrigsten Kupferstatus im Plasma auf. Dies kann an niedrigeren Kupferkonzentrationen im Grundfutter oder der TMR liegen. Es kann aber auch damit zusammenhängen, dass in den übrigen Bundesländern vergleichsweise mehr Kupfer über Mineralergänzungsfutter supplementiert wird. Den Einfluss des Laktationsstadiums auf die Kupferkonzentration betreffend, lässt sich zusammenfassend feststellen, dass frischmelkende Kühe unmittelbar nach der Kalbung in allen drei Blutprobenmedien die höchste Kupferkonzentration aufwiesen. Während der Früh- und der Hochlaktation sank die Kupferkonzentration, um bei Kühen in der Vorbereiterphase den niedrigsten Wert anzunehmen. Diese wellenförmige Dynamik der Kupferkonzentration im Blut sollte in Form von getrennten Referenzbereichen für Vorbereiter, Früh- und Hochlaktationskühe auch in der

Routinediagnostik berücksichtigt werden. Im Haar war die Laktationsdynamik zeitlich verschoben. Die höchste Kupferkonzentration fand sich im Haar von Hochlaktationskühen.

Zur Beurteilung der Kupferversorgung werden für die untersuchten Probenmedien folgende Referenzbereiche empfohlen:

	Empfohlene Referenzbereiche					
	Serum (µg/l)	Plasma (µg/l)	Vollblut (µg/l)	Haar (mg/kg)	Urin* (µg/l)	Kot (mg/kg TM)
<i>Vorbereiter</i>	457-813	617-1055	571-970	5,8-24,8	} 46-495	} 27,2- 104,1
<i>Frühlaktation</i>	542-993	713-1271	656-1179	} 6,0-46,1		
<i>Hochlaktation</i>	490-939	675-1130	627-1110			

* Der Referenzbereich für die Kupferkonzentration im Urin wird vollständigshalber aufgeführt. Urin sollte in der Routinediagnostik des Kupferstatus jedoch keine Verwendung finden.

8 Summary

Examinations of copper supply in dairy cows

The trace element copper plays an essential role in numerous physiological processes in human and animal organisms. Therefore, the adequate supply of absorbable copper is vital to meet the nutritional requirements of dairy cows and to support their health and productivity. Due to the special digestive physiology of ruminants choosing the optimal feed composition can be challenging. When feedstuff fails to provide an appropriate copper supply, single animals or even entire herds can be affected by severe deficiencies or intoxications. In order to identify and treat nutritional disorders in cases of clinical suspicion, valid and applicable diagnostic methods to reveal the copper supply in dairy cows are as important as the knowledge about the special features of copper metabolism in cattle in general.

This study focuses on the examination of copper supply in dairy cows. Therefore, data from 243 dairy farms located in several eastern federal states of Germany were collected by Free University of Berlin's Ruminant and Swine Clinic between 2007 and 2014. Sample materials were blood plasma, blood serum, whole blood, urine, feces and hair of clinically healthy, multiparous dairy cows in different stages of lactation. The copper content in all sample materials was determined and statistically analyzed. This statistical evaluation aimed first of all at detecting the distribution of copper in the different sample materials and at determining their usability in diagnostic investigation of copper supply in dairy cows. Reference values for physiological copper concentrations were calculated for each sample material. In addition to that, correlations between copper content of all sample materials and other parameters like serum concentrations of other trace and major elements, blood chemistry and hematology values as well as parameters of reproductive performance and productivity of the dairy herd were determined. Finally, the influence of different stages of lactation as well as geographic and seasonal influences on copper concentration in each sample material were examined by variance analysis.

Results suggest that apart from urine all sample materials reflect the copper supply of dairy cows, even though their diagnostic usability is limited. The copper concentration found in urine remains constantly low and does not seem appropriate to indicate deviations from an optimal copper supply of the organism. Among the different blood samples the highest copper content was found in plasma, followed by whole blood and serum. The latter showed the lowest copper concentration of all blood sample media. Results of the correlation analysis suggest that plasma is the most sensitive blood medium to demonstrate an increasing copper supply. Therefore, it is considered as the medium of choice to measure the copper concentration in blood.

The copper content in hair samples was found to reflect the supply of the organism in a temporally delayed manner. It cannot be used to detect short-term deviations, but gives an idea of the course of copper supply during the past few months. The copper content of feces is composed of copper eliminated by biliary excretion and of copper, which has not been absorbed from ingesta. In suspicious cases it can be used to indicate an alimentary under- or oversupply.

There were no important correlations found between the copper concentration of the sample media and other parameters like hematology or chemistry values. Contrary to expectations, characteristics of reproductive performance and productivity showed, if at all, weak correlations to copper concentrations measured in the different sample materials. Results could not be used to draw any conclusions from. Further research within another specifically designed study is required to obtain more detailed findings. Significantly positive correlations found between copper concentrations of blood samples and serum concentrations of other trace or major elements suggest consistent intakes of these nutrients and support the assumption of an adequate supply of the animals.

Variance analysis showed clearly that the copper supply of dairy cows is influenced by geographic and seasonal circumstances. Average values of plasma copper were found to be the highest between October and December, which can be seen as indication that lower temperatures in autumn improve cow comfort and hereby further a simultaneous increase of food and trace element intake. Dairy cows from Thuringia showed the lowest copper concentration in plasma compared to animals in other eastern federal states. These findings might be the consequence of lower copper concentrations in forage plants and total mixed rations in Thuringia or could indicate higher levels of copper supplementation in the other states.

The evaluation of the impact of different stages of lactation on copper status led to the conclusion that cows showed the highest blood copper concentration in the first week after calving, followed by a decrease during early and mid lactation. The lowest blood copper concentrations were found in transition cows three weeks before calving. In routine diagnostics, these wavelike dynamics of copper concentration in blood should be considered in terms of separate reference ranges for transition cows, early lactation and mid lactation cows. In hair samples the influence of dynamics of lactation on copper concentration was temporally delayed. Hair samples of mid lactation cows showed the highest levels of copper concentration.

The table below shows the reference ranges suggested for the evaluation of copper supply in dairy cows:

	Reference Ranges					
	serum (µg/l)	plasma (µg/l)	whole blood (µg/l)	hair (mg/kg)	urine* (µg/l)	feces (mg/kg DM)
<i>Transition</i>	457-813	617-1055	571-970	5,8-24,8	} 46-495	} 27,2- 104,1
<i>early lactation</i>	542-993	713-1271	656-1179	} 6,0-46,1		
<i>mid lactation</i>	490-939	675-1130	627-1110			

* The reference range of copper concentration in urine is only mentioned for the sake of completeness. The evaluation of copper supply by urine analysis should not be implemented in routine diagnostics.

9 Literaturverzeichnis

- ABBA, M., LUCA, J. C. de, MATTIOLI, G., E. ZACCARDI, F. N. DULOUT (2000):
Clastogenic effect of copper deficiency in cattle.
Mutat Res, 466 (1), S. 51–55
- ALLER, S. G., UNGER, V. M. (2006):
Projection structure of the human copper transporter CTR1 at 6-Å resolution reveals a compact trimer with a novel channel-like architecture.
Proc Natl Acad Sci U S A, 103 (10), S. 3627–3632
- ANKE, M., RISCH, M. (1979):
Haaranalyse und Spurenelementstatus.
Jena: Gustav-Fischer-Verlag
- ARNOLD, C. (2008):
Analyse stoffwechselbedingter Fruchtbarkeitsstörungen bei Hochleistungskühen und deren Prophylaxe mittels konjugierter Linolsäure.
Dissertation, Universität Leipzig
- BAUER, N., KRAFT, W., MORITZ, A. (2014):
Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin.
Stuttgart: Schattauer
- BAYERISCHE LANDESANSTALT FÜR LANDWIRTSCHAFT (LfL) (2017):
Gruber Tabelle zur Fütterung der Milchkühe, Zuchtrinder, Schafe, Ziegen.
Wolnzach: Kastner AG
- BEHRENS, H., GANTER, M., HIEPE, T. (2009):
Lehrbuch der Schafkrankheiten.
Stuttgart: Parey
- BENNETTS, H. W., HALL, H. T. (1939):
"Falling Disease" of cattle in the southwest of western Australia.
Aust Vet J, 15, S. 152–159
- BIDEWELL, C. A., DREW, J. R., PAYNE, J. H., SAYERS, A. R., HIGGINS, R. J., LIVESEY, C. T. (2012):
Case study of copper poisoning in a British dairy herd.
Vet Rec, 170 (18), S. 464
- BLAKLEY, B. R., HAMILTON, D., L. (1985):
Ceruloplasmin as an indicator of copper status in cattle and sheep.
Can J Comp Med, 49 (4), S. 405–408
- BOUSQUET-MOORE, D., MAINS, R. E., EIPPER, B. A. (2010):
Peptidylglycine α -amidating monooxygenase and copper: a gene-nutrient interaction critical to nervous system function.
J Neurosci Res, 88 (12), S. 2535–2545
- BOYNE, R., ARTHUR, J. R. (1981):
Effects of selenium and copper deficiency on neutrophil function in cattle.
J Comp Pathol, 91 (2), S. 271–276

- BRAZEAU, B. J., JOHNSON, B. J., WILMOT, C. M. (2004):
Copper-containing amine oxidases. Biogenesis and catalysis; a structural perspective.
Arch Biochem Biophys, 428 (1), S. 22–31
- BÜHL, A. (2014):
SPSS 22: Einführung in die moderne Datenanalyse.
Hallbergmoos: Pearson
- BUND/LÄNDER-ARBEITSGEMEINSCHAFT BODENSCHUTZ (LABO) (2017):
Hintergrundwerte für anorganische und organische Stoffe in Böden.
https://www.labo-deutschland.de/documents/LABO_HGW_Anhang_02_2017.pdf,
27.07.2018
- CAMPBELL, A. G., COUP, M. R., BISHOP, W. H., WRIGHT, D. E. (1974):
Effect of elevated iron intake on the copper status in grazing cattle.
N Z J Agric Res, 17 (4), S. 393–399
- CASTILLO, C., HERNANDEZ, J., BRAVO, A., LÓPEZ-ALONSO, M., PEREIRA, V.,
BENEDITO, J. L. (2005):
Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows.
Vet J, 169 (2), S. 286–292
- CERONE, S. I., SANSINANE, A. S., STREITENBERGER, S. A., GARCIA, M. C., AUZA, N.
J. (1998):
The effect of copper deficiency on the peripheral blood cells of cattle.
Vet Res Commun, 22 (1), S. 47–57
- CHEN, H., ATTIEH, Z. K., SYED, B. A., KUO, Y.-M., STEVENS, V., FUQUA, B. K.,
ANDERSEN, H. S., NAYLOR, C. E., EVANS, R. W., GAMBLING, L., DANZEISEN, R.,
BACOURI-HAIDAR, M., USTA, J., VULPE, C. D., MCARDLE, H. J. (2010):
Identification of zyklopen, a new member of the vertebrate multicopper ferroxidase family,
and characterization in rodents and human cells.
J Nutr, 140 (10), S. 1728–1735
- CHIDAMBARAM, M. V., BARNES, G., FRIEDEN, E. (1984):
Inhibition of ceruloplasmin and other copper oxidases by thiomolybdate.
J Inorg Biochem, 22 (4), S. 231–240
- CLARKE, N. J., LAURIE, S. H. (1980):
The copper-molybdenum antagonism in ruminants. I. The formation of thiomolybdates in
animal rumen.
J Inorg Biochem, 12 (1), S. 37–43
- CLAYPOOL, D. W., ADAMS, F. W., PENDELL, H. W., HARTMANN, N. A., BONE, J. F.
(1975):
Relationship between the level of copper in the blood plasma and liver of cattle.
J Anim Sci, 41 (3), S. 911–914
- CLINIPHARM/CLINITOX (2017):
Kupfer und Kupferverbindungen - Wiederkäuer.
Hg. v. Institut für Veterinärpharmakologie und -toxikologie, Vetsuisse Fakultät, Universität
Zürich, Schweiz
https://www.vetpharm.uzh.ch/perldocs/index_n.htm, 21.02.2019

- COBBOLD, C., PONNAMBALAM, S., FRANCIS, M. J., MONACO, A. P. (2002):
Novel membrane traffic steps regulate the exocytosis of the Menkes disease ATPase.
Hum Mol Genet, 11 (23), S. 2855–2866
- COLLINS, J. F., PROHASKA, J. R., Knutson Mitchell D. (2010):
Metabolic crossroads of iron and copper.
Nutr Rev, 68 (3), S. 133–147
- DE GROOTE, G., LIPPENS, M., JONGBLOED, A.W., MESCHY, F. (2002):
Study on the Bioavailability of major and trace minerals.
Hg. v. Emfema, European Manufacturers of Feed Minerals Association
- DEUTSCHE LANDWIRTSCHAFTS-GESELLSCHAFT (DLG) (1973):
DLG-Futterwerttabellen: Mineralstoffgehalte in Futtermitteln.
Frankfurt (Main): DLG-Verlag
- DIAS, R. S., LÓPEZ, S., MONTANHOLI, Y. R., SMITH, B., HAAS, L. S., MILLER, S. P.,
FRANCE, J. (2013):
A meta-analysis of the effects of dietary copper, molybdenum, and sulfur on plasma and liver
copper, weight gain, and feed conversion in growing-finishing cattle.
J Anim Sci, 91 (12), S. 5714–5723
- DICK, A. T., DEWEY, D. W., GAWTHORNE, J. M. (1975):
Thiomolybdate and copper-molybdenum-sulfur interaction in ruminant nutrition.
J Agric Sci, 85 (3), S. 567–568
- DIRKSEN, G., GRÜNDER, H.-D., STÖBER, M., BAUMGARTNER, W. (2006):
Innere Medizin und Chirurgie des Rindes.
Stuttgart: Parey
- DIRKSEN, K., FIETEN, H. (2017):
Canine Copper-Associated Hepatitis.
Vet Clin North Am Small Anim Pract, 47 (3), S. 631–644
- DITTMER, K. E., HITCHCOCK, B., MCDUGALL, S., HUNNAM, J. C. (2016):
Pathophysiology of humeral fractures in a sample of dairy heifers.
N Z Vet J, 64 (4), S. 230–237
- DU, Z., HEMKEN, R. W., HARMON, R. J. (1996):
Copper metabolism of holstein and jersey cows and heifers fed diets high in cupric sulfate or
copper proteinate.
J Dairy Sci, 79 (10), S. 1873–1880
- EHLERT, J. (2015):
Untersuchungen zu den Konzentrationen an Mengen und Spurenelementen im Harn von
Holstein-Friesian Milchkühen.
Dissertation, Freie Universität Berlin
- ENGELHARD, T. (2014):
Untersuchungen zur Futteraufnahme von Kühen in der Trockenstehphase -
Zusammenhänge zwischen Futteraufnahme vor der Kalbung und Leistungs- sowie
Stoffwechselfparametern.
15. Dummerstorfer Seminar Futter und Fütterung, Karow, 03.12.2014

- ENGELS, H. (2007):
Speziell während der Weidesaison auf Spurenelemente achten.
Tiergesundheit aktuell - Ausgabe Rind (2), S. 11-15
- ENGELS, H. (2014):
In der Weidesaison auf Spurenelemente achten.
Hg. v. Elite Magazin für Milcherzeuger, ePaper,
<https://www.elite-magazin.de/news/nachrichten/in-der-weidesaison-auf-spurenelemente-achten-9471499.html>, 21.02.2019
- ENJALBERT, F., LEBRETON, P., SALAT, O. (2006):
Effects of copper, zinc and selenium status on performance and health in commercial dairy and beef herds: Retrospective study.
J Anim Physiol Anim Nutr (Berl), 90 (11-12), S. 459–466
- EULER, C. (2009):
Zusammenhänge zwischen peripartalen Veränderungen stoffwechselrelevanter Blutserum-, Milch- und Körperkonditionsparameter und Erkrankungen der Gebärmutter.
Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) (2016):
Revision of the currently authorised maximum copper content in complete feed, EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP).
EFSA Journal, 14 (8): 4563
- EVANS, G. W. (1973):
Copper homeostasis in the mammalian system.
Physiol Rev, 53 (3), S. 535-570
- FATTMAN, C. L., SCHAEFER, L. M., OURY, T. D. (2003):
Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine.
Free Radic Biol Med, 35 (3), S. 236–256
- FEDOSEIENKO, A., BARTUZI, P., VAN DE SLUIS, B. (2014):
Functional understanding of the versatile protein copper metabolism MURR1 domain 1 (COMMD1) in copper homeostasis.
Ann N Y Acad Sci, 1314, S. 6–14
- FÜRLI, M., HIEBL, H., NAURUSCHAT, C. (2002):
Wie "leberspezifisch" ist die GLDH beim Rind?
27. Leipziger Laborfortbildung, 14.06.2002
- GENGELBACH, G. P., WARD, J. D., SPEARS, J. W. (1994):
Effect of dietary copper, iron, and molybdenum on growth and copper status of beef cows and calves.
J Anim Sci, 72 (10), S. 2722–2727
- GENGELBACH, G. P., WARD, J. D., SPEARS, J. W., BROWN, T. T., JR (1997):
Effects of copper deficiency and copper deficiency coupled with high dietary iron or molybdenum on phagocytic cell function and response of calves to a respiratory disease challenge.
J Anim Sci, 75 (4), S. 1112–1118

- GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNGSPHYSIOLOGIE (GfE) (2001):
Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchttrinder.
Frankfurt: DLG-Verlag
- GOLDSTEIN, I. M., KAPLAN, H. B., EDELSON, H. S., WEISSMANN G. (1979):
Ceruloplasmin. A scavenger of superoxide anion radicals.
J Biol Chem, 254 (10), S. 4040–4045
- GOULD, L., KENDALL, N. R. (2011):
Role of the rumen in copper and thiomolybdate absorption.
Nutr Res Rev, 24 (2), S. 176–182
- GRIFFITHS, L. M., LOEFFLER, S. H., SOCHA, M. T., TOMLINSON, D. J., JOHNSON, A. B. (2007):
Effects of supplementing complexed zinc, manganese, copper and cobalt on lactation and reproductive performance of intensively grazed lactating dairy cattle on the South Island of New Zealand.
Anim Feed Sci Technol, 137, S. 69–83
- GRUMMER, R. R. (1995):
Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow:
J Anim Sci, 73 (9), S. 2820-2833
- GUYOT, H., SAEGERMAN, C., LEBRETON, P., SANDERSEN, C., ROLLIN, F. (2009):
Epidemiology of trace elements deficiencies in Belgian beef and dairy cattle herds.
J Trace Elem Med Biol, 23 (2), S. 116–123
- HAMZA, I., GITLIN, J. D. (2002):
Copper chaperones for cytochrome c oxidase and human disease.
J Bioenerg Biomembr, 34 (5), S. 381–388
- HANSEN, S. L., ASHWELL, M. S., LEGLEITER, L. R., FRY, R. S., LLOYD, K. E., SPEARS, J. W. (2009):
The addition of high manganese to a copper-deficient diet further depresses copper status and growth of cattle.
Br J Nutr, 101 (7), S. 1068–1078
- HANSEN, S. L., SPEARS, J. W. (2009):
Bioaccessibility of iron from soil is increased by silage fermentation.
J Dairy Sci, 92 (6), S. 2896–2905
- HEGGEMANN, V. (2013):
Untersuchungen zur Diagnostik der Spurenelementversorgung von Holstein-Friesian-Milchkühen.
Dissertation, Freie Universität Berlin
- HEIMBERG, P., HOLSTEG, M. (2007):
Vielen Junggrindern und Färsen fehlt etwas.
Tiergesundheit und mehr, (1), S. 9–12
- HELLMAN, N. E., GITLIN, J. D. (2002):
Ceruloplasmin metabolism and function.
Annu Rev Nutr, 22, S. 439–458

HEPBURN, J. J., ARTHINGTON, J. D., HANSEN, S. L., SPEARS, J. W., KNUTSON, M. D. (2009):

Technical note: copper chaperone for copper, zinc superoxide dismutase: a potential biomarker for copper status in cattle.

J Anim Sci, 87 (12), S. 4161–4166

HEROLD, A. (2017):

Untersuchungen zu den Konzentrationen an Mengen- und Spurenelementen beim Rind in verschiedenen Probenmedien unter besonderer Berücksichtigung von Kotproben.

Dissertation, Freie Universität Berlin

HILLENBRAND, T., TOUSSAINT, D., BÖHM, E., S. FUCHS, U. SCHERER, RUDOLPHI, A., HOFFMANN, M. (2005):

Einträge von Kupfer, Zink und Blei in Gewässer und Böden-Analyse der Emissionspfade und möglicher Emissionsminderungsmaßnahmen.

Hg. v. Umweltbundesamt (Texte, 19/05)

HOFMANN, W. (2005):

Innere und chirurgische Erkrankungen des Rindes.

Stuttgart: Ulmer

HUSCHEK, G., KRENGEL, D., KAYSER, M., BAURIEGEL, A., BURGER, H. (2004):

Länderübergreifende Auswertung von Daten der Bodendauerbeobachtung der Länder.

Hg. v. Umweltbundesamt (Texte, 50/04)

HUSSEIN, H. A., STAUFENBIEL, R. (2012):

Variations in copper concentration and ceruloplasmin activity of dairy cows in relation to lactation stages with regard to ceruloplasmin to copper ratios.

Biol Trace Elem Res, 146 (1), S. 47–52

IDEXX LABOR (2017):

Leistungsverzeichnis Labor.

https://www.idexx.eu/globalassets/documents/country.../allgemeines_lvz_2017.pdf,
13.03.2017

IQBAL, Z., RAHMAN, Z. U., MUHAMMAD, F., KHALIQ, T., ANWAR, H., AWAIS, M. M., SADAF, S. (2013):

Oxytocin induced oxidative stress in lactating *Bubalis bubalis* (Nili Ravi).

BMC Vet Res, 9, S. 169

ITOH, S., KIM, H. W., NAKAGAWA, O., OZUMI, K., LESSNER, S. M., AOKI, H., AKRAM, K., MCKINNEY, R. D., USHIO-FUKAI, M., FUKAI, T. (2008):

Novel role of antioxidant-1 (Atox1) as a copper-dependent transcription factor involved in cell proliferation.

J Biol Chem, 283 (14), S. 9157–9167

JÄNSCH, S., RÖMBKE, J. (2009):

Einsatz von Kupfer als Pflanzenschutzmittel-Wirkstoff: Ökologische Auswirkungen der Akkumulation von Kupfer im Boden.

Hg. v. Umweltbundesamt (Texte, 10/09)

JEROCH, H., DROCHNER, W., SIMON, O. (1999):

Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere: Ernährungsphysiologie, Futtermittelkunde, Fütterung.

Stuttgart: Ulmer

- JOHNSTON, H., BEASLEY, L., MACPHERSON, N. (2014):
Copper toxicity in a New Zealand dairy herd.
Ir Vet J, 67 (1), S. 20
- JONES, D. G., SUTTLE, N. F. (1981):
Some effects of copper deficiency on leucocyte function in sheep and cattle.
Res Vet Sci, 31 (2), S. 151–156
- JONES, R. (1972):
Comparative Studies of Plant Growth and Distribution in Relation to Waterlogging: V. The Uptake of Iron and Manganese by Dune and Dune Slack Plants.
J Ecol, 60 (1), S. 131–139
- JUNG, O., MARKLUND, S. L., GEIGER, H., PEDRAZZINI, T., BUSSE, R., BRANDES, R. P. (2003):
Extracellular superoxide dismutase is a major determinant of nitric oxide bioavailability: in vivo and ex vivo evidence from ecSOD-deficient mice.
Circ Res, 93 (7), S. 622–629
- KAGAN, H. M., LI, W. (2003):
Lysyl oxidase: properties, specificity, and biological roles inside and outside of the cell.
J Cell Biochem, 88 (4), S. 660–672
- KALER, S. G. (2011):
ATP7A-related copper transport diseases - emerging concepts and future trends.
Nat Rev Neurol, 7 (1), S. 15–29
- KANEKO, J. J., BRUSS, M., BRUSS, M. L., HARCBY, J. W., HARVEY, J. W., KANEKO, J. J. (2008):
Clinical Biochemistry of Domestic Animals.
London: Elsevier Academic Press
- KELLEHER, S. L., LÖNNERDAL, B. (2006):
Mammary gland copper transport is stimulated by prolactin through alterations in Ctr1 and Atp7A localization.
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 291 (4), S. 91
- KEMPSON, I. M., SKINNER, W. M., KIRKBRIDE, K. P. (2007):
The occurrence and incorporation of copper and zinc in hair and their potential role as bioindicators: a review.
J Toxicol Environ Health B Crit Rev, 10 (8), S. 611–622
- KINCAID, R. L., GAY, C. C., KRIEGER, R. I. (1986):
Relationship of serum and plasma copper and ceruloplasmin concentrations of cattle and the effects of whole blood sample storage.
Am J Vet Res, 47, S. (5) 1157–1159
- KIRCHGEßNER, M. (2014):
Tierernährung: Leitfaden für Studium, Beratung und Praxis.
Frankfurt am Main: DLG-Verlag
- KLEE, W. (2016):
Rinderskript: Kupfervergiftung.
<http://www.rinderskript.net/skripten/skrifrka.html>,
18.03.2017

- KLEVAY, L. M. (2000):
Cardiovascular Disease from Copper Deficiency - A History.
J Nutr, 130, S. 489–492
- KOETS, A. P., SCHWARTZ, N. DE, TOOTEN, P., M. KANKOFER, BROEKHUIJSEN-
DAVIES, J. M., RUTTEN, V. P., VAN LEENGOED, L. A., AVERNE, M. A. T, GRUYS, E.
(1998):
Release of proinflammatory cytokines related to luteolysis and the periparturient acute phase
response in prostaglandin-induced parturition in cows.
Theriogenology, 49 (4), S. 797–812
- KRAFT, W., DÜRR, U. M. (2005):
Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin.
Stuttgart: Schattauer
- KUO, Y. M., SU, T., CHEN, H., Z. ATTIEH, B. A. SYED, MCKIE, A. T., ANDERSON, G. J.,
GITSCHIER, J., VULPE, C. D. (2004):
Mislocalisation of hephaestin, a multicopper ferroxidase involved in basolateral intestinal iron
transport, in the sex linked anaemia mouse.
Gut, 53 (2), S. 201–206
- KUO, Y. M., ZHOU, B., COSCO, D., GITSCHIER, J. (2001):
The copper transporter CTR1 provides an essential function in mammalian embryonic
development.
Proc Natl Acad Sci U S A, 98 (12), S. 6836–6841
- LA FONTAINE, S., ACKLAND, M. L., MERCER, J. F. B. (2010):
Mammalian copper-transporting P-type ATPases, ATP7A and ATP7B: emerging roles.
Int J Biochem Cell Biol, 42 (2), S. 206–209
- LA FONTAINE, S., MERCER, J. F. B. (2007):
Trafficking of the copper-ATPases, ATP7A and ATP7B: role in copper homeostasis.
Arch Biochem Biophys, 463 (2), S. 149–167
- LATSCHA, H. P., LINTI, G. W., KLEIN, H. A. (2004):
Analytische Chemie: Chemie-Basiswissen III. 4
Berlin: Springer
- LAVEN, R. A., LAWRENCE, K. E., LIVESEY, C. T. (2007):
The assessment of blood copper status in cattle: a comparison of measurements of
caeruloplasmin and elemental copper in serum and plasma.
N Z Vet J, 55 (4), S. 171–176
- LAVEN, R. A., LIVESEY, C. T. (2006):
An evaluation of the effect of clotting and processing of blood samples on the recovery of
copper from bovine blood.
Vet J, 171 (2), S. 295–300
- LAVEN, R. A., LIVESEY, C. T. (2007):
An evaluation of the effect of clotting on the relationship between copper and caeruloplasmin
in bovine blood.
Vet J, 174 (2), S. 400–402

- LEE, J., PROHASKA, J. R., THIELE, D. J. (2001):
Essential role for mammalian copper transporter Ctr1 in copper homeostasis and embryonic development.
Proc Natl Acad Sci U S A, 98 (12), S. 6842–6847
- LEGLEITER, L. R., SPEARS, J. W. (2007):
Plasma diamine oxidase: a biomarker of copper deficiency in the bovine.
J Anim Sci, 85 (9), S. 2198–2204
- LIANG, Y., EWING, P. M., LAURSEN, W. J., TRIPP, V. T., SINGH, S., SPLAN, K. E. (2014):
Copper-binding properties of the BIR2 and BIR3 domains of the X-linked inhibitor of apoptosis protein.
J Inorg Biochem, 140, S. 104–110
- LOCHER, L. F. (2007):
Untersuchungen zum antioxidativen Status bei Milchziegen im peripartalen Zeitraum.
Dissertation, Universität Leipzig
- LÓPEZ-ALONSO, M., BENDITO, J. L., MIRANDA, M., CASTILLO, C., HERNÁNDEZ, J., SHORE, R. F. (2000):
The effect of pig farming on copper and zinc accumulation in cattle in Galicia (North-Western Spain).
Vet J, 160, S. 259–266
- LÓPEZ-ALONSO, M., CRESPO, A., MIRANDA, M., CASTILLO, C., HERNÁNDEZ, J., BENDITO, J. L. (2006):
Assessment of some blood parameters as potential markers of hepatic copper accumulation in cattle.
J Vet Diagn Invest, 18 (1), S. 71–75
- LÓPEZ-ALONSO, M., PRIETO, F., MIRANDA, M., CASTILLO, C., HERNÁNDEZ, J. R., BENDITO, J. L. (2005):
Intracellular distribution of copper and zinc in the liver of copper-exposed cattle from northwest Spain.
Vet J, (170), S. 332–338
- LUMSDEN, J. H. (1998):
"Normal" or reference values: questions and comments.
Vet Clin Pathol, 27 (4), S. 102–106
- MAAS, J. (2007):
Diagnostic considerations for evaluating nutritional problems in cattle.
Vet Clin North Am Food Anim Pract, 23 (3), 527-39, vi-vii
- MÄNNER, K. (2009):
Bedeutung der Spurenelemente für die Hochleistungskuh und Hinweise zur Bedarfsdeckung.
10. Symposium Fütterung und Management von Kühen mit hohen Leistungen,
Neuruppin, 25.10.2007.
Tagungsbericht 2007, S. 99–120
Hg. v. Pieper, B.
Wuthenow: Pieper
- MATZKE, P. (1995):
Wirtschaftliche Milchviehhaltung und Rindermast.
Frankfurt (Main): DLG-Verlag

- MERIAN, E., CLARKSON, T. W. (1991):
Metals and their compounds in the environment: Occurrence, analysis, and biological relevance.
Weinheim, New York: Wiley-VCH
- MEYER, H., KAMPHUES, J., WOLF, P., COENEN, M, EDER, K., IBEN, C., KIENZLE, E., LIESEGANG, A., MÄNNER, K., ZEBELI, Q., ZENTEK, J. (2014):
Supplemente zur Tierernährung: Für Studium und Praxis.
Hannover: M. & H. Schaper
- MILLS, C. F. (1987):
Biochemical and physiological indicators of mineral status in animals: copper, cobalt and zinc.
J Anim Sci, 65 (6), S. 1702–1711
- MINATEL, I., CARFAGNINI, J. C. (2000):
Copper deficiency and immune response in Ruminants.
Nutrition research, 20 (10), S. 1519–1529
- MINSON, D. J. (1990):
Forage in ruminant nutrition. Animal feeding and nutrition.
San Diego: Academic Press
- MIRANDA, M., CRUZ, J. M., LÓPEZ-ALONSO, M., BENDITO, J. L. (2006):
Variations in liver and blood copper concentrations in young beef cattle raised in north-west Spain: associations with breed, sex, age and season.
Anim Sci, 82 (2), S. 253–258
- MOLNAR, J., FONG, K. S. K., HE, Q. P., HAYASHI, K., KIM, Y., FONG, S. F. T., FOGELGREN, B., SZAUTER, K. M., MINK, M., CSISZAR, K. (2003):
Structural and functional diversity of lysyl oxidase and the LOX-like proteins.
Biochim Biophys Acta, 1647 (1-2), S. 220–224
- MONTY, J.-F., LLANOS, R. M., MERCER, J. F. B., KRAMER, D. R. (2005):
Copper exposure induces trafficking of the menkes protein in intestinal epithelium of ATP7A transgenic mice.
J Nutr, 135 (12), S. 2762–2766
- MORIYA, M., HO, Y.-H., GRANA, A., NGUYEN, L., ALVAREZ, A., JAMIL, R., ACKLAND, M. L., MICHALCZYK, A., HAMER, P., RAMOS, D., KIM, S., MERCER, J. F. B., LINDER, M. C. (2008):
Copper is taken up efficiently from albumin and alpha2-macroglobulin by cultured human cells by more than one mechanism.
Am J Physiol , Cell Physiol, 295 (3), S. 21
- MOSTAD, E. J., PROHASKA, J. R. (2011):
Glycosylphosphatidylinositol-linked ceruloplasmin is expressed in multiple rodent organs and is lower following dietary copper deficiency.
Exp Biol Med (Maywood), 236 (3), S. 298–308
- MUFTI, A. R., BURSTEIN, E., DUCKETT, C. S. (2007):
XIAP: cell death regulation meets copper homeostasis.
Arch Biochem Biophys, 463 (2), S. 168–174

- MULLIS, L. A., SPEARS, J. W., MCCRAW, B. L. (2003):
Effects of breed (Angus vs Simmental) and copper and zinc source on mineral status of steers fed high dietary iron.
J Anim Sci, 81 (1), S. 318–322
- MULRYAN, G., MASON, J. (1992):
Assessment of liver copper status in cattle from plasma copper and plasma copper enzymes.
Ann Rech Vet, 23 (3), S. 233–238
- MYINT, Z. W., OO, T. H., THEIN, K. Z., TUN, A. M., SAEED, H. (2018):
Copper deficiency anemia: review article.
Ann Hematol
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC) (2001):
Nutrient Requirements of Dairy Cattle.
Washington D.C.: National Academic Press
- NEAL, W. M., BECKER, R. B., SHEALY, A. L. (1931):
A NATURAL COPPER DEFICIENCY IN CATTLE RATIONS.
Science, 74, S. 418–419
- NOSE, Y., REES, E. M., THIELE, D. J. (2006):
Structure of the Ctr1 copper trans'PORE'ter reveals novel architecture.
Trends Biochem Sci, 31 (11), S. 604–607
- O'HALLORAN, T. V., CULOTTA, V. C. (2000):
Metallochaperones, an intracellular shuttle service for metal ions.
J Biol Chem, 275 (33), S. 25057–25060
- PALACIOS, O., ATRIAN, S., CAPDEVILA, M. (2011):
Zn- and Cu-thioneins: a functional classification for metallothioneins?
J Biol Inorg Chem, 16 (7), S. 991–1009
- PALSSON, P. A., GRIMSSON, H. (1953):
Demyelination in lambs from ewes which feed on seaweeds.
Proc Soc Exp Biol Med, 83 (3), S. 518–520
- PAYNTER, D. I. (1982):
Differences between serum and plasma ceruloplasmin activities and copper concentrations: investigation of possible contributing factors.
Aust J Biol Sci, 35 (4), S. 353–361
- PROHASKA, J. R. (2012):
Copper. In: Present knowledge in nutrition.
Hg. v. Erdmann, J. W. [JR.], Macdonald, I. A.; Zeisel, S. H.
Oxford: Wiley-Blackwell
- PULS, R. (1994):
Mineral levels in animal health: Diagnostic data.
Clearbrook, B.C.: Sherpa International

- RAE, T. D., SCHMIDT, P. J., PUFAHL, R. A., CULOTTA, V. C., O'HALLORAN, T. V. (1999):
Undetectable intracellular free copper: the requirement of a copper chaperone for superoxide dismutase.
Science, 284, S. 805–808
- RASSOW, J., HAUSER, K., NETZKER, R., DEUTZMANN, R. (2016):
Biochemie
Stuttgart: Thieme
- REES, E. M., LEE, J., THIELE, D. J. (2004):
Mobilization of intracellular copper stores by the *ctr2* vacuolar copper transporter.
J Biol Chem, 279 (52), S. 54221–54229
- REINHOLD, J. (2008):
Ursachenforschung und Limitierungsstrategien für zunehmende Kupfergehalte in Bioabfällen.
Hg. v. Umweltbundesamt (Texte, 42/08)
- RÖMPP (2016):
RÖMPP ONLINE.
<https://roempp.thieme.de/roempp4.0/do/Welcome.do>, 01.03.2016
Stuttgart: Thieme
- ROSENBERGER, G., DIRKSEN, G., GRUENDER, H. D., STOEBER, M. (1994):
Krankheiten des Rindes.
Berlin: Blackwell
- SAKER, K. E., ALLEN, V. G., KALNITSKY, J., THATCHER, C. D., SWECKER, W. S. [JR], FONTENOT, J. P. (1998):
Monocyte immune cell response and copper status in beef steers that grazed endophyte-infected tall fescue.
J Anim Sci, 76 (10), S. 2694–2700
- SALEH, M. A., BASSAM AL-SALAHY, M., SANOUSI, S. A. (2008):
Corpuscular oxidative stress in desert sheep naturally deficient in copper.
Small Rum Res, 80 (1), S. 33–38
- SCALETTI, R. W., TRAMMELL, D. S., SMITH, B. A., HARMON, R. J. (2003):
Role of dietary copper in enhancing resistance to *Escherichia coli* mastitis.
J Dairy Sci, 86 (4), S. 1240–1249
- SCHMIDL, M., FORSTNER, V. von (1985):
Veterinärmedizinische Laboruntersuchungen für die Diagnose und Verlaufskontrolle.
Mannheim: Boehringer
- SCHMIDT, F. (2014):
Untersuchungen zur Beurteilung der Zinkversorgung von Milchkühen.
Dissertation, Freie Universität Berlin
- SCHWARZ, F. J., KIRCHGEßNER, M. (1978):
Kupfer- und Zinkgehalte in der Milch und im Plasma von Kühen nach hoher nutritiver Kupferdosierung.
Z Lebensm Unters Forsch, 166, S. 5–8

- SHARMA, M. C., JOSHI, C., PATHAK, N. N., KAUR, H. (2005):
Copper status and enzyme, hormone, vitamin and immune function in heifers.
Res Vet Sci, 79 (2), S. 113–123
- SMITH, B. P., FISHER, G. L., POULOS, P. W., IRWIN, M. R. (1975):
Abnormal bone development and lameness associated with secondary copper deficiency in young cattle.
J Am Vet Med Assoc, 166 (7), S. 682–688
- SPEARS, J. W. (2000):
Micronutrients and immune function in cattle.
Proc Nutr Soc, 59 (4), S. 587–594
- SPOLDERS, M., SUN, H., WAHNER, M., GRUN, M., REHAGE, J., FLACHOWSKY, G. (2008):
Einfluss unterschiedlicher Kupfer- und Zinkversorgung auf deren Konzentrationen in Blutserum, Leber und Deckhaar bei Milchkühen.
Berl Munch Tierarztl Wochenschr, 121 (7-8), S. 278–285
- STABEL, J. R., SPEARS, J. W., BROWN, T. T. [JR] (1993):
Effect of copper deficiency on tissue, blood characteristics, and immune function of calves challenged with infectious bovine rhinotracheitis virus and *Pasteurella hemolytica*.
J Anim Sci, 71 (5), S. 1247–1255
- STAUFENBIEL, R., GELFERT, C.-C., PANICKE, L. (2004):
Prophylaktische veterinärmedizinische Bestandsbetreuung als Maßnahme im Management von Milchkühen.
Züchtungskunde, 76 (6), S. 475–493
- STAUFENBIEL, R., RODER, A., MÜLLER, A. E. (2016):
Vergleich der Aussage der Cu-Bestimmung in verschiedenen Untersuchungsmedien zum Nachweis einer chronischen Cu-Vergiftung als Bestandsproblem in einer Milchkuhherde.
41. Leipziger Laborfortbildung, 24.07.2016
Hg. v. Füll, M.
- STEINHÖFEL, O., FRÖHLICH, B., ZENTEK, J., KRIESTEN, A., MÄNNER, K. (2013):
Untersuchungen zur Spurenelementversorgung von Milchrindern.
Hg. v. Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie des Freistaats Sachsen
(Schriftenreihe, Heft 14/2013)
- STELMASHOOK, E. V., ISAEV, N. K., GENRIKHS, E. E., AMELKINA, G. A., KHASPEKOV, L. G., SKREBITSKY, V. G., ILLARIOSHKIN, S. N. (2014):
Role of zinc and copper ions in the pathogenetic mechanisms of Alzheimer's and Parkinson's diseases.
Biochemistry Mosc, 79 (5), S. 391–396
- STOLEN, C. M., MARTTILA-ICHIHARA, F., KOSKINEN, K., YEGUTKIN, G. G., TURJA, R., BONO, P., SKURNIK, M., HÄNNINEN, A., JALKANEN, S., SALMI, M. (2005):
Absence of the endothelial oxidase AOC3 leads to abnormal leukocyte traffic in vivo.
Immunity, 22 (1), S. 105–115
- SUTTLE, N. F. (1991):
The interactions between copper, molybdenum, and sulphur in ruminant nutrition.
Annu Rev Nutr, 11, S. 121–140

SUTTLE, N. F. (2008):

Relationships between the concentrations of trichloroacetic acid-soluble copper and caeruloplasmin in the serum of cattle from areas with different soil concentrations of molybdenum.

Vet Rec, 162 (8), S. 237–240

SUTTLE, N. F. (2010):

Mineral nutrition of livestock.

Wallingford, Oxfordshire: CABI

SUTTLE, N. F., ANGUS, K. W. (1976):

Experimental copper deficiency in the calf.

J Comp Pathol, 86 (4), S. 595–608

SUZUKI, K. T., SOMEYA, A., KOMADA, Y., OGRA, Y. (2002):

Roles of metallothionein in copper homeostasis: responses to Cu-deficient diets in mice.

J Inorg Biochem, 88 (2), S. 173–182

TELFER, S. B., KENDALL, N. R., ILLINGWORTH, D. V., MACKENZIE, A. M. (2006):

Caeruloplasmin: plasma copper ratios in cows.

Vet Rec, 159 (18), 607-608

THOMAS, S. A., MATSUMOTO, A. M., PALMITER, R. D. (1995):

Noradrenaline is essential for mouse fetal development.

Nature, 374 (6523), S. 643–646

TOP AGRAR ONLINE (2006):

Neuer Bolus für Kupfer und Selen.

<https://www.topagrar.com/archiv/Neuer-Bolus-fuer-Kupfer-und-Selen-163886.html>,
17.03.2017

TOP AGRAR ONLINE (2007a):

Kupfer im Plasma untersuchen.

<https://www.topagrar.com/archiv/Kupfer-im-Plasma-untersuchen-169171.html>, 23.03.2017

TOP AGRAR ONLINE (2007b):

Messmethode für Kupfermangel.

<https://www.topagrar.com/archiv/Messmethode-fuer-Kupfermangel-166468.html>, 23.03.2017

TORRE, P. M., HARMON, R. J., SORDILLO, L. M., BOISSONNEAULT, G. A., HEMKEN, R. W., TRAMMEL, D. S., CLARK, T. W. (1995):

Modulation of bovine mononuclear cell proliferation and cytokine production by dietary copper insufficiency.

J Nutr Immunol, 3, S. 3–20

TROTT, H., ALEXANDER, A., GONDOLF, N., ORLOVIUS, K., PAEFFGEN, S.,

WISSMEIER, A. H. (2013):

Mikronährstoffe in der Landwirtschaft und im Gartenbau. Bedeutung-Mangelsymptome-Düngung.

Hg. v. Bundesarbeitskreis Düngung (BAD), Frankfurt (Main)

- Umweltbundesamt (2018):
Bericht des Bundesministeriums für Gesundheit und des Umweltbundesamtes an die Verbraucherinnen und Verbraucher über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasser) in Deutschland 2014 bis 2016.
Hg. v. Umweltbundesamt (Umwelt & Gesundheit, 02/2018)
- VAŠÁK, M., MELONI, G. (2011):
Chemistry and biology of mammalian metallothioneins.
J Biol Inorg Chem, 16 (7), S. 1067–1078
- VELDHUIS, N. A., GAETH, A. P., PEARSON, R. B., GABRIEL, K., CAMAKARIS, J. (2009):
The multi-layered regulation of copper translocating P-type ATPases.
Biometals, 22 (1), S. 177–190
- VETIDATA (2020):
Veterinärmedizinischer Informationsdienst für Arzneimittelanwendung, Toxikologie und Arzneimittelrecht.
<https://www.vetidata.de>, 14.04.2020
- WARD, J. D., SPEARS, J. W. (1997):
Long-term effects of consumption of low-copper diets with or without supplemental molybdenum on copper status, performance, and carcass characteristics of cattle.
J Anim Sci, 75 (11), S. 3057–3065
- WAZIR, S. M., GHOBRIAL, I. (2017):
Copper deficiency, a new triad: anemia, leucopenia, and myeloneuropathy.
J Community Hosp Intern Med Perspect, 7 (4), S. 265–268
- WHITE, C., LEE, J., KAMBE, T., FRITSCHE, K., PETRIS, M. J. (2009):
A role for the ATP7A copper-transporting ATPase in macrophage bactericidal activity.
J Biol Chem, 284 (49), S. 33949–33956
- WIESE, F. (2014):
Untersuchungen zur Beurteilung der Molybdänversorgung von Milchkühen.
Dissertation, Freie Universität Berlin
- WOLF, C., HAGEMANN, E., WOLF, P., GERST, S. (2017):
Kupferversorgung bei Rindern in Mecklenburg-Vorpommern: Mangel oder Überschuss?
Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle, 24 (1), S. 68–71
- WONG, P. C., WAGGONER, D., SUBRAMANIAM, J. R., TESSAROLLO, L., BARTNIKAS, T. B., CULOTTA, V. C., PRICE, D. L., ROTHSTEIN, J., GITLIN, J. D. (2000):
Copper chaperone for superoxide dismutase is essential to activate mammalian Cu/Zn superoxide dismutase.
Proc Natl Acad Sci USA, 97 (6), S. 2886–2891
- WYMAN, S., SIMPSON, R. J., MCKIE, A. T., SHARP, P. A. (2008):
Dcytb (Cybrd1) functions as both a ferric and a cupric reductase in vitro.
FEBS Letters, 582, S. 1901–1906
- XIN, Z., WATERMAN, D. F., HEMKEN, R. W., HARMON, R. J. (1991):
Effects of copper status on neutrophil function, superoxide dismutase, and copper distribution in steers.
J Dairy Sci, 74 (9), S. 3078–3085

ZIETZ, B., DUNKELBERG, H. (2003):
Epidemiologische Untersuchungen zum Risiko frühkindlicher Lebererkrankungen durch
Aufnahme kupferhaltigen Trinkwassers mit der Säuglingsnahrung.
Hg. v. Umweltbundesamt (Texte, 07/03)

10 Anhang

Tabelle 38: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und den Serumgehalten anderer Spuren- und Mengenelemente bei der Laktationsgruppe der Vorbereiter

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Kalzium	r_s	0,302**	0,268**	0,265**	-0,030	0,029	-0,160
Serum	p	0,001	0,001	0,001	0,546	0,597	0,351
(mg/l)	N	421	420	417	419	344	36
Schwefel	r_s	0,164**	0,153**	0,209**	-0,104	0,101	0,076
Serum	p	0,002	0,004	0,001	0,053	0,063	0,661
(µg/l)	N	348	347	344	348	340	36
Molybdän	r_s	0,038	-0,010	-0,101	-0,058	-0,077	0,246
Serum	p	0,493	0,863	0,068	0,295	0,219	0,148
(µg/l)	N	329	329	326	327	255	36
Eisen	r_s	0,157**	0,088	0,114*	-0,047	0,021	-0,169
Serum	p	0,001	0,073	0,020	0,336	0,700	0,324
(µg/l)	N	421	420	417	419	344	36
Mangan	r_s	0,152**	0,186**	0,177**	-0,062	0,071	-0,125
Serum	p	0,002	0,001	0,001	0,207	0,186	0,467
(µg/l)	N	421	420	417	419	344	36

r_s = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p = Signifikanz; N =Stichprobenanzahl;
 ** Korrelation ist bei Niveau 0,01 signifikant (zweiseitig); * Korrelation ist bei Niveau 0,05
 signifikant (zweiseitig).

Tabelle 39: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und den Serumgehalten anderer Spuren- und Mengenelemente in der Laktationsgruppe 0-1 Woche p. p.

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Kalzium	r_s	0,364**	0,213**	0,206**	-0,013	.	.
Serum	p	0,001	0,001	0,001	0,817	.	.
(mg/l)	N	305	305	302	304	1	0
Schwefel	r_s	0,285**	0,181**	0,291**	-0,060	.	.
Serum	p	0,001	0,004	0,001	0,344	.	.
(µg/l)	N	255	255	253	254	1	0
Molybdän	r_s	0,071	0,007	-0,162*	-0,104	.	.
Serum	p	0,265	0,912	0,012	0,104	.	.
(µg/l)	N	245	245	243	244	1	0
Eisen	r_s	0,250**	0,112	0,131*	-0,025	.	.
Serum	p	0,001	0,050	0,022	0,660	.	.
(µg/l)	N	305	305	302	304	1	0
Mangan	r_s	0,167**	0,059	0,133*	-,025	.	.
Serum	p	0,004	0,306	0,021	0,666	.	.
(µg/l)	N	304	304	301	303	1	0

r_s = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p = Signifikanz; N =Stichprobenanzahl;
 ** Korrelation ist bei Niveau 0,01 signifikant (zweiseitig); * Korrelation ist bei Niveau 0,05 signifikant (zweiseitig).

Tabelle 40: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und den Serumgehalten anderer Spuren- und Mengenelemente in der Laktationsgruppe 0-5 Wochen p. p.

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Kalzium	r_s	0,150	0,211*	0,202*	-0,123	.	.
Serum	p	0,107	0,022	0,030	0,185	.	.
(mg/l)	N	117	117	116	117	0	0
Schwefel	r_s	0,176	0,176	0,124	-0,192	.	.
Serum	p	0,092	0,091	0,238	0,065	.	.
(µg/l)	N	93	93	92	93	0	0
Molybdän	r_s	0,101	-0,141	-0,218*	0,024	.	.
Serum	p	0,359	0,199	0,048	0,832	.	.
(µg/l)	N	84	84	83	84	0	0
Eisen	r_s	0,129	0,081	0,095	-0,069	.	.
Serum	p	0,165	0,385	0,313	0,459	.	.
(µg/l)	N	117	117	116	117	0	0
Mangan	r_s	0,232*	0,294**	0,261**	-0,039	.	.
Serum	p	0,012	0,001	0,005	0,674	.	.
(µg/l)	N	117	117	116	117	0	0

r_s = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p = Signifikanz; N =Stichprobenanzahl;
 ** Korrelation ist bei Niveau 0,01 signifikant (zweiseitig); * Korrelation ist bei Niveau 0,05 signifikant (zweiseitig).

Tabelle 41: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und den Serumgehalten anderer Spuren- und Mengenelemente in der Laktationsgruppe 3-5 Wochen p. p.

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Kalzium	r_s	0,324**	0,233**	0,290**	0,052	0,044	-0,323
Serum	p	0,001	0,001	0,001	0,366	0,489	0,332
(mg/l)	N	309	309	307	309	249	11
Schwefel	r_s	0,271**	0,169**	0,281**	0,036	0,111	-0,018
Serum	p	0,001	0,006	0,001	0,563	0,081	0,958
(µg/l)	N	261	261	259	261	248	11
Molybdän	r_s	0,064	-0,014	-0,079	-0,087	-0,093	0,178
Serum	p	0,314	0,830	0,217	0,174	0,199	0,600
(µg/l)	N	247	247	245	247	194	11
Eisen	r_s	0,192**	0,136*	0,182**	0,088	-0,015	-0,036
Serum	p	0,001	0,017	0,001	0,124	0,812	0,915
(µg/l)	N	309	309	307	309	249	11
Mangan	r_s	0,061	0,087	0,116*	0,041	-0,033	0,009
Serum	p	0,284	0,127	0,042	0,470	0,605	0,979
(µg/l)	N	308	308	306	308	249	11

r_s = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p = Signifikanz; N =Stichprobenanzahl;
 ** Korrelation ist bei Niveau 0,01 signifikant (zweiseitig); * Korrelation ist bei Niveau 0,05 signifikant (zweiseitig).

Tabelle 42: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und den Serumgehalten anderer Spuren- und Mengenelemente in der Laktationsgruppe 15-18 Wochen p. p.

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Kalzium	r_s	0,305**	0,284**	0,217**	0,078	.	-0,260
Serum	p	0,001	0,001	0,001	0,180	.	0,268
(mg/l)	N	303	302	300	298	0	20
Schwefel	r_s	0,236**	0,202**	0,250**	0,033	.	-0,305
Serum	p	0,001	0,001	0,001	0,604	.	0,190
(µg/l)	N	255	254	253	252	0	20
Molybdän	r_s	0,079	-0,036	-0,088	-0,062	.	0,140
Serum	p	0,220	0,576	0,175	0,339	.	0,557
(µg/l)	N	243	242	240	238	0	20
Eisen	r_s	0,243**	0,197**	0,172**	0,121*	.	-0,069
Serum	p	0,001	0,001	0,003	0,036	.	0,774
(µg/l)	N	303	302	300	298	0	20
Mangan	r_s	0,049	0,092	0,107	-0,030	.	0,233
Serum	p	0,400	0,112	0,065	0,609	.	0,323
(µg/l)	N	303	302	300	298	0	20

r_s = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p = Signifikanz; N =Stichprobenanzahl;
 ** Korrelation ist bei Niveau 0,01 signifikant (zweiseitig); * Korrelation ist bei Niveau 0,05 signifikant (zweiseitig).

Tabelle 43: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und den Serumgehalten anderer Spuren- und Mengenelemente in der Laktationsgruppe 6-20 Wochen p. p.

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Kalzium	r_s	0,109	0,159	0,168	0,064	-0,085	-0,357
Serum	p	0,244	0,089	0,073	0,495	0,429	0,432
(mg/l)	N	116	116	115	116	89	7
Schwefel	r_s	0,017	0,137	0,159	-0,149	-0,052	-0,321
Serum	p	0,870	0,193	0,131	0,155	0,626	0,482
(µg/l)	N	92	92	91	92	89	7
Molybdän	r_s	0,238*	-0,030	-0,070	-0,034	-0,103	-0,535
Serum	p	0,030	0,788	0,531	0,760	0,433	0,216
(µg/l)	N	84	84	83	84	60	7
Eisen	r_s	0,073	-0,089	-0,104	0,115	-0,117	-0,315
Serum	p	0,433	0,343	0,269	0,218	0,276	0,491
(µg/l)	N	116	116	115	116	89	7
Mangan	r_s	0,210*	0,333**	0,220*	0,168	-0,029	0,252
Serum	p	0,024	0,001	0,018	0,072	0,784	0,585
(µg/l)	N	116	116	115	116	89	7

r_s = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p = Signifikanz; N =Stichprobenanzahl;
 ** Korrelation ist bei Niveau 0,01 signifikant (zweiseitig); * Korrelation ist bei Niveau 0,05 signifikant (zweiseitig).

Tabelle 44: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und chemischen Blutparametern bei der Laktationsgruppe der Vorbereiter

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Bilirubin gesamt (μmol/l)	r_s	-0,221**	0,071	-0,004	-0,123*	0,039	0,179
	p	0,001	0,148	0,939	0,010	0,467	0,283
	N	421	420	417	430	348	38
Gallensäuren (μmol/l)	r_s	-0,204**	-0,097*	-0,124*	-0,030	-0,105	0,089
	p	0,001	0,046	0,011	0,531	0,050	0,594
	N	421	420	417	430	348	38
GLDH (U/l)	r_s	0,082	-0,026	0,026	0,010	0,026	0,038
	p	0,095	0,591	0,592	0,843	0,622	0,823
	N	421	420	417	430	348	38
AST (U/l)	r_s	0,030	0,069	0,055	-0,002	-0,001	-0,253
	p	0,545	0,156	0,259	0,971	0,985	0,126
	N	421	420	417	430	348	38
GGT (U/l)	r_s	0,168**	0,138**	0,133**	0,016	0,016	0,042
	p	0,001	0,005	0,007	0,739	0,770	0,801
	N	421	420	417	430	348	38
AP (U/l)	r_s	-0,035	-0,048	0,004	-0,113*	-0,134*	-0,049
	p	0,477	0,329	0,937	0,019	0,012	0,768
	N	421	420	417	430	348	38

r_s= Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p = Signifikanz; N =Stichprobenanzahl;
 ** Korrelation ist bei Niveau 0,01 signifikant (zweiseitig); * Korrelation ist bei Niveau 0,05
 signifikant (zweiseitig).

Tabelle 45: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und chemischen Blutparametern bei der Laktationsgruppe 0-1 Woche p. p.

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar mg/kg	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Bilirubin	r_s	-0,091	0,121*	0,146*	0,114*	.	.
gesamt	p	0,114	0,035	0,011	0,044	.	.
($\mu\text{mol/l}$)	N	305	305	302	313	1	0
Gallensäuren	r_s	-0,066	-0,058	-0,066	0,027	.	.
($\mu\text{mol/l}$)	p	0,253	0,310	0,256	0,633	.	.
	N	305	305	302	313	1	0
GLDH (U/l)	r_s	0,041	-0,093	-0,040	0,001	.	.
	p	0,472	0,104	0,485	0,991	.	.
	N	305	305	302	313	1	0
AST (U/l)	r_s	0,029	0,063	0,029	0,149**	.	.
	p	0,609	0,271	0,619	0,008	.	.
	N	305	305	302	313	1	0
GGT (U/l)	r_s	0,171**	0,043	0,040	0,005	.	.
	p	0,003	0,452	0,487	0,932	.	.
	N	305	305	302	313	1	0
AP (U/l)	r_s	-0,031	0,004	0,080	0,014	.	.
	p	0,592	0,951	0,168	0,800	.	.
	N	305	305	302	313	1	0

r_s = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p = Signifikanz; N =Stichprobenanzahl;
 ** Korrelation ist bei Niveau 0,01 signifikant (zweiseitig); * Korrelation ist bei Niveau 0,05
 signifikant (zweiseitig).

Tabelle 46: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und chemischen Blutparametern bei der Laktationsgruppe 0-5 Wochen p. p.

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Bilirubin	r_s	-0,039	0,106	0,190*	-0,021	.	.
gesamt	p	0,678	0,253	0,041	0,820	.	.
($\mu\text{mol/l}$)	N	117	117	116	118	0	0
Gallensäuren	r_s	0,035	-0,180	-0,073	0,144	.	.
($\mu\text{mol/l}$)	p	0,705	0,052	0,437	0,119	.	.
	N	117	117	116	118	0	0
GLDH (U/l)	r_s	0,193*	0,107	0,151	0,005	.	.
	p	0,037	0,251	0,106	0,961	.	.
	N	117	117	116	118	0	0
AST (U/l)	r_s	0,112	0,111	0,132	0,176	.	.
	p	0,228	0,234	0,158	0,057	.	.
	N	117	117	116	118	0	0
GGT (U/l)	r_s	0,294**	0,151	0,042	-0,023	.	.
	p	0,001	0,104	0,651	0,805	.	.
	N	117	117	116	118	0	0
AP (U/l)	r_s	0,034	0,105	0,149	-0,035	.	.
	p	0,719	0,261	0,111	0,708	.	.
	N	117	117	116	118	0	0

r_s = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p = Signifikanz; N =Stichprobenanzahl;
 ** Korrelation ist bei Niveau 0,01 signifikant (zweiseitig); * Korrelation ist bei Niveau 0,05 signifikant (zweiseitig).

Tabelle 47: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und chemischen Blutparametern bei der Laktationsgruppe 3-5 Wochen p. p.

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Bilirubin	r_s	-0,001	0,080	0,137*	-0,068	0,126*	-0,177
gesamt	p	0,987	0,159	0,017	0,233	0,046	0,583
($\mu\text{mol/l}$)	N	308	308	306	319	252	12
Gallensäuren	r_s	-0,129*	-0,071	-0,028	0,012	0,004	-0,713**
($\mu\text{mol/l}$)	p	0,023	0,211	0,631	0,827	0,948	0,009
	N	309	309	307	320	253	12
GLDH (U/l)	r_s	0,082	0,090	0,103	-0,009	-0,036	0,183
	p	0,153	0,113	0,071	0,871	0,567	0,570
	N	309	309	307	320	253	12
AST (U/l)	r_s	-0,018	-0,017	0,028	-0,082	0,107	-0,470
	p	0,749	0,761	0,630	0,145	0,089	0,123
	N	309	309	307	320	253	12
GGT (U/l)	r_s	0,200**	0,192**	0,134*	-0,029	0,068	-0,129
	p	0,001	0,001	0,019	0,608	0,281	0,689
	N	309	309	307	320	253	12
AP (U/l)	r_s	0,046	0,072	0,134*	-0,146**	0,038	-0,214
	p	0,416	0,206	0,019	0,009	0,544	0,504
	N	309	309	307	320	253	12

r_s = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p = Signifikanz; N =Stichprobenanzahl;
 ** Korrelation ist bei Niveau 0,01 signifikant (zweiseitig); * Korrelation ist bei Niveau 0,05
 signifikant (zweiseitig).

Tabelle 48: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und chemischen Blutparametern bei der Laktationsgruppe 15-18 Wochen p. p.

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Bilirubin	r_s	-0,053	0,005	0,087	0,080	.	0,055
gesamt	p	0,358	0,938	0,132	0,164	.	0,813
($\mu\text{mol/l}$)	N	302	301	299	307	0	21
Gallensäuren	r_s	0,025	0,053	-0,011	0,001	.	0,074
($\mu\text{mol/l}$)	p	0,664	0,362	0,844	0,985	.	0,749
	N	303	302	300	308	0	21
GLDH (U/l)	r_s	0,127*	0,034	0,061	-0,046	.	0,406
	p	0,027	0,561	0,295	0,423	.	0,068
	N	303	302	300	308	0	21
AST (U/l)	r_s	-0,004	-0,021	-0,006	-0,011	.	0,252
	p	0,939	0,710	0,921	0,843	.	0,270
	N	303	302	300	308	0	21
GGT (U/l)	r_s	0,235**	0,157**	0,117*	-0,034	.	0,322
	p	0,001	0,006	0,043	0,549	.	0,155
	N	303	302	300	308	0	21
AP (U/l)	r_s	0,148**	0,121*	0,173**	-0,014	.	-0,224
	p	0,010	0,036	0,003	0,806	.	0,329
	N	303	302	300	308	0	21

r_s = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p = Signifikanz; N =Stichprobenanzahl;
 ** Korrelation ist bei Niveau 0,01 signifikant (zweiseitig); * Korrelation ist bei Niveau 0,05
 signifikant (zweiseitig).

Tabelle 49: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und chemischen Blutparametern bei der Laktationsgruppe 6-20 Wochen p. p.

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Bilirubin	r_s	-0,112	-0,047	0,027	0,077	-0,118	-0,090
gesamt	p	0,233	0,613	0,774	0,407	0,264	0,848
($\mu\text{mol/l}$)	N	116	116	115	118	91	7
Gallensäuren	r_s	-0,138	-0,145	-0,111	0,103	0,076	-0,071
($\mu\text{mol/l}$)	p	0,139	0,119	0,238	0,266	0,474	0,879
	N	116	116	115	118	91	7
GLDH (U/l)	r_s	-0,166	-0,069	-0,023	0,046	0,156	-0,143
	p	0,074	0,463	0,808	0,618	0,140	0,760
	N	116	116	115	118	91	7
AST (U/l)	r_s	-0,122	-0,057	-0,152	0,155	0,048	0,198
	p	0,191	0,542	0,105	0,094	0,650	0,670
	N	116	116	115	118	91	7
GGT (U/l)	r_s	-0,040	0,114	0,038	-0,120	0,174	0,214
	p	0,670	0,221	0,690	0,196	0,098	0,645
	N	116	116	115	118	91	7
AP (U/l)	r_s	-0,116	-0,101	0,006	0,017	-0,120	-0,198
	p	0,214	0,282	0,952	0,855	0,259	0,670
	N	116	116	115	118	91	7

r_s = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p = Signifikanz; N =Stichprobenanzahl;
 ** Korrelation ist bei Niveau 0,01 signifikant (zweiseitig); * Korrelation ist bei Niveau 0,05 signifikant (zweiseitig).

Tabelle 50: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und Parametern des Blutbildes bei der Laktationsgruppe der Vorbereiter

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Erythrozyten (T/l)	r_s	0,008	-0,110*	0,005	-0,144**	0,022	0,181
	p	0,871	0,025	0,917	0,003	0,682	0,278
	N	418	417	414	428	346	38
Hämatokrit (%)	r_s	-0,010	0,009	0,008	0,078	-0,081	0,280
	p	0,843	0,851	0,872	0,105	0,134	0,089
	N	421	420	417	431	348	38
Hämoglobin (g/l)	r_s	0,058	-0,098*	-0,002	-0,104*	-0,068	0,143
	p	0,239	0,045	0,975	0,032	0,208	0,392
	N	421	420	417	431	348	38
Thrombozyten (G/l)	r_s	0,083	0,078	-0,030	0,009	0,041	-0,097
	p	0,094	0,114	0,548	0,853	0,452	0,563
	N	411	410	407	421	340	38
Leukozyten (G/l)	r_s	0,098*	0,001	0,023	0,055	0,020	0,077
	p	0,048	0,997	0,650	0,262	0,709	0,646
	N	410	409	406	420	339	38

r_s= Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p = Signifikanz; N =Stichprobenanzahl;
 ** Korrelation ist bei Niveau 0,01 signifikant (zweiseitig); * Korrelation ist bei Niveau 0,05 signifikant (zweiseitig).

Tabelle 51: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und Parametern des Blutbildes bei der Laktationsgruppe 0-1 Woche p. p.

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Erythrozyten (T/l)	r_s	0,030	0,035	0,037	-0,069	.	.
	p	0,598	0,548	0,523	0,223	.	.
	N	304	304	301	312	1	0
Hämatokrit (%)	r_s	-0,049	0,109	-0,014	0,163**	.	.
	p	0,397	0,058	0,811	0,004	.	.
	N	305	305	302	313	1	0
Hämoglobin (g/l)	r_s	0,134*	0,045	0,016	-0,121*	.	.
	p	0,019	0,436	0,779	0,032	.	.
	N	305	305	302	313	1	0
Thrombozyten (G/l)	r_s	0,052	0,033	-0,033	-0,037	.	.
	p	0,371	0,567	0,572	0,523	.	.
	N	298	298	295	306	1	0
Leukozyten (G/l)	r_s	0,101	-0,048	-0,056	0,016	.	.
	p	0,081	0,406	0,342	0,780	.	.
	N	297	297	294	305	1	0

r_s= Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p = Signifikanz; N =Stichprobenanzahl;
 ** Korrelation ist bei Niveau 0,01 signifikant (zweiseitig); * Korrelation ist bei Niveau 0,05
 signifikant (zweiseitig).

Tabelle 52: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und Parametern des Blutbildes bei der Laktationsgruppe 0-5 Wochen p. p.

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Erythrozyten (T/l)	r_s	0,010	-0,080	-0,104	-0,218*	.	.
	p	0,914	0,391	0,270	0,018	.	.
	N	116	116	115	117	0	0
Hämatokrit (%)	r_s	0,049	0,120	0,046	0,061	.	.
	p	0,601	0,196	0,623	0,510	.	.
	N	117	117	116	118	0	0
Hämoglobin (g/l)	r_s	0,074	0,042	0,067	-0,230*	.	.
	p	0,428	0,650	0,473	0,012	.	.
	N	117	117	116	118	0	0
Thrombozyten (G/l)	r_s	0,110	0,161	0,057	-0,076	.	.
	p	0,238	0,085	0,547	0,414	.	.
	N	116	116	115	117	0	0
Leukozyten (G/l)	r_s	0,219*	0,188*	0,167	-0,104	.	.
	p	0,019	0,045	0,077	0,268	.	.
	N	115	115	114	116	0	0

r_s= Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p = Signifikanz; N =Stichprobenanzahl;
 ** Korrelation ist bei Niveau 0,01 signifikant (zweiseitig); * Korrelation ist bei Niveau 0,05 signifikant (zweiseitig).

Tabelle 53: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und Parametern des Blutbildes bei der Laktationsgruppe 3-5 Wochen p .p.

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Erythrozyten (T/l)	r_s	0,027	-0,072	-0,001	-0,123*	0,101	-0,673*
	p	0,638	0,210	0,992	0,028	0,112	0,017
	N	305	305	303	316	250	12
Hämatokrit (%)	r_s	-0,016	-0,034	-0,042	0,150**	0,023	-0,526
	p	0,775	0,548	0,463	0,007	0,718	0,079
	N	308	308	306	319	253	12
Hämoglobin (g/l)	r_s	0,137*	0,028	0,012	-0,121*	-0,059	-0,025
	p	0,016	0,625	0,830	0,031	0,348	0,939
	N	308	308	306	319	253	12
Thrombozyten (G/l)	r_s	-0,031	0,022	-0,149*	-0,106	-0,082	-0,154
	p	0,595	0,701	0,010	0,063	0,202	0,632
	N	299	299	297	310	246	12
Leukozyten (G/l)	r_s	0,055	-0,056	-0,067	-0,037	0,002	-0,418
	p	0,345	0,335	0,250	0,514	0,970	0,177
	N	299	299	297	310	246	12

r_s= Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p = Signifikanz; N =Stichprobenanzahl;
 ** Korrelation ist bei Niveau 0,01 signifikant (zweiseitig); * Korrelation ist bei Niveau 0,05 signifikant (zweiseitig).

Tabelle 54: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und Parametern des Blutbildes bei der Laktationsgruppe 15-18 Wochen p. p

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Erythrozyten (T/l)	r_s	0,020	-0,083	-0,070	-0,154**	.	-0,231
	p	0,735	0,150	0,230	0,007	.	0,315
	N	302	301	299	307	0	21
Hämatokrit (%)	r_s	-0,032	-0,113*	-0,138*	0,015	.	-0,099
	p	0,574	0,049	0,017	0,799	.	0,669
	N	303	302	300	308	0	21
Hämoglobin (g/l)	r_s	0,070	-0,095	-0,124*	-0,140*	.	0,081
	p	0,227	0,099	0,032	0,014	.	0,727
	N	303	302	300	308	0	21
Thrombozyten (G/l)	r_s	0,068	0,105	-0,006	0,056	.	0,205
	p	0,244	0,073	0,915	0,337	.	0,374
	N	296	295	293	301	0	21
Leukozyten (G/l)	r_s	-0,001	0,046	0,041	0,033	.	-0,230
	p	0,981	0,428	0,480	0,570	.	0,315
	N	296	295	293	301	0	21

r_s= Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p = Signifikanz; N =Stichprobenanzahl;
 ** Korrelation ist bei Niveau 0,01 signifikant (zweiseitig); * Korrelation ist bei Niveau 0,05 signifikant (zweiseitig).

Tabelle 55: Korrelationen zwischen der Kupferkonzentration der einzelnen Probenmedien und Parametern des Blutbildes bei der Laktationsgruppe 6-20 Woche p. p

		Kupfer Serum (mg/l)	Kupfer Plasma (mg/l)	Kupfer EDTA (mg/l)	Kupfer Urin (mg/l)	Kupfer Haar (mg/kg)	Kupfer Kot (mg/kg TM)
Erythrozyten (T/l)	r_s	-0,097	-0,289**	-0,188*	-0,108	-0,073	-0,371
	p	0,301	0,002	0,045	0,245	0,496	0,413
	N	115	115	114	117	90	7
Hämatokrit (%)	r_s	-0,060	-0,167	-0,112	0,101	-0,030	0,071
	p	0,523	0,073	0,234	0,275	0,778	0,879
	N	116	116	115	118	91	7
Hämoglobin (g/l)	r_s	0,060	-0,126	0,009	-0,164	-0,048	-0,564
	p	0,520	0,178	0,920	0,077	0,651	0,187
	N	116	116	115	118	91	7
Thrombozyten (G/l)	r_s	0,076	0,054	0,001	-0,177	0,228*	-0,821*
	p	0,417	0,566	0,999	0,056	0,031	0,023
	N	115	115	114	117	90	7
Leukozyten (G/l)	r_s	0,001	0,050	0,071	-0,013	-0,052	0,036
	p	0,997	0,598	0,453	0,887	0,629	0,939
	N	114	114	113	116	89	7

r_s= Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p = Signifikanz; N =Stichprobenanzahl;
 ** Korrelation ist bei Niveau 0,01 signifikant (zweiseitig); * Korrelation ist bei Niveau 0,05
 signifikant (zweiseitig).

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die zum Gelingen dieser Doktorarbeit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt hierbei

Herrn Univ.-Prof. Dr. Rudolf Staufenbiel, der diese Arbeit durch die Bereitstellung des Themas überhaupt erst möglich gemacht und mich über die letzten Jahre hinweg durch konstruktive Kritik und wertvolle Anregungen stets ausgezeichnet wissenschaftlich betreut und geduldig unterstützt hat,

Frau Dr. Laura Pieper für ihre ausgezeichnete Hilfe in statistischen Fragen,

meinem lieben Kollegen Andreas Drack, der mich als Landwirtschaftsmeister immer wieder mit wertvollem Fachwissen zur Milchviehhaltung und Milchproduktion versorgt hat,

meinem langjährigen Freund Tobias Ripperger, nicht nur für seine Unterstützung bei der Digitalisierung meiner handgezeichneten Grafiken, sondern generell und überhaupt für seine unerschütterliche Hilfsbereitschaft in allen Lebenslagen,

sowie last but not least meiner Familie, auf deren bedingungslose Unterstützung immer Verlass ist. Ganz besonders möchte ich meinen Eltern danken, die nie müde wurden, den Finger in die Wunde zu legen, um mich zum Fortschritt dieser Arbeit zu motivieren und die am Ende ja doch fast immer Recht behalten.

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Aschaffenburg, 09. Februar 2021

Susanne Helm



9 783967 290998

mbvberlin | mensch und buch verlag

49,90 Euro | ISBN: 978-3-96729-099-8