

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

**Untersuchungen zur Diagnostik der
Spurenelementversorgung von Holstein-Friesian-
Milchkühen**

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

vorgelegt von
Volker Heggemann
Tierarzt
aus Wesel

Berlin 2013

Journal-Nr.: 3640

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Rudolf Staufenbergel
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Klaus Männer
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Jörg Aschenbach

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

cattle, dairy cows, trace elements, nutrition status, diagnosis, diagnosis
techniques, blood, liver

Tag der Promotion: 05.12.2013

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

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

ISBN: 978-3-86387-427-8

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2013

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

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 2014

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG.....	1
2	LITERATURÜBERSICHT.....	2
2.1	Herdendiagnostik.....	2
2.2	Kupfer.....	5
2.2.1	Physiologie und Metabolismus.....	5
2.2.2	Mangel.....	6
2.2.3	Übersorgung und Intoxikation.....	8
2.2.4	Diagnostik.....	9
2.2.4.1	Blut.....	9
2.2.4.2	Leber und Niere.....	12
2.2.4.3	Haar.....	14
2.3	Molybdän.....	15
2.3.1	Physiologie und Metabolismus.....	15
2.3.2	Mangel.....	15
2.3.3	Übersorgung und Intoxikation.....	16
2.3.4	Diagnostik.....	16
2.3.4.1	Blut.....	17
2.3.4.2	Leber.....	17
2.3.4.3	Haar.....	17
2.4	Eisen.....	18
2.4.1	Physiologie und Metabolismus.....	18
2.4.2	Mangel.....	19
2.4.3	Übersorgung und Intoxikation.....	20
2.4.4	Diagnostik.....	21
2.4.4.1	Blut.....	23
2.4.4.2	Leber und andere Gewebe.....	23
2.4.4.3	Haar.....	24
2.5	Zink.....	25
2.5.1	Physiologie und Metabolismus.....	25

2.5.2	Mangel.....	25
2.5.3	Übersorgung und Intoxikation.....	26
2.5.4	Diagnostik.....	27
2.5.4.1	Blut.....	28
2.5.4.2	Leber und andere Gewebe.....	29
2.5.4.3	Haar.....	31
2.6	Mangan.....	32
2.6.1	Physiologie und Metabolismus.....	32
2.6.2	Mangel.....	32
2.6.3	Übersorgung und Intoxikation.....	33
2.6.4	Diagnostik.....	33
2.6.4.1	Blut.....	34
2.6.4.2	Leber und andere Gewebe.....	36
2.6.4.3	Haar.....	37
2.7	Selen.....	38
2.7.1	Physiologie und Metabolismus.....	38
2.7.2	Mangel.....	39
2.7.3	Übersorgung und Intoxikation.....	40
2.7.4	Diagnostik.....	41
2.7.4.1	Blut.....	41
2.7.4.2	Leber.....	43
2.7.4.3	Haar.....	44
2.7.4.4	Milch.....	45
2.7.4.5	Harn und Faeces.....	45
3	MATERIAL UND METHODEN.....	46
3.1	Allgemeines.....	46
3.2	Probanden.....	47
3.3	Stichprobenübersicht.....	47
3.4	Probenentnahme.....	48
3.4.1	Blutentnahme.....	48
3.4.2	Harnentnahme.....	48

3.4.3	Leberbiopsie	48
3.4.4	Haarentnahme	49
3.4.5	Futterproben	49
3.4.6	Wasserproben	49
3.5	Probenaufbereitung	49
3.5.1	Blut	49
3.5.2	Harn	50
3.5.3	Leber	50
3.6	Analytik	50
3.7	Statistik	51
3.7.1	Normalverteilung	51
3.7.2	Deskriptive Statistik	51
3.7.3	Korrelationsanalyse	51
3.7.4	Bland-Altman-Methodenvergleich	52
3.7.5	Vergleich der Laktationsabschnitte	53
3.7.6	Referenzbereiche	54
4	ERGEBNISSE	55
4.1	Ergebnisse der Futterrations- und Wasseranalysen	55
4.2	Ergebnisse Kupfer	58
4.2.1	Deskriptive Statistik und Test auf Normalverteilung der Kupferkonzentrationen in den Substraten	58
4.2.2	Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serumkupferkonzentrationen (Einzelwerte)	60
4.2.3	Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmakupferkonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten	61
4.2.4	Korrelationsanalyse der Kupferkonzentrationen in den Substraten	62
4.2.5	Laktationsverlauf der Substratkupferkonzentrationen	63
4.2.6	Referenzbereichsermittlung für die Substratkupferkonzentrationen	65
4.3	Ergebnisse Molybdän	66

4.3.1	Deskriptive Statistik und Test auf Normalverteilung der Molybdänkonzentrationen in den Substraten	66
4.3.2	Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serum-molybdänkonzentrationen (Einzelwerte)	68
4.3.3	Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmapolybdänkonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten	69
4.3.4	Korrelationsanalyse der Molybdänkonzentrationen in den Substraten	70
4.3.5	Laktationsverlauf der Substratmolybdänkonzentrationen	71
4.3.6	Referenzbereichsermittlung für die Substratmolybdänkonzentrationen	73
4.4	Ergebnisse Eisen	74
4.4.1	Deskriptive Statistik und Test auf Normalverteilung der Eisenkonzentrationen in den Substraten	74
4.4.2	Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serumeisenkonzentrationen (Einzelwerte)	76
4.4.3	Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmaeisenkonzentrationen von Gruppenmittel- und Poolwerten	77
4.4.4	Korrelationsanalyse der Eisenkonzentrationen in den Substraten	78
4.4.5	Laktationsverlauf der Substrateisenkonzentrationen	79
4.4.6	Referenzbereichsermittlung für die Substrateisenkonzentrationen	81
4.5	Ergebnisse Zink	82
4.5.1	Deskriptive Statistik und Test auf Normalverteilung der Zinkkonzentrationen in den Substraten	82
4.5.2	Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serumzinkkonzentrationen (Einzelwerte)	84
4.5.3	Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmazinkkonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten	85
4.5.4	Korrelationsanalyse der Zinkkonzentrationen in den Substraten	86
4.5.5	Laktationsverlauf der Substratzinkkonzentrationen	87
4.5.6	Referenzbereichsermittlung für die Substratzinkkonzentrationen	89
4.6	Ergebnisse Mangan	90
4.6.1	Deskriptive Statistik und Test auf Normalverteilung der Mangankonzentrationen in den Substraten	90

4.6.2	Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serummangankonzentrationen (Einzelwerte)	92
4.6.3	Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmamangankonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten	93
4.6.4	Bland-Altman-Methodenvergleich der Vollblutmangankonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten	94
4.6.5	Korrelationsanalyse der Mangankonzentrationen in den Substraten	95
4.6.6	Laktationsverlauf der Substratmangankonzentrationen	96
4.6.7	Referenzbereichsermittlung für die Substratmangankonzentrationen.....	98
4.7	Ergebnisse Selen.....	99
4.7.1	Deskriptive Statistik und Test auf Normalverteilung der Selenkonzentrationen in den Substraten	99
4.7.2	Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serumselenkonzentrationen (Einzelwerte)	101
4.7.3	Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmaselenkonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten	102
4.7.4	Bland-Altman-Methodenvergleich der Vollblutselenkonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten	103
4.7.5	Korrelationsanalyse der Selenkonzentrationen in den Substraten.....	104
4.7.6	Laktationsverlauf der Substratselenkonzentrationen.....	105
4.7.7	Referenzbereichsermittlung für die Substratselenkonzentrationen	107
4.8	Korrelationsanalyse zwischen den Spurenelementkonzentrationen der Substrate Plasma und Leber	108
5	DISKUSSION	109
5.1	Rationsanalyse	109
5.1.1	Kupfer.....	109
5.1.2	Molybdän.....	109
5.1.3	Eisen	110
5.1.4	Zink.....	110
5.1.5	Mangan	111
5.1.6	Selen	111

5.1.7	Schwefel	111
5.2	Wasseranalyse	111
5.3	Bland-Altman-Methodenvergleiche zwischen den gepaarten Spurenelementkonzentrationen des Plasmas und Serums	112
5.4	Bland-Altman-Methodenvergleiche zwischen den gepaarten Gruppenmittel- und Poolwertspurenelementkonzentrationen des Plasmas bzw. des Vollbluts	114
5.5	Korrelationsanalyse	116
5.6	Referenzbereiche	116
5.7	Diagnostik der Spurenelementversorgung	118
5.7.1	Kupfer	118
5.7.2	Molybdän	121
5.7.3	Eisen	123
5.7.4	Zink	125
5.7.5	Mangan	128
5.7.6	Selen	131
6	SCHLUSSFOLGERUNGEN	134
7	ZUSAMMENFASSUNG	138
8	SUMMARY	140
9	LITERATURVERZEICHNIS	142
10	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	187
11	TABELLENVERZEICHNIS	191

Abkürzungsverzeichnis

α	Risiko erster Art, Signifikanzniveau	KG	Körpergewicht
a. p.	ante partum	KI	Konfidenzintervall
AST	Aspartat-Aminotransferase	KS-Test	Kolmogorov-Smirnov-Test
ATP	Adenosintriphosphat	L	Leber
β	Risiko zweiter Art	u	Erwartungs- bzw. Populationsmittelwert
b	Regressionskoeffizient	MCV	mittleres Erythrozyteneinzel- volumen
BHB	β -Hydroxybuttersäure	MT	Metallothionein
BS	blind staggers	MW	Gruppenmittelwert
Cp	Coeruloplasmin	N	Umfang der Grund- gesamtheit
Ctr1	Kupfertransporter 1	n	Stichprobenumfang
DCAB	Dietary Cation-Anion	NI	Niere
Balance		NEFA	nonesterified fatty acids
DIO	Iodothyronideiodinase	NMD	nutritive Myodegeneration
DMT1	divalent metal transporter 1	NRC	National Research Council
EP	Einzelprobe	P	Prävalenz
EW	Einzelwert	p	Signifikanzwert
ESOD	Erythrozyten-Superoxid- Dismutase	Pb	Blei
d	Tag	p. p.	post partum
d_s	Differenz des Stichproben- vom Populationsmittelwert	PP	Poolprobe
FM	Frischmelker	Pl	Plasma
FS	Frischsubstanz	$Q_{0,25}$	erstes Quartil
GfE	Gesellschaft für Ernährung	$Q_{0,75}$	drittes Quartil
GGT	Gamma-Glutamyltransferase	$R_{u/o}$	untere bzw. obere Referenz- grenze
Gpx	Gluthation-Peroxidase	r	Korrelationskoeffizient
Hb	Hämoglobin	S	Serum
HF	Holstein-Friesian	s	Standardabweichung
Hkt	Hämatokrit	s_{Dm}	Standardabweichung der Differenzen
HL	Hochlaktation	SeCys	Selenocystein
ICP-OES	optische Emissionsspektro- metrie mit induktiv gekoppeltem Plasma	SeMet	Selenomethionin
kDA	Kilodalton	σ^2	Varianz

Abkürzungsverzeichnis

SL	Spätlaktation
TEBK	totale Eisenbindungskapazität
TfR	Transferrin-Rezeptoren
TfS	Transferrinsättigung
TM	Trockenmasse
TMR	totale Mischration
TS	Trockensubstanz
TMT	Thiomolybdat
TrxR	Thioredoxin-Reduktase
UEBK	ungesättigte Eisenbindungs- kapazität
Vb	Vollblut
VK	Variationskoeffizient
Wo	Woche
\bar{x}	arithmetischer Mittelwert
\bar{x}_{Dm}	Mittelwert der Differenzen
\tilde{x}	Median
x_{max}	Maximum
x_{min}	Minimum
Zip	Zinc regulated transporter- and iron regulated transporter-like proteins
ZnT	Zinktransporter

1 Einleitung

Eine bedarfsgerechte Spurenelementversorgung ist Voraussetzung für eine optimale Herdengesundheit und -produktivität. Aus diesem Grund ist es sinnvoll, das Monitoring der Spurenelementversorgung in die Bestandsbetreuung von Milchviehherden zu integrieren. Insbesondere beim Auftreten unspezifischer Krankheitserscheinungen in einer Milchviehherde werden zur Abklärung der Verdachtsdiagnose „Spurenelementunterversorgung oder -versorgungsstörung“ diagnostische Maßnahmen eingeleitet. Das diagnostische Vorgehen wird üblicherweise durch die Quantifizierung der Spurenelemente in verschiedenen Probenmedien bestimmt. Aufgrund der hohen Praktikabilität wird das Substrat Blut (Serum, Plasma, Vollblut) am häufigsten eingesetzt. Wesentlich seltener finden andere Substrate wie Leber oder Haar Verwendung. Die in der Literatur für die einzelnen Substratkonzentrationen aufgeführten Referenzbereiche sind vielzählig und höchst variabel. Zumeist finden sich keine Angaben zum labortechnischen Verfahren und der Bestimmungsmethode. Die tiergesundheitsliche Relevanz der auftretenden Abweichungen von den angewendeten Referenzbereichen ist oft schwierig einzuschätzen, da in der Regel eine bedarfsgerechte oder hohe Spurenelementversorgung besteht und Normabweichungen sowohl bei verdächtigen als auch bei unverdächtigen Herden auftreten (Gelfert und Staufenbiel 1998). Hierdurch wird die diagnostische Eignung der verwendeten Substrate bzw. der Referenzbereiche in Frage gestellt.

Die vorliegende Arbeit setzt sich zum Ziel, die Spurenelementdiagnostik von Cu, Mo, Fe, Zn, Mn und Se bei Milchkühen transparenter zu machen und Empfehlungen zur Diagnostik zu erarbeiten.

Hierzu sollen an einer bedarfsgerecht bis hochversorgten Population von Milchkühen Referenzbereiche, für die durch ICP-OES-Technik analysierten Spurenelementkonzentrationen der Substrate Serum, Plasma, Vollblut, Harn, Leber und Haar erstellt werden. Weiterhin sollen durch die Ermittlung von Zusammenhängen zwischen den untersuchten Substratkonzentrationen und dem Verhalten der Substratkonzentrationen im Laktationsverlauf unter Berücksichtigung der aktuellen Literatur Rückschlüsse auf die diagnostische Eignung und Aussagekraft von Spurenelementversorgung bzw. -status gezogen werden. Ferner soll die Eignung des Poolprobenverfahrens für verschiedene Plasma- und Vollblutspurenelementkonzentrationen überprüft werden.

2 Literaturübersicht

2.1 Herdendiagnostik

Die wichtigsten Fragen, die mit der Spurenelementdiagnostik auf Herdenebene einhergehen, sind, welche und wie viele Tiere in einer Herde zu untersuchen sind, welcher statistische Ansatz zur Datenanalyse heranzuziehen ist, welche diagnostischen Indikatoren genutzt werden, welche Referenzgrenzen diesbezüglich zur Interpretation der Analyseergebnisse verwendet werden und wie groß das Vertrauen in die Ergebnisse ist (Herdt und Hoff 2011).

Sofern klinische Erscheinungen einen Verdacht auf einen Spurenelementmangel oder eine -intoxikation lenken, sollten ausschließlich die Verdachtstiere untersucht werden. Bei der routinemäßigen Überprüfung der Spurenelementversorgung sollten hingegen nur klinisch unauffällige Tiere in die Untersuchung aufgenommen werden (Herdt und Hoff 2011).

Die Diagnostik auf Herdenebene ist nur sinnvoll, wenn eine angemessene Anzahl von Tieren in die Untersuchung einbezogen wird (Herdt et al. 2000; Oetzel 2004; Herdt und Hoff 2011). Die Bildung von vergleichbaren Kuhgruppen (gleiches Laktations- und Gestationsstadium) wird von den meisten Autoren empfohlen (Payne et al. 1970; Rossow et al. 1987; Ingraham und Kappel 1988; Herdt et al. 2000; Oetzel 2004).

Grundsätzlich werden zwei unterschiedliche Stichprobenverfahrenstests unterschieden.

Herdentestergebnisse können entweder anhand von Abweichungen des Gruppenmittelwerts einer Stichprobe von einem Referenzmittelwert bewertet werden (Willer 1982; Herdt et al. 2000) oder anhand des Verhältnisses von Analysewerten einer Stichprobe, die über oder unter einem Referenzgrenzwert liegen (Oetzel 2004; Herdt und Hoff 2011).

Die Grundlage für die Nutzung von Gruppenmittelwerten einer Stichprobe ist, dass Milchkühe eines Laktationsstadiums, die unter gleichen Fütterungs- und Haltungsbedingungen gehalten werden, einheitlich in der Auslenkung der zu untersuchenden Analyten reagieren. Dieses konnten Willer et al. (1976) bei verschiedenen Stoffwechselmetaboliten beobachten.

Bei der Nutzung von Stichprobenmittelwerten sind für die Stichprobenplanung Informationen über den Verteilungstyp und den Schätzwert der Varianz (σ^2) des Analyten erforderlich. Zudem müssen vorab das Risiko der Fehleinschätzung erster Art (α) und zweiter Art (β) sowie die zu sichernde Mindestabweichung des Stichprobenmittelwerts vom Referenzpopulationsmittelwert (d_s) festgelegt werden (Willer 1982). Bei

normalverteilten Analyten und solchen mit mäßiger Schiefe ergibt sich bei bekannter Varianz zur Berechnung des Stichprobenumfangs unter zweiseitiger Fragestellung folgende Formel:

$$n = \sigma^2/d_s^2(u_{1-\alpha/2} + u_{1-\beta})^2$$

Die Werte für die wichtigsten Quantile der Normalverteilung $((u_{1-\alpha/2} + u_{1-\beta})^2)$ sind in gängigen Statistikbüchern tabelliert aufgeführt (Willer 1982; Graf et al. 1998).

Rossow et al. (1987) empfehlen, die relevante Mindestabweichung des Mittelwerts der Stichprobe mit einer Standardabweichung und α und β mit 10 % bzw. 5 % festzulegen. Hierbei ergibt sich ein Stichprobenumfang der ungefähr $n = 10$ entspricht und nach Auffassung der Autoren im Allgemeinen als ausreichend zu betrachten ist.

Der wesentliche Vorteil von Stichprobenmittelwerten gegenüber Einzelwerten liegt darin, dass sie durch Poolwerte ersetzt werden können. Für eine Vielzahl von Analyten ist davon auszugehen, dass der Analysewert, der aus den Einzelproben hergestellten Poolprobe gemessen wird, den gleichen Informationsgehalt beinhaltet, wie der Mittelwert der analysierten Einzelproben (Lehwenich 1999; van Saun 2007). Dieses ist mit einer erheblichen Reduktion der Analysekosten verbunden und vergrößert die Umsetzbarkeit routinemäßiger Untersuchungen in Milchviehherden (van Saun 2007).

Da sich der Mittelwert einer Stichprobe aus Einzelwerten zusammensetzt, die oberhalb und unterhalb des Mittels liegen, ist davon auszugehen, dass die Referenzgrenzen der Mittel- bzw. Poolwerte enger liegen als die der Einzelwerte (Herdt et al. 2000). Bisher sind Referenzbereiche für Spurenelementsubstratkonzentrationen allerdings nicht verfügbar (Herdt und Hoff 2011).

Nach Willer (1982) werden zweiseitige Referenzgrenzen ($R_{u/o}$) zur Beurteilung von Stichprobenmittelwerten wie Konfidenzgrenzen aus dem Mittelwert der Referenzpopulation (u), dem Standardfehler des Mittelwerts σ/\sqrt{n} und dem festgelegten Quantil der Normalverteilung ($u_{1-\alpha/2}$) berechnet. Die entsprechende Formel lautet:

$$R_{u/o} = u \pm (u_{1-\alpha/2}) \sigma/\sqrt{n}$$

Bei der Verwendung von Einzelwerten sind bei der Stichprobenplanung die Größe der zu untersuchenden Population und Kenntnis der kritischen Prävalenz der Erkrankung

notwendig. Zudem muss die statistische Sicherheit des Erreichens der kritischen Prävalenz vorab festgelegt werden (Dohoo et al. 2003). Die Formel zur Berechnung des Stichprobenumfangs lautet hiernach wie folgt:

$$n = (1 - \alpha^{1/P \times N}) \times (N - (P \times N - 1)/2)$$

Die Größe der Population spielt hierbei nur eine geringe Rolle. Beispielsweise sind bei einer Populationsgröße (N) von 50 bis 1000 Tieren, einer kritischen Prävalenz (P) von 10 % bzw. 20 % und einer Konfidenz (1 - α) von 75 % im ersteren Fall 12 und im letzteren Fall 6 bis 7 Tiere zu beproben. Legt man eine statistische Sicherheit von 95 % zugrunde, sind im ersteren Fall 14 und im letzteren Fall 12 bis 14 Tiere zu untersuchen.

Als guter Grundstock wird von anderen Autoren unabhängig vom Stichprobentestverfahren ein zu untersuchende Gruppengröße von $n = 7$ empfohlen (Payne et al. 1970; Herdt et al. 2000).

Die Auswahl eines geeigneten diagnostischen Indikators hängt von der Physiologie und dem Metabolismus des jeweiligen Spurenelements ab und variiert mit dem Zweck der Untersuchung (Herdt et al. 2000; Herdt und Hoff 2011).

Die in der Literatur verwendeten diagnostischen Indikatoren und die diesbezüglich ausgewiesenen Referenzwertangaben werden in den folgenden Kapiteln dargestellt.

2.2 Kupfer

2.2.1 Physiologie und Metabolismus

In biologischen Systemen ist Kupfer im oxidierten (Cu^{2+}) und reduzierten (Cu^+) Zustand zu finden (Tapiero et al. 2003). Es wird für eine Vielzahl physiologischer Prozesse, einschließlich der Neurotransmitter-Biosynthese, des oxidativen Stoffwechsels, des Schutzes gegen reaktive Sauerstoffspezies und der Angiogenese benötigt (Kuo et al. 2006; Nose und Thiele 2010). Unter anderem bildet es das aktive Zentrum der Metalloproteine Dopamin- β -Hydroxylase, Tyrosinase, Lysyl-Oxidase, Cytochrom-C-Oxidase und Monoamino-Oxidase (Paynter 1987; Linder und Hazegh-Azam 1996; Broderius und Prohaska 2009).

Die Absorption des Nahrungskupfers erfolgt bei allen Säugetieren im Dünndarm, vor allem im Duodenum und Jejunum. Kupfer wird über den transmembranen Cu-Transporter Ctr1 entlang eines Konzentrationsgradienten durch die apikale Membran in die Mukosazelle befördert, was die Reduktion von zweiwertigem Nahrungskupfer zu Cu^+ durch eine Metalloreduktase voraussetzt (Nose und Thiele 2010). Der Ctr1 konnte bei verschiedenen Nagerspezies, Schweinen und Menschen bereits nachgewiesen werden (Kuo et al. 2006; Nose et al. 2010). Der Divalent Metal Transporter 1 (DMT1) ist ein weiterer potenzieller Cu-Transporter in der apikalen Membran. Im Zytoplasma des Enterozyten wird Kupfer entweder durch Kupferchaperone zur basolateralen Membran befördert oder an Glutathion oder Metallothionein gebunden. An der basolateralen Membran gelangt es durch eine kupferabhängige ATPase energieabhängig ins Blut oder den Interstitialraum (Nose und Thiele 2010).

Das resorbierte Kupfer wird im Blut sowohl an Albumin und Aminosäuren gebunden als auch in Form von Transcuprein zur Leber transportiert (Linder et al. 1999). Hier wird es zur Synthese von Coeruloplasmin genutzt oder in Form von Metallothionein gespeichert (Cousins 1985; Bremner 1987; Linder et al. 1998). Das Coeruloplasmin befördert Kupfer in die verschiedenen Körpergewebe, wo es zur Biosynthese von Kupferschlüsselenzymen genutzt wird (Frieden 1986; Linder et al. 1998).

Die Kupferhomöostase wird bei Säugetieren in unterschiedlichem Umfang durch Kontrolle von Absorption, Speicherung und biliärer Exkretion aufrechterhalten. Wiederkäuer haben im Vergleich zu Nicht-Wiederkäuern eine geringe Kontrolle über die Absorption. Sie speichern Kupfer bei nutritiver Überversorgung in der Leber (Suttle 2010). Die Resorptionsrate des Kupfers schwankt bei Wiederkäuern zwischen 1 % und 10 %

(Hidiroglou et al. 1990; Underwood und Suttle 1999). Die Exkretion des absorbierten Kupfers erfolgt überwiegend über die Gallenflüssigkeit (Gooneratne et al. 1989; Gustafson und Olsson 2004).

2.2.2 Mangel

Der Kupfermangel tritt als primärer Mangel infolge einer unzureichenden Kupferversorgung oder als sekundärer Mangel infolge einer Störung der Resorption und/oder einer Inhibierung der kupferhaltigen Enzyme auf (Gengelbach et al. 1994).

Ab einem Gehalt von weniger als 8 mg/kg TS in der Ration ist mit dem Auftreten eines primären Kupfermangels zu rechnen (Underwood 1977), wobei sich der Bedarf bei Anwesenheit von Antagonisten im Futter erhöht. Die in der Literatur angegebenen Empfehlungen für die Versorgung von Milchkühen mit Kupfer sind in Tab. 1 dargestellt.

Die Ätiologie des sekundären Kupfermangels beruht bei Wiederkäuern überwiegend auf einer komplexen Wechselwirkung zwischen Kupfer, Molybdän, Schwefel und Eisen im Pansen (Humphries et al. 1983; Suttle 1991; Mackenzie et al. 1997; Spears 2003; Gould und Kendall 2011).

Bei Molybdän- und Schwefelexposition wird im Pansen die Bildung von Thiomolybdaten (TMT) gefördert, welche mit Kupfer zu schwerlöslichen, nicht resorbierbaren TMT-Komplexen reagieren. Zudem können durch Kupfer nichtabgesättigte TMT resorbiert werden und sich in der Folge mit den kupferhaltigen Enzymen im Gewebe verbinden, deren biologische Funktion dadurch gehemmt wird (Mackenzie et al. 1997). Ein Gehalt von mehr als 5 mg Mo/kg TS oder ein Verhältnis von Kupfer zu Molybdän kleiner 10 bis 6 zu 1 in der Futtermischung wird als kritisch angesehen (NRC 2005). Eisen in zweiwertiger Form (Fe^{2+}) konkurriert mit Kupfer um den Transportmechanismus im Duodenum (Hansen und Spears 2009). Ferner führt eine Überversorgung mit Eisen in Kombination mit Schwefel zur Bildung von nicht resorbierbaren Kupfer-Eisen-Schwefel-Komplexen im Pansen (Mackenzie et al. 1996). Als weitere Antagonisten werden Ag, Ca, Cd, Hg, P, Pb und Zn genannt (Hidiroglou et al. 1990; Flachowsky 2000; NRC 2001).

Anzeichen eines Kupfermangels sind in der Regel unspezifisch und nicht pathognomisch (Smart et al. 1992). Andauernder und starker Kupfermangel äußert sich in einer Veränderung der Haarfarbe, der Haartextur, einer verminderten Wachstumsrate, Anämie, Fruchtbarkeitsstörungen (Hidiroglou et al. 1990; Underwood und Suttle 1999; NRC 2001) und verminderter Immunkompetenz (Arthington et al. 1996; Gengelbach und Spears 1998; Cerone et al. 2000; Spears und Weiss 2008).

Die Entwicklung des Kupfermangels kann in vier progressive Stufen eingeteilt werden: Verarmung (Phase 1), Defizit (Phase 2), Dysfunktion (Phase 3) und Krankheit (Phase 4) (Suttle 1986b; Underwood und Suttle 1999) (Abb. 1).

Während der Verarmungsphase werden die in der Leber gespeicherten Kupferreserven mobilisiert und in die Zirkulation abgegeben, wodurch der Plasmaspiegel konstant gehalten wird. Die Phase des Defizits tritt nach Erschöpfung des Leberkupferspeichers ein und sie geht mit dem Absinken der Plasmakupferkonzentration (Pl-Cu) einher. Die Abgrenzung der darauf folgenden dritten und vierten Phase ist schwierig. Sie sind von der Abnahme der Konzentration bzw. Aktivität der kupferabhängigen Enzyme und dem Auftreten der oben genannten klinischen Symptome gekennzeichnet.

Tab. 1: Empfehlungen zur Kupferversorgung von Milchkühen (mg/kg TS).

	ARC (1980)	NRC (1989)	NRC (2001)	GfE (2001)
650 kg KG mit 40 l Milch/Tag	10,7	10	15,7	10 - 20*
650 kg KG, 270. Trächtigkeitstag	13,9	10	13,7	

*: Milchrinder.

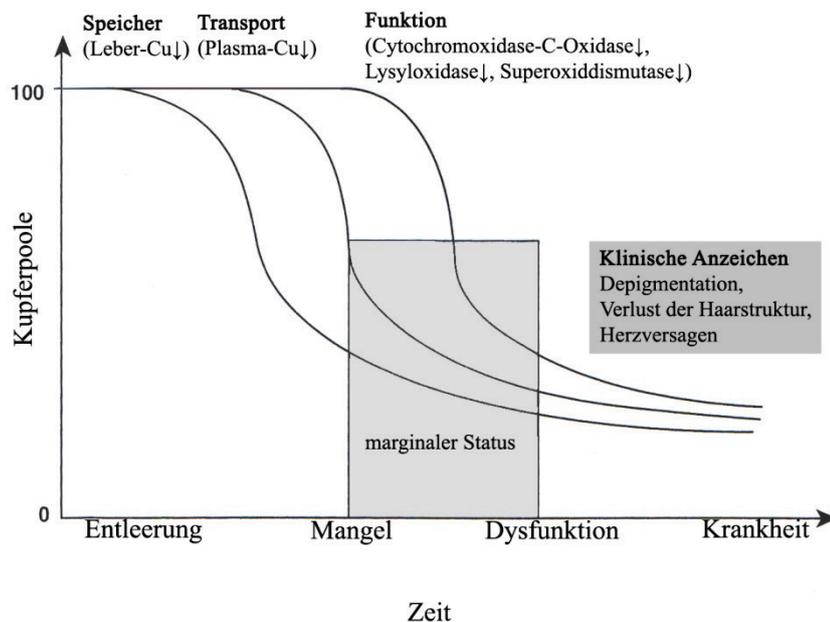


Abb. 1: Abfolge der biochemischen Veränderungen im Verlauf der Kupferverarmung nach Underwood und Suttle (1999).

2.2.3 Überversorgung und Intoxikation

Je nach Höhe und Dauer der Nahrungskupferbelastung werden die akute und die chronische Form der Kupfervergiftung voneinander unterschieden (NRC 2005; Dirksen et al. 2006).

Erstere konnte durch die einmalige orale Aufnahme von 200 mg Cu/kg KG bei Rindern provoziert werden (NRC 1980).

Die chronische Kupfervergiftung ist bei Wiederkäuern ein zweiphasiger Prozess (Bremner 1998; Laven et al. 2004a). In der klinisch unauffälligen Kumulationsphase kommt es durch fortgesetzte Aufnahme subtoxischer Kupfermengen zur Akkumulation von Kupfer im Lebergewebe. Die anschließende Phase der hämolytischen Krise setzt plötzlich ein und verläuft (per)akut (Bremner 1998; Lopez-Alonso 2008). Sie ist durch das massenhafte Auftreten von hepatozellulären Nekrosen gekennzeichnet und geht mit erhöhten Leberenzymaktivitäten (AST, GGT) und Kupferwerten größer 3000 bis 20000 µg/l im Plasma einher (Bidewell et al. 2000). Während der Akkumulationsphase kann es zu subklinischen Intoxikationserscheinungen kommen, die sich in einer schlechteren Futtermittelverwertung und geringer Gewichtszunahme äußern (Engle und Spears 2000; Minervino et al. 2008). Die Empfänglichkeit für eine Kupferintoxikation scheint von verschiedenen Faktoren abhängig zu sein, welche Tierart, Rasse, Alter und Futterzusammensetzung einschließen (Bremner 1998). Junge Wiederkäuer sind anfälliger als adulte (Todd 1969).

Klinische Intoxikationsanzeichen schließen Anorexie, Lethargie, Ikterus und Hämoglobinurie ein (Stogdale 1978; Perrin et al. 1990; Bradley 1993; Hamar et al. 1997; Minervino et al. 2009). Nach Verfütterung von 37,5 mg Cu/kg TS über den Zeitraum von zwei Jahren konnte Bradley (1993) Intoxikationserscheinungen bei Milchkühen beobachten. Der maximal tolerierbare Kupfergehalt wurde von 100 mg/kg TS auf 40 mg/kg TS für Rinder herabgesetzt (NRC 2005).

2.2.4 Diagnostik

2.2.4.1 Blut

Serum, Plasma, Vollblut

Das Vollblut beinhaltet neben dem freien und proteingebundenen Kupfer das in den Erythrozyten inkorporierte Kupfer und gibt aufgrund der ausgedehnten biologischen Halbwertszeit der Erythrozyten eher den historischen Versorgungsstatus wieder (Laven und Livesey 2006). Das Verhältnis zwischen erythrozytärem Kupfer und Plasmakupfer ist annähernd gleich (Paynter 1987).

Im Serum/Plasma liegt Kupfer überwiegend in Form des Enzyms Coeruloplasmin (Cp) vor. Im Geringeren ist es an Albumin, Transferrin und Aminosäuren gebunden. Die Serumkupferkonzentration ist durch die Sequestrierung des Coeruloplasmins während des Gerinnungsprozesses geringer als die entsprechende Plasmakupferkonzentration (Paynter 1982). In einer Studie von Kincaid et al. (1986) entsprachen die Serumwerte bei hochsignifikanter Korrelation ($r^2 = 0,99$) 80 % bis 90 % der Plasmawerte. Hingegen fanden Laven und Livesey (2006) einen geringeren Zusammenhang ($r^2 = 0,60$) zwischen den beiden Parametern. Aufgrund der großen individuellen Schwankung des Kupferverlustes bei der Gerinnung halten Paynter (1982) sowie Laven und Livesey (2006) Serum zur Beurteilung des Kupferstatus für weniger geeignet.

Der Plasmaspiegel wird von verschiedenen Variabilitätsfaktoren beeinflusst (Kincaid 2000). Zyklusstatus (Small et al. 1997), Infektionen (Paynter 1987), Stress (Nockels et al. 1993) und Genetik (Du et al. 1996) haben einen signifikanten Einfluss auf die Serum-/Plasmakupferkonzentration von Rindern.

Bei hoher nutritiver Molybdän- und Schwefelbelastung ($\text{Mo} > 8 \text{ mg/kg TS}$ und $\text{S} > 3 \text{ g/kg TS}$) ist von einer Resorption von TMT auszugehen (Suttle 2008). Unter diesem Umstand ziehen einige Autoren die Bestimmung des trichloressigsäurelöslichen Kupfers im Plasma, der der totalen Plasmakupferkonzentration vor, da hierbei nur das metabolisch aktive und nicht das durch TMT-Komplexe gebundene Kupfer quantifiziert wird (Suttle 2008; Livesey et al. 2010).

Der Nutzen von Serum/Plasma als Diagnostikum hängt von der zu erwartenden Prävalenz und Schwere des Kupfermangels ab (Vermunt und West 1994; Tessman et al. 2001; Quiroz-Rocha et al. 2003). Geringe Plasmawerte sind fast immer die Konsequenz eines starken Kupfermangels und Ausdruck eines entleerten Leberkupferspeichers (Milne et al. 1990; Tessman et al. 2001). Zum Nachweis einer chronischen Kupferübersorgung ist

die Bestimmung der Serum-/Plasmakupferkonzentration allerdings ungeeignet (Lopez-Alonso et al. 2006; Lopez-Alonso 2008). Referenzgrenzen und -bereiche für die Serum-, Plasma- und Vollblutkupferkonzentration von Rindern sind in Tab. 2 aufgeführt.

Tab. 2: Referenzgrenzen und -bereiche für die Serum-, Plasma- und Vollblutkupferkonzentration von Rindern ($\mu\text{g/l}$).

Quelle	Substrat	Defizitär	Marginal	Adäquat	Toxisch
Herdt und Hoff (2011)	S			600 - 1100	
Spolders et al. (2010)	S			510 - 1210	
Ouweltjes et al (2007)				477 - 1144	
Öhlschläger (2006)	S			510 - 1140	
Vermunt und West (1994)	S			500 - 1140	
Suttle (1993)	S			> 480	
Naylor et al. (1989)	S	< 570			
Maas (1987)	S	< 500		700 - 1300	> 5000
Anke und Risch (1979)	S			> 650	
Fürll (2005)	Pl			790 - 2080	
McDowell (2003)	Pl	< 600		600 - 1050	
Bidewell et al. (2000)	Pl				3200 - 20500
Kincaid (2000)	Pl	< 200	500 - 700	700 - 900	> 1200
Gelfert und Staufenbiel (1998)	Pl	< 450			
Mackenzie et al. (1996)	Pl	< 510	510 - 760	760 - 1460	> 1460
Rossow und Bolduan (1994)	Pl			800 - 1200	
Suttle (1993)	Pl	< 250		> 600	
Smart et al. (1992)	Pl	< 550	550-700	800 - 1200	
Maas (1987)	Pl	< 500		700 - 1300	> 5000
McDowell (2003)	Vb	< 600		600 - 1050	
Rogers (1996)	Vb	448 - 559	600 - 681	682 - 1232	
Suttle (1993)	Vb			> 670	

S :Serum, Pl: Plasma, Vb: Vollblut.

Coeruloplasmin (Cp)

Das Coeruloplasmin ist ein Kupfertransportprotein mit Oxidaseaktivität, welches Fe^{2+} zu Fe^{3+} oxidiert und somit eine wichtige Funktion in der Hämoglobinsynthese und im Eisenmetabolismus besitzt (Cousins 1985). Das bovine Cp hat ein Molekulargewicht von 132 kDa und beinhaltet sechs bis acht Kupferatome (Cousins 1985; Spears und Weiss 2008), was einer Bindung von 75 bis 90 % des Plasmakupfers an das Cp entspricht (Bingley und Dick 1969; Telfer et al. 1996). Die Halbwertszeit des Enzyms beträgt 3 bis 5 Tage, wobei es konstant von der Leber synthetisiert und freigesetzt wird (Mackenzie et al. 1997).

Die Bestimmung der Cp-Aktivität im Serum/Plasma wird grundsätzlich als gleichwertiger Ersatz für die Bestimmung der Kupferkonzentration in den beiden Substraten bewertet (Paynter 1987; Wikse et al. 1992; Ward und Spears 1997; Underwood und Suttle 1999).

Nach Verbrauch der Leberkupferreserven besteht eine enge Korrelation zwischen der Cp-Aktivität und der Leberkupferkonzentration, was durch eine rapide Abnahme der Aktivität des Enzyms gekennzeichnet ist (Paynter 1987). Blakley und Hamilton (1985) konnten eine hohe Korrelation zwischen der Cp-Aktivität und der Kupferkonzentration im Serum ($r = 0,83$) sowie zwischen der Cp-Aktivität und der Kupferkonzentration im Plasma ($r = 0,60$) feststellen. Die Bestimmung ist allerdings weniger robust und wiederholbar als die Bestimmung des Serum-/Plasmakupfers. Weiterhin ist zu beachten, dass das Cp ein Akute-Phase-Protein ist (Barber und Cousins 1988; Laven et al. 2004b) und bei Entzündungen stärker als das totale Plasmakupfer reagiert (Laven et al. 2007).

Erythrozyten-Superoxid-Dismutase (ESOD)

Die ESOD ist ein kupferabhängiges Enzym. Annähernd 60 % des Kupfers in den Erythrozyten sind mit der Aktivität des Enzyms assoziiert (Kincaid 2000). Das Enzym katalysiert die Dismutation von Superoxidradikalen zu Wasserstoffperoxiden im Zytosol (Halliwell und Guttridge 1999) und gehört somit zum Antioxidanssystem des Organismus. Eine Aktivitätsminderung weist auf einen starken und langandauernden Kupfermangel hin (Paynter 1987; Wikse et al. 1992) (Abb. 1: Phase 3 und 4). Xin et al. (1991) konnten bei einem Versuch mit Mastbullen nach achtmonatiger molybdäninduzierter Kupferverarmung bei den Versuchstieren eine signifikant niedrigere mittlere ESOD-A gegenüber den Kontrolltieren nachweisen. Suttle und McMurry (1983) schlagen eine Kombination von Superoxid-Dismutase-Aktivität, Haar- und Plasmakupferkonzentration zur zeitlichen Einordnung des Kupfermangels vor (Tab. 3).

Tab. 3: Schema für den kombinierten Gebrauch dreier Kupferstatusindikatoren zur Diagnose eines subklinischen und klinischen Kupfermangels nach McMurry und Suttle (1983).

ESOD-A mg/g Hämoglobin	Haar mg/kg TS	Plasma mg/l	Beurteilung
> 0,3	> 6,64	< 0,59	zeitlich begrenzter Mangel, Leistungsverbesserung unwahrscheinlich
< 0,3	< 4,00	< 0,59	ausgedehnter Mangel, Leistungsverbesserung wahrscheinlich
< 0,3	< 4,00	> 0,59	aktuelle Erholung des Kupferstatus oder Infektion oder Stress

ESOD-A: Erythrozyten-Superoxid-Dismutase-Aktivität.

Weitere kupferabhängige Enzyme

Bei kupferdefizitären Rindern konnte ein Aktivitätsverlust verschiedener kupferabhängiger Enzyme, wie der Cytochrom-C-Oxidase (Boyne 1978; Cerone et al. 2000), der Plasma-Diamin-Oxidase (Legleiter und Spears 2007) und der Lysyl-Oxidase (Kincaid 2000) beobachtet werden. Referenzwerte wurden für Rinder bisher nicht etabliert.

Coeruloplasmin-Aktivität-Plasmakupferkonzentration-Verhältnis

Die Eignung des Coeruloplasmin-Aktivität-Plasmakupferkonzentration-Verhältnisses wird kontrovers diskutiert (Suttle 2008). Nach Telfer et al. (2006) und Kendall et al. (2001) kann schon bei milder Molybdänexposition die Bestimmung der Plasmakupferkonzentration zu einer falschen Aussage über den Kupferstatus des Rindes führen, da signifikante Mengen des metabolischen Kupferpools durch Bildung von Kupfer-TMT-Komplexen biologisch nicht verfügbar sind (Mackenzie et al. 1996). Absorbiertes TMT führt durch Komplexierung mit dem Coeruloplasmin zu einer Aktivitätsverringering des Enzyms. Hierdurch verringert sich das Verhältnis der Coeruloplasmin-Aktivität zur Plasmakupferkonzentration, was nach der Ansicht von verschiedenen Autoren (Kendall et al. 2001; Telfer et al. 2004; Telfer et al. 2006) diagnostisch zum Nachweis einer molybdänabhängigen Kupferverwertungsstörungen bzw. einer Molybdänintoxikation genutzt werden kann. Hingegen wird der diagnostische Nutzen des gebildeten Verhältnisses von anderen Autoren angezweifelt (Quiroz-Rocha et al. 2003; Laven et al. 2006; Suttle 2008). Diese Methode bietet nach Laven et al. (2007) gegenüber konventionellen Methoden keinen Vorteil.

2.2.4.2 Leber und Niere

Das Lebergewebe wird als Goldstandard zur Beurteilung des Kupferstatus von Wiederkäuern betrachtet (Wikse et al. 1992; Clark und Ellison 1993; Auza et al. 1999; Minatel und Carfagnini 2002; Lopez-Alonso 2008; Balemi et al. 2010). Als Speicherorgan spiegelt die Leber die vorausgegangene Kupfersupplementierung wider, aber nicht notwendigerweise den funktionellen Kupferstatus (Suttle 1986b; Laven und Livesey 2006). Demzufolge wird die Phase der Kupferverarmung (Phase 1) besser wiedergegeben als die Phasen des Defizits, der Dysfunktion und der Krankheit (Phase 2 bis 4) (Suttle 1986a) (Abb. 1). Ein definitiver unterer Lebergrenzwert, unter dem die Leistung und Gesundheit von Rindern voraussichtlich gestört ist, kann nach Suttle (1986b; 2010) daher nicht festgelegt werden. Nach seiner Auffassung sind Rinder ab einer Kupferkonzentration von 6

bis 20 mg/kg TS einem Risiko und ab einer Konzentration von weniger als 6 mg Cu/kg TS in der Leber einem hohen Risiko ausgesetzt, eine kupferabhängige Störung mit oben beschriebenen Symptomen zu entwickeln. Claypool et al. (1975) beobachteten bei Rindern, dass nur Leberkupferkonzentrationen geringer 40 mg/kg TS mit einer Plasmakupferkonzentration kleiner 500 µg/l assoziiert waren, was nach Hansen et al. (2008) auf einen unzureichenden Leberspeicher zur Aufrechterhaltung des Plasmakupferspiegels hinweist.

Nach Lopez-Alonso (2008) ist die Bestimmung des Leberkupfergehaltes momentan die einzige verfügbare Methode, um eine chronische, subklinische Kupferakkumulation bei Rindern nachzuweisen. Die Festlegung einheitlicher Grenzwerte für die Leberkupferkonzentration zur Abgrenzung einer adäquaten Kupferversorgung, subklinischer Intoxikation und Intoxikation erscheint allerdings ebenfalls schwierig (Tab. 4). In den meisten Fällen sind klinische Erscheinungen mit Kupfergehalten größer 1000 mg/kg TS in der Leber assoziiert (Underwood und Suttle 1999). Minervino et al. (2008) konnten bei Rindern eine erhöhte GGT-Aktivität ab einem Lebergehalt von 1000 mg Cu/kg TS feststellen, was für eine beginnende Leberzellschädigung sprechen kann.

Die Nierenkupferkonzentration bietet im Vergleich zur Leberkupferkonzentration keinen Vorteil zum Nachweis eines Kupfermangels, aber sie ist nützlich zur Diagnose einer Kupferintoxikation (Paynter 1987). Referenzgrenzen und -bereiche für die Nierenkupferkonzentration von Rindern sind in der Tab. 5 aufgeführt.

Tab. 4: Referenzgrenzen und -bereiche für die Leberkupferkonzentration von Rindern (mg/kg TS).

Quelle	Defizitär	Marginal	Adäquat	Toxisch
Herdt und Hoff (2011)			50 - 600	
Grace et al. (2010)	< 22		22,3 - 118	> 940 (Risiko)
Ouweltjes et al.(2007)	< 25	25 - 100	100 - 600	> 800
Suttle (2010)	< 6	6 - 20		
Lopez-Alonso (2008)				> 438
Fürll (2005)			30 - 350	
McDowell (2003)			100 - 400	
Bidewell et al. (2000)				> 508
Kincaid (2000)	< 33	33 - 125	125 - 600	> 1250*
Puls (1994)	2 - 37	19 - 93	93 - 370	> 925
Vermunt und West (1994)			> 22	
Maas (1987)	< 25		25 - 100	> 2000
Claypool et al. (1975)		< 40		
Smith und Coup (1973)	< 5			
Ammerman (1970)	< 25		100 - 300	

*: variabel.

Tab. 5: Referenzgrenzen und -bereiche für die Nierenkupferkonzentration von Rindern (mg/kg TS).

Autor	Defizitär	Marginal	Adäquat	Toxisch
Bidewell et al. (2000)				> 41
Puls (1994)*	1 - 5	5 - 5,5	4 - 6	10 - 122
Suttle (1986a)			12,7 - 19,1	> 25,4 (Cortex)

*: in mg/l Feuchtsubstanz.

2.2.4.3 Haar

Das Haar wird als geeigneter Indikator angesehen, um einen Kupfermangel beim Rind nachzuweisen (Anke und Risch 1979). Im Vergleich zum Substrat Plasma vollzieht sich die Veränderung der Haarkupferkonzentration während einer Kupferverarmung und -auffüllung langsamer (Suttle und Angus 1976). Suttle und McMurry (1983) bevorzugen daher die Haarkupferkonzentration zum Nachweis von kupferabhängigen Störungen, da sie träger auf eine Kupferverarmung reagiert und somit eine engere Korrelation zu klinischen Erscheinungen hat (Phase 3 und 4). Die Haarkupferkonzentration verhält sich sensitiv bei Veränderung der Leberkupferreserve unter 20 mg/kg TS (Kellaway et al. 1978). Kellaway (1978) und Suttle und McMurry (1983) konnten in Kupferdepletionsversuchen bei Kälbern einen zeitlich linearen Abfall der Haarkupferkonzentration im Vergleich zu einem exponentiellen Abfall der Plasmakupferkonzentration beobachten. Referenzgrenzen und -bereiche für die Haarkupferkonzentration von Rindern sind in der Tab. 6 aufgeführt.

Tab. 6: Referenzgrenzen und -bereiche für die Haarkupferkonzentration von Rindern (mg/kg TS).

Quelle	Defizitär	Marginal	Adäquat
Fürll (2005)			6,6 - 10,4
Puls (1994)	1,0 - 6,7	4,3 - 8,3	6,7 - 32
Maas (1987)			> 6,0
Anke und Risch (1979)			> 6,0
Kellaway et al (1978)	< 4		
Wiesner (1970)			8 - 15

2.3 Molybdän

2.3.1 Physiologie und Metabolismus

Molybdän befindet sich im Periodensystem in der gleichen Hauptgruppe wie Chrom und Wolfram und weist mit letzterem vergleichbare chemische Eigenschaften auf. Als vielseitiges Element besitzt es verschiedene Oxidationsstufen. Während die niedrigen Oxidationsstufen (Mo^{2-} bis Mo^{2+}) nicht in biologischen Systemen vorkommen, bildet drei- bis sechs-wertiges Molybdän eine Reihe von Komplexen mit Sauerstoff- oder Stickstoffdonorliganden und mit Halogenen. Im Boden und Grundwasser liegt Molybdän vorwiegend in Form des Molybdat-Anions (MoO_4^{2-}) vor (Burguera und Burguera 2007). Molybdän bildet das aktive Zentrum der Enzyme Aldehydoxidase, Sulfitoxidase und Xanthinoxidase (Cao et al. 2010; Buitkamp et al. 2011) und ist wahrscheinlich essenziell für alle höheren Tiere (Johnson 1997). Die Absorption des Molybdäns (Mo^{4+}) erfolgt beim Wiederkäuer entlang der Duodenalmucosa durch einen sättigbaren, carrier-vermittelten Transport (Mason und Cardin 1977). Die Resorptionsrate des Molybdäns hängt im Wesentlichen von der chemischen Form ab (Vyskočil und Viau 1999). Wasserlösliche Molybdänverbindungen wie Natrium- und Ammoniummolybdänat werden von Wiederkäuern gut resorbiert (Grace und Suttle 1979). Die Ergebnisse von Swan et al. (1998) suggerieren darüber hinaus bei exzessiver Molybdänzufuhr einen nicht sättigbaren, passiven Resorptionsvorgang. Das absorbierte Molybdän wird in Form von Molybdaten spezifisch an ein α_2 -Makroglobulin gebunden und transportiert. Des Weiteren liegt es mit dem Protein Spectrin an die Erythrozytenmembran assoziiert im Blut vor (Barceloux 1999b). Als Speicherorgane werden Knochen, Leber, Niere und Milz genannt (Dirksen et al. 2006). Die Ausscheidung des Molybdäns erfolgt sowohl über die Faeces als auch über den Harn, wobei letzter bei hoher Molybdänversorgung eine bedeutende Rolle spielt (Barceloux 1999b; Suttle 2010).

2.3.2 Mangel

Ein natürlicher Mangel wurde bei Rindern bisher in der Literatur nicht beschrieben. Anke et al. (1985) konnten durch Verfütterung einer halbverarmten Molybdänration (24 μg Mo/kg TS) an Ziegen einen primären Molybdänmangel erzeugen, der sich durch vermindertes Wachstum, geringere Reproduktionsleistung und erhöhte Sterblichkeit bei Lämmern und Muttertieren äußerte.

2.3.3 Überversorgung und Intoxikation

Neben der antagonistischen Wirkung auf die Kupferhomöostase hat Molybdän eine direkt toxische Wirkung bei Wiederkäuern. Als klinische Anzeichen einer Molybdänose werden beschrieben: steifer, schwankender Gang, Lahmheit und Haardepigmentation (Majak et al. 2004; Majak et al. 2006), Anorexie, Durchfall und Gewichtsverlust (Ward 1978; Lesperance et al. 1985; Majak et al. 2004) sowie Reproduktionsstörungen *in vivo* (Phillippo et al. 1987) und *in vitro* (Kendall et al. 2006). In verschiedenen Versuchen konnten durch halbverarmte Kupferrationen, ab einem Rationsgehalt von 5 mg Mo/kg TS, schlechtere Immunfunktionsindices bei Kälbern, Mastbullen und Milchkühen festgestellt werden (Ward und Spears 1997; Gengelbach und Spears 1998). Die maximal tolerierbare Molybdänkonzentration im Futter wurde vom NRC (2005) auf 5 mg/kg TS Futter für Rinder festgelegt. Ein Kupfermolybdänverhältnis von unter 2 zu 1 im Futter erhöht das Risiko einer Molybdänvergiftung bei Rindern (Miltimore und Mason 1971; Raisbeck et al. 2006), besonders in Zusammenhang mit einer Futterschwefelkonzentration von über 3 g/kg TS. Unabhängig von der Kupfersupplementierung erzeugen 100 mg Mo/kg TS Intoxikationserscheinungen bei Rindern (Lesperance und Bohman 1963; NRC 2005).

2.3.4 Diagnostik

Die klinischen Anzeichen einer Molybdänose und eines Kupfermangels sind schwierig abgrenzbar. Häufig geht die Entstehung einer Molybdänose unter natürlichen Bedingungen mit einem Kupfermangel beim Wiederkäuer einher. Daher steht die Diagnostik des sekundären Kupfermangels unter Praxisbedingungen im Vordergrund. Hierbei wird die Diagnose durch abweichende Kupferstatusindices geführt und durch hohe Molybdänkonzentration oder ein geringes Kupfer-Molybdän-Verhältnis im Futter ätiologisch begründet. Bei auf molybdänkontaminierten Weiden gehaltenen Rindern konnten Raisbeck et al. (2006) erhöhte Gewebekonzentrationen an Molybdän nachweisen, aber nicht mit Intoxikationserscheinungen in Verbindung bringen. Suttle (2010) folgert aus diesen Ergebnissen, dass es keinen spezifischen biochemischen Test gibt, um eine Molybdänose nachzuweisen. Referenzgrenzen und -bereiche aus der Literatur sind für die Substrate Serum, Plasma, Leber und Haar in Tab. 7 aufgeführt.

Da unter Feldbedingungen kein Molybdänmangel bei Wiederkäuern auftritt, sind keine Referenzuntergrenzen für Gewebekonzentrationen etabliert (Kincaid 2000).

2.3.4.1 Blut

Der Blutmolybdänspiegel reflektiert die aufgenommene Menge des Nahrungsmolybdäns von Rindern (Clawson et al. 1972; Ward 1978; Gardner et al. 2003; Raisbeck et al. 2006). Nach einmaliger Aufnahme von molybdänkontaminiertem Futter (7,4 g Mo/kg TS) konnte eine bis zu 430fach erhöhte Molybdänkonzentration im Plasma von Mastbullen festgestellt werden (Swan et al. 1998).

2.3.4.2 Leber

Hohe Molybdänfuttergehalte in Verbindung mit einer geringen Kupferzufuhr führen zur Akkumulation von Molybdän in der Leber (Clawson et al. 1972; Lesperance et al. 1985; Xin et al. 1991; Majak et al. 2004; Raisbeck et al. 2006; Pinto-Santini et al. 2007). Die über 8 Monate dauernde Verfütterung von 10 mg Mo/kg TS in einer kupferverarmten Ration führte bei Mastbullen zu einer vierfach höheren Molybdänkonzentration (15,98 mg/kg TS vs. 3,61 mg/kg TS) und einer 16fach geringeren Kupferkonzentration im Lebergewebe als bei der Kontrollgruppe (Xin et al. 1991). In einer Untersuchung von Majak et al. (2006) konnte bei molybdänexponierten Weiderindern eine vermehrte Inzidenz von Durchfall und Lahmheit mit erhöhten Leber- und Serum-molybdänwerten in Verbindung gebracht werden.

2.3.4.3 Haar

Grundsätzlich spiegelt das Deckhaar nach Anke und Risch (1979) sowohl einen Molybdänmangel als auch eine Molybdänose zuverlässig wider. Selbst die Einwirkung der Mo-Antagonisten Kupfer, Schwefel und Wolfram wird nach Auffassung der Autoren durch den Haarmolybdängehalt reflektiert.

Tab. 7: Referenzgrenzen und -bereiche für die Molybdänkonzentration diverser Gewebe von Rindern.

Quelle	Substrat	Einheit	Adäquat	Toxisch
Herdt und Hoff (2011)	Leber	µg/kg TS	1000 - 4000	
Ouweltjes et al. (2007)	Leber	µg/kg TS	2000 - 4000	> 7000
Grotelueschen et al. (2001)	Leber	µg/kg TS	500 - 5000	
Puls (1994)	Leber	µg/kg TS	520 - 5200	> 7400
Herdt und Hoff (2011)	Serum	µg/l	2 - 35	
Puls (1994)	Plasma	µg/l	10 - 100	> 100
Anke und Risch (1979)	Haar	µg/kg TS		> 3500

2.4 Eisen

2.4.1 Physiologie und Metabolismus

Eisen fungiert im tierischen Organismus überwiegend als Bestandteil des Häms in Hämoglobin und Myoglobin. Es wird zudem als Kofaktor für verschiedene Enzyme benötigt, wie der Cytochromoxidase, der Myeloperoxidase, der Katalase und des Cytochroms P-450 (Aisen et al. 1999; NRC 2001; Weiss 2010). Das retikuloendotheliale System von Leber und Milz sowie das Knochenmark bilden die Eisenspeicher des Körpers (McDowell 2003; Harvey 2008). In diesen Geweben bilden Ferritin und Hämosiderin die zellulären Speicherformen des Eisens.

Eisen wird im Duodenum durch aktiven Transport absorbiert. Die Eisenresorption setzt die Reduktion von Fe^{3+} zu Fe^{2+} voraus, da lediglich zweiwertiges Eisen aktiv resorbiert werden kann (Flachowsky 2000). Die Passage aus dem Darmlumen durch die apikale Membran der Enterozyten wird pH-abhängig mit Hilfe eines speziellen Eisentransporters, des Divalent Metal Transporters 1 (DMT1), bewerkstelligt (Nemeth et al. 2004). An der basolateralen Membran wird Fe^{2+} unter ATP-Verbrauch mit Hilfe des transmembranen Eisentransporters Ferroportin 1 ins Portalblut ausgeschleust. Durch die membranständige kupferabhängige Ferrooxidase Hephästin wird Fe^{2+} hierbei zu Fe^{3+} katalysiert (Steele et al. 2005). Apotransferrin nimmt im Plasma zwei Ionen Fe^{3+} auf, um sie zu den Speichergeweben zu befördern, wo sie mittels des Transferrin-Releasing-Faktors in die Zellen aufgenommen werden (Steele et al. 2005; Han 2011).

Bei physiologischem Eisenspeicher wird der Körpereisengehalt durch Recycling des Eisens relativ konstant gehalten (Boila 1987; McDowell 2003). Weder die renale noch faecale Exkretion haben eine nennenswerte Bedeutung zur Aufrechterhaltung der Eisenhomöostase (Grassman und Kirchgessner 1973).

Den bedeutsamsten Homöostasemechanismus des Eisenmetabolismus stellt die Regulation der Eisenabsorption dar, welche im Verhältnis zum Körpereisenspeicher via Hephästin erfolgt (Verga Falzacappa und Muckenthaler 2005; Beard und Han 2009). Hephästin hemmt durch die Internalisierung und Zerstörung des Ferroportin 1 den Transport des Eisens durch die basolaterale Membran (Nemeth et al. 2004).

Hansen et al. (2010a; 2010b) konnten die eisenregulatorischen Proteine DMT1, Ferroportin, Hephästin und Hephästin erstmals bei Rindern nachweisen, was für eine starke Homologie des Eisenstoffwechsels bei Säugetieren spricht. Van Bruwaene et al. (1984) gibt die Resorptionsrate des Futtereisens für adulte Rinder mit 0,5 % bis 2 % an.

2.4.2 Mangel

Unter natürlichen Bedingungen ist bei adulten Wiederkäuern mit einem Eisenmangel nicht zu rechnen. 50 mg Fe/kg TS werden bei ruminierenden Rindern jeglicher Produktionsrichtung als ausreichende Versorgung angesehen (Tab. 8).

Bei ausschließlich milchgetränkten Kälbern hingegen tritt der Eisenmangel häufig auf (Mollerberg 1975; Lindt und Blum 1994a; NRC 2001; Mohri et al. 2004), da die vorgeburtlich angelegten Eisenreserven des Foetus bei Tränkung mit Vollmilch (3 mg Fe/kg TS (Bremner und Dalgarno 1973), 1 mg Fe/kg TS (Suttle 2010)) nicht ausreichen, um das Auftreten von Mangelerkrankungen zu verhindern (GfE 2001). Die Arbeiten von Bernier et al. (1984) und Lindt und Blum (1994b) zeigten, dass die Verfütterung einer für adulte Tiere ausreichenden Ration von 39 mg Fe/kg TS bzw. 50 mg Fe/kg TS an präruminante Kälber zwar zu keiner Wachstumsretardierung führte, allerdings leichte Anämiesymptome und Hellfleischigkeit des Schlachtkörpers zur Folge hatte. Grundsätzlich besteht Übereinstimmung darüber, dass junge Wiederkäuer einen höheren Eisenbedarf haben als adulte (Mohri et al. 2004; Eisa und Elgebaly 2010).

Die Eisenmangelanämie ist mit zahlreichen klinischen Symptomen assoziiert, einschließlich blasser Schleimhäute, Lethargie, allgemeiner Schwäche, Wachstumsretardierung und erhöhter Krankheitsanfälligkeit (Gygax et al. 1993; Volker und Rotermund 2000; Heidarpour Bami et al. 2008; Eisa und Elgebaly 2010).

Die Entwicklung des Eisenmangels lässt sich in drei (Johnson 1990) bzw. vier Phasen (Suttle 2010) einteilen. Die erste Stufe ist durch eine Verringerung des Eisenspeichers in Leber, Milz und Knochenmark gekennzeichnet (Verarmung). In der zweiten Phase kommt es zu einem Abfall des Transporteisens, charakterisiert durch einen Abfall der Serum-/Plasmaeisenkonzentration, eine Erhöhung der totalen Eisenbindungskapazität und eine Verringerung der Transferrinsättigung (Mangel). Die hypochrome mikrozytäre Anämie ist die dritte Phase (Krankheit) des Eisenmangels nach Johnson (1990). Suttle (2010) fügt zusätzlich die Phase der Dysfunktion ein, welche durch die Abnahme der Aktivität eisenabhängiger Enzyme gekennzeichnet ist und der klinischen Phase vorausgeht (Abb. 2). Die Aufnahme von hohen Gehalten an Zn, Cu, Co, Cd, Mn und P kann mit der Resorption des Eisens interferieren, was allerdings unter natürlichen Bedingungen bei ruminierenden Wiederkäuern keine Bedeutung auf die Eisenhomöostase hat.

Tab. 8: Empfehlungen zur Eisenversorgung von Milchkühen (mg/kg TS).

NRC (1989)	NRC (2001)	GfE (2001)
50	15 - 25	50

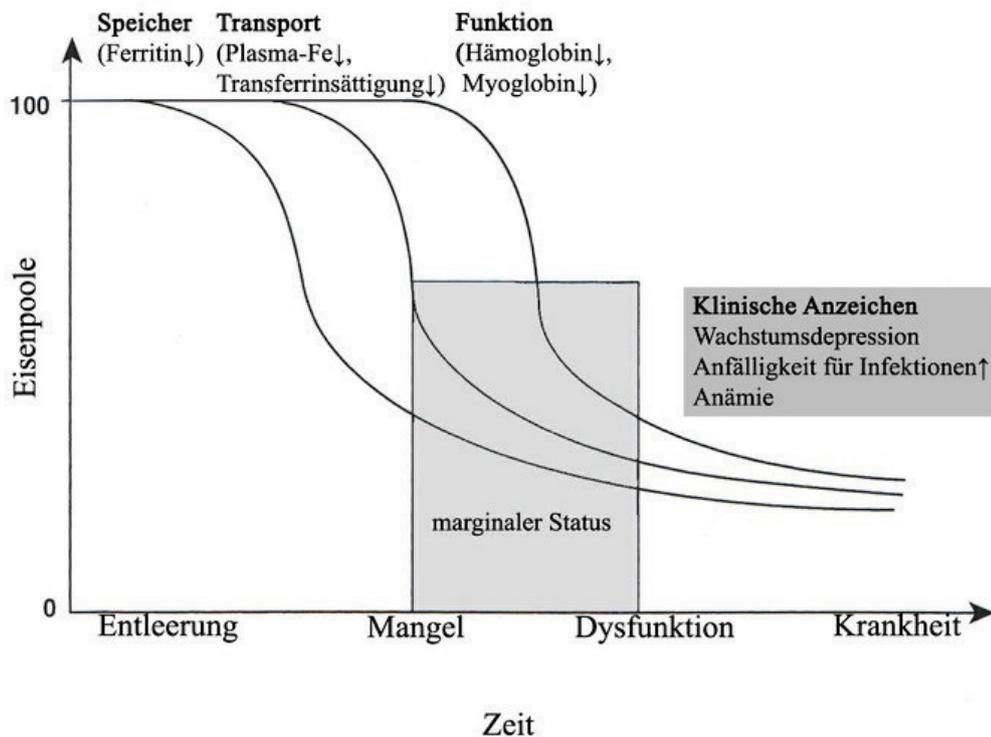


Abb. 2: Abfolge der biochemischen Veränderungen im Verlauf der Eisenverarmung nach Suttle (2010).

2.4.3 Überversorgung und Intoxikation

Hohe diätetische Eisengehalte, die in Wiederkäuerrationen keine Seltenheit sind (McDowell 2003), können einen negativen Effekt auf die Absorption von anderen Spurenelementen haben, vor allem auf die Absorption von Kupfer (Standish et al. 1969; Standish et al. 1971; Graham 1991; Hansen und Spears 2009). Neben hohen Eisenkonzentrationen in verschiedenen Futterbestandteilen wird der Eintrag von Erde ins Futtermittel als wesentliche Quelle hoher Gehalte angesehen (Underwood und Suttle 1999; McDowell 2003). Die Toxizität der natürlichen Eisenquellen wird als gering eingeschätzt, weil es überwiegend in oxidiertem, nicht löslicher Form (Fe^{3+}) vorliegt (Andrews und Smith 2010; Suttle 2010). Die Ursache der antagonistischen Wirkung von Eisen auf andere zweiwertige Kationen wird vorwiegend auf der Ebene des DMT 1 angenommen (Hansen et al. 2010b), welcher potentiell ebenfalls Cu^{2+} , Mn^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} und weitere zweiwertige Kationen transportiert (Mackenzie et al. 2007), aber eine höhere Affinität zu Fe^{2+} hat.

Die direkt toxische Wirkung geht von freien Eisen(II)ionen aus, welche dazu neigen, durch einen Einfelektronenübertrag freie Radikale zu generieren und dadurch zelluläre Komponenten wie Proteine, Lipide und Nukleinsäuren zu schädigen (Bleackley et al. 2009).

Die bisher einzige Beschreibung einer natürlichen Eisenvergiftung bei Rindern wurde von Hartley et al. (1959) gegeben. Unter experimentellen Bedingungen konnten Jenkins und Hidioglou (1987) bei Verfütterung von 5000 mg Fe/kg (Eisensulfat) bei Käbern neben einer geringeren Gewichtsentwicklung eine reduzierte Protein- und Trockenmasseverdaulichkeit beobachten. Koong et al. (1970) zeigten, dass die Verfütterung von 4000 mg Fe/kg TS (Eisencitrat) über sechs Wochen hinweg bei Kälbern zu einer geringen Gewichtsentwicklung und Durchfall führten; 1000 mg Fe/kg TS wurden hingegen ohne Leistungseinbußen toleriert. Der maximal tolerierbare Eisengehalt wird vom NRC (2005) mit 500 mg/kg TS angegeben.

2.4.4 Diagnostik

Anfängliche Symptome der Sideropenie, wie die Futteraufnahmedepression, sind bei Wiederkäuern durch biochemische Parameter schwierig zu identifizieren (Bremner et al. 1976). Allerdings ist die durch chronischen Eisenmangel bedingte mikrozytäre Anämie durch verringerte Hämoglobinkonzentration (Hb) und erniedrigtes mittleres Erythrozyteneinzelvolumen (MCV) (MCV = Hämatokrit/Erythrozytenanzahl) von ihren Vorstufen abzugrenzen und durch die Bestimmung der Ferritinkonzentration von der durch chronische Erkrankungen bedingten Anämie unterscheidbar (Tab. 9).

Tab. 9: Kriterien zur Abgrenzung verschiedener Eisenmangelzustände und der Anämie chronischer Erkrankungen nach Hastka et al. (1994) und Johnson (1990).

Parameter	Eisenmangel	eisenmangel-abhängige Erythropoesis	eisenmangel-abhängige Anämie	Anämie chronischer Erkrankungen
Knochenmarkseisen	↓	↓	↓	u bis ↑
Serumferritin	↓	↓	↓	u bis ↑
Serumeisen	u	↓	↓	↓
Zinkprotoporphyrin	u	↑	↑	↑
Transferrinsättigung	u	↓	↓	↓
Hämoglobin	u	u	↓	↓
MCV	u	u	↓	↓

u: unverändert, ↓: erniedrigt, ↑: erhöht.

Zur weiteren Differenzierung eisenabhängiger Störungen sind die Bestimmung der Transferrinsättigung (TfS), der totalen Eisenbindungskapazität (TEBK), der ungesättigten Eisenbindungskapazität (UEBK) und der Zinkprotoporphyrinkonzentration zielführend (Johnson 1990; Hastka et al. 1994; Weiss 2010). Zudem findet die Messung der Lebereisenkonzentration bei Wiederkäuern Verwendung (O'Toole et al. 2001; Maas 2007; Suttle 2010). Die Referenzwertangaben zu verschiedenen Eisenstatusindizes für Rinder sind in Tab. 10 aufgeführt.

Tab. 10: Referenzmedien, -grenzen und -bereiche für verschiedene Eisenstatusindikatoren von Rindern.

Quelle	Indikator (Einheit)	Defizitär	Marginal	Adäquat	Toxisch
Herdt und Hoff (2011)	S-Fe ($\mu\text{g/l}$)			900 - 2700	
	L-Fe (mg/kg TS)			140 - 1000	
Suttle (2010)	S-Fe ($\mu\text{g/l}$)		< 500 - 1000*		> 6000 - 18000*
	L-Fe (mg/kg TS)		< 100 - 150*		> 1000
	S-Ferritin ($\mu\text{g/l}$)		< 0 - 30*		> 80
	S-TEBK ($\mu\text{g/l}$)			2280 \pm 560	
	S-UEBK (%)			> 74	
Maas (2007)	S-Ferritin ($\mu\text{g/l}$)	2 - 10		30 - 50	> 80
	L-Fe (mg/kg TS)	< 166		167 - 1100	> 1850
Ouweltjes et al. (2007)	S-Fe ($\mu\text{g/l}$)			781 - 2513	
	L-Fe (mg/kg TS)	< 100	100 - 150	150 - 1000	> 2000
Fürll (2005)	S/Pl-Fe ($\mu\text{g/l}$)			726 - 1843	
	L-Fe (mg/kg TS)			> 540	
Kincaid (2000)	S-Fe ($\mu\text{g/l}$)	150 - 1200		1300 - 2500	> 4000
	S-Ferritin ($\mu\text{g/l}$)	2 - 10		30 - 50	> 80
	Ni-Fe (mg/kg FS)	< 20		30 - 150	> 49
	L-Fe (mg/kg TS)	< 40		167 - 1100	> 500
Gelfert und Staufenbiel (1998)	S/Pl-Fe ($\mu\text{g/l}$)			1200 - 2800	
	L-Fe (mg/kg TS)			167 - 1100	
	S-TEBK ($\mu\text{g/l}$)			1860 - 2698	
	S-Ferritin ($\mu\text{g/l}$)			30 - 50	
Puls (1994)	S-Fe ($\mu\text{g/l}$)	150 - 1300		1300 - 2500	> 18000
	L-Fe (mg/kg TS)	< 111		167 - 1100	> 33300
	S-Ferritin ($\mu\text{g/l}$)	2 - 10		30 - 50	> 80
	H-Fe (mg/kg TS)	20 - 40		59 - 200	
Rossow und Bolduan (1994)	S/Pl-Fe ($\mu\text{g/l}$)			1201 - 1826	
McDowell (1976)	S-Fe ($\mu\text{g/l}$)			> 1100	
Kolb (1963)	S-Fe ($\mu\text{g/l}$)			630 - 1670	
	S-TEBK ($\mu\text{g/l}$)			2470 - 4910	

S: Serum, Pl: Plasma, L: Leber, H: Haar, Ni: Niere, Hb: Hämoglobin, TEBK: totale Eisenbindungskapazität, UEBK: ungesättigte Eisenbindungskapazität, *: variabel.

2.4.4.1 Blut

Die Messung der totalen Serum/Plasmaeisenkonzentration beurteilt den Transportpool (Weiss 2010), während die Bestimmung von Ferritin im Serum aufgrund der hohen Korrelation zu den Körpereisenreserven den Speicherpool beurteilt (Miyata und Furugouri 1987; Atyabi et al. 2006; Maas 2007). Anämische Kälber weisen typischerweise neben einer verringerten Transferrinsättigung und einer erhöhten totalen Eisenbindungskapazität erniedrigte Plasmaeisenwerte auf (Smith 1997) (Tab. 9).

Die Hypoferrimie ist allerdings auch mit akuten und chronischen Entzündungsprozessen bei Wiederkäuern assoziiert (Erskine und Bartlett 1993; Scaletti et al. 2003; Zebeli et al. 2010), was aus einer Hemmung der Transferrinsynthese (negative Akute-Phase-Reaktion) resultiert (Ceron et al. 2005). Zudem verursacht die Injektion von Dexamethason bei Rindern eine Verringerung der Serumeisenkonzentration (Weeks et al. 1989).

Eisenwerte sind nicht nur bei Eisenüberladung erhöht, sondern auch bei hämolytischen Anämien (Weiss 2010), welche sich bei Kälbern nach der Infektion mit *Theileria sergenti* beobachten ließen (Watanabe et al. 1998).

Puls (1994) vermerkt, dass Serumwerte infolge des Eisenaustritts während der Gerinnung höher sind als Plasmawerte.

2.4.4.2 Leber und andere Gewebe

Der Status der Körpereisenspeicher kann direkt durch Messung der Eisenkonzentration in verschiedenen Organen beurteilt werden. Die Bestimmung des Nicht-Hämeisens (Ferritin und Hämosiderin) in Knochenmark, Leber und Milz wird in der Literatur der Messung der totalen Eisenkonzentration in diesen Organen vorgezogen, da die totale Eisenkonzentration in den Geweben auch Nicht-Speichereisen (Hämoglobin, Myoglobin und hämhaltige Enzyme) mit einschließt (Harvey 2008). Bei eisendefizitären Kälbern bemisst das Hämeisen 60 % des totalen Lebereisens (Bremner und Dalgarno 1973). Nicht-Hämeisen kann durch Säureextraktion von Hämeisen getrennt werden und anschließend kolorimetrisch quantifiziert werden (Smith 1997).

Trotz der oben beschriebenen Einschränkung sehen verschiedene Autoren die Bestimmung der totalen Eisenkonzentration des Lebergewebes als zuverlässigen Indikator der Körpereisenreserven an (Wensing et al. 1986; Maas 2007; Suttle 2010).

Die in Tab. 11 aufgeführten Fütterungsversuche zeigen, dass eine nutritive Eisenbelastung durch die Bestimmung der totalen Leber- und Milzeisenkonzentration angezeigt wird. Andere Gewebe wie Niere, Herz und Muskel (Herz und Muskel nicht aufgeführt) sowie

diverse Blutparameter wie Hämoglobin- und Serumeisenkonzentration und totale sowie ungesättigte Eisenbindungskapazität reagieren hingegen nicht oder nur gering auf eine exzessive Eisenzuführung.

Tab. 11: Einfluss des Futtereisens auf diverse Eisenstatusindikatoren.

Quelle	Versuchsbedingungen	Fe-Zulage	Eisenkonzentration in				Hb	Hkt	TEBK	UEBK
			Milz	Leber	Niere	Serum				
		mg/kg TS				µg/l	g/l	%	µg/l	
Mc Guire (1985)	Kälber, Versuchsdauer: 28 d	0	412	128	139	1953	104	32	4648	2694
		1000*	489	126	162	2060	109	34	4835	2775
		1000†	731	231	168	1960	119	34	3984	2024
Standish et al. (1971)	Bullen, Versuchsdauer: 77 d	FeSO ₄								
		100	1521	256	320		96	39		
		1000	5681	470	363		95	40		
Standish et al. (1969)	Bullen, Versuchsdauer: 84 d	FeSO ₄								
		100	1219	185	315		128	40		
		400	2671	269	360		120	41		
		1600	8941	605	410		126	39		

Hb: Hämoglobin, Hkt: Hämatokrit, TEBK: totale Eisenbindungskapazität, UEBK: ungesättigte Eisenbindungskapazität, \bar{x} : Mittelwert, KG: Körpergewicht, d: Tage, *: FeCO₃, †: FeSO₄ × H₂O.

2.4.4.3 Haar

Die Eisenversorgung hat keinen Effekt auf die Eisenkonzentration des Haars (Anke 1966). Die Haareisenkonzentration variierte in der Untersuchung von Wensing et al. (1986) zwischen 20 und 40 mg/kg TS und sie ließ nicht zwischen supplementierten und un-supplementierten, anämischen Kälbern differenzieren.

2.5 Zink

2.5.1 Physiologie und Metabolismus

In biologischen Systemen liegt Zink ausschließlich in zweiwertiger Form (Zn^{2+}) vor (Haase und Rink 2010). Nach Eisen ist Zink das zweithäufigste Metall im Körper. Es ist Bestandteil von mehr als 300 Metalloenzymen und wird für verschiedenste physiologische Prozesse benötigt. Zink ist involviert in die DNA-, RNA- und Proteinsynthese, in den Kohlenhydrat- und Lipidmetabolismus sowie in die Genexpression und Appetitregulation (Vallee und Falchuk 1993; Salgueiro et al. 2000; Stefanidou et al. 2006).

Beim Wiederkäuer erfolgt die Zinkaufnahme überwiegend im Dünndarm (Miller 1969; Hampton et al. 1976), aber auch im Pansen. Absorbiertes Zink wird im Portalblut überwiegend an Albumin gebunden (Smith et al. 1979) und zur Leber und in andere Körpergewebe transportiert (Suttle 2010). Die Absorption ist ein aktiver, sättigbarer Prozess (Suttle 2010) und verläuft carrier-vermittelt über spezifische Zinktransporter (Kambe et al. 2004; Cousins et al. 2006; Kaneko et al. 2008).

Zwei Transporter-Familien sind für den In- und Efflux von Zn^{2+} in den verschiedenen Körpergeweben bei Säugetieren unabdingbar, die ZnT-Familie (**Zn**²⁺-Transporter) und die Zip-Familie („Zinc regulated transporter- and iron regulated transporter-like proteins“). Ihre Mitglieder werden gewebespezifisch exprimiert (Kambe et al. 2004; Liuzzi und Cousins 2004; Cousins et al. 2006). Während die 10 Mitglieder der ZnT-Familie zytoplasmatisches Zink in verschiedene Zellkompartimente und den extrazellulären Raum transportieren, vermitteln die 14 Mitglieder der Zip-Familie den Influx von Zink in das Zytoplasma (Cousins et al. 2006; Lichten und Cousins 2009), wo es an Metallothionein (MT) gebunden werden kann (Kincaid et al. 1976; Tapiero und Tew 2003).

Die Zinkhomöostase wird bei Resorption, endogener Sekretion und renaler Reabsorption durch gewebespezifische Expressierung und Internalisierung von Zinktransportern (Liuzzi et al. 2004; Cummings und Kovacic 2009; Lichten und Cousins 2009) reguliert. So wird unter anderem bei geringer Zinkzufuhr die Zip-4-Expressierung auf der apikalen Membran der Enterozyten zur Steigerung der Zinkaufnahme aus der Nahrung erhöht und bei adäquater Versorgung verringert (Liuzzi et al. 2004; Lichten und Cousins 2009).

2.5.2 Mangel

Juvenile Rinder weisen Anzeichen eines Zinkmangels bei Futterkonzentrationen von unter 20 mg/kg TS auf (Spears 1989; Engle et al. 1997). Laktierende Kühe wiederum tolerieren 16,6 mg Zn/kg TS über ein Zeitraum von 6 Wochen, ohne Leistungseinbußen und

Symptome eines Zinkmangels auszubilden (Neathery et al. 1973a). Jedoch führt die Absenkung des Futterzinkgehalts auf 6 mg Zn/kg TS bei Milchkühen zu deutlichen Mangelercheinungen (Schwarz und Kirchgessner 1975). Bei hohen Konzentrationen von Zinkantagonisten im Futter können allerdings schon bei grundsätzlich bedarfsgerechter Zinkversorgung Mangelsymptome auftreten. Als Gegenspieler werden Cu, Ca, Fe, P, S, Mo, Arginin und Phytate genannt (Perry et al. 1968; Parada 1981; Xu et al. 1997; Flachowsky 2000; Smith et al. 2010). Verschiedene Bedarfsempfehlungen für die Zinkversorgung von Milchkühen sind in Tab. 12 aufgeführt.

Zinkmangel ist bei Rindern mit einer Verringerung der Leistung, des Wachstums und der Immunkompetenz, mit Anorexie, Hautläsionen (Parakeratose), rauem Haarkleid, Alopezie, Bindegewebs- und Muskeldystrophie sowie verminderter Fruchtbarkeit bei männlichen Tieren assoziiert (Mills et al. 1967; Kirchgessner und Schwarz 1975; Lamand et al. 1983; Hidiroglou und Knipfel 1984; Singh et al. 1994; Kumar et al. 2006).

Tab. 12: Empfehlungen zur Zinkversorgung von Milchkühen (mg/kg TS).

	NRC (1989)	ARC (1980)	NRC (2001)	GfE (2001)
650 kg KG mit 40 l Milch/Tag	40	47,3	63	50*
650 kg KG, 270. Trächtigkeitstag	40	14,8	22,8	

*: Milchrinder.

2.5.3 Überversorgung und Intoxikation

Die Toxizität von Zink wird im Allgemeinen als gering eingeschätzt, da Zink im Gegensatz zu Eisen und Kupfer nur eine stabile Oxidationsstufe (2+) besitzt und so keine Schäden durch Redoxreaktionen im Organismus hervorruft (Vallee und Falchuk 1993; Tapiero und Tew 2003). Die Toleranz adulter Rinder gegenüber hohen diätischen Zinkkonzentrationen wird aufgrund effektiverer Homöostasemechanismen im Vergleich zu Kälbern als höher beurteilt (Miller 1975; Kincaid et al. 1976). Ab einem Zinkgehalt von 500 mg/kg TS im Milchaustauscher ist bei Kälbern mit einem negativen Effekt zu rechnen, der sich in geringer Futteraufnahme, Futterverwertung und Gewichtszunahme äußert (Jenkins und Hidiroglou 1991). In einer Untersuchung von Graham et al. (1988) konnten bei Verfütterung von 706 mg/kg TS Zink an Milchkälber Diarrhö, Polydipsie, Polyurie, Herzrhythmusstörungen und Krämpfe beobachtet werden. Die Toleranzschwelle für adulte Milchkühe wird gegenwärtig bei 1000 mg/kg Trockensubstanz im Futter festgelegt (Miller et al. 1989; NRC 2005).

2.5.4 Diagnostik

Die Sensitivität der Methoden zur Beurteilung des Zinkstatus ist relativ gering (King 1990; Underwood und Suttle 1999; Salgueiro et al. 2000). Vor allem die Diagnose des marginalen Zinkmangels wird durch die verschiedenen einzigartigen Eigenschaften erschwert, die das biologische Verhalten von Zink reflektieren (Mills 1987):

- Die pathologische Ausprägung eines Zinkmangels tritt gewöhnlich auf, lange bevor eine wesentliche Entleerung des Gesamtkörperzinks nachweisbar ist (Mills 1987; Herdt et al. 2000).
- Es gibt kein spezifisches Zinkspeicherorgan (Lopez-Alonso et al. 2005; Cummings und Kovacic 2009), sondern nur mehrere kleine, unterschiedlich schnell mobilisierbare Gewebepools (Mills 1987; King 1990).
- Die Verteilung der Zinkkonzentration in den Gewebepools wird neben der Nahrungszinkversorgung von verschiedenen physiologischen und pathologischen Faktoren bestimmt (Mills 1987), wie dem Alter der Tiere, Laktations- und Gestationsstadium, Stoffwechselsituation, Stress, Infektionen und Entzündungen (Cousins und Leinart 1988; King 1990; Nockels et al. 1993; Puls 1994; Puschner et al. 2004).

Gravierende Zinkversorgungsstörungen lassen sich durch das gleichzeitige Auftreten von klinischen Anzeichen nachweisen (Maas 1987; Puschner et al. 2004). Die höchsten Zinkkonzentrationen werden in den Knochen, der Leber, der Haut und den Haaren nachgewiesen (Combs 1987). Annähernd 85 % des Körperzinkgehaltes befinden sich im Skelettmuskel und im Knochen (NRC 2005).

Zink induziert in hohen Konzentrationen die Bildung von Metallothionein (MT) in verschiedenen Geweben, vor allem in Organen, die in die Aufnahme und die Ausscheidung von Zink involviert sind (Bremner und Beattie 1990). MT hat eine hohe Affinität für Zink. Es fungiert durch das Binden von Zink in Komplexen als zytoplasmatisches Speicherprotein und zellulärer Detoxifikationsmechanismus (Maret 2000; Tapiero und Tew 2003; Colvin et al. 2010). Neben anderen Faktoren (vor allem Schwermetallgehalt) ist die Synthese von MT (Cousins und Leinart 1988; Tapiero und Tew 2003) wie auch die von verschiedenen Zinktransportern durch Zytokine (Lichten und Cousins 2009) induzierbar. Somit führen Stress, Infektion und Entzündungen zu einer Umverteilung des Zinks zwischen den verschiedenen Gewebepools (Cousins und Leinart 1988; King 1990; Sato und Bremner 1993). Als Parameter des Zinkstatus werden in Supplementierungsversuchen

neben dem Serum/Plasma häufig die Substrate Leber, Niere, Pankreas, Knochen, Rippe und das Haar herangezogen.

2.5.4.1 Blut

Serum, Plasma, Vollblut

Achtzig bis neunzig Prozent des Vollblutzinks liegen in Form der erythrozytären Metalloenzyme Carboanhydrase und Cu/Zn-abhängiger Superoxiddismutase vor. Im Serum/Plasma ist Zink sowohl an Albumin, ein α_2 -Makroglobulin und Aminosäuren gebunden als auch als freies Ion zu finden (Vallee und Falchuk 1993).

Serum und Plasma werden zur Diagnostik der Zinkversorgung in der Praxis häufig eingesetzt. Allerdings ist bei einer Supplementierungsveränderung innerhalb des Bereiches der Versorgungsempfehlungen mit keiner signifikanten Reaktion der Zinkkonzentration in den beiden Medien zu rechnen (Engle et al. 1997; Olson et al. 1999; Salyer et al. 2004; Kinal et al. 2007; Nunnery et al. 2007; Cope et al. 2009). Diese ist erst nach Überbeanspruchung der homöostatischen Kontrollmechanismen zu erwarten (King et al. 2000), was aus vielzähligen Fütterungsversuchen an Rindern, welche einer deutlichen Über- bzw. Unterversorgung ausgesetzt sind, ersichtlich ist (Mills et al. 1967; Miller 1969; Beeson et al. 1977; Lamand et al. 1983; Jenkins und Hidioglou 1991; Wright und Spears 2004). Zudem haben nicht ernährungsbedingte Faktoren, wie Alter der Tiere, Laktationsstadium, Stress, Entzündungen sowie Nahrungskarenz Einfluss auf die Konzentration im Serum/Plasma (Wegner et al. 1973; Corrigall et al. 1976; Puls 1994; Herdt et al. 2000; Kincaid 2000). Kälber werden mit hohen Plasmawerten geboren, welche sich nach der achten bis zwölften Lebenswoche denen adulter Kühe anpassen (Kincaid und Hodgson 1989). Virale, bakterielle und parasitäre Infektionen verursachen eine Abnahme des Zinkplasmaspiegels (Wegner et al. 1973; Symons 1983; Chirase et al. 1991; Erskine und Bartlett 1993; Nisbet et al. 2006). Ebenfalls sind bei Milchkühen im peripartalen Zeitraum erniedrigte Zinkwerte festzustellen (Goff und Stabel 1990; Meglia et al. 2001; Meglia et al. 2004). Nockels et al. (1993) konnten in einem Fütterungsversuch nach dreitägiger Nahrungskarenz bei Mastbullen ein Absinken der Plasmazinkkonzentration feststellen.

Um Zinkkontaminationen zu vermeiden, sollten grundsätzlich zinkfreie Blutsammelröhrchen verwendet werden (Maas 2007). Auch können Serumwerte durch Hämolyse der Erythrozyten fälschlich erhöht sein (Puls 1994). Die aus der Literatur

entnommenen Referenzgrenzen und -bereiche für die Serum-/Plasmazinkkonzentration sind in Tab. 13 aufgeführt.

Tab. 13: Referenzgrenzen und -bereiche für die Serum- und Plasmazinkkonzentration von Rindern ($\mu\text{g/l}$).

Quelle	Substrat	Defizitär	Marginal	Adäquat	Toxisch
Herdt und Hoff (2011)	Serum			600 - 1900	
Spolders et al. (2010)	Serum			520 - 1240	
Öhlschläger (2006)	Serum			520 - 1105	
Fürll (2005)	Serum			790 - 1640	
Puls (1994)	Serum	< 400	500 - 600	800 - 1400	> 3000
Kirchgessner und Schwarz (1975)	Serum			> 600	
Guyot et al. (2009)	Plasma	< 520	520 - 920	920 - 1370	
Maas (2007)	Plasma	< 400	500 - 800	800 - 1400	> 5000
Enjalbert et al. (2006)	Plasma	< 790	790 - 920	> 920	
Kincaid (2000)	Plasma	200 - 400	500 - 800	800 - 1400	> 3000
Mills (1987)	Plasma	< 400	400 - 600	> 600	

Ungesättigte Zinkbindungskapazität

Als weiterer möglicher Indikator des Zinkstatus wird die Bestimmung der freien Zinkbindungskapazität des Plasmas in der Literatur aufgeführt (Kincaid 2000). Die Verfütterung von 20 mg im Vergleich zu 70 mg Zn/kg TS führte zu einer Steigerung der Zinkbindungsfähigkeit im Plasma bei Kälbern, während sich die Plasmazinkkonzentration in den beiden Gruppen nicht unterschied (Kincaid und Cronrath 1979). Referenzwerte wurden bis dato für Rinder nicht etabliert.

2.5.4.2 Leber und andere Gewebe

Wie das Serum/Plasma reagiert das Lebergewebe unter bedarfsgerechten Fütterungsbedingungen nicht wesentlich auf eine Veränderung in der Zinksupplementierung (Beeson et al. 1977; Engle et al. 1997; Olson et al. 1999; Kessler et al. 2003; Dorton et al. 2010).

Der Verlust von Zink in der Leber und anderen Körpergeweben ist bei Unterversorgung gering und zudem nicht einheitlich über verschiedene Fütterungsversuche (Miller et al. 1966; Miller 1969; Neathery et al. 1973b). Kälber mit klinischen Anzeichen eines Zinkmangels weisen grundsätzlich eine verringerte Zinkkonzentration im Leber-, Pankreas-, Lungen-, Nieren-, Rippen- und Knochengewebe auf, während die Konzentration in Muskel und Hirn selbst bei gravierender Zinkverarmung konstant bleibt (Miller et al. 1966; Miller 1969; Miller 1970).

Allerdings ist für die meisten Gewebe eine Überschneidung der Zinkkonzentration zwischen klinisch gesunden Tieren und Tieren mit Zinkmangelsymptomen zu beobachten (Miller 1969). Neathery et al. (1973b) konnten bei einem Rationszinkgehalt von 16,6 mg Zn/kg TS im Vergleich zu 49,5 mg Zn/kg TS bei erstlaktierenden HF-Kühen eine signifikant niedrigere Zinkkonzentration im Rippenknorpel nachweisen, während die Leber und andere Weichgewebe sich nicht signifikant zwischen den beiden Fütterungsgruppen unterschieden.

Jedoch lassen andere Studien den Schluss zu, dass das Reflexionsvermögen der Leberkonzentration bei einer Überversorgung mit Zink von Nutzen sein kann (Kaneko et al. 2008) (Tab. 14). Verschiedene Fütterungsversuche zeigen eine deutliche Reaktion der Leber-, Nieren- und Pankreaskonzentration bei exzessiver Zinkzuführung (Kincaid et al. 1976; Kincaid und Cronrath 1979; Jenkins und Hidioglou 1991).

Bei Kälbern bzw. Kühen konnte eine signifikante Abhängigkeit der Leberzinkkonzentration vom Alter (Puschner et al. 2004) und Laktationsstadium (Swenson et al. 1996; Olson et al. 1999) nachgewiesen werden. Des Weiteren induzieren proinflammatorische Zytokine (Interleukin-1 und -6) die hepatozelluläre Synthese von Metallothionein (Cousins und Leinart 1988; Coyle et al. 1995) und ZIP-14 (Liuzzi et al. 2005), was zu einer Hypozinkämie und einer Erhöhung der Leberzinkkonzentration führt (Cousins und Leinart 1988; Liuzzi et al. 2005). Referenzwertangaben aus der Literatur für die Leberzinkkonzentration von Rindern sind in Tab. 15 aufgeführt.

Tab. 14: Einfluss des Futterzinks auf den Zinkgehalt diverser Gewebe.

Quelle	Versuchsbedingungen	Zinkkonzentration in						
		Ration		S/Pl	Haar	Leber	Niere	
		Basal	Zulage	µg/l	mg/kg TS			
mg/kg TS								
Wright und Spears (2004)	Kälber Versuchsdauer: 120 d	28	ZnSO ₄					
			0*	0†	1100	156	123	96
			20	20	1200	157	128	97
			20	500	1790	177	231	183
Jenkins und Hidioglou (1991)	Kälber Versuchsdauer: 35 d	28	ZnO					
			40		1500		677	138
			200		2500		1625	634
			500		5600		3138	1210
			700		6100		3821	1779
			1000		16600		3647	2498

S: Serum, Pl: Plasma, \bar{x} : Mittelwert, KG: Körpergewicht, d: Tage, *: 0 - 98 Tage, †: 98 - 120 Tage.

Tab. 15: Referenzgrenzen und -bereiche für die Leberzinkkonzentration von Rindern (mg/kg TS).

Quelle	Defizitär	Marginal	Adäquat	Toxisch
Herdt und Hoff (2011)			90 - 400	
Maas (2007)	< 111	111 - 148	185 - 370	> 1110
Ouweltjes et al. (2007)	< 80	80 - 100	100 - 400	> 500
Grotelueschen et al. (2001)			90 - 370	
Kincaid (2000)	< 20	25 - 40	40 - 200	> 1000
Puls (1994)	74 - 148	92,5 - 148	92,5 - 370	> 444

2.5.4.3 Haar

Als Vorteile der Haaranalyse werden die problemlose Probenentnahme, Haltbarkeit und Lagerfähigkeit des Probenmaterials genannt (Fürll 2005).

Miller et al. (1966) und Miller (1969) konnten eine signifikante Reduktion der Haarzinkkonzentration bei zinkmangelernährten Kälbern nachweisen. Die meisten Autoren sehen aber den Nutzen des Haars zur Beurteilung einer Unterversorgung bei Wiederkäuern als begrenzt an (Miller et al. 1966; Kincaid und Cronrath 1979; Combs 1987; Suttle 2010). Hierbei wird die erhebliche individuelle Variation der Haarzinkkonzentration (Suttle 2010), die verzögerte Reaktionszeit des Haars im Vergleich zu anderen Indikatoren (Schwarz und Kirchgessner 1975; Kincaid et al. 1976), das geringe Reflexionsvermögen von Stärke und Dauer einer Zinkunterversorgung (Combs 1987) und die inkonstanten Ergebnissen bei Überversorgung (Beeson et al. 1977) bemängelt. Die in der Literatur aufgeführten Referenzwertangaben für die Haarzinkkonzentration von Rindern sind in Tab. 16 aufgeführt.

Tab. 16: Referenzgrenzen und -bereiche für die Haarzinkkonzentration von Rindern (mg/kg TS).

Quelle	Defizitär	Marginal	Adäquat
Fürll (2005)			> 100
Grotelueschen et al. (2001)			90 - 730
Puls (1994)	50 - 100		100 - 150
Anke und Risch (1979)			> 100

2.6 Mangan

2.6.1 Physiologie und Metabolismus

Mangan ist Bestandteil der Metalloenzyme Pyruvatcarboxylase, Arginase und Superoxiddismutase (Hurley und Keen 1987). Als Aktivator von Glykosyltransferasen wird es für die Synthese von Glykosaminoglykan-Seitenketten verschiedener Proteoglykane in der embryonalen Knorpelsynthese benötigt (Leach et al. 1997; DeCarvalho et al. 2010).

Nur 0,5 % bis 2 % des Futtermangans werden von Rindern absorbiert (van Bruwaene et al. 1984; Weiss und Socha 2005; McLaren et al. 2007). Die Resorption von Mangan erfolgt im Duodenum und proximalen Jejunum. Über die molekularen Mechanismen der Manganhomöostase ist noch wenig bekannt. Fest steht, dass sich Mangan und Eisen verschiedene Transportproteine teilen (Fitsanakis et al. 2010), wie den duodenalen DMT1 (Gunshin et al. 1997), das Ferroportin (Au et al. 2008) und den TF/TFR-Komplex (Takeda et al. 2000; Li et al. 2006; Rouault und Cooperman 2006). In welcher Form es quantitativ (Mn^{2+} oder Mn^{3+}) in den Blutstrom eintritt, ist von entscheidender Bedeutung für den Verbleib im Körper (Roth 2006). An Albumin leicht gebundene Mn^{2+} -Ionen werden effektiv von der Leber aus dem Blut eliminiert, während die Halbwertszeit des an Transferrin gebundenen Mangans (Mn^{3+}) wesentlich länger ist (Gibbons et al. 1976; Roth 2006). Die homöostatische Regulation wird überwiegend auf Seiten der Resorption auf Ebene des DMT1 vermutet (Hansen et al. 2010b). Das resorbierte Mangan wird hauptsächlich über die Gallenflüssigkeit und nur ein geringer Teil über den Urin ausgeschieden (Hidiroglou 1979; Gustafson und Olsson 2004; Weiss und Socha 2005).

2.6.2 Mangel

Der klinische Manganmangel ist extrem selten, weil die meisten Futtermittel zumindest marginal adäquate Mangangehalte aufweisen (Weiss und Socha 2005). Hohe diätetische Gehalte an Fe, Cu, Zn, S und in einem geringeren Umfang an Ca und P führen zu einer Reduzierung der Bioverfügbarkeit von Mangan (Hidiroglou 1979; Alfaro et al. 1988; Graham 1991). Der Manganmangel wird mit unregelmäßigen Östren und Stillbrünstigkeit in Verbindung gebracht (Bentley und Phillips 1951). Das am häufigsten beobachtete Anzeichen ist eine skelettale Malformation bei Jungtieren (Leach und Muenster 1962; Staley et al. 1994; DeCarvalho et al. 2010). Unter anderem treten Brachygnatha superior, disproportionierte Zwergenwüchsigkeit und geschwollene Gelenke bei Kälbern auf (Staley et al. 1994; Hansen et al. 2006b). Darüber hinaus wird die Mangandeprivation der

Muttertiere als Risikofaktor der Congenitalen Chondrodysplasie Unbekannten Ursprungs (CCUO) diskutiert (McLaren et al. 2007). Die Verfütterung von 16,7 mg Mn/kg TS (Hansen et al. 2006b) bzw. 15,8 mg Mn/kg TS (Dyer und Rojas 1965) an tragende Kühe und Färsen führte zu mangandefizitären Kälbern mit oben beschriebenen Symptomen, ohne Symptome bei den Muttertieren hervorzurufen. Die von den verschiedenen wissenschaftlichen Institutionen herausgegebenen Versorgungsempfehlungen für Milchkühe mit Mangan sind in Tab. 17 aufgeführt.

Tab. 17: Empfehlungen zur Manganversorgung von Milchkühen (mg/kg TS).

	NRC (1989)	ARC (1980)	NRC (2001)	GfE (2001)
650 kg KG mit 40 l Milch/Tag	40	20 - 25	16,7	50*
650 kg KG, 270. Trächtigkeitstag	40	20 - 25	17,8	

*: Milchrinder.

2.6.3 Überversorgung und Intoxikation

Die Toxizität von Mangan ist gering (NRC 2005). Die Manganvergiftung geht mit verminderter Futterraufnahme, geringerer Gewichtszunahme und einem verringerten Hämatokrit einher (Cunningham et al. 1966; Underwood 1977; Jenkins und Hidiroglou 1991). Der NRC (2005) gibt den maximal tolerierbaren Mangangehalt im Futter für abgesetzte Kälber mit 2,6 g/kg TS an. 5 g Mn/kg TS im Milchaustauscher führten in einem Versuch von Jenkins und Hidiroglou(1991) zum Verenden aller Kälber innerhalb der 5-wöchigen Versuchszeit. Allerdings ist schon bei weitaus geringeren Gehalten von einer negativen Auswirkung auf die Resorption anderer zweiwertiger Kationen auszugehen. Die Zuführung von 500 mg Mn/kg (MnSO_4) zu einer kupferverarmten Ration (4 - 7 mg Cu/kg TS, 2 mg Mo/kg TS) an Bullenkälber bewirkte eine stärkere Kupferverarmung als die Kupfermangeldiät allein (Hansen et al. 2009), da sich Cu^{2+} und Mn^{2+} Resorptions- und Transportwege teilen.

2.6.4 Diagnostik

Der Ablauf der biochemischen Veränderungen im Verlauf eines progressiven Manganmangels (Abb. 3) unterscheidet sich stark von anderen Spurenelementen, was die Beurteilung des Manganstatus anhand von Gewebekonzentrationen erschwert. In einer Untersuchung von Gelfert und Staufenbiel (2000) zur Beurteilung der Manganversorgung in 70 Milchviehherden lagen 96 % der Serumproben und 80 % der Haarproben unterhalb der von ihnen verwendeten Referenzuntergrenzen (Serum > 6 $\mu\text{g/l}$, Haare > 6000 $\mu\text{g/kg}$ TS). Symptome eines Manganmangels und ein negativer Zusammenhang der

Mangankonzentration mit verschiedenen Leistungsparametern konnten nicht beobachtet werden. Dies lässt die Anwendbarkeit der benutzten Referenzmedien oder Referenzwerte fraglich erscheinen. In der Literatur werden Vollblut, Serum, Plasma, Leber- und Knochengewebe sowie das Haar als Indikator des Manganstatus diskutiert (Anke und Risch 1979; Graham 1991; Kincaid 2000; Suttle 2010).

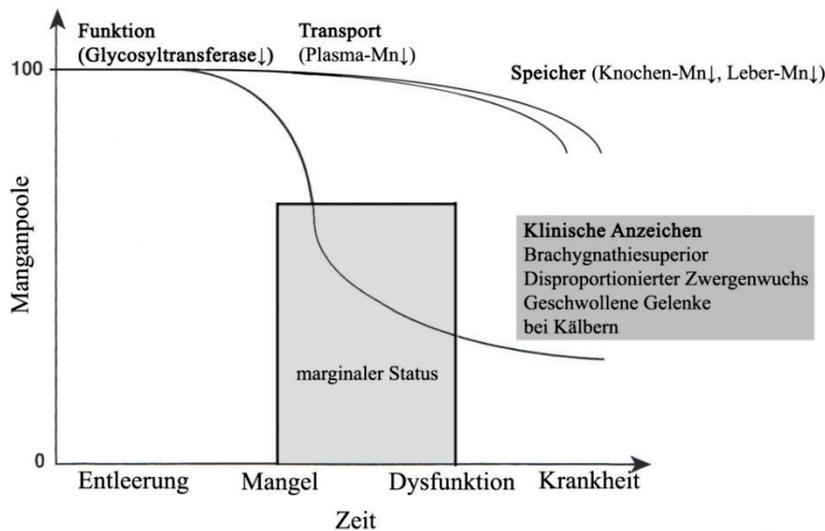


Abb. 3: Abfolge der biochemischen Veränderungen im Verlauf der Manganverarmung nach Suttle (2010).

2.6.4.1 Blut

Serum, Plasma, Vollblut

Im Plasma liegt Mangan als freies Ion (Mn^{2+}) vor, das an ein α_2 -Makroglobulin oder in dreiwertiger Form (Mn^{3+}) an Transferrin gebunden ist (Gibbons et al. 1976). Das Verhältnis der Mangankonzentration der Erythrozyten zum Plasma liegt annähernd bei vier zu eins (Fürll et al. 2004). Berichtete Blut- und Plasmamanganwerte sind extrem variabel, was aus Sicht von Hansen et al. (2006b) auf analytische Mängel und physiologische Variation zurückzuführen ist und sich in deutlich unterschiedlichen Referenzwertangaben in der Literatur niederschlägt (Tab. 18). Jokubauskiene et al. (2010) fanden einen signifikanten saisonalen Einfluss auf die Mangankonzentration im Serum. Zudem konnten sie eine Abhängigkeit der Serumwerte vom Alter der Tiere und vom Laktationsstadium feststellen. Die Autoren beobachteten bei Milchkühen im Sommer höhere Serumwerte als im Frühjahr und Herbst. Sechs bis acht Jahre alte Milchkühe hatten im Vergleich zu drei-

bis vierjährigen Milchkühen und Färsen eine geringere Mangankonzentration im Vollblut. Des Weiteren wurden nach der Abkalbung im Vergleich zu anderen Laktationsstadien geringere Konzentrationen festgestellt. Unter normalen Fütterungsbedingungen scheint zwischen Plasmakonzentration und Futtermangangehalt kein Zusammenhang zu bestehen. Hansen et. al (2006a) wie auch Legleiter et al. (2005) konnten bei Manganzulagen von 15,8 bis 65,8 mg Mn/kg TS bzw. 0 bis 240 mg Mn/kg TS keinen signifikanten Effekt auf die Plasmakonzentration zwischen den verschiedenen Fütterungsgruppen beobachten. Die Plasmawerte variierten dabei zwischen 9,9 µg/l und 20,5 µg/l bzw. zwischen 10,5 µg/l und 13,5 µg/l. Jenkins und Hidioglou (1991) notierten ausschließlich bei der Verfütterung von 1000 mg einen signifikanten Effekt auf die Plasmamangankonzentration (Tab. 19).

Tab. 18: Referenzgrenzen und -bereiche für die Plasma-, Serum- und Vollblutmangankonzentration von Rindern (µg/l).

Quelle	Substrat	Defizitär	Marginal	Adäquat
Herdt und Hoff (2011)	Serum			0,9 - 6,0
Weiser und Lukas (1965)	Serum			4 - 49
Dirksen et al. (2006)	Plasma			5 - 11
Rosow und Bolduan (1994)	Plasma			19,8 - 100
Gibbson et al. (1976)	Plasma			5 - 10
Maas (2007)	Vollblut	< 20	20 - 60	70 - 200
Fürll (2005)	Vollblut			> 75,3
Pechová et al. (2004)	Vollblut			> 22
Puls (1994)	Vollblut		< 20	70 - 90

Tab. 19: Einfluss des Futtermangans auf die Mangankonzentration von Plasma und Leber.

Quelle	Versuchsbedingungen	Mangankonzentration in					
		Ration		Plasma		Leber	
		Basal	Zulage	Initial	Ende	Initial	Ende
		mg/kg TS		µg/l		µg/kg TS	
Hansen et al. (2006a)	Fleischfärsen, Versuchsdauer: 168 d	15,8	MnSO ₄				
			0	16,39	19,61	9100	8200
			10	17,12	17,67	9400	8600
			30	15,54	16,31	9700	8700
			50	17,10	20,15	10300	9400
Legleiter et al. (2005)	Mastbullen, Versuchsdauer: 140 d	84 d 29,8 dann 56 d 8,1	MnSO ₄				
			0	11,4	11,6		12100
			10	10,9	12,1		12100
			20	10,0	10,7		12600
			30	15,1	10,6		13900
			120	10,6	10,5		14900
			240	14,0	13,2		15100

Quelle	Versuchsbedingungen	Mangankonzentration in					
		Ration		Plasma		Leber	
		Basal	Zulage	Initial	Ende	Initial	Ende
mg/kg TS		µg/l		µg/kg TS			
Jenkins und Hidiroglou (1991)	Kälber, Versuchsdauer : 35 d	5,3	MnSO ₄				
			40		4		7200
			200		4		10300
			500		5		15600
			1000		10		26700
Ho et al. (1984)	Kälber, Versuchsdauer: 18 d	55	MnCO ₃				
			0				9490
			1000				13250

\bar{x} : Mittelwert, KG: Körpergewicht, d: Tage.

2.6.4.2 Leber und andere Gewebe

Neben Serum, Plasma und Vollblut wird Lebergewebe häufig als Indikator zur Beurteilung des Manganstatus in Fütterungsversuchen genutzt (Jenkins und Hidiroglou 1991; Staley et al. 1994; Hansen et al. 2006a). Die Leber ist der wichtigste mobilisierbare Manganspeicher bei Wiederkäuern (Hidiroglou 1979; Jenkins und Hidiroglou 1991).

Verschiedene Fütterungsversuche zeigen, dass unter normalen Fütterungsbedingungen die Manganaufnahme bei Rindern nicht durch die Lebermangankonzentration reflektiert wird. Während Legleiter et al. (2005) einen linearen Anstieg des Lebermangans (12100 µg/kg TS bis 15100 µg/kg TS) bei einer Steigerung der Mangansupplementierung in einem Bereich von 8 bis 269 mg Mn/kg TS beobachten konnten (Tab. 19), weisen die meisten Untersuchungen darauf hin, dass die Mangankonzentration in der Leber nicht wesentlich auf eine Veränderung in der Supplementierung reagiert oder sich sogar gegenläufig zur Mangankonzentration in der Ration verhält (Ivan und Hidiroglou 1980; Olson et al. 1999; Ahola et al. 2004; Hansen et al. 2006a; Dorton et al. 2010). Hansen et al. (2006a) konnten beispielsweise bei Rindern einen signifikanten Unterschied zwischen Kontrollgruppe und den supplementierten Gruppen feststellen, die Lebermangankonzentrationen waren jedoch in allen Gruppen im Vergleich zum Versuchsbeginn geringer. Die Mangankonzentrationen in der Leber variierten in dieser Untersuchung von 8200 µg/kg TS bis 11000 µg/kg TS. Bei einer extremen Unterversorgung scheinen Lungen- und Herzgewebe sensibler auf eine Manganverarmung beim Wiederkäuer zu reagieren (Masters et al. 1988).

Nach Überschreiten der homöostatischen Regulationsmechanismen ist bei Wiederkäuern von einer Manganakkumulation in der Leber auszugehen (Black et al. 1985; Jenkins und

Hidiroglou 1991), womit der Nutzen zum Nachweis einer Manganintoxikation gegeben ist. In Tab. 20 sind verschiedene Referenzwertangaben für die Lebermangankonzentration von Rindern aufgeführt.

Tab. 20: Referenzgrenzen und -bereiche für die Lebermangankonzentration von Rindern ($\mu\text{g}/\text{kg TS}$).

Quelle	Defizitär	Marginal	Adäquat	Toxisch
Herdt und Hoff (2011)			5000 - 15000	
Suttle (2010)		< 9000		
Maas (2007)	< 7000		8000 - 12000	
Dirksen et al. (2006)			> 10000	
Fürll (2005)			8000 - 12000	
Grotelueschen et al. (2001)			9100 - 15000	
Kincaid (2000)	< 7000		7000 - 15000	> 13000
Gelfert und Staufenbiel (1998)			5600 - 11100	
Puls (1994)	< 3700	5600 - 11200	9300 - 22200	14800 - 85100
Anke und Risch (1979)			> 8000	

2.6.4.3 Haar

Die in der Literatur zu findenden Referenzwertangaben für die Mangankonzentration des Rinderhaars unterscheiden sich deutlich (Tab. 21). Die Eignung des Substrats Haar als Indikator des Manganstatus erscheint aufgrund kontroverser Untersuchungsergebnisse und stark variierender Werte fraglich (Suttle 2010). Als Einflussfaktoren auf den Haarmangangehalt werden Geschlecht, Abstammung, Laktationsstadium, Art und Farbe des Haares sowie das Haaralter genannt (Anke und Risch 1979; Combs et al. 1982; Fürll 2005). Während des Haarwechsels eignet sich das Haar grundsätzlich nicht zur Beurteilung des Versorgungsstatus. Nach den Ergebnissen von Anke und Risch (1979) beeinflusst lediglich das Haaralter die Mangankonzentration wesentlich. Puls (1994) geht davon aus, dass zwischen Manganaufnahme und Haarkonzentration kein diagnostisch nutzbares Verhältnis besteht. 50 % des Haarmangans stammt nach seiner Auffassung von äußerlichen Umweltablagerungen.

Tab. 21: Referenzgrenzen und -bereiche für die Haarmangankonzentration von Rindern ($\mu\text{g}/\text{kg TS}$).

Quelle	Defizitär	Marginal	Adäquat	Toxisch
Fürll (2005)			> 6000	
Gelfert und Staufenbiel (1998)			500 - 24700	
Puls (1994)	500 - 5000	500 - 15000	500 - 70000	> 80000
Anke und Risch (1979)			6000 - 8000	

2.7 Selen

2.7.1 Physiologie und Metabolismus

Selen liegt in der Natur in vier Oxidationsstufen vor:

elementares Selen (0)

Selenide (-2)

Selenite (+4)

Selenate (+6)

In Pflanzen findet sich Selen vor allem als Selenomethionin (SeMet), aber auch als Selenocystein (SeCys) und in geringerem Umfang als Selenit und Selenat. Im Wasser sind, abhängig vom pH-Wert, verschiedene anorganische Selenquellen nachweisbar (Barceloux 1999a).

Während Selenit durch einfache Diffusion absorbiert wird, existiert für die Aufnahme von Selenat ein unspezifischer Anionen-Transporter im Duodenum, welcher konkurrierend auch Sulfate transportiert (Wolffram et al. 1986; Barceloux 1999a). Die Absorption von SeCys und SeMet erfolgt überwiegend durch einen aktiven Aminosäuretransportmechanismus (Schrauzer 2003; Fairweather-Tait et al. 2011). Die Selenabsorption scheint keiner homöostatischen Kontrolle zu unterliegen. Weder der Nahrungselengehalt noch der Selenstatus haben einen offensichtlichen Einfluss auf die Absorptionseffizienz (Vendeland et al. 1992; Windisch und Kirchgessner 2000a; Windisch und Kirchgessner 2000b)

Anstelle der Aminosäure Methionin kann absorbiertes SeMet unspezifisch in diverse Proteine (z.B. Hämoglobin und Albumin) eingebaut werden und fungiert ohne eigene Funktion als austauschbarer Selenpool (Suzuki und Ogra 2002). Alle Selenformen müssen in den Selenidpool (H_2Se) überführt werden, um für die SeCys-Synthese bereit zu stehen (Papp et al. 2007). SeCys bildet das aktive Zentrum funktioneller Selenoproteine und ist inzwischen als 21. Aminosäure etabliert. Mehr als 30 SeCys-haltige Selenoproteine (Gluthationperoxidasen (Gpx-1 bis -4 und -6); Thioredoxinreduktase (TrxR-1 bis -3); Iodothyronindeiodinasen (DIO-1 bis -3); Selenoprotein-N, -P, -W, -R; etc.) wurden bisweilen in Säugetieren identifiziert. Ein großer Anteil der Selenoproteine besitzt eine antioxidative Funktion (v.a. Gpx und TrxR) (Papp et al. 2007; Pappas et al. 2008; Hefnawy und Tortora-Perez 2010).

Erhöhte Selengewebespiegel und geringere Selenausscheidungen (Harn, Faeces) weisen auf eine höhere Bioverfügbarkeit von organischen Selenquellen hin (Awadeh et al. 1998;

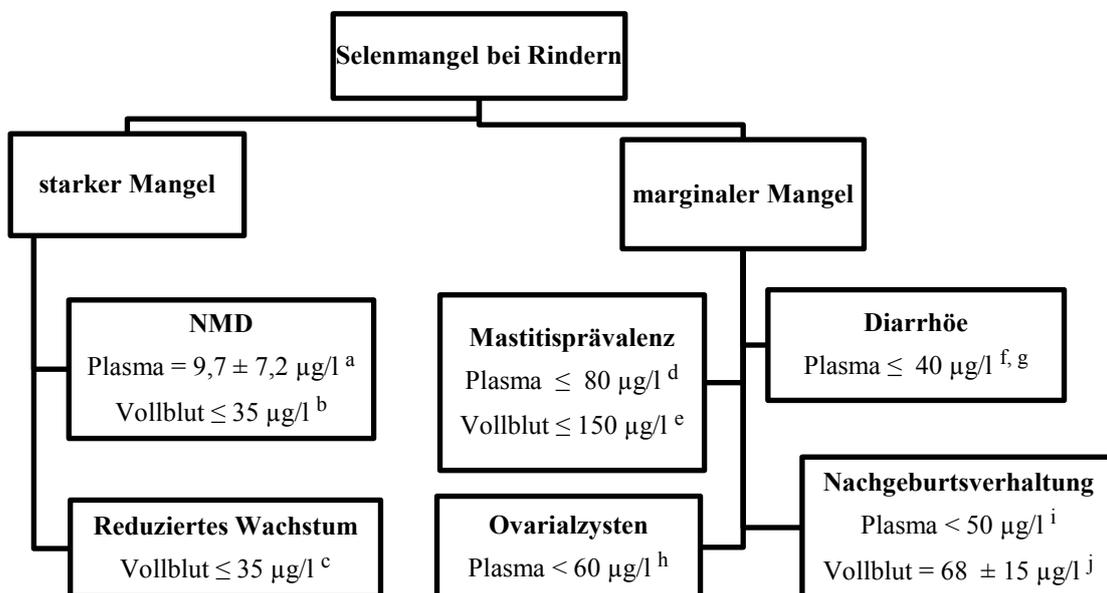
Knowles et al. 1999; Ortman und Pehrson 1999; Lee et al. 2007; Slavik et al. 2008; Koenig und Beauchemin 2009).

Die Exkretion von Selen erfolgt via Harn, Faeces, Milch und Exhalation (Methylselenol) (Miller 1975; Windisch und Kirchgessner 2000a; Ivancic und Weiss 2001; Juniper et al. 2006).

2.7.2 Mangel

Durch den Wechsel von selenreichem zu selenarmem Futter kommt es zu einer rapiden Entleerung der Selenkörperreserven (Combs 1987). Für laktierende Kühe wird die Aufnahme von 0,2 mg Se/kg TS empfohlen (GfE 2001). Durch hohe Schwefelgehalte (Ivancic und Weiss 2001; Spears 2003) und durch Anwesenheit von cyanogenen Glykosiden im Futter (Milchkälber) wird die Selenbioverfügbarkeit allerdings reduziert (Spears 2003).

Nach Villar et al. (2002) wird der Selenmangel in die starke und die marginale Selenunterversorgung gegliedert (Abb. 4).



a = Zust et al. (1996)
b = Pehrson und Johnsson (1985)
c = Nelson und Miller (1987)
d = Weiss et al (1990)

e = Jukola et al. (1996b)
f = Spears et al. (1986)
g = Sanders (1984)
h = Harrison et al. (1984)

i = Julien et al. (1976)
j = Trinder et al. (1973)

Abb. 4: Selenabhängige Störungen nach Villar et al. (2002).

Als klinische Auswirkungen eines gravierenden Selenmangels gelten die nutritive Muskeldystrophie (NMD) (Muth et al. 1958; Zust et al. 1996) und eine Wachstumsretardierung (Nelson und Miller 1987; Wichtel et al. 1994).

Der marginale Selenmangel wird mit einer erhöhten Mastitisprävalenz (Weiss et al. 1990), Fruchtbarkeitsstörungen wie Retentio secundinarum, Metritis und Ovarialzysten (Trinder et al. 1973; Julien et al. 1976; Harrison et al. 1984) und einer verringerten Immunkompetenz assoziiert (Stabel et al. 1989). Selenabhängige Störungen sind bei Futtergehalten von 0,02 bis 0,05 mg Se/kg TS zu erwarten (Hidiroglou et al. 1985; Spears et al. 1986).

2.7.3 Überversorgung und Intoxikation

Rosenfeld und Beath (1964) erstellten eine heute nur teilweise akzeptierte Klassifikation der Selenintoxikation. Die Autoren unterscheiden die akute und die chronische Selenintoxikation. Die chronische Selenose wird von ihnen in zwei Symptomkomplexe aufgeteilt: Alkalikrankheit und Blind Staggers (BS). Einige Autoren stellen jedoch den Zusammenhang zwischen dem Krankheitsbild BS und der Selenüberversorgung in Frage (O'Toole et al. 1996), da es experimentell nicht erzeugt werden kann. Es findet daher im Weiteren keine Beachtung. In aktuellen Arbeiten wird die subklinische Selenose von der akuten und chronischen Selenintoxikation abgegrenzt (Yaeger et al. 1998; Rampal et al. 2008).

Eine akute Selenintoxikation wird häufiger durch eine fehlerhafte Supplementierung als durch die Aufnahme von Selenakkumulatorpflanzen (Astragalus-Spezies) verursacht (NRC 2005). Sie geht mit Speicheln, Dyspnoe, Ödemen und plötzlichen Todesfällen einher, die durch hepatische, renale und kardiale Nekrosen bedingt sind (O'Toole und Raisbeck 1995; Deore et al. 2005).

Die Symptome einer chronischen Selenvergiftung bilden sich nach einer über mindestens 30 Tage andauernden hohen Selenexposition aus (NRC 2005). Bei der chronischen Alkalikrankheit können Haarverlust, Abmagerung, Risse in Haut und Horn sowie eine Deformation der Klauen verbunden mit Lahmheit und vermehrtem beobachtet werden (Gupta et al. 1982; James und Shupe 1984; Rampal et al. 2008).

Die subklinische Form der Selenintoxikation zeichnet sich durch eine verringerte Immunkompetenz (verringerte Antikörperproduktion, Leukopenie) aus (Yaeger et al. 1998; Rampal et al. 2008). Die Toxikotoleranz von Tieren variiert mit der Form des aufgenommen Selens, der Dauer und Kontinuität der Exposition, dem Genotyp der Tiere

und der Interaktion zwischen diesen Faktoren (Suttle 2010). Elementares Selen wird aufgrund seiner unlöslichen Form und seiner geringen Absorption generell gut toleriert. Selenide sind unabhängig von der Spezies weniger toxisch als lösliche Selenite und Selenate (Suttle 2010). Rinder tolerieren bis zu 5 mg Se/kg TS ohne negative Auswirkung auf den Gesundheitsstatus (NRC 2005).

2.7.4 Diagnostik

Zur Beurteilung der Selenversorgung von Rindern kann der Selengehalt des Bodens, der Futterpflanzen und verschiedener tierischer Gewebe genutzt werden (Hefnawy und Tortora-Perez 2010). Die Selenaufnahme wird durch die Selenkonzentration der meisten tierischen Gewebe gut reflektiert (Wichtel 1998b). Als geeignete Indikatoren werden die Bestimmung der Selenkonzentration in Blut, Leber (Thompson et al. 1980; van Saun et al. 1989; Wichtel 1998b), Milch (Lean et al. 1990; Grace et al. 2001; Wichtel et al. 2004) und Haar (Anke und Risch 1979; Fürll 2005) bzw. die Bestimmung der Gpx-Aktivität in verschiedenen Kompartimenten des Blutes angesehen (Thompson et al. 1981; Maas 1983; Wichtel 1998b).

2.7.4.1 Blut

Serum, Plasma, Vollblut

Im Rinderblut liegt Selen an Albumin und Selenoprotein P gebunden vor. Des Weiteren ist es Bestandteil der erythrozytären und plasmatischen Gpx (Awadeh et al. 1998). Die Selenkonzentration im Serum/Plasma korreliert stark mit der oralen und parenteralen Aufnahme von Selen und reagiert schnell auf Veränderungen in der Selenaufnahme (Thompson et al. 1980; Hidioglou et al. 1987; Stowe und Herdt 1992). Eine veränderte Supplementierung macht sich im Serum innerhalb von zwei bis sechs Tagen bemerkbar (Ellis et al. 1997). Serum und Plasma werden infolgedessen als geeignete Substrate angesehen, den gegenwärtigen Selenstatus bei Rindern wiederzugeben (Thompson et al. 1980; van Saun 1990; Gerloff 1992; Thompson und Ellison 1993; Puls 1994).

Die Vollblutselenkonzentration korreliert ebenfalls gut mit der Selenaufnahme (Stowe und Herdt 1992). Die Zu- bzw. Abnahme der Selenkonzentration im Vollblut vollzieht sich infolge von Veränderungen in der Selenaufnahme im Vergleich zum Serum allerdings langsamer (Thompson et al. 1980; Stowe und Herdt 1992). Im Vollblut liegen annähernd 73% des Selens in den korpuskulären Bestandteilen des Blutes vor (Scholz und Hutchinson 1979). Da Selen nur zum Zeitpunkt der Erythropoese in die Erythrozyten inkorporiert wird,

ist der Verlauf der Selenkonzentration im Vollblut maßgeblich von der Lebenszeit (90 bis 120 Tage) der Erythrozyten abhängig (Gerloff 1992; Stowe und Herdt 1992). Das Verhältnis von Vollblut und Serum wird von Gerloff (1992) mit 2,5 zu 1 angegeben. Bei schwankender Selenversorgung ist von einer Umrechnung von Vollblutwerten in Serumwerte oder vice versa durch einen Konvertierungsfaktor abzuraten, da nicht von einem linearen Verhältnis zwischen den beiden Parametern ausgegangen werden kann (Thompson und Ellison 1993). Nach Raisbeck (2000) ist das Vollblut als Langzeitmarker zum Nachweis einer chronischen Selenintoxikation dem Serum überlegen. Yaeger et al. (1998) konnten bei Selengehalten von 6 bzw. 12 mg Se/kg TS einen kontinuierlichen Anstieg der Vollblutselenkonzentration über die Versuchsdauer von drei Monaten beobachten, während die Serumkonzentration nach einem Monat ein Plateau ausbildete. Verschiedene Referenzwertangaben für die Selenkonzentration in Serum, Plasma und Vollblut von Rindern finden sich in Tab. 22.

Tab. 22: Referenzgrenzen und -bereiche der Serum-, Plasma- und Vollblutselenkonzentration von Rindern ($\mu\text{g/l}$).

Quelle	Substrat	Defizitär	Marginal	Adäquat	Toxisch
Herdt und Hoff (2011)	S			65 - 140	
Aitken (2001)	S			70 - 100	> 275
Wolf et al. (1998)	S	< 25	25 - 40	40 - 70	> 70‡
Yaeger et al. (1998)	S				> 400†
Thompson et al. (1998)	S	< 4,5	4,5 - 11,0	> 11	
Gerloff (1992)	S			70 - 100	
Stowe und Herdt (1992)	S			70 - 100	
van Saun (1990)	S	< 40	40 - 70	> 70	
Hoshino et al. (1989)	S	< 20			
Julien et al. (1976)	S	< 50	50 - 80	> 80	
Rossow und Bolduan (1994)	Pl			40 - 150	
Herdt und Hoff (2011)	Vb			120 - 300	
Maas (2007)	Vb	< 50	50 - 80	100 - 350	> 5000
Deore et al. (2005)	Vb				> 1750
Yaeger et al. (1998)	Vb				> 1000†
Wolf et al. (1998)	Vb	< 40	40 - 70	70 - 120	> 120‡
Dargatz und Ross (1996)	Vb	< 50	51 - 80	81 - 160	
Jukola et al. (1996a)	Vb		> 180		
Grunder und Auer (1995)	Vb	< 40	40 - 70	> 70	
van Saun (1990)	Vb	< 40	50 - 90	> 100	
James und Shupe (1984)	Vb				> 2000*
van Vleet (1980)	Vb		< 50		

*: chronische Selenose, †: subklinische Selenose, ‡: Überversorgung, Vb: Vollblut, S: Serum, Pl: Plasma.

Gluthationperoxidase (Gpx)

Bisweilen sind sieben Gluthationperoxidasen in Säugetieren identifiziert worden, von denen fünf selenabhängig sind (Gromer et al. 2005). Die Aktivitätsbestimmung der erythrozytären Gpx (Gpx-3) wird zur Untersuchung von Selenversorgungsstörungen bei Rindern genutzt. Die Erythrozyten beinhalten 98% der totalen Gpx-Aktivität des Blutes (Scholz und Hutchinson 1979). Die Gpx-Aktivität des Vollblutes reflektiert im Vergleich zu der des Plasmas den Selenversorgungsstatus in einer zeitlich ähnlichen Abhängigkeit wie die Selenkonzentration im Vollblut im Vergleich zum Serum (Gerloff 1992). In verschiedenen Untersuchungen konnten hochsignifikante Korrelationen ($r = 0,87$ bis $0,97$) zwischen Gpx-3-Aktivität und Vollblutselenkonzentration festgestellt werden (Koller et al. 1984; Erskine et al. 1987; Maas et al. 1993). Bei steigender Selenversorgung erreicht die Gpx-3-Aktivität allerdings ein Plateau, während die Vollblutselenkonzentration weiter ansteigt (Deore et al. 2005), was den Nachweis einer exzessiven Selenversorgung durch die Gpx-3-Aktivität ausschließt (Wolf et al. 1998; Pavlata et al. 2000). Im Vergleich zur Bestimmung der Selenkonzentration im Blut ist die indirekte Bestimmung über die Gpx ein einfaches und kostengünstiges Verfahren (Pavlata et al. 2000). Referenzbereiche sind aufgrund der sich stark unterscheidenden labortechnischen Verfahren nicht angegeben.

2.7.4.2 Leber

Die Leber und die Niere weisen im Vergleich zu anderen Organen eine höhere Selenkonzentration auf und erfüllen im Selenstoffwechsel wichtige Funktionen (Levander 1986). Im Unterschied zu Kupfer existiert für Selen kein typisches Speicherorgan (Wichtel 1998b). Verschiedene Autoren sehen eine zeitnahe Reflektion des Selenstatus durch die Leberselenkonzentration gegeben (Thompson et al. 1980; Wichtel 1998a). Nach intramuskulärer Applikation von Natriumselenat an Kälbern konnten Thompson et al. (1980) einen zeitlich parallelen Verlauf der Leber- und Serumselenkonzentration beobachten. Ellis et al. (1997) konnten bei supranormaler Selenversorgung eine stärkere Reaktion der Leberselenkonzentration im Vergleich zu der des Serums und des Vollbluts feststellen. Verschiedene Referenzwertangaben für die Leberselenkonzentration von Rindern finden sich in Tab. 23.

Tab. 23: Referenzgrenzen und -bereiche der Leberselenkonzentration von Rindern ($\mu\text{g}/\text{kg TS}$).

Quelle	Defizitär	Marginal	Adäquat	Toxisch
Herdt und Hoff (2011)			700 - 2500	
Suttle (2010)	< 90			> 14800
Maas (2007)	< 400	500 - 800	900 - 1750	> 20000
Fürll (2005)			> 1250	
Kincaid (2000)	< 500	600 - 1250	1250 - 2500	
Yaeger et al. (1998)				> 9000
Puls (1994)	70 - 630	440 - 930	930 - 1850	> 4630
Stowe und Herdt (1992)			1200 - 2000	
van Saun (1990)	< 370			
McDowell et al. (1990)	< 250	250 - 500		
Whitehair (1986)	< 400	400 - 1000	> 1250	

2.7.4.3 Haar

Während McDowell (1997) das Haar grundsätzlich als einen nutzbaren Indikator zur Diagnose eines ausgeprägten Mangels und einer chronischen Intoxikation einstuft, sieht Puls (1994) nur einen geringen diagnostischen Nutzen in der Selenbestimmung im Haar (Langzeitversorgungsstatus), da die meisten Probleme in Zusammenhang mit Selen über kurze Zeitperioden auftreten. Hidiroglou et al. (1965) konnten bei Kälbern, welche Symptome der NMD zeigten, Selengehalte zwischen 60 und 230 $\mu\text{g}/\text{kg TS}$ im Haar nachweisen. Kälber mit einem Haarselengehalt von mehr als 250 $\mu\text{g}/\text{kg TS}$ erkrankten hingegen nicht an der NMD. Deore et al. (2002) beurteilen das Haar zum Nachweis einer chronischen Selenintoxikation im Vergleich zum Vollblut als weniger geeignet. Bei experimentell induzierter Selenose (0,19 mg Se/kg KG per os) stieg die Haarselenkonzentration von Kälbern nach 75 Tagen Versuchsdauer von 2400 ± 600 auf 22910 ± 260 $\mu\text{g}/\text{kg TS}$ an. Verschiedene Referenzwertangaben für die Haarselenkonzentration von Rindern sind in Tab. 24 angegeben.

Tab. 24: Referenzgrenzen und -bereiche für die Haarselenkonzentration von Rindern ($\mu\text{g}/\text{kg TS}$).

Quelle	Defizitär	Marginal	Adäquat	Toxisch
Fürll (2005)			> 300	
Puls (1994)	< 230	230 - 500	500 - 1320	> 1400
James und Shupe (1984)				> 10000*
Anke und Risch (1979)			> 250	
Hidiroglou et al. (1965)			> 250	

*: chronische Selenose.

2.7.4.4 Milch

Selenangereichertes Futter in anorganischer oder organischer Form führt zu einer Erhöhung der Milchselenkonzentration (Conrad und Moxon 1979; Maus et al. 1980; Aspila 1991; Knowles et al. 1999; Givens et al. 2004; Moschini et al. 2010). Die Effizienz des Transports von Futterselen in die Milch hängt signifikant von der Selenquelle ab, wobei sich durch selenangereicherte Hefen wesentlich höhere Milchkonzentrationen erzielen lassen als mit anorganischen Selenquellen (Knowles et al. 1999; Givens et al. 2004; Juniper et al. 2006; Calamari et al. 2010; Moschini et al. 2010). Hohe Blutkonzentrationen sind mit hohen Milchkonzentrationen assoziiert (Knowles et al. 1999). Grace et al. (2001) und Calamari et al. (2010) konnten einen signifikanten quadratischen Zusammenhang zwischen Vollblutselen- und der Milchselenkonzentrationen feststellen. Verschiedene Referenzwertangaben für die Milchselenkonzentration bei Rindern sind in Tab. 25 aufgeführt.

Tab. 25: Referenzgrenzen und -bereiche für die Milchselenkonzentration von Rindern ($\mu\text{g}/\text{kg TS}$).

Quelle	Defizitär	Marginal	Adäquat	Toxisch
Juniper et al. (2006)	< 20		> 28	
Wichtel et al. (2004)	< 10		> 22	
Puls (1994)	< 5	11 - 18	30 - 50	> 80

2.7.4.5 Harn und Faeces

Ellis et al. (1997) und Juniper et al. (2006) konnten mit steigender Selenzufuhr eine deutliche Erhöhung der Selenkonzentration im Urin und der Faeces bei Rindern feststellen. Beide Medien sind nach der Auffassung von Ellis et al. (1997) sensitive Indikatoren zum Nachweis einer exzessiven Selenaufnahme. Spurenelemente, die in signifikanten Mengen mit der Faeces und dem Harn ausgeschieden werden (Se, Mo), tendieren dazu, konstant als Fraktion des Futtergehaltes ausgeschieden zu werden. Allerdings ist es schwieriger, die Harnproduktion im Vergleich zur Faecesproduktion vorauszusagen (Gustafson und Olsson 2004). Juniper (2006) konnte bei Verfütterung von Selenohefen (0,15 bis 0,40 mg Se/kg TS) ein positives lineares Verhältnis zwischen Futtergehalt und Harnausscheidung ermitteln. Dabei lagen die mittleren Harnselenkonzentrationen zwischen 20 $\mu\text{g}/\text{l}$ und 140 $\mu\text{g}/\text{l}$. Referenzwertangaben sind bisher in der Literatur nicht etabliert.

3 Material und Methoden

3.1 Allgemeines

Die Untersuchungen wurden vom 28.08.2008 bis zum 05.02.2010 in 20 Milchviehbetrieben in den neuen Bundesländern durchgeführt. Die Herdengröße der Betriebe umfasste 400 bis 1500 Milchkühe der Rasse Holstein-Friesian. Die Kühe wurden getrennt nach Laktations- bzw. Reproduktionsstatus ganzjährig in Laufställen gehalten. Die Fütterung erfolgte in allen Betrieben durch eine totale Mischration (TMR). Das Probenmaterial bestand aus Blut-, Leber-, Harn-, Haar-, Futter- und Wasserproben. Eine schematische Übersicht zur Probandenauswahl, zum Probenmaterial und zur Probenaufbereitung findet sich in Abb. 5.

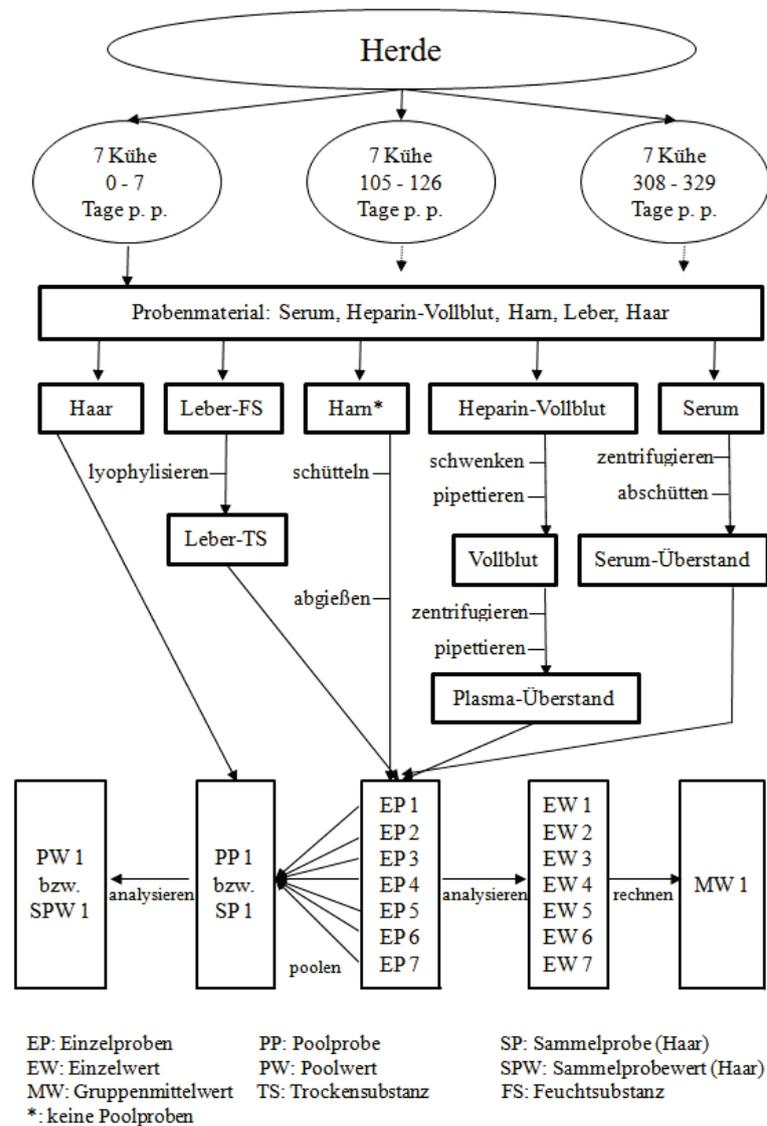


Abb. 5: Übersicht zur Probandenauswahl, zum Probenmaterial und zur Probenaufbereitung.

3.2 Probanden

Das Probandenkollektiv umfasste insgesamt 418 Milchkühe aus 20 Milchviehherden. Auf jedem Betrieb wurden 21 Milchkühe aus drei verschiedenen Laktationsstadien à sieben Tiere ausgewählt (Tab. 26). Es wurden ausschließlich klinisch unauffällige, multipaare Milchkühe in die Untersuchung einbezogen.

Tab. 26: Übersicht zu den Probandengruppen.

Gruppe	Bezeichnung	Abkürzung	Laktationsstadium	Probennummer
1	Frischmelker	FM	0 - 7 Tage p. p.	1 - 7
2	Hochlaktation	HL	105 - 126 Tage p. p.	8 - 14
3	Spätlaktation	SL	308 - 329 Tage p. p.	15 - 21

p. p.: post partum.

3.3 Stichprobenübersicht

In Tab. 27 wird eine Übersicht über den zugrundeliegenden Stichprobenumfang differenziert nach Probenmaterial gegeben. Eine Serumprobe wurde aufgrund von sichtbarer Hämolyse, drei Harnproben wurden wegen Verunreinigungen (Kot) oder zu geringem Probenvolumen aus der Untersuchung ausgeschlossen. Die Anzahl der analysierten Leberproben reduziert sich zum einem durch nicht durchgeführte Probenentnahme, aufgrund fehlender Fixiermöglichkeiten der Milchkühe auf den Betrieben, zum anderen wurden Leberproben mit sichtbarer Blutbeimengung oder zu geringem Probenvolumen in dieser Untersuchung nicht berücksichtigt. Durch den Wegfall der Einzelproben dezimiert sich die Anzahl der gebildeten Poolproben und verwendeten Mittelwerte für die einzelnen Substrate, da nur Pool- und Mittelwerte in diese Untersuchung einbezogen wurden, die einer Stichprobengröße von $n = 7$ entsprechen.

Tab. 27: Stichprobenübersicht.

	Proben	ausgeschlossene Proben/ Analysewerte	resultierende Einzelproben/ Analysewerte	resultierende Poolproben/ Analysewerte	resultierende Mittelwerte
Serum	418	1*	417	57	57
Vollblut/Plasma	418	0	418	58	58
Harn	418	3†	415	-	55
Leber	418	49†	369	-	29
Haar	418	-	-	58	-

*: Hämolyse, †: zu wenig bzw. verunreinigtes Probenmaterial oder nicht durchgeführte Probenentnahme, - nicht untersucht.

Abweichend von den in Tab. 27 aufgeführten Stichprobenumfängen reduziert sich die Anzahl der Analysewerte für einzelne Substratkonzentrationen durch fehlerhafte Analyseergebnisse (Untergrundrauschen).

3.4 Probenentnahme

3.4.1 Blutentnahme

Die Blutentnahme wurde durch Punktion der Arteria oder Vena caudalis mediana mittels einer 1,8 mm weiten Kanüle (Fa. Strauß) vorgenommen. Das Blut wurde zur Serum-, Vollblut- und Plasmagewinnung in folgende Röhrchen aufgefangen:

10 ml Serumröhrchen, (Fa. Sarstedt), kein Antikoagulanzen

10 ml Plasmaröhrchen, (Fa. Sarstedt), Antikoagulanzen: Heparin.

3.4.2 Harnentnahme

Die Harnentnahme erfolgte unter Verwendung eines Uteruskatheters (Modell: Breslau, Fa. Eickmeyer) nach gründlicher Reinigung der Scham mit warmem Wasser. Der Harn wurde in 100 ml-Versandflaschen (Fa. Sarstedt) aufgefangen.

3.4.3 Leberbiopsie

Das Lebergewebe wurde nach der Methode von Gröhn und Lindberg (1982) entnommen. Die Leberbiopsie wurde im Bereich des Leberperkussionsfeldes an der rechten Flanke, hand- bis zweihandbreit ventral der Querfortsätze im vorletzten Intercostalraum vorgenommen. Das Operationsfeld wurde durch Rasur, Reinigung, Desinfektion (Braunol, Fa. Braun) und lokale Anästhesie mittels Vereisung (Askina Skin Freeze, Fa. Braun) vorbereitet. Anschließend wurde ein ca. 1 cm langer Hautschnitt an der vereisten Stelle angelegt. Danach wurde der Trokar mit Hohlzylinder (Leberbiopsienadel „Berliner Modell“, Fa. Eickmeyer) senkrecht zur Körperoberfläche ruckartig ca. 5 cm ins Abdomen eingeführt und die Hohlzylinder nach Entfernung des Trokars in Richtung des gegenüberliegenden Articulatio cubiti zur Perforation der Leber vorgeschoben. Durch mehrmaliges Vor- und Zurückschieben der Hohlzylinder wurde das Lebergewebe gewonnen. Das Lebergewebe wurde in einem 5 ml Kunststoffröhrchen (Fa. Sarstedt) aufgefangen und aufbewahrt. Abschließend wurde der Hautschnitt mit Alu-Spray (Fa. Selectavet) oberflächlich versorgt.

3.4.4 Haarentnahme

Es wurden auf einer ca. 3 × 3 cm großen Fläche an der seitlichen Brustwand der Milchkühe mittels Rasur ausschließlich pigmentierte Haare entnommen und als Sammelprobe für die jeweilige Laktationsgruppe in einer 100 ml-Versandflasche (Fa. Sarstedt) zusammengefasst.

3.4.5 Futterproben

Als Prämisse für die Teilnahme an dieser Untersuchung durften die TMR-Rationen keine organischen Spurenelementverbindungen enthalten. Zur Untersuchung gelangten, soweit existent, Futterrationen aus den in Tab. 28 aufgeführten Haltungsabschnitten. Am Tag der Probenahme wurde ca. 1 kg der frisch vorgelegten TMR aus den jeweiligen Haltungsabschnitten vom Futtertisch entnommen und am selbigen Tag zum Untersuchungslabor geschickt (Kapitel 3.6).

Tab. 28: Übersicht zu den analysierten Futterrationen.

Frischmelker	Hochlaktation	Spätlaktation	Trockensteher	Vorbereiter
0 bis 50 Tage p. p.	50 bis 200 Tage p. p.	200 Tage p. p. bis zum Trockenstellen	Trockenstellen bis 21 Tage a. p.	21 Tage a. p. bis Partus

p. p.: postpartum, a. p.: ante partum.

3.4.6 Wasserproben

Am Tag der Probenahme wurde 1 Liter Wasser aus einer der Tränke zuführenden Leitung in ein steriles Plastikgefäß entnommen und ebenfalls am selbigen Tag zum Untersuchungslabor geschickt (Kapitel 3.6).

3.5 Probenaufbereitung

3.5.1 Blut

Die Serumröhrchen wurden zur Serumgewinnung 15 min mit 3500 U/min zentrifugiert und daraufhin in Poolproben à 1 ml und Einzelproben (verbliebene Restmenge) pipettiert.

Die Heparinröhrchen wurden zur Vollblutgewinnung 15 min geschwenkt und anschließend in Poolproben à 1 ml und in Einzelproben (3 ml) pipettiert.

Nach der Vollblutgewinnung wurden die Heparinröhrchen zur Plasmagewinnung 15 min bei 4000 U/min zentrifugiert und anschließend in Poolproben à 1 ml und in Einzelproben (verbliebene Restmenge) pipettiert.

Die Blutproben wurden bei 4 °C im Kühlschrank aufbewahrt und am Folgetag durch einen Kurier zum Untersuchungslabor befördert (Kapitel 3.6).

3.5.2 Harn

Nach Aufschütteln der Harnproben wurden ca. 4 ml Harn in Kunststoffröhrchen abgegossen, bei 4 °C bis zum Folgetag im Kühlschrank aufbewahrt und an das Untersuchungslabor geschickt (Kapitel 3.6).

3.5.3 Leber

Die gewonnen Leberproben wurden nach Lyophilisierung im Labor der Klinik für Klautiere zur Analyse an das Untersuchungslabor geschickt (Kapitel 3.6).

3.6 Analytik

Die Futter- und Wasserproben wurden in einem akkreditierten Labor für Futtermittel- und Wasseranalytik (LKS - Landwirtschaftliche Kommunikations- und Servicegesellschaft in Lichtenwalde) untersucht.

Die Spurenelementkonzentrationen in den Substraten Serum, Plasma, Vollblut, Harn, Leber und Haar wurden im akkreditierten IDEXX Vet Med Labor in Ludwigsburg mittels optischer Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES) bestimmt. Die Analyse wurde nach den Standardarbeitsanweisungen des Labors durchgeführt.

Die Validierungsdaten der Messungen sind unter Angabe der Emmissionslinien für die untersuchten Spurenelemente und den Variationskoeffizienten (VK) (10-fach-Messung) in Serie (Intra-day-Assay) und 10 Messungen an aufeinanderfolgenden Tagen (Inter-day-Assay) angegeben (Tab. 29). Als Referenzmedium für Flüssigkeiten wurde das Serum und für Feststoffe das Haar verwendet.

Tab. 29: Angaben des Analyselabors zur Messungslinien, Variationskoeffizienten (VK) des Intra-day- und Inter-day-Assays (10-fach Messung) von Feststoffen (Haar) und Flüssigkeiten (Serum) für die Spurenelemente Cu, Mo, Fe, Zn, Mn und Se mittels ICP-OES-Analyse.

		Einheit	Cu	Mo	Fe	Zn	Mn	Se
	Emmissionslinie	nm	324,754	202,032	238,204	202,548	257,610	196,026
Serum (n = 10)	Intra-day-VK	%	2,7	4,5	10,4	1,5	10,0	8,7
	Inter-day-VK		3,2	18,9	4,5	3,2	3,7	10,1
Haar (n = 10)	Intra-day-VK		6,7	2,6	3,9	3,1	2,3	13,9
	Inter-day-VK		3,1	17,1	3,8	4,2	6,0	7,8

3.7 Statistik

Zur Erfassung und Auswertung der Daten und Darstellung der Ergebnisse wurden die Computerprogramme MS Excel (Microsoft Office Excel 2007, USA), SPSS 18.0 (SPSS Inc., USA), BiAS 8.2 (Epsilon-Verlag, Deutschland) und MS Word (Microsoft Office Word 2007, USA) verwendet.

Das Signifikanzniveau (α) wurde mit 5 % festgelegt ($p = 0,05$). Dieses bedeutet, dass bei einem $p < 0,05$ die Nullhypothese verworfen wurde.

3.7.1 Normalverteilung

Mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test mit Signifikanzkorrektur nach Lilliefors wurde das Vorliegen auf Normalverteilung der einzelnen Parameter geprüft. Diesbezüglich wurde der p-Wert des Tests tabellarisch angegeben. Zusätzlich wurden die Häufigkeitsverteilungen für alle Einzelwerte und die Haarsammelprobenwerte durch entsprechende Histogramme graphisch dargestellt.

3.7.2 Deskriptive Statistik

Für die Einzel-, Mittel-, Pool- und Sammelprobenwerte der Spurenelementkonzentrationen wurden unabhängig davon, ob es sich um normalverteilte oder nicht normalverteilte Parameter handelte, der Median (\tilde{x}), das erste Quartil ($Q_{0,25}$), das dritte Quartil ($Q_{0,75}$), der arithmetische Mittelwert (\bar{x}), die Standardabweichung (s), Minimum- und Maximum-Wert (x_{\min} , x_{\max}) sowie Schiefe und Kurtosis der Verteilungsfunktion berechnet und tabellarisch aufgeführt.

3.7.3 Korrelationsanalyse

Als Maß der Stärke der Beziehung zweier Variablen wurde der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman (r) bestimmt, welcher die Ausprägung -1 bis 1 annehmen kann. Hierbei bedeutet ein $r < 0$ einen gegenläufigen, ein $r = 0$ keinen und ein $r > 0$ einen positiven Zusammenhang zwischen zwei Variablen.

Zur Beurteilung der Korrelationen wurde die Abstufungen von Bühl und Zöfel (2000) herangezogen (Tab. 30).

Tab. 30: Beurteilungsschema der Korrelationen nach Bühl und Zöfel (2000).

Korrelation (r)	Grad der Stärke des Zusammenhangs
$r \leq 0,2$	sehr gering
$r > 0,2$ bis $r \leq 0,5$	gering
$r > 0,5$ bis $r \leq 0,7$	mittel
$r > 0,7$ bis $r \leq 0,9$	hoch
$r > 0,9$	sehr hoch

Es wurden die Korrelationen zwischen folgenden Parametern bestimmt:

Serum-, Plasma-, Vollblut-, Harn- und Lebereinzelnwerte,
 Serum-, Plasma-, Vollblut-, Harn- und Lebergruppenmittelwerte, Haar- und
 Rationssammelprobenwerte.

Signifikante Korrelationen ($p < 0,05$) wurde mit einem „*“ und sehr signifikante Korrelationen ($p < 0,01$) mit „**“ gekennzeichnet.

3.7.4 Bland-Altman-Methodenvergleich

Der Bland-Altman-Methodenvergleich (Bland und Altman 1986) ist ein einfaches graphisches Verfahren zum Vergleich einer Referenzmessmethode mit einer Alternativmethode, wobei er die Verzerrung und Streuung der Daten berücksichtigt. Mit Hilfe dieses Verfahrens können die systematischen Abweichungen, Ausreißer sowie die Abhängigkeit der Varianz von der Größe der Messwerte beurteilt werden (Grouven et al. 2007).

Hierbei werden die einzelnen Differenzen beider Messmethoden (Ordinate) gegen ihre arithmetischen Mittelwerte (Abszisse) als Punkte in ein Koordinatensystem aufgetragen.

Zur optischen Beurteilung finden sich vier horizontale Linien:

Die fette Linie steht für die mittlere Differenz (mean oder bias) beider Messverfahren und gibt Aufschluss über die systematische Abweichung.

Die gestrichelte Linie ist der Nullwert der Differenzen und steht für völlige Übereinstimmung beider Messverfahren.

Die obere und untere horizontale Linie geben die Übereinstimmungsgrenzen wieder. Sie errechnen sich aus der mittleren Differenz $\pm (1-\alpha/2)$ -Quantil der t-Verteilung mit $n-1$ Freiheitsgraden mal der Standardabweichung der Differenzen. Die statistische Sicherheit $(1-\alpha)$ ist mit 0,95 festgelegt. Erwartungsgemäß liegen bei annähernder Normalverteilung der Differenzen 95 % aller Messwerte innerhalb dieser Linien (Bland und Altman 1999).

Eine klinische Beurteilung der Werte ermöglicht nun die Einschätzung der Übereinstimmungsgüte zwischen den beiden Messmethoden (Grouven et al. 2007).

Des Weiteren ist die Regressionsgerade „Differenz auf Durchschnitt“ als gestrichelte und gepunktete Linie angegeben, welche die Abhängigkeit der mittleren Differenzen vom Wertebereich beschreibt. Die Ergebnisse des Bland-Altman-Methodenvergleichs wurden tabellarisch unter Angabe der mittleren Differenz (\bar{x}_{Dm}) zwischen den Messgrößen, des 95%-Konfidenzintervalls (KI) für die mittlere Differenz, der Standardabweichung der mittleren Differenz (s_{Dm}) und der Übereinstimmungsgrenzen dargestellt. Die Daten wurden durch die Ergebnisse der Regressionsanalyse unter Angabe des Regressionskoeffizienten (b), des Korrelationskoeffizienten (r) und der Signifikanz der Regression ergänzt.

Um den Einfluss von Extremwerten auf die Übereinstimmungsgüte der Methodenvergleiche zu überprüfen, wurden die mittleren Differenzen und die Übereinstimmungsgrenzen der Methodenvergleiche nach Ausschluss der Extremwerte berechnet und aufgeführt. Die Extremwerte wurden durch ein Stamm-Blatt-Diagramm ermittelt. Für folgende Parameter wurde der Bland-Altman-Methodenvergleich durchgeführt:

Plasma- und Serumeinzelwerte (Cu, Mo, Fe, Zn, Mn, Se),

Plasmagruppenmittel- und Plasmapoolwerte (Cu, Mo, Fe, Zn, Mn, Se),

Vollblutgruppenmittel- und Vollblutpoolwerte (Mn, Se).

3.7.5 Vergleich der Laktationsabschnitte

Zur Prüfung des Einflusses des Laktationsstadiums auf die Spurenelementkonzentrationen in den Substraten Serum, Plasma, Vollblut, Harn, Leber (Einzelwerte) und Haar (Sammelprobenwerte) wurde der nicht parametrische Kruskal-Wallis-H-Test angewendet.

Bei Ablehnung der Nullhypothese des Kruskal-Wallis-H-Tests wurde der Mann-Whitney-U-Test zwischen den drei Laktationsabschnitten durchgeführt angewendet. Die Ergebnisse wurden tabellarisch für die aufgeführten Substrate unter Angabe des Medians dargestellt. Signifikante Gruppenunterschiede wurden durch Kleinbuchstaben (a, b und c) gekennzeichnet.

Der Einfluss des Laktationsstadiums auf die Spurenelementkonzentrationen in den Substraten Serum, Plasma, Vollblut, Harn, Leber und Haar wurde zusätzlich durch Box-

Whisker-Diagramme dargestellt. Die Box wird vom ersten und dritten Quartil begrenzt und umfasst 50 % der Werte. Die waagerechte Linie repräsentiert den Median. Die von der Box ausgehenden Linien erstrecken sich vom größten zum kleinsten Wert, sofern es sich nicht um Ausreißer handelt. Als Ausreißer („o“) werden Fälle definiert, deren Werte 1,5 bis 3 Boxenlängen vom oberen oder unteren Boxenrand entfernt sind. Extremwerte („*“) sind mehr als 3 Boxenlängen vom oberen oder unteren Boxenrand entfernt.

3.7.6 Referenzbereiche

Für die untersuchten Spurenelementsubstratkonzentrationen wurden zweiseitige Referenzbereiche für die Einzel-, Mittel-, Pool- und Sammelprobenwerte ermittelt. Da sich während der Prüfung auf Normalverteilung zeigte, dass viele der Parameter nicht normalverteilt sind, wurde zur einheitlichen Darstellung ausschließlich das nicht parametrische Perzentilverfahren zur Ermittlung der Referenzbereiche angewendet. Üblicherweise wird das 2,5.- bis 97,5.-Perzentilintervall herangezogen. Hierzu werden die Daten ranggeordnet, jeweils 2,5 % der größten und kleinsten Messwerte ausgegrenzt und die verbleibenden Daten als Referenzbereich angegeben. Sofern sich signifikante Unterschiede zwischen den Laktationsabschnitten in den Substratkonzentrationen darstellten, wurden differenzierte Referenzbereiche für die sich unterscheidenden Laktationsabschnitte ausgewiesen.

Das nicht parametrische Verfahren ist natürlicherweise auf eine Mindestanzahl an Fällen begrenzt (Solberg 1987), so dass für die Substratkonzentrationen, die eine Stichprobengröße von $n \leq 40$ aufwiesen keine Referenzbereiche ermittelt wurden.

4 Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der Futterrations- und Wasseranalysen

In Tab. 31 sind die wichtigsten statistischen Kennzahlen der analysierten Futterrationsparameter aufgeführt. Darüber hinaus ist in Tab. 32 die mittlere Versorgung der Milchviehbetriebe mit den in der Betrachtung stehenden Spurenelementen sowie Kalzium und Schwefel dargestellt. Tab. 33 führt die für die Kupferhomöostase bedeutsamen mittleren Mineralgehaltsverhältnisse der Rationen differenziert nach Milchviehbetrieben auf. Die Ergebnisse der Tränkewasseranalysen finden sich in Tab. 34.

Tab. 31: Ergebnisse der Futterrationsanalysen der Milchviehbetriebe.

Parameter	Einheit	\bar{x}	s	x_{\min}	x_{\max}	n
Trockensubstanz	g/kg TS	420	53	272	565	89
Rohasche	g/kg TS	80	15	60	164	89
Netto-Energie-Laktation	MJ/kg	6,5	0,56	4,2	7,2	89
Umsetzbare Energie	MJ/kg	10,8	0,78	7,5	11,7	89
Rohfaser	g/kg TS	202	33	152	305	89
Zucker	g/kg TS	33	19	0	80	89
Stärke	g/kg TS	176	58	0	270	89
Rohprotein	g/kg TS	148	17	104	184	89
Nutzbares Protein	g/kg TS	145	10	115	161	84
Ruminale N-Bilanz	g N/kg	1	1,5	-3	4	84
Proteinlöslichkeit	%	47	8	33	75	84
Rohfett	g/kg TS	36	7,5	21	56	89
Ca	g/kg TS	7,5	2,2	3,3	13,1	89
P	g/kg TS	4,2	0,6	2,9	6,1	89
Mg	g/kg TS	3,0	0,8	1,7	6	89
K	g/kg TS	16,4	3,2	9,9	31,8	89
Na	g/kg TS	2,5	1,1	0,5	5,4	89
Cl	g/kg TS	5,9	2,6	2,2	16,2	84
S	g/kg TS	2,6	0,8	0,7	5,6	84
DCAB	meq/kg	205	96	-11	573	84
Cu	mg/kg TS	20,5	8,5	8,3	44,2	89
Mo	mg/kg TS	0,69	0,42	0,11	1,77	84
Fe	mg/kg TS	423	187,3	184	1148	84
Zn	mg/kg TS	126	57,8	43	315	89
Mn	mg/kg TS	108	44,0	42	256	89
Se	mg/kg TS	0,55	0,31	0,10	1,43	79
Co	mg/kg TS	0,80	0,95	0,15	7,06	84

Tab. 32: Ausgewählte mittlere Rationsmineralgehalte der Milchviehbetriebe.

Betrieb		Cu	Mo	Fe	Zn	Mn	Se	Ca	S
		mg/kg TS						g/kg TS	
1	\bar{x}	16,8	0,90	431	148	122	0,84	10,1	2,4
	s	7,1	0,0	52	78	55	0,55	2,2	0,1
2	\bar{x}	14,7	1,52	252	118	82	n.v.	9,4	1,5
	s	2,1	0,15	97	74	24		1,8	1,2
3	\bar{x}	19,5	0,78	470	158	115	0,77	6,9	2,7
	s	7,3	0,10	91	70	36	0,35	2,7	1,0
4	\bar{x}	24,9	0,52	376	133	97	0,65	7,1	2,8
	s	1,9	0,29	41	9	7	0,10	2,5	1,4
5	\bar{x}	12,3	1,23	288	83	66	0,28	6,9	2,3
	s	2,3	0,11	43	27	14	0,11	0,9	0,2
6	\bar{x}	18,2	0,50	509	136	108	0,52	6,1	2,6
	s	1,9	0,08	78	24	18	0,09	0,4	0,3
7	\bar{x}	14,5	0,56	357	88	67	0,37	7,9	2,2
	s	1,8	0,15	62	22	12	0,12	1,3	0,2
8	\bar{x}	20,7	0,94	443	114	105	0,46	10,1	3,8
	s	5,1	0,57	159	21	30	0,20	1,6	0,7
9	\bar{x}	31,5	0,34	408	178	154	0,78	6,8	2,6
	s	8,2	0,09	71	63	29	0,25	2,2	0,4
10	\bar{x}	9,7	0,66	320	48	81	0,13	4,4	2,0
	s	1,3	0,13	63	4	16	0,02	0,3	0,3
11	\bar{x}	19,1	0,37	706	125	127	0,33	6,9	2,7
	s	4,9	0,16	340	38	39	0,13	0,7	0,1
12	\bar{x}	28,2	0,48	337	153	113	0,65	8,6	2,7
	s	14,3	0,30	210	81	44	0,34	2,4	0,8
13	\bar{x}	27,7	0,67	485	189	190	0,91	7,0	2,4
	s	5,9	0,27	285	49	19	0,21	2,2	0,3
14	\bar{x}	20,1	0,47	340	111	78	0,49	9,1	2,3
	s	3,4	0,11	65	38	19	0,38	3,3	0,5
15	\bar{x}	16,9	n. v.	n. v.	98	81	n. v.	7,0	n. v.
	s	5,6			49	40		2,7	
16	\bar{x}	20,8	1,23	462	112	99	0,43	7,4	3,3
	s	0,9	0,19	84	14	13	0,04	3,0	1,6
17	\bar{x}	27,3	1,08	674	137	173	0,66	6,7	2,7
	s	13,2	0,40	303	68	79	0,45	0,9	0,4
18	\bar{x}	18,0	0,35	409	95	98	0,51	7,7	3,6
	s	2,9	0,14	204	13	7	0,05	2,2	1,1
19	\bar{x}	31,9	0,17	304	206	126	0,73	8,0	2,9
	s	7,4	0,04	12	76	34	0,19	1,2	0,2
20	\bar{x}	13,6	0,14	512	102	95	0,39	7,2	2,9
	s	1,3	0,02	87	16	10	0,29	1,8	0,2
gesamt	n	89	84	84	89	89	79	89	84

n. v.: Daten nicht verfügbar.

Tab. 33: Ausgewählte Verhältnisse mittlerer Rationsmineralgehalte der Milchviehbetriebe.

Parameter	\bar{x}	\bar{x}	s	x_{\min}	x_{\max}	n
Mo/Cu	0,03/1	0,02/1	0,02/1	0,1/1	0,004/1	19
Fe/Cu	23/1	23/1	8/1	10/1	38/1	19
S/Cu	145/1	144/1	41/1	88/1	215/1	19
S/Mo	5117/1	6740/1	5547/1	927/1	21476/1	19

Tab. 34: Ergebnisse der Tränkwasseranalysen der Milchviehbetriebe.

Betrieb	Ca	Mg	K	Fe	Mn	SO ₄ ²⁻	Zn	NO ₃	pH	Härte
	mg/l									°dH
1	0,3	97	0	0,01	0,56	1	0,1	4	7,17	26
2	2	21	56	0,13	0,19	n. v.	0,2	16,3	n. v.	n. v.
3	31	9	3	0,07	0,05	59	1,9	49,3	6,66	8
4	379	68	10	0,02	0,02	898	0,24	40,3	7,28	80
5	82	13	4	0,14	0,35	207	0,09	1,9	6,19	17
6	79	4	7	0,05	0,02	60	0,23	1,3	7,57	14
7	149	24	4	7,80	0,5	308	0,04	1,6	6,54	31
8	69	15	3	0,05	0,1	9	0,53	1,2	7,62	15
9	53	7	4	1,00	1,3	58	0,2	1,1	6,65	10
10	101	21	7	3,90	0,1	1	0,03	2,7	7,06	22
11	38	5	1	0,03	0,02	28	0,01	3	8,04	7
12	119	11	8	0,05	0,02	80	n. v.	2,4	7,63	22
13	44	5	7	0,04	0	17	0,02	2,4	7,92	9
14	137	19	6	0,05	0,02	110	0,02	3,7	6,87	27
15	85	10	3	3,08	0,14	23	0,04	2,6	7,10	17
16	79	9	4	0,70	0,1	24	n. v.	3,8	7,70	15
17	138	13	3	0,05	0,02	89	0,02	3,2	6,94	26
18	184	18	51	3,37	0,34	332	0,02	3,2	7,48	35
19	146	19	40	0,12	0,02	192	0,03	15	7,03	29
20	92	11	26	0,05	0,02	46	0,08	2,1	7,23	18
Grenzwert *	500		500	3	4	500	5	300	5 - 9	

*: Kamphues et al. (2007), n. v.: Daten nicht verfügbar.

4.2 Ergebnisse Kupfer

4.2.1 Deskriptive Statistik und Test auf Normalverteilung der Kupferkonzentrationen in den Substraten

Die statistischen Kennzahlen der Kupferkonzentrationen in den untersuchten Probenmedien finden sich für die Einzel- (EW), Gruppenmittel- (MW) und Poolwerte (PW) in Tab. 35. Die Histogramme der Serum-, Plasma-, Vollblut-, Harn-, Leber- (EW) und Haarkupferkonzentration (Sammelprobenwerte (SPW)) sind in Abb. 6 bis Abb. 11 aufgeführt. Der Kolmogorov-Smirnov-Test (KS-Test) weist die Kupferkonzentration in den Einzelproben (EP) als nicht normalverteilt aus ($p < 0,05$). Die MW und PW sind mit Ausnahme der Harn- und Haarkonzentrationen normalverteilt ($p > 0,05$).

Tab. 35: Statistische Kennzahlen und Test auf Normalverteilung der Kupferkonzentrationen in den Substraten (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).

Substrat		n	\bar{x}	Q _{0,25}	Q _{0,75}	\bar{x}	s	x _{min}	x _{max}	p	Schiefe	Kurtosis
Serum	-EW	417	733	611	848	742	170	381	1330	0,023	0,439	0,068
	-MW	57	760	671	808	739	109,8	520	960	0,2	-0,004	-0,551
	-PW	57	756	664	819	736	122,8	487	970	0,2	-0,238	-0,606
Plasma	-EW	418	882	767	1010	906	177,8	520	1580	0,001	0,796	0,752
	-MW	58	900	824	972	903	115,2	696	1214	0,2	0,492	0,124
	-PW	58	906	779	1003	903	136,6	688	1290	0,2	0,319	-0,427
Vollblut	-EW	418	799	694	900	797	155,1	410	1330	0,02	0,193	0,167
	-MW	58	793	737	879	795	99,4	540	990	0,2	-0,261	-0,118
	-PW	58	772	692	869	778	115,9	548	1080	0,2	0,033	-0,169
Harn	-EW	415	61	39	101	107	185,9	10	2490	0	8,092	86,44
	-MW	55	76	56	140	109	95	19	474	0	2,416	6,354
mg/kg TS												
Leber	-EW	369	422	323	559	451	194,1	55	1315	0,001	0,905	1,9
	-MW	29	464	356	505	441	138,1	153	840	0,20	0,423	1,556
Haar	-SPW	58	9,3	8,6	11	11,2	6,39	6,9	47,4	0	4,042	19,33

p: Signifikanzwert des KS-Tests.

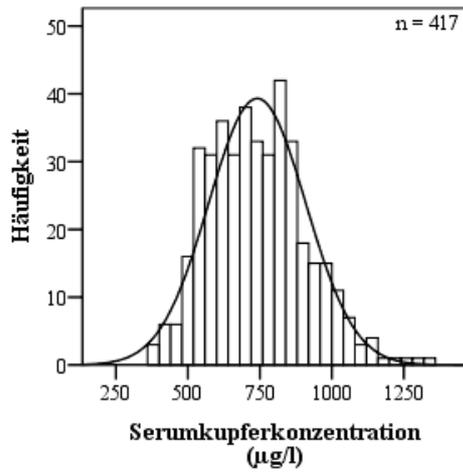


Abb. 6: Häufigkeitsverteilung
Serumkupferkonzentration (EW).

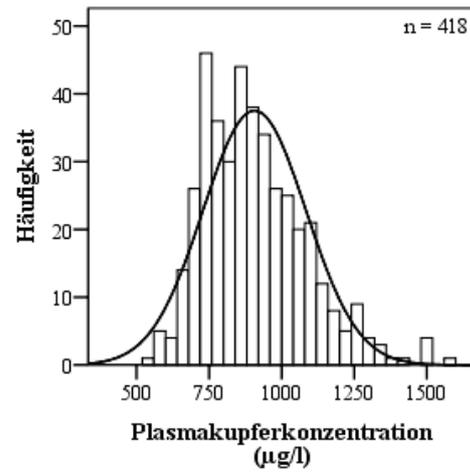


Abb. 7: Häufigkeitsverteilung
Plasmakupferkonzentration (EW).

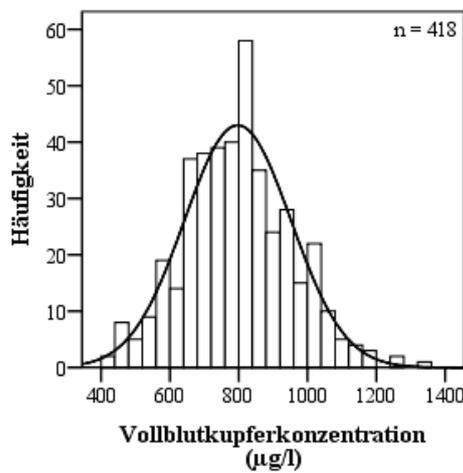


Abb. 8: Häufigkeitsverteilung
Vollblutkupferkonzentration (EW).

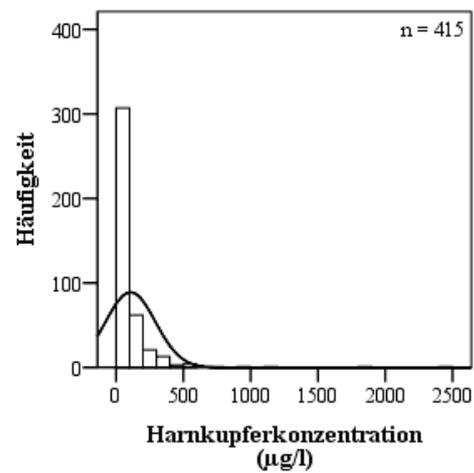


Abb. 9: Häufigkeitsverteilung
Harnkupferkonzentration (EW).

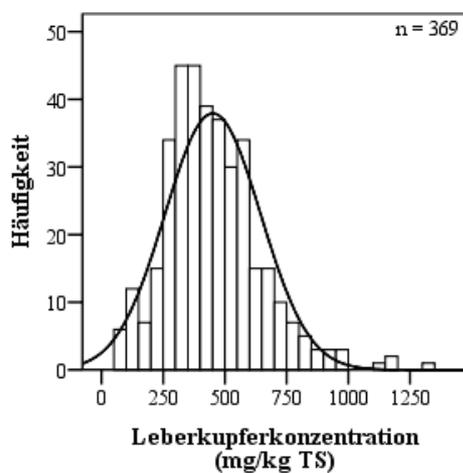


Abb. 10: Häufigkeitsverteilung
Leberkupferkonzentration (EW).

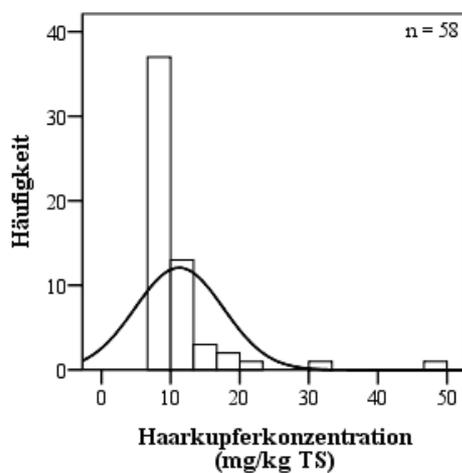


Abb. 11: Häufigkeitsverteilung
Haarkupferkonzentration (SPW).

4.2.2 Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serumkupferkonzentrationen (Einzelwerte)

In Tab. 36 und Abb. 12 sind die Ergebnisse des Bland-Altman-Methodenvergleichs für die Einzelwerte der gepaarten Plasmakupfer- (Pl-Cu-EW) und Serumkupferkonzentrationen (S-Cu-EW) dargestellt. Die mittlere Differenz ($\bar{x}_{Dm} = 166 \mu\text{g/l}$) der beiden Parameter ist statistisch signifikant ($p < 0,05$). Die absoluten Übereinstimmungsgrenzen liegen bei $-54 \mu\text{g/l}$ und $385 \mu\text{g/l}$. Die Differenzen sind zufällig über den Wertebereich verteilt ($p > 0,05$). Der Ausschluss der drei Extremwerte in der Verteilung der Differenzen führt nur zu einer geringen Einengung des Übereinstimmungsintervalls ($-45 \mu\text{g/l}$ und $373 \mu\text{g/l}$). Die mittlere Differenz liegt hiernach bei $164 \mu\text{g/l}$.

Tab. 36: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serumkupferkonzentrationen (Einzelwerte).

	n	\bar{x}	\bar{x}_{Dm} [KI \bar{x}_{Dm}]	p	s_{Dm}	Übereinstimmungsgrenzen		Regression	
						untere	obere	b	r
Einheit		$\mu\text{g/l}$			$\mu\text{g/l}$				
Pl-Cu-EW	417	907	166	0,00	111,8	-54	386	0,05	0,07
S-Cu-EW		742	[155 - 177]					$p > 0,05$	

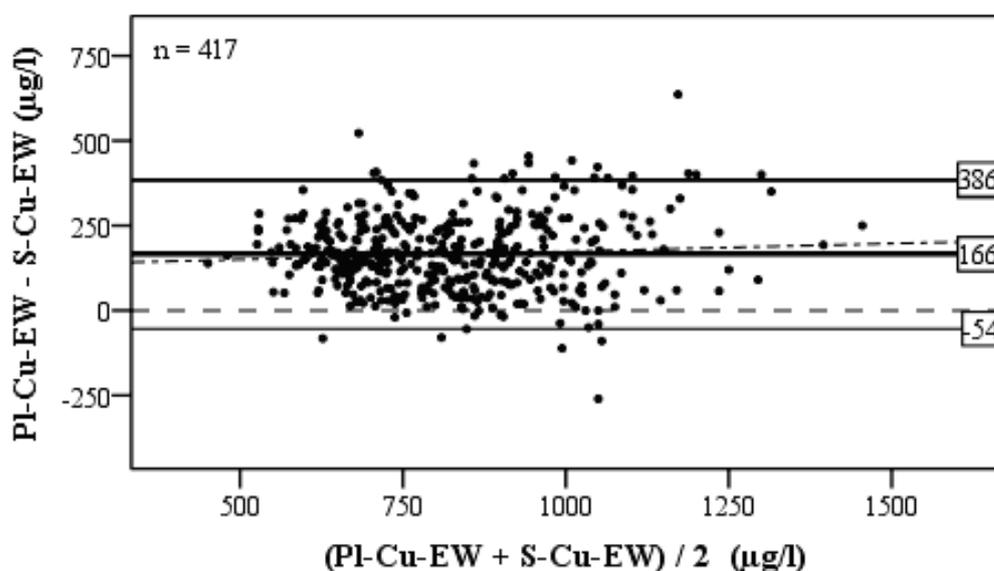


Abb. 12: Bland-Altman-Diagramm der Plasma- und Serumkupferkonzentrationen (EW).

4.2.3 Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmakupferkonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten

Die mittlere Plasmakupferkonzentration der Gruppenmittelwerte (PI-Cu-MW) und die mittlere Konzentration der gepaarten Poolwerte (PI-Cu-PW) unterscheidet sich nicht signifikant ($p > 0,05$). Die Poolwerte sind im Mittel 0,3 $\mu\text{g/l}$ geringer als die entsprechenden Gruppenmittelwerte. Die Übereinstimmungsgrenzen liegen bei -215 $\mu\text{g/l}$ und 216 $\mu\text{g/l}$ (Tab. 37, Abb. 13.). Eine Abhängigkeit der Differenzen vom Wertebereich besteht nicht ($p > 0,05$).

Tab. 37: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmakupferkonzentrationen von Gruppenmittel- und Poolwerten.

	n	\bar{x}	\bar{x}_{Dm} [KI \bar{x}_{Dm}]	p	s_{Dm}	Übereinstimmungsgrenzen		Regression	
						untere	obere	b	r
Einheit		$\mu\text{g/l}$				$\mu\text{g/l}$			
PI-Cu-MW	58	903	0,3	0,98	106,7	-215	216	-0,21	-0,22
PI-Cu-PW		903	-28 - 28						$p > 0,05$

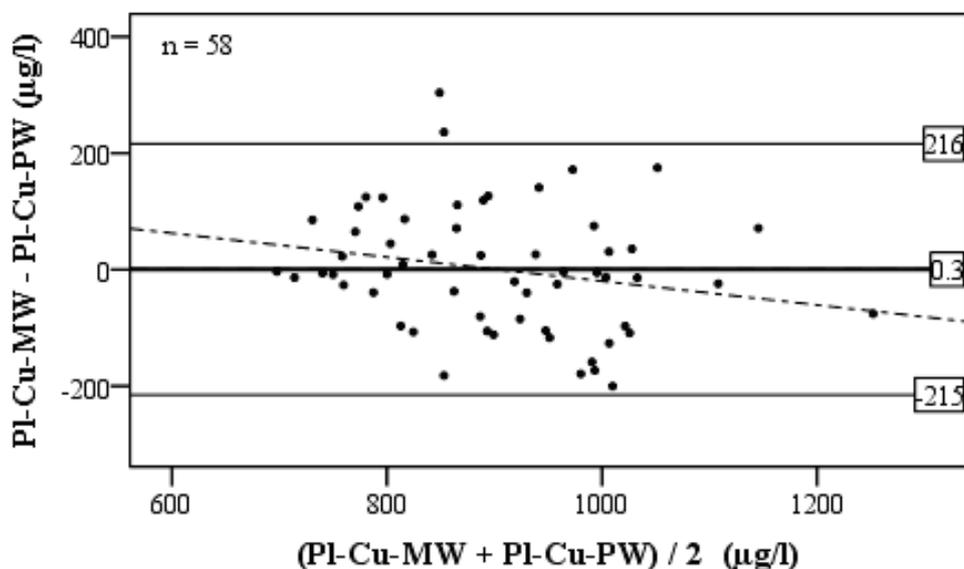


Abb. 13: Bland-Altman-Diagramm der Plasmakupferkonzentrationen (MW-PW).

4.2.4 Korrelationsanalyse der Kupferkonzentrationen in den Substraten

Tab. 38 führt die ermittelten Korrelationen zwischen den Kupferkonzentrationen der untersuchten Probenmaterialien für die EW bzw. die MW und SPW auf.

Zwischen den Serum-, Plasma- und Vollblutkonzentrationen sind überwiegend mittlere bis hohe Korrelationen ($r = 0,48$ bis $r = 0,81$) festzustellen.

Ansonsten sind zwischen den Probenmedienkonzentrationen nur sehr geringe ($r \leq 0,2$) bis geringe ($r > 0,2$ bis $r \leq 0,5$) Abhängigkeiten zu beobachten. Das Verhältnis zwischen Leber- und Plasmakupferkonzentration (EW) wird exemplarisch in Abb. 14 dargestellt.

Tab. 38: Korrelationsmatrix der Kupferkonzentrationen in den Substraten.

	Parameter	Serum	Plasma	Vollblut	Harn	Leber	Haar	Ration
Serum	r		0,70**	0,48**	0,13	-0,16	0,02	-0,13
	n		57	57	54	28	57	55
Plasma	r	0,81**		0,64**	0,25	-0,29	-0,20	-0,11
	n	417		58	55	29	58	56
Vollblut	r	0,68**	0,73**		0,29*	-0,22	-0,31*	-0,05
	n	417	418		55	29	58	56
Harn	r	0,02	0,08	0,08		0,11	0,25	0,20
	n	414	415	415		29	55	53
Leber	r	-0,10	-0,14**	-0,04	0,00		0,26	0,24
	n	368	369	369	367		28	27
Haar	r		-	-	-	-		0,08
	n							58

EW: normal, MW und SPW: **fett**,

** : $p < 0,01$, * : $p < 0,05$.

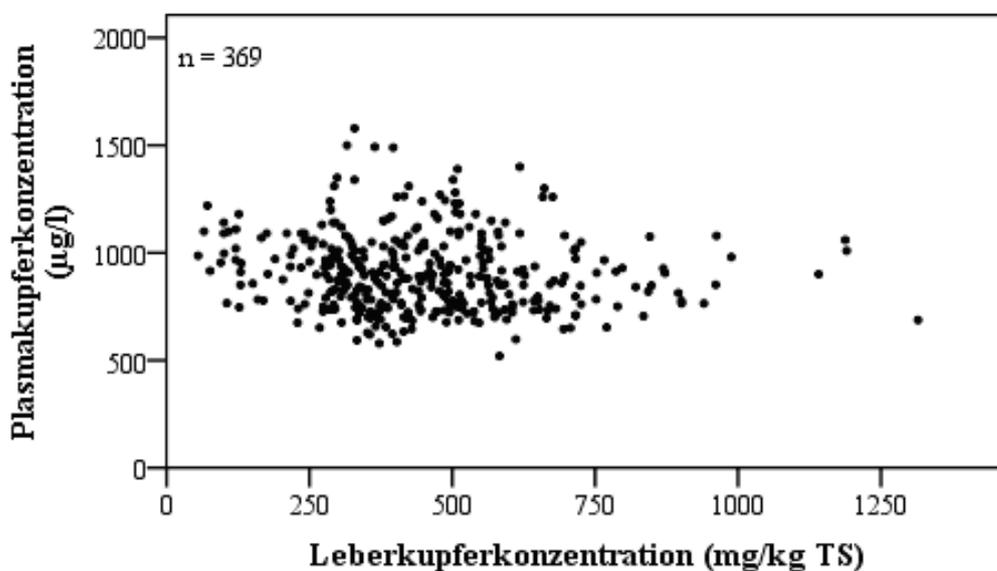


Abb. 14: Verhältnis zwischen Plasma- und Leberkupferkonzentration (EW).

4.2.5 Laktationsverlauf der Substratkupferkonzentrationen

Für alle Substrate mit Ausnahme von Haar und Ration ist in ihrer zentralen Tendenz (Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$) ein signifikanter Unterschied zwischen den Laktationsabschnitten nachzuweisen, der sich beim Vergleich der einzelnen Laktationsabschnitte (Mann-Whitney-U-Test, $p < 0,05$) zwischen Frischmelker (FM)- und Spätlaktations (SL)-Kühen als durchgehend darstellt (Tab. 39). Während der Medianwert von Serum-, Plasma-, Vollblut- und Harnkupferkonzentration im Laktationsverlauf abnimmt, verhält sich der Median der Leberkupferkonzentration dazu gegenläufig. Die laktationsabschnittsdifferenzierte Verteilung der Kupfersubstratkonzentrationen wird in Abb. 15 bis Abb. 20 veranschaulicht.

Tab. 39: Median der Substratkupferkonzentrationen differenziert nach Laktationsstadien.

Substrat	Serum	Plasma	Vollblut	Harn	Leber	Haar	Ration
	Einzelwerte					Sammelprobenwerte	
Einheit	$\mu\text{g/l}$				mg/kg TS		
FM	795 ^a	973 ^a	813 ^a	715 ^a	320 ^a	8,7	16,2
HL	753 ^a	868 ^b	810 ^a	660 ^{a, b}	478 ^b	9,4	16,3
SL	652 ^b	807 ^c	746 ^b	540 ^b	485 ^b	9,7	17,8
n	417	418	418	415	369	58	57

unterschiedliche Buchstaben (a-c) kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Laktationsgruppen in den Spalten (Mann-Whitney-U-Test, $p < 0,05$).

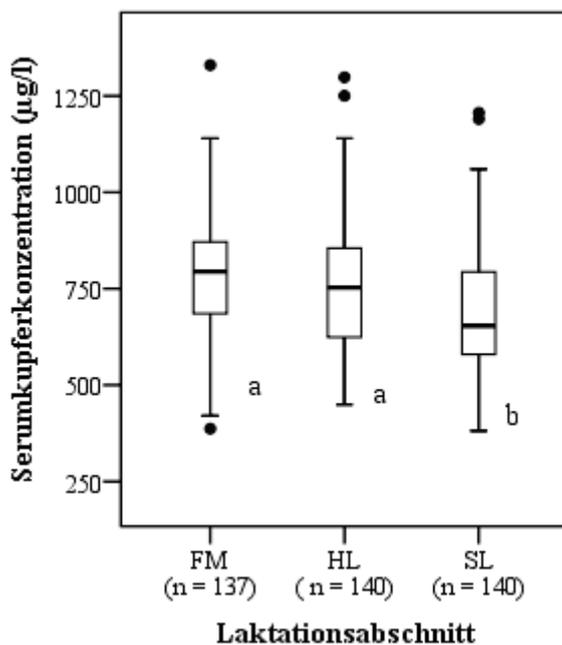


Abb. 15: Serumkupferkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

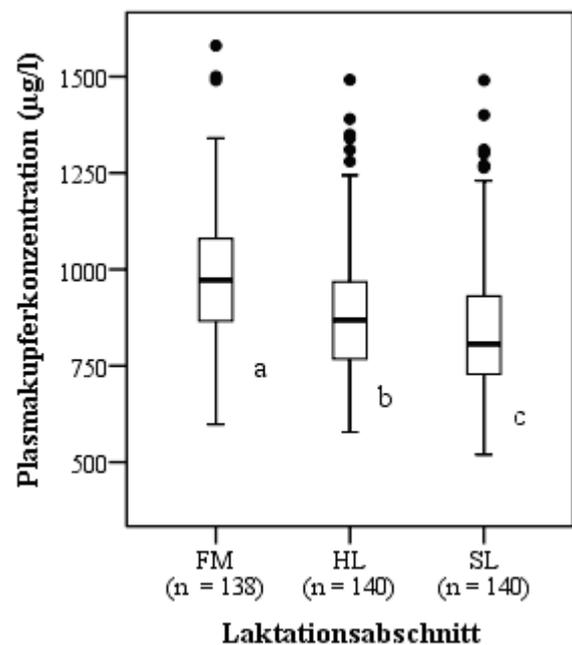


Abb. 16: Plasmakupferkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

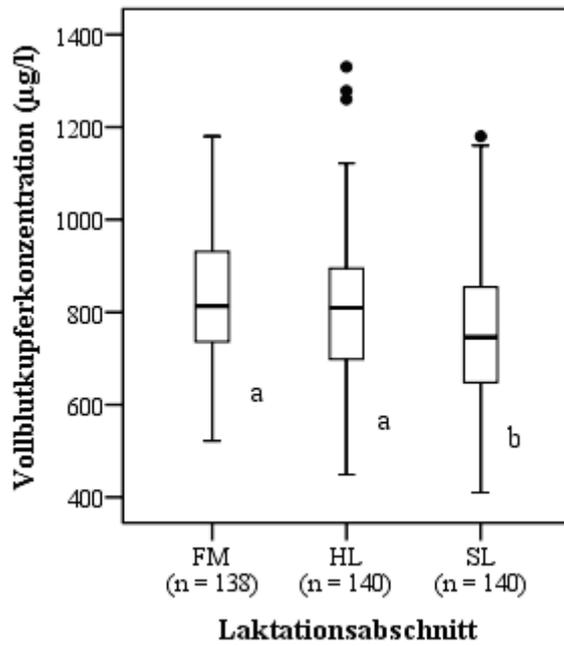


Abb. 17: Vollblutkupferkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

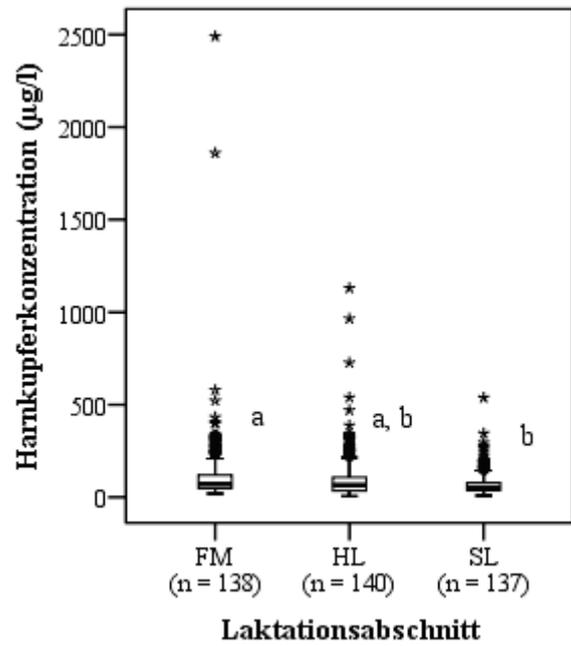


Abb. 18: Harnkupferkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

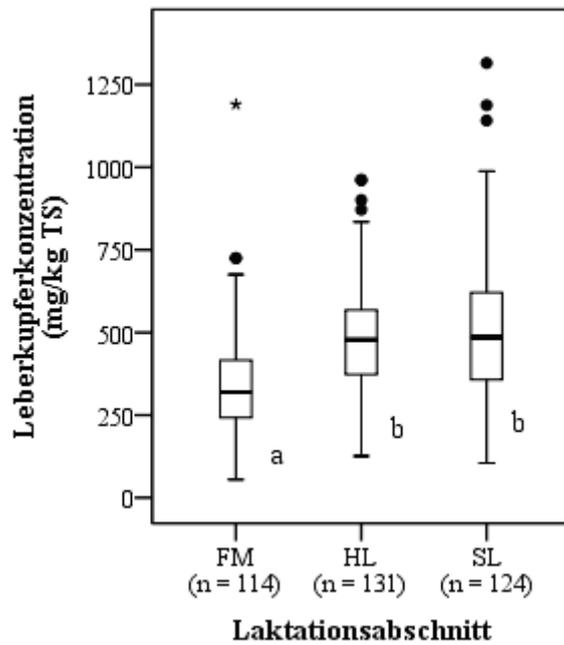


Abb. 19: Leberkupferkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

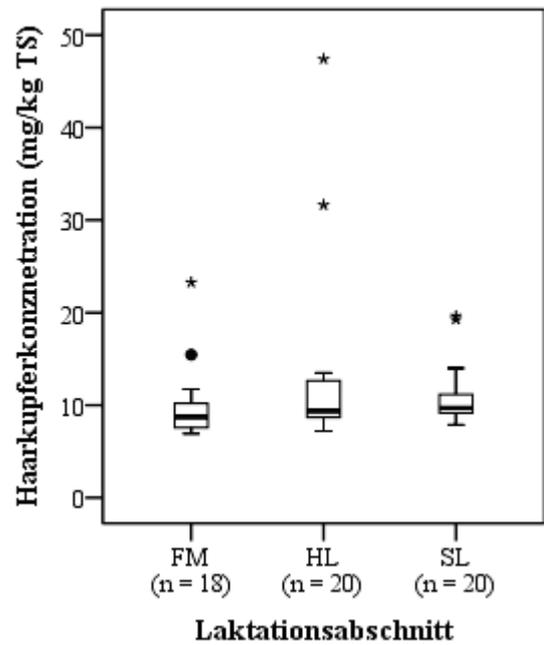


Abb. 20: Haarkupferkonzentration im Laktationsverlauf (SPW).

4.2.6 Referenzbereichsermittlung für die Substratkupferkonzentrationen

Die aus den EW, MW, PW und SPW der Substratkupferkonzentrationen ermittelten Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) sind in Tab. 40 dargestellt.

Da zwischen den Laktationsabschnitten signifikante Konzentrationsunterschiede in den Substraten feststellbar sind (Tab. 39), werden diesbezüglich in Tab. 41 differenzierte Referenzbereiche für die EW ausgewiesen.

Tab. 40: Ermittelte Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) für die Kupferkonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Vollblut, Harn, Leber und Haar (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).

Substrat	Einheit	n	Einzelwerte	n	Mittelwerte	n	Poolwerte
Serum	µg/l	417	454 - 1100	57	533 - 948	57	487 - 959
Plasma		418	639 - 1326	58	701 - 1198	58	692 - 1209
Vollblut		418	484 - 1116	58	560 - 992	58	550 - 1047
Harn		415	17 - 455	55	21 - 462		-
Leber	mg/kg TS	369	106 - 901	29	-		-
Haar						58	6,9 - 39,9*

-: nicht berechnet (n < 40), *: SPW.

Tab. 41: Ermittelte Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) für die Kupferkonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Harn, Vollblut und Lebern differenziert nach Laktationsgruppen (Einzelwerte).

Substrat	Einheit	Einzelwerte		
		Frischmelker	Hochlaktation	Spätlaktation
Serum	µg/l	488 - 1131		409 - 1055
Plasma		673 - 1419	650 - 1345	608 - 1305
Vollblut		536 - 1100		455 - 1130
Harn		22 - 540	15 - 392	
Leber	mg/kg TS	70 - 725	219 - 953	

n ist aus Abb. 15 bis Abb. 19 zu entnehmen.

4.3 Ergebnisse Molybdän

4.3.1 Deskriptive Statistik und Test auf Normalverteilung der Molybdänkonzentrationen in den Substraten

Die wichtigsten Lage- und Streuungsmaße für die Molybdänkonzentrationen in den untersuchten Probenmedien sind in Tab. 42 zusammengefasst. Die Histogramme der Serum-, Plasma-, Vollblut-, Harn-, Leber- (EW) und Haarmolybdänkonzentration (SPW) sind in Abb. 21 bis Abb. 26 dargestellt. Der KS-Test weist die Konzentrationsverteilung des Molybdäns in den Substraten Serum (MW, PW), Vollblut (MW, PW) und Leber (MW) als normalverteilt aus ($p > 0,05$). Die übrigen untersuchten Parameterkonzentrationen sind hingegen nicht normalverteilt ($p < 0,05$).

Tab. 42: Statistische Kennzahlen und Test auf Normalverteilung der Molybdänkonzentrationen in den Substraten (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).

Substrat		n	\bar{x}	Q _{0,25}	Q _{0,75}	\bar{x}	s	x _{min}	x _{max}	p	Schiefe	Kurtosis
Serum	-EW	386	8,6	4,6	13,9	10,4	7,69	0,2	52,5	0	1,505	3,199
	-MW	42	10,7	7	15,1	11,7	5,65	5,1	32,6	0,094	1,444	3,06
	-PW	50	8,8	5,3	13,6	10	6,27	1,7	32,7	0,197	1,196	2,07
Plasma	-EW	382	7,9	4,7	12,7	9,8	7,37	0,7	55,1	0	1,844	5,365
	-MW	43	10,2	6,2	14	10,9	6,08	3	33,5	0,033	1,4	3,07
	-PW	52	8,2	4,5	12	9,3	6,69	1,5	35,6	0,034	1,525	3,431
Vollblut	-EW	168	6,5	3,8	10,9	8,3	6,74	0,1	44,1	0	2,228	7,77
	-MW	10	10,5	5,4	12,7	10,4	5,36	3,8	22,6	0,2	0,908	1,506
	-PW	22	7,3	2,7	11,4	8,5	5,7	1,9	21,3	0,2	0,95	0,152
Harn	-EW	415	84	46	146	110	98,8	4	602	0	2,137	5,873
	-MW	55	93	63	120	111	77,3	13	378	0	1,878	3,673
		µg/kg TS										
Leber	-EW	369	3305	2915	3849	3369	868,4	956	10187	0,002	1,48	11,51
	-MW	29	3403	3011	3649	3396	512,1	2441	4557	0,2	0,401	0,187
Haar	-SPW	58	297	220	463	426	497,4	66	3459	0	0,314	25,08

p: Signifikanzwert des KS-Tests.

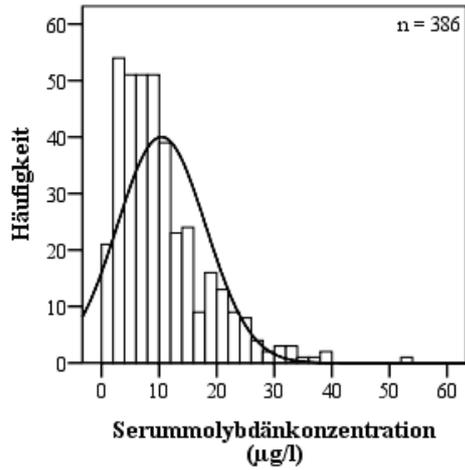


Abb. 21: Häufigkeitsverteilung der Serummolybdänkonzentration (EW).

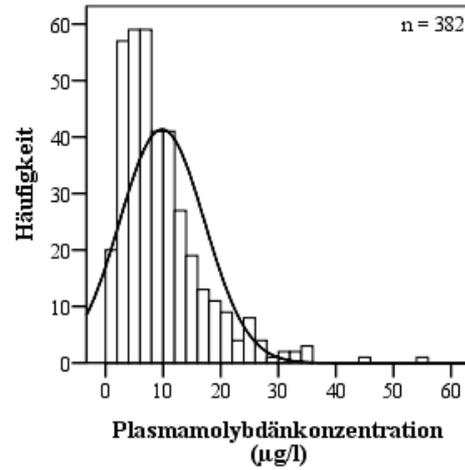


Abb. 22: Häufigkeitsverteilung der Plasmamolybdänkonzentration (EW).

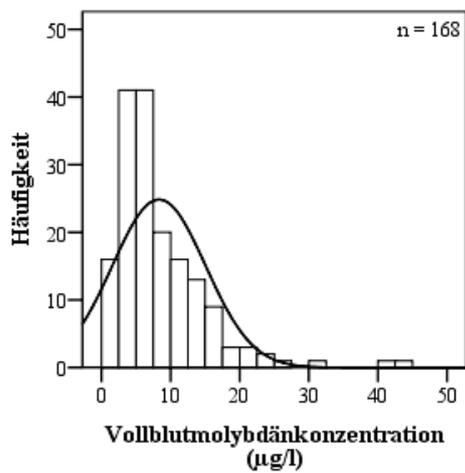


Abb. 23: Häufigkeitsverteilung der Vollblutmolybdänkonzentration (EW).

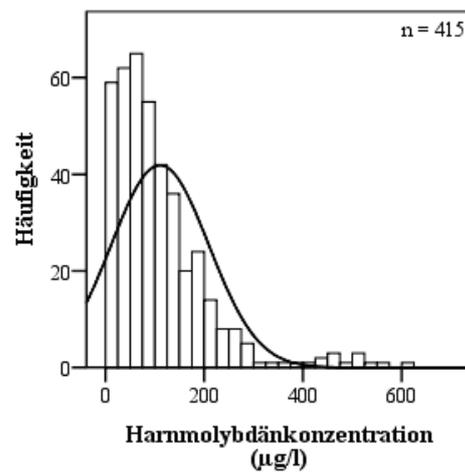


Abb. 24: Häufigkeitsverteilung der Harnmolybdänkonzentration (EW).

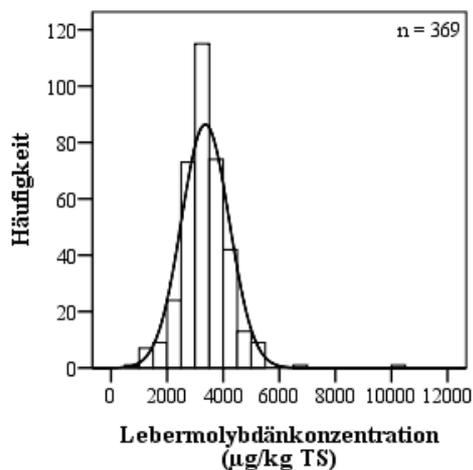


Abb. 25: Häufigkeitsverteilung der Lebermolybdänkonzentration (EW).

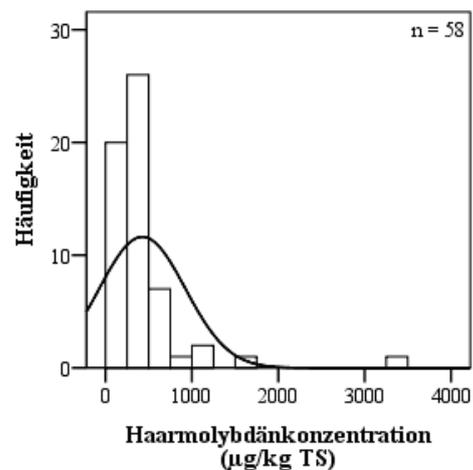


Abb. 26: Häufigkeitsverteilung der Haarmolybdänkonzentration (SPW).

4.3.2 Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serummolibdänkonzentrationen (Einzelwerte)

Die mittlere Plasma- (Pl-Mo-EW) und Serummolibdänkonzentration (S-Mo-EW) der gepaarten Einzelwerte unterscheidet sich bei einer mittleren Differenz (\bar{x}_{Dm}) von $-0,8 \mu\text{g/l}$ signifikant ($p < 0,05$). Die absoluten Übereinstimmungsgrenzen liegen bei $-7,8 \mu\text{g/l}$ und $6,2 \mu\text{g/l}$ (Tab. 43 und Abb. 27). Die Differenzen sind zufällig über den Wertebereich verteilt ($p > 0,05$). Die Verteilung der Differenzen weist 23 Extremwerte auf, deren Diskriminierung zu einer mittleren Differenz von $-0,2 \mu\text{g/l}$ und einer Reduktion des Übereinstimmungsbereichs auf $-4,3 \mu\text{g/l}$ und $3,9 \mu\text{g/l}$ führt. Die statistische Signifikanz der mittleren Differenz der beiden Parameter geht hierbei verloren.

Tab. 43: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serummolibdänkonzentrationen (Einzelwerte).

	n	\bar{x}	\bar{x}_{Dm} [KI \bar{x}_{Dm}]	p	s_{Dm}	Übereinstimmungsgrenzen		Regression	
						untere	obere	b	r
Einheit		$\mu\text{g/l}$			$\mu\text{g/l}$				
Pl-Mo-EW	365	10,1	-0,8	0,00	3,56	-7,8	6,2	-0,04	-0,08
S-Mo-EW		10,9	[-1,16 - -0,42]					$p > 0,05$	

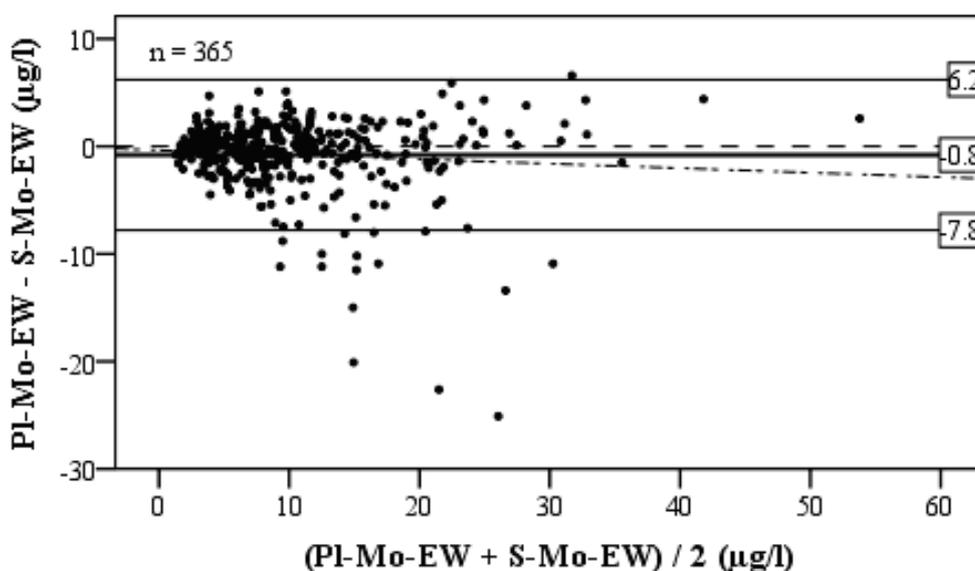


Abb. 27: Bland-Altman-Diagramm der Plasma- und Serummolibdänkonzentrationen (EW).

4.3.3 Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmamolybdänkonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten

Die mittlere Differenz zwischen der Plasmamolybdänkonzentration der Gruppenmittelwerte (PI-Mo-MW) und Poolwerte (PI-Mo-PW) beträgt 0,3 µg/l. Hierbei unterscheiden sich die mittleren Konzentrationen der beiden Messgrößen nicht signifikant ($p > 0,05$). Die Übereinstimmungsgrenzen liegen bei -3,8 µg/l und 4,4 µg/l (Tab. 44 und Abb. 28). Mit einem $p > 0,05$ liegt keine signifikante Abhängigkeit der mittleren Differenzen vom Wertebereich vor. Bei fehlender Berücksichtigung der drei Ausreißerwerte würde sich die untere Übereinstimmungsgrenze auf -2,6 µg/l erhöhen und die obere auf 3,5 µg/l erniedrigen. Die mittlere Differenz der beiden Parameter erhöht sich hierdurch auf 0,4 µg/l.

Tab. 44: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmamolybdänkonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten.

	n	\bar{x}	\bar{x}_{Dm} [KI \bar{x}_{Dm}]	p	s_{Dm}	Übereinstimmungsgrenzen		Regression	
						untere	obere	b	r
Einheit		µg/l			µg/l				
PI-Mo-MW	43	10,9	0,3	0,34	2,01	-3,8	4,4	-0,09	-0,28
PI-Mo-PW		10,6	[-0,3 - 0,9]					p > 0,05	

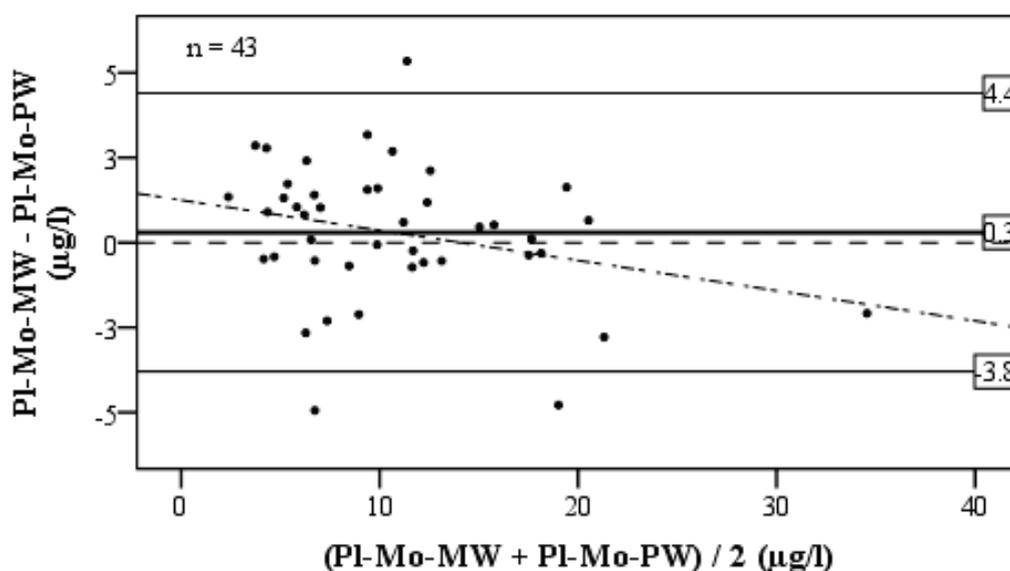


Abb. 28: Bland-Altman-Diagramm der Plasmamolybdänkonzentrationen (MW-PW).

4.3.4 Korrelationsanalyse der Molybdänkonzentrationen in den Substraten

In Tab. 45 sind die berechneten Korrelationen zwischen den Molybdänkonzentrationen der verschiedenen Probenmedien aufgelistet. Aufgrund der geringen Fallzahlen wurde das Substrat Vollblut bei den MW nicht berücksichtigt. Die Serum- und Plasmamolybdänkonzentrationen weisen einen engen bzw. sehr engen Zusammenhang auf. Während ansonsten zwischen den Molybdänsubstratkonzentrationen überwiegend geringe bis mittlere Zusammenhänge feststellbar sind, weist die Leberkonzentration mit den übrigen Probenmedienkonzentrationen nur geringe bzw. sehr geringe Abhängigkeiten auf. Das abgebildete Streupunktdiagramm (Abb. 29) verdeutlicht graphisch das Verhältnis zwischen Leber- und Plasmakonzentration (EW).

Tab. 45: Korrelationsmatrix der Molybdänkonzentrationen in den Substraten.

	Parameter	Serum	Plasma	Vollblut	Harn	Leber	Haar	Ration
Serum	r		0,96**	-	0,52**	0,21	0,35*	0,23
	n		38	8	41	20	42	39
Plasma	r	0,88**		-	0,60**	0,27	0,50**	0,30
	n	365		9	42	22	43	38
Vollblut	r	0,69**	0,68**		-	-	-	-
	n	167	166		10	6	10	9
Harn	r	0,42**	0,44**	0,36**		-0,15	0,53**	0,40**
	n	384	380	168		29	55	50
Leber	r	0,17**	0,10	0,14	0,07		0,03	0,15
	n	342	335	367	367		29	27
Haar	r							0,29*
	n							52

EW: normal, MW und SPW: **fett**, -: nicht berechnet,

** $p < 0,01$, * $p < 0,05$.

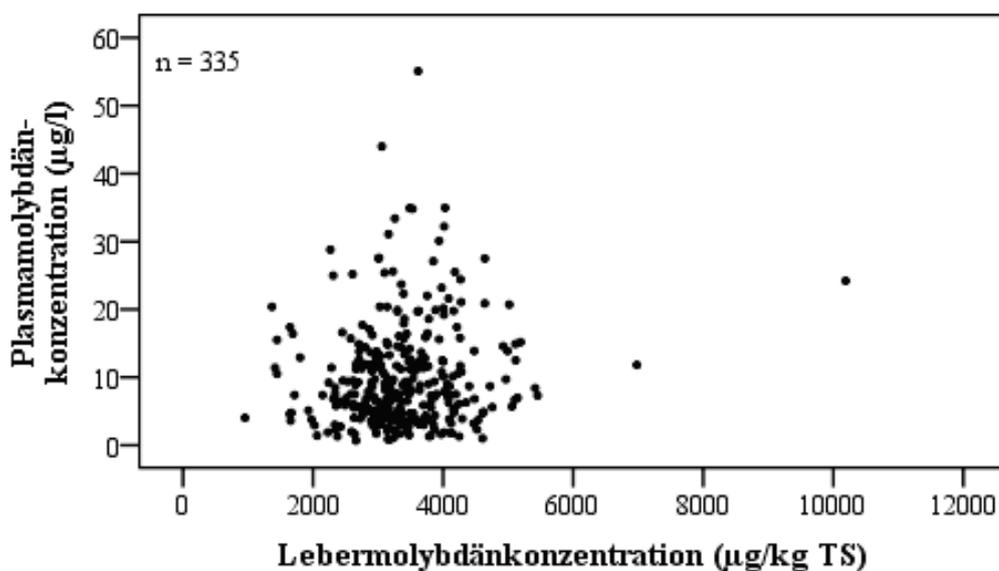


Abb. 29: Verhältnis zwischen Leber- und Plasmamolybdänkonzentration (EW).

4.3.5 Laktationsverlauf der Substratmolybdänkonzentrationen

Ein signifikanter Unterschied zwischen den Laktationsabschnitten ist ausschließlich für die Harn- und Lebermolybdänkonzentration festzustellen (Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$) (Tab. 46). Die FM-Kühe weisen gegenüber den folgenden Laktationsabschnitten einen signifikant geringeren Lebermedianwert auf, während sich bei den SL-Kühen ein geringerer Harnmedianwert gegenüber den vorausgehenden Laktationsabschnitten beobachten lässt (Mann-Whitney-U-Test, $p < 0,05$). Die Verteilung der Serum-, Plasma-, Vollblut-, Harn-, Leber- (EW) und Haarmolybdänkonzentrationen (SPW) ist in Abb. 30 bis Abb. 35. differenziert für die drei Laktationsphasen dargestellt.

Tab. 46: Median der Substratmolybdänkonzentrationen differenziert nach Laktationsstadien.

Substrat	Serum	Plasma	Vollblut	Harn	Leber	Haar	Ration
	Einzelwerte					Sammelprobenwerte	
Einheit	$\mu\text{g/l}$				$\mu\text{g/kg TS}$	mg/kg TS	
FM	7,6	7,3	5,8	91 ^a	2932 ^a	289	0,67
HL	9,0	8,0	6,6	88 ^a	3522 ^b	323	0,64
SL	9,3	8,9	7,1	67 ^b	3461 ^b	282	0,59
n	386	382	168	415	369	58	54

unterschiedliche Buchstaben (a-c) kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Laktationsgruppen in den Spalten (Mann-Whitney-U-Test, $p < 0,05$).

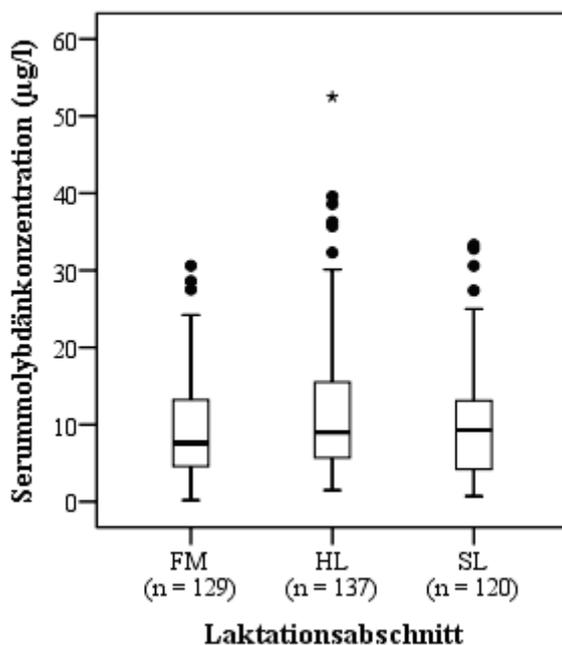


Abb. 30: Serum molybdänkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

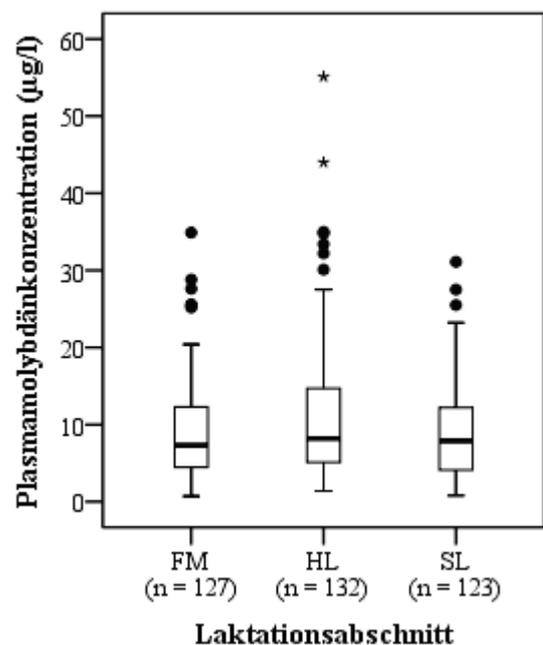


Abb. 31: Plasma molybdänkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

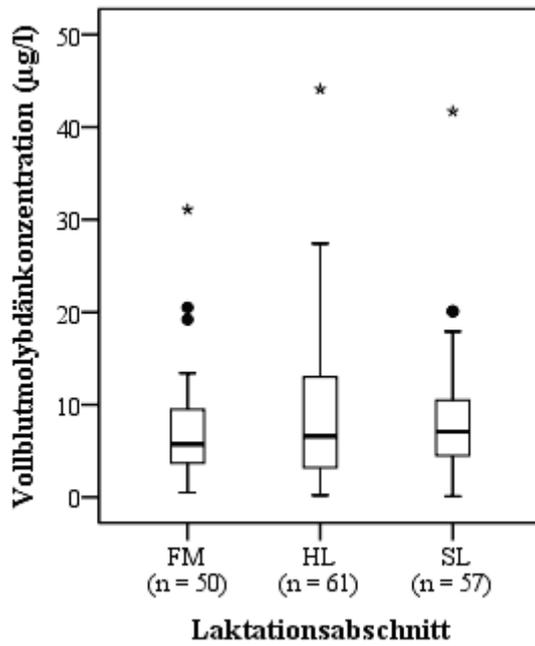


Abb. 32: Vollblutmolybdänkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

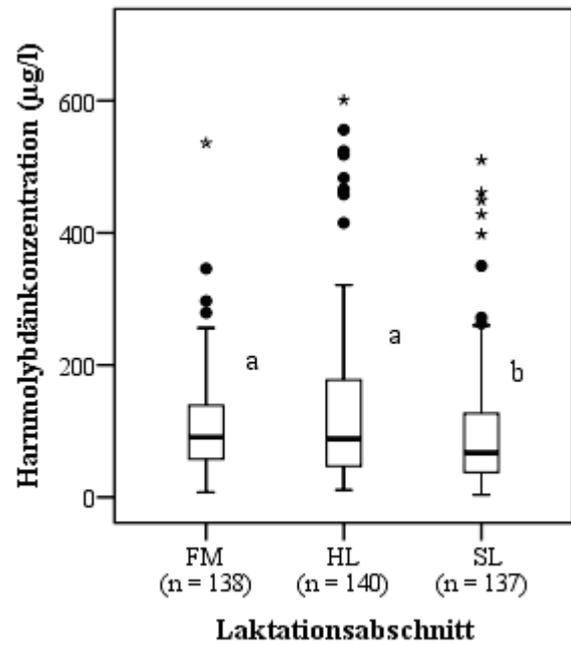


Abb. 33: Harnmolybdänkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

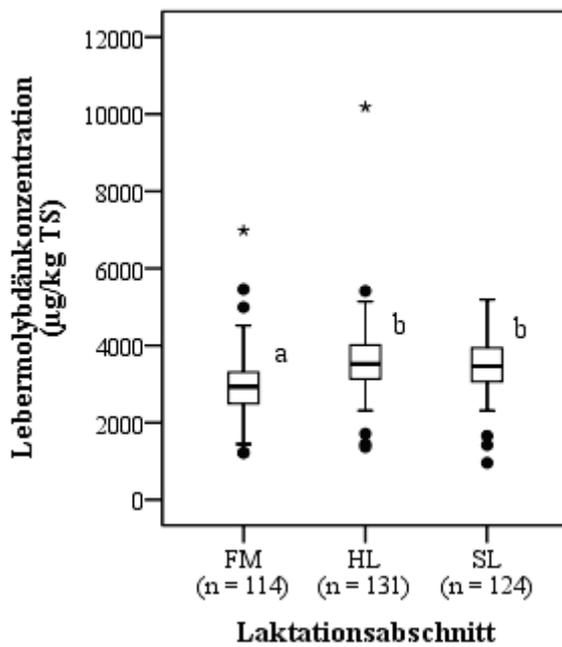


Abb. 34: Lebermolybdänkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

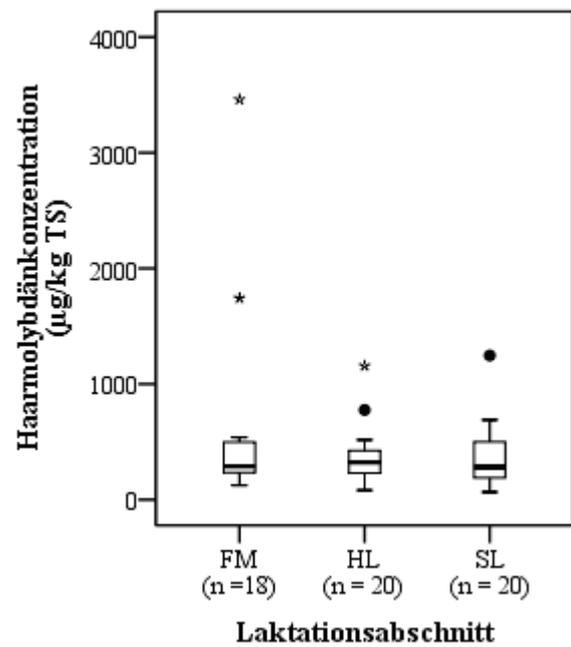


Abb. 35: Haarmolybdänkonzentration im Laktationsverlauf (SPW).

4.3.6 Referenzbereichsermittlung für die Substratmolybdänkonzentrationen

Die aus den Daten ermittelten Referenzbereiche für die untersuchten Substratmolybdänkonzentrationen sind für die EW, MW, PW und SPW in Tab. 47 aufgeführt. Da die Harn- und die Lebermolybdänkonzentrationen signifikante Unterschiede in ihrer zentralen Tendenz im Laktationsverlauf aufweisen (Tab. 46), werden diesbezüglich differenzierte Referenzbereiche für die EW ausgewiesen (Tab. 48).

Tab. 47: Ermittelte Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) für die Molybdänkonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Vollblut, Harn, Leber und Haar (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).

Substrat	Einheit	n	Einzelwerte	n	Mittelwerte	n	Poolwerte
Serum	µg/l	386	1,6 - 30,6	42	5,2 - 31,8	50	1,8 - 29,9
Plasma		382	1,4 - 29,4	43	3,1 - 32,2	52	1,5 - 31,4
Vollblut		168	0,5 - 26,6	10	-	22	-
Harn		415	8,5 - 454	55	18 - 365		
Leber	µg/kg TS	369	1644 - 5090	29	-		
Haar						58	69 - 2645*

∴ nicht berechnet (n < 40), *: SPW.

Tab. 48: Ermittelte Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) für die Molybdänkonzentration in den Substraten Harn und Leber differenziert nach Laktationsgruppen (Einzelwerte).

Substrat	Einheit	Einzelwerte		
		Frischmelker	Hochlaktation	Spätlaktation
Harn	µg/l	13 - 466		5 - 440
Leber	µg/kg TS	1418 - 5050	1952 - 5109	

n ist aus Abb. 33 und Abb. 34 zu entnehmen.

4.4 Ergebnisse Eisen

4.4.1 Deskriptive Statistik und Test auf Normalverteilung der Eisenkonzentrationen in den Substraten

Die wesentlichen statistischen Kennzahlen für die Eisenkonzentrationen in den untersuchten Probenmedien sind in Tab. 49 aufgeführt. Bei den EW ist ausschließlich für die Serumeisenkonzentration von einer Normalverteilung auszugehen. Bei den MW und PW weicht die Eisenkonzentration der Plasma-, Vollblut- und Harn-MW sowie der Haar-SPW von einer Normalverteilung ab, während die übrigen PW und MW einer Normalverteilungsfunktion folgen. In Abb. 36 bis Abb. 41 sind die Häufigkeitsverteilungen der Serum-, Plasma-, Vollblut-, Harn-, Leber- (EW) und Haareisenkonzentration (SPW) dargestellt.

Tab. 49: Statistische Kennzahlen der Eisenkonzentrationen und Test auf Normalverteilung in den Substraten (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).

Substrat		n	\bar{x}	Q _{0,25}	Q _{0,75}	\bar{x}	s	x _{min}	x _{max}	p	Schiefe	Kurtosis
		µg/l										
Serum	-EW	417	1320	1120	1565	1328	345,7	241	2430	0,2	-0,025	0,298
	-MW	57	1333	1230	1466	1338	191,6	934	1829	0,2	0,198	0,009
	-PW	57	1300	1145	1425	1290	207,8	891	1810	0,2	0,274	-0,06
Plasma	-EW	418	1590	1378	1900	1669	483,3	477	4380	0	1,178	3,557
	-MW	58	1616	1455	1932	1678	303	1155	2476	0,01	0,696	-0,227
	-PW	58	1630	1445	1850	1642	291	1160	2340	0,2	0,3	-0,583
mg/l												
Vollblut	-EW	292	346	318	377	349	47,1	215	591	0,031	0,66	2,164
	-MW	40	348	325	377	349	32,4	290	439	0,047	0,497	0,19
	-PW	40	320	285	344	319	40,1	228	397	0,2	-0,094	-0,548
µg/l												
Harn	-EW	413	27	18	42	37	50,6	4	858	0	11,08	169,7
	-MW	53	30	23	42	35	22,7	10	161	0	3,411	16,84
mg/kg TS												
Leber	-EW	369	304	250	379	329	117,3	124	875	0	1,389	2,597
	-MW	29	337	276	384	343	78,2	238	540	0,2	0,763	0,099
Haar	-SPW	58	8,8	7,3	9,9	9	2,42	5,7	22,7	0,001	2,886	13,01

p: Signifikanzwert des KS-Tests.

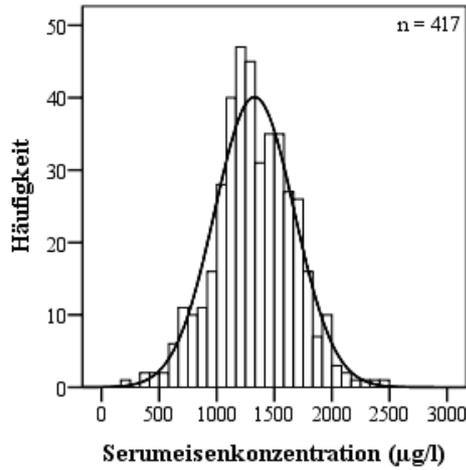


Abb. 36: Häufigkeitsverteilung Serumeisenkonzentration (EW).

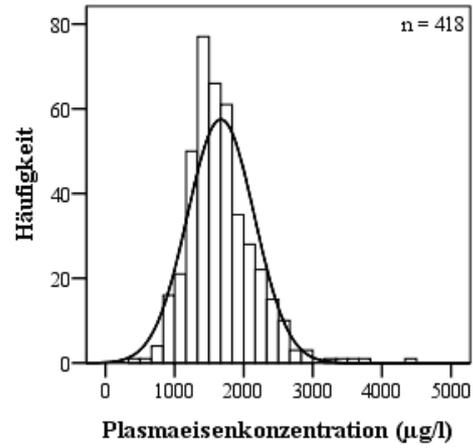


Abb. 37: Häufigkeitsverteilung Plasmaeisenkonzentration (EW).

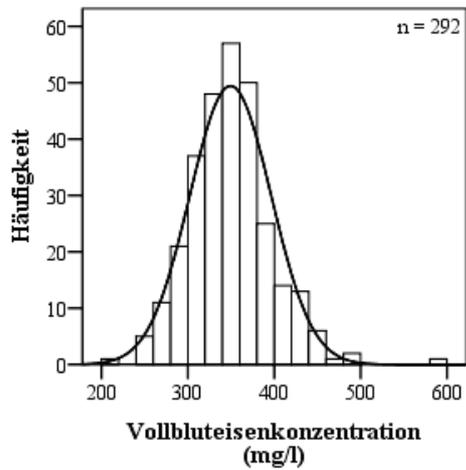


Abb. 38: Häufigkeitsverteilung Vollbluteisenkonzentration (EW).

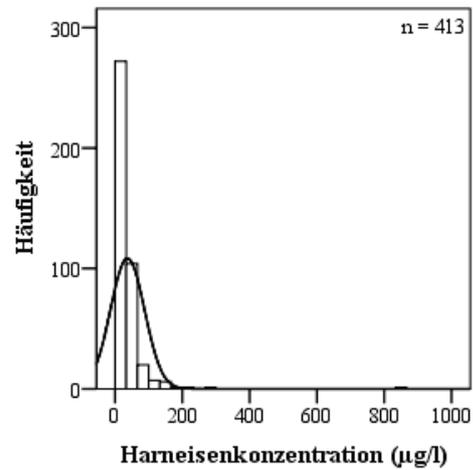


Abb. 39: Häufigkeitsverteilung Haareisenkonzentration (EW).

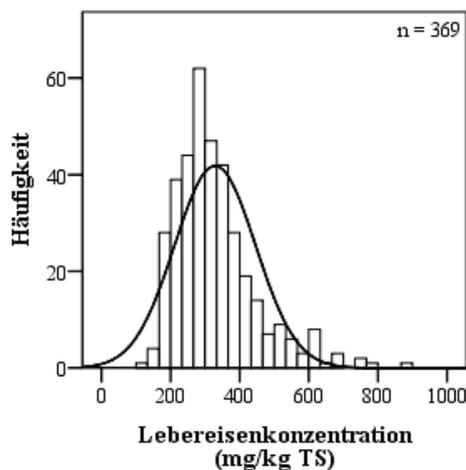


Abb. 40: Häufigkeitsverteilung Lebereisenkonzentration (EW).

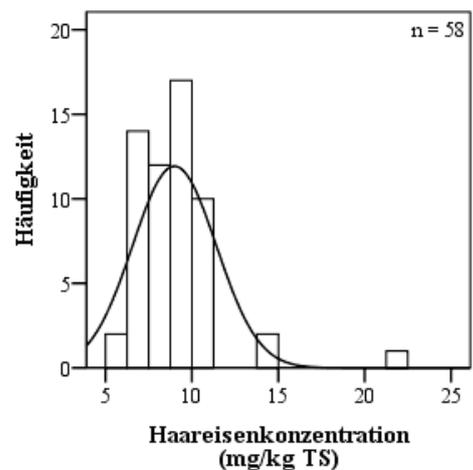


Abb. 41: Häufigkeitsverteilung Haareisenkonzentration (SPW).

4.4.2 Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serumeisenkonzentrationen (Einzelwerte)

Die Ergebnisse des Bland-Altman-Methodenvergleichs zwischen den gepaarten Einzelwerten der Plasmaeisen- (Pl-Fe-EW) und Serumeisenkonzentration (Se-Fe-EW) sind in Tab. 50 und Abb. 42 dargestellt. Die mittlere Differenz ($\bar{x}_{Dm} = 339 \mu\text{g/l}$) zwischen den Plasma- und Serumwerten ist statistisch signifikant ($p < 0,05$). Die Übereinstimmungsgrenzen liegen bei $-306 \mu\text{g/l}$ und $985 \mu\text{g/l}$. Zwischen den Differenzen und dem Wertebereich besteht eine signifikante positive Abhängigkeit ($p < 0,05$). Die Entnahme der 24 Extremwerte reduziert die mittlere Differenz auf $293 \mu\text{g/l}$ und es ergeben sich die Übereinstimmungsgrenzen $-120 \mu\text{g/l}$ und $705 \mu\text{g/l}$. Die Abhängigkeit der Differenzen vom Wertebereich bleibt jedoch bestehen.

Tab. 50: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serumeisenkonzentrationen (Einzelwerte).

	n	\bar{x}	\bar{x}_{Dm} [KI \bar{x}_{Dm}]	p	s_{Dm}	Übereinstimmungsgrenzen		Regression	
						untere	obere	b	r
Einheit		$\mu\text{g/l}$			$\mu\text{g/l}$				
Pl-Fe-EW	417	1668	339	0,00	328,2	-306	985	0,38	0,45
S-Fe-EW		1328	[308 - 371]					p < 0,05	

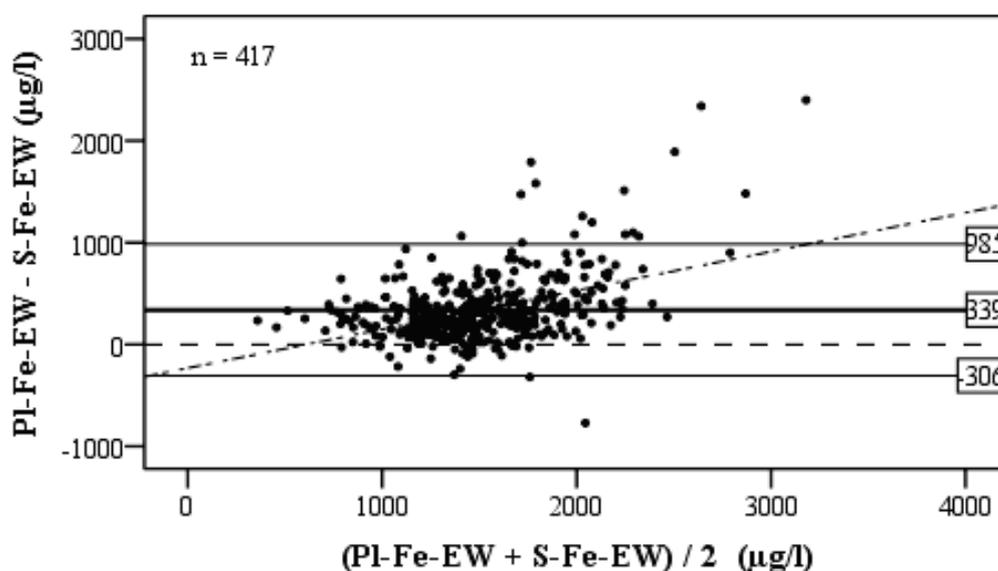


Abb. 42: Bland-Altman-Diagramm der Plasma- und Serumeisenkonzentrationen (EW).

4.4.3 Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmaeisenkonzentrationen von Gruppenmittel- und Poolwerten

Tab. 51 und Abb. 43 veranschaulichen die Ergebnisse des Bland-Altman-Methodenvergleichs zwischen der Plasmaeisenkonzentration der Gruppenmittelwerte (PI-Fe-MW) und den entsprechenden Poolwerten (PI-Fe-PW). Die mittlere Differenz zwischen den beiden Parametern bemisst sich auf 36 $\mu\text{g/l}$ und ist statistisch betrachtet nicht relevant ($p > 0,05$). Die Übereinstimmungsgrenzen liegen bei -315 $\mu\text{g/l}$ und 387 $\mu\text{g/l}$. Die Differenzen sind zufällig über den Wertebereich verteilt ($p > 0,05$). Bei Ausschluss der drei Extremwerte in der Verteilung der Differenzen ergibt sich eine mittlere Differenz von -13 $\mu\text{g/l}$ und ein Übereinstimmungsintervall, das von -276 $\mu\text{g/l}$ bis 301 $\mu\text{g/l}$ begrenzt ist.

Tab. 51: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmaeisenkonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten.

	n	\bar{x}	\bar{x}_{Dm} [KI \bar{x}_{Dm}]	p	s_{Dm}	Übereinstimmungsgrenzen		Regression	
						untere	obere	b	r
Einheit		$\mu\text{g/l}$			$\mu\text{g/l}$				
PI-Fe-MW	58	1678	36	0,12	173,7	-315	387	0,04	0,07
PI-Fe-PW		1642	[-10 - 82]					$p > 0,05$	

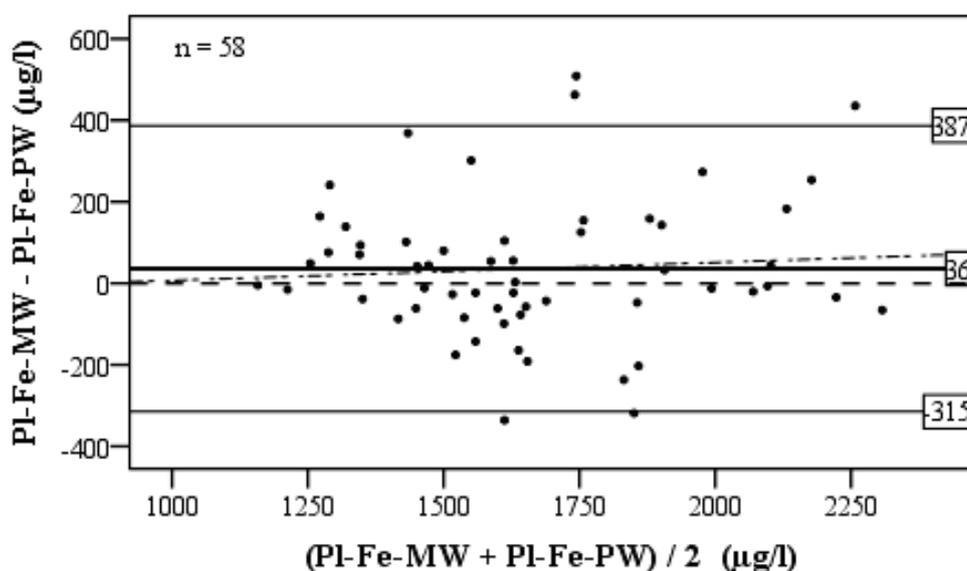


Abb. 43: Bland-Altman-Diagramm der Plasmaeisenkonzentrationen (MW-PW).

4.4.4 Korrelationsanalyse der Eisenkonzentrationen in den Substraten

Die für die Eisenkonzentrationen in den Substraten ermittelten Korrelationskoeffizienten sind in der Tab. 52 aufgeführt. Zwischen der Serum- und Plasmaeisenkonzentration (EW, MW) besteht ein enger Zusammenhang ($r = 0,78$). Ansonsten sind nur geringe oder sehr geringe Korrelationen ($r = -0,01$ bis $r = 0,39$) zwischen den verschiedenen Probenmedienkonzentrationen feststellbar. Abb. 44 stellt den Zusammenhang zwischen Leber- und Plasmaeisenkonzentration (EW) graphisch dar.

Tab. 52: Korrelationsmatrix der Eisenkonzentrationen in den Substraten.

	Parameter	Serum	Plasma	Vollblut	Harn	Leber	Haar	Ration
Serum	r		0,78**	0,22	-0,01	-0,36	0,24	0,20
	n		57	39	54	28	57	51
Plasma	r	0,78**		0,35*	0,21	0,10	0,21	0,39**
	n	417		40	54	29	58	52
Vollblut	r	0,18**	0,36**		0,27	0,12	0,01	0,15
	n	291	292		37	20	40	35
Harn	r	-0,02	0,10*	0,21**		0,19	0,10	0,34*
	n	412	413	288		29	53	49
Leber	r	-0,01	0,13*	0,01	0,08		-0,27	0,23
	n	368	369	258	366		29	27
Haar	r							0,14
	n							52

EW: normal, MW und SPW: **fett**,

** $p < 0,01$, * $p < 0,05$.

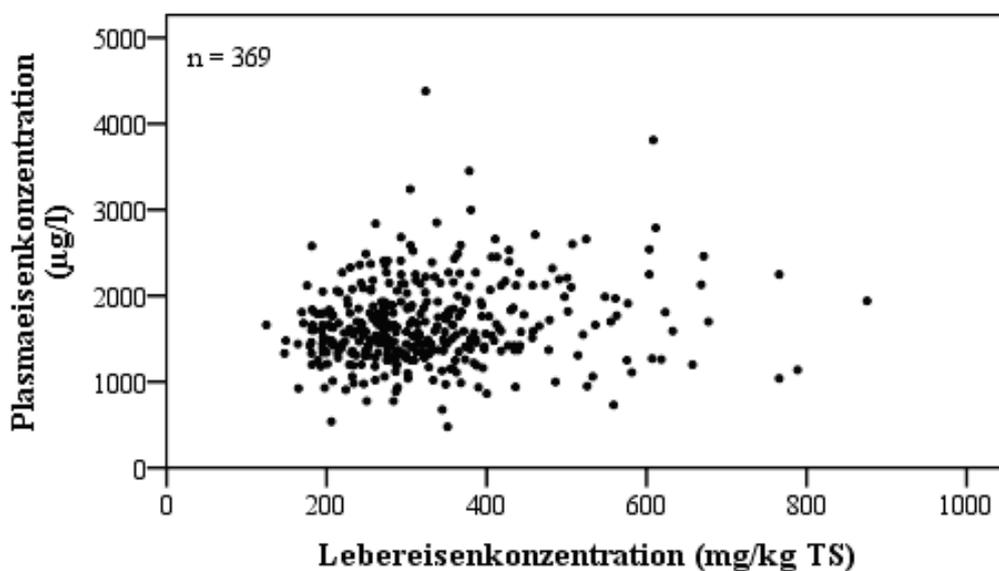


Abb. 44: Verhältnis zwischen Leber- und Plasmaeisenkonzentration (EW).

4.4.5 Laktationsverlauf der Substrateisenkonzentrationen

Für alle Probenmaterialien mit Ausnahme des Haars, des Vollbluts und der Ration ist ein signifikanter Konzentrationsunterschied zwischen den Laktationsabschnitten nachweisbar. Allerdings zeigen die Substratkonzentrationen keinen einheitlich parallelen Verlauf über die drei Laktationsphasen (Tab. 53). Während die mediane Serum-/Plasmaeisenkonzentration der SL-Kühe im Vergleich zu den FM- und HL-Kühen erhöht ist, weisen Harn- und Leberkonzentration der SL- und HL-Kühe einen statistisch belegbaren geringeren Median als die FM-Kühe auf. Die Verteilung der Serum-, Plasma-, Vollblut-, Harn-, Leber- (EW) und Haareisenkonzentration (SPW) innerhalb der einzelnen Laktationsphasen ist in Abb. 45 bis Abb. 50 ersichtlich.

Tab. 53: Median der Substrateisenkonzentrationen differenziert nach Laktationsstadien.

Substrat	Serum	Plasma	Vollblut	Harn	Leber	Haar	Ration
	Einzelwerte					Sammelprobenwerte	
Einheit	µg/l		mg/l	µg/l	mg/kg TS		
FM	1230 ^a	1555 ^a	357	31,0 ^a	351 ^a	8,0	412
HL	1290 ^a	1515 ^a	343	22,6 ^b	276 ^b	8,9	356
SL	1460 ^b	1700 ^b	342	26,7 ^b	288 ^b	9,2	408
n	417	418	292	413	369	58	54

unterschiedliche Buchstaben (a-c) kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Laktationsgruppen in den Spalten (Mann-Whitney-U-Test, $p < 0,05$).

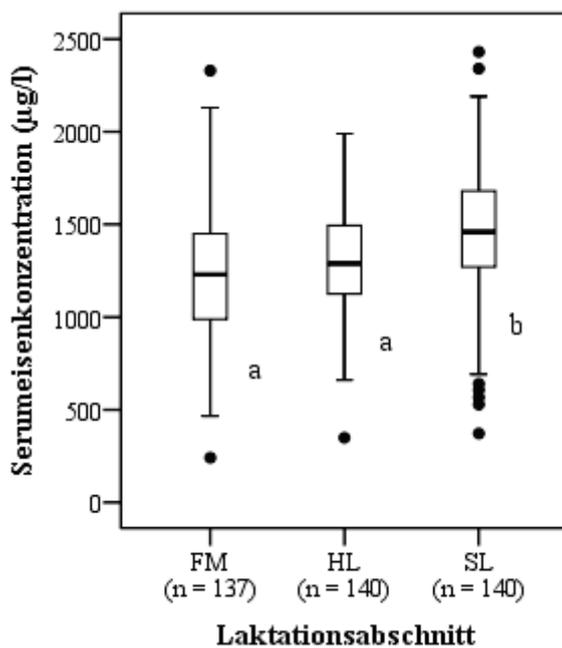


Abb. 45: Serumeisenkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

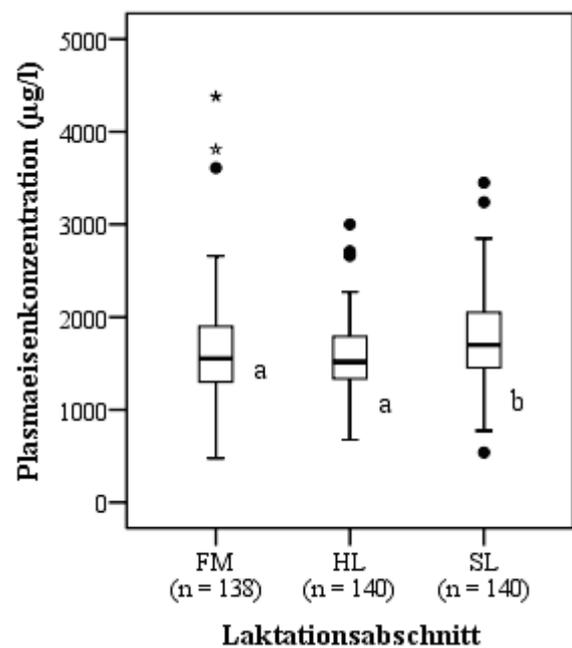


Abb. 46: Plasmaeisenkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

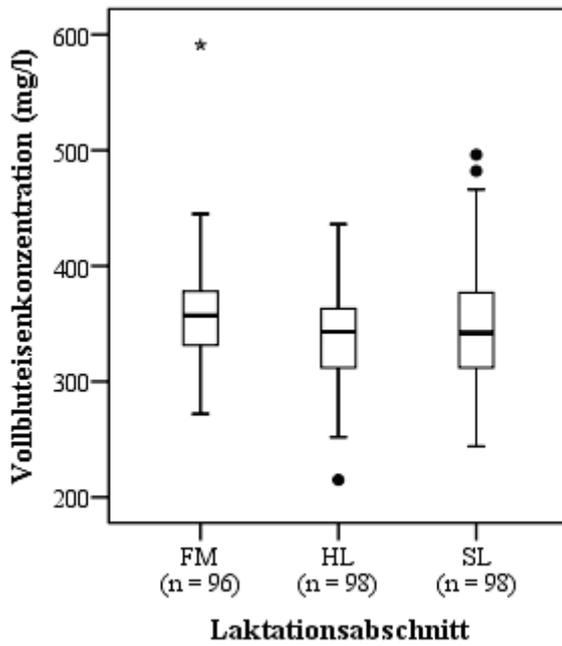


Abb. 47: Vollbluteisenkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

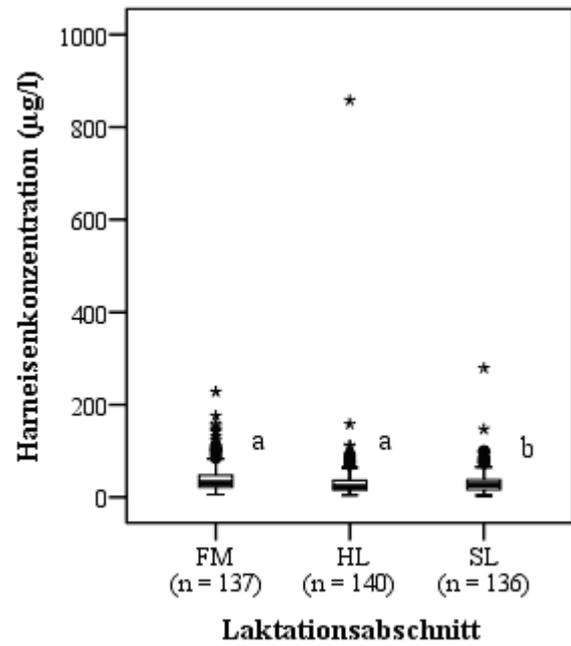


Abb. 48: Harneisenkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

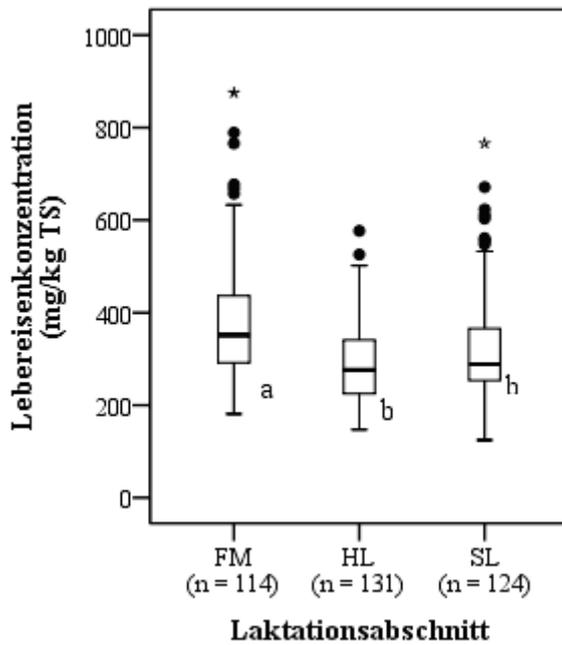


Abb. 49: Lebereisenkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

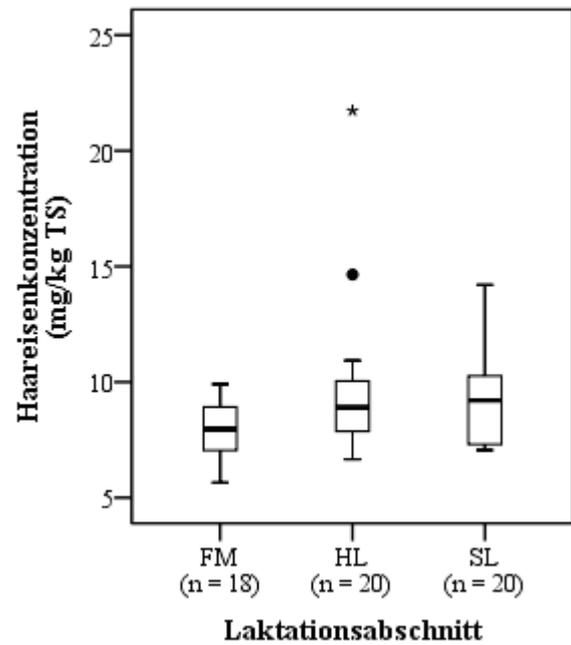


Abb. 50: Haareisenkonzentration im Laktationsverlauf (SPW).

4.4.6 Referenzbereichsermittlung für die Substrateisenkonzentrationen

Die laktationsphasenübergreifenden Referenzbereiche für die EW, MW, PW und SPW der Eisenkonzentrationen in den untersuchten Probenmedien sind in Tab. 54 aufgeführt. Da signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den drei Laktationsstadien feststellbar sind (Tab. 53), führt Tab. 55 laktationsphasendifferenzierte Referenzgrenzen für die EW der Serum-, Plasma-, Harn- und Leberkonzentration auf.

Tab. 54: Ermittelte Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) für die Eisenkonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Vollblut, Harn, Leber und Haar (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).

Substrat	Einheit	n	Einzelwerte	n	Mittelwerte	n	Poolwerte
Serum	µg/l	417	639 - 1996	57	951 - 1778	57	909 - 1806
Plasma		418	921 - 2696	58	1179 - 2394	58	1165 - 2293
Vollblut	mg/l	168	263 - 448	40	290 - 438	40	228 - 397
Harn	µg/l	413	7 - 138	53	11 - 132		
Leber	mg/kg TS	369	179 - 630	28	-		
Haar							58

-: nicht berechnet (n < 40), *: SPW.

Tab. 55: Ermittelte Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) für die Eisenkonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Harn, Vollblut und Leber differenziert nach Laktationsgruppen (Einzelwerte).

Substrat	Einheit	Einzelwerte		
		Frishmelker	Hochlaktation	Spätlaktation
Serum	µg/l	652 - 1981		588 - 2138
Plasma		929 - 2661		914 - 2847
Harn	µg/l	8 - 155	6 - 101	
Leber	mg/kg TS	188 - 769	169 - 570	

n ist aus Abb. 45, Abb. 46, Abb. 48 und Abb. 49 zu entnehmen.

4.5 Ergebnisse Zink

4.5.1 Deskriptive Statistik und Test auf Normalverteilung der Zinkkonzentrationen in den Substraten

Tab. 56 fasst die wichtigsten statistischen Kennzahlen der Zinkkonzentrationen in den verschiedenen Probenmedien zusammen. Der KS-Test weist die Zinkkonzentration der EW, MW und PW des Serums und des Plasmas gänzlich als normalverteilt aus, während für die Vollblutzinkkonzentration nur die MW und PW einer Normalverteilungsfunktion folgen ($p > 0,05$). Die Zinkkonzentrationen in den Probenmaterialien Harn, Leber und Haar sind nicht normalverteilt. Die abgebildeten Histogramme (Abb. 51 bis Abb. 56) veranschaulichen die Häufigkeitsverteilung der Serum-, Plasma-, Vollblut-, Harn-, Leber- (EW) und Haarzinkkonzentration (SPW).

Tab. 56: Statistische Kennzahlen und Test auf Normalverteilung der Zinkkonzentrationen in den Substraten (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).

Substrat		n	\bar{x}	Q _{0,25}	Q _{0,75}	\bar{x}	s	x _{min}	x _{max}	p	Schiefe	Kurtosis
Serum	-EW	417	789	671	891	789	171,4	264	1400	0,138	0,172	0,451
	-MW	57	789	728	849	794	101,9	563	1032	0,2	0,102	0,052
	-PW	57	757	693	843	771	107,5	500	1040	0,2	0,272	0,409
Plasma	-EW	418	812	693	920	812	171,9	327	1350	0,2	0,119	0,181
	-MW	58	809	743	877	814	93,7	615	1030	0,2	0,068	-0,253
	-PW	58	804	724	923	824	126	576	1170	0,2	0,371	0,014
Vollblut	-EW	418	2335	2050	2700	2390	532	1290	4740	0	0,833	1,46
	-MW	58	2357	2126	2599	2381	290	1949	3164	0,062	0,518	-0,2
	-PW	58	2175	2078	2425	2237	256,7	1560	3190	0,056	0,827	2,844
Harn	-EW	415	34	21	58	57	76,7	2	927	0	5,266	44,22
	-MW	55	50	30	69	59	55,7	11,4	311	0	3,093	10,68
		mg/kg TS										
Leber	-EW	369	107	96	129	121	47,1	32	401	0	2,845	10,86
	-MW	29	106	96	132	115	26,5	83	176	0,016	1,088	0,407
Haar	-SPW	58	142	122	170	162	58,2	101	343	0	1,531	1,525

p: Signifikanzwert des KS-Tests.

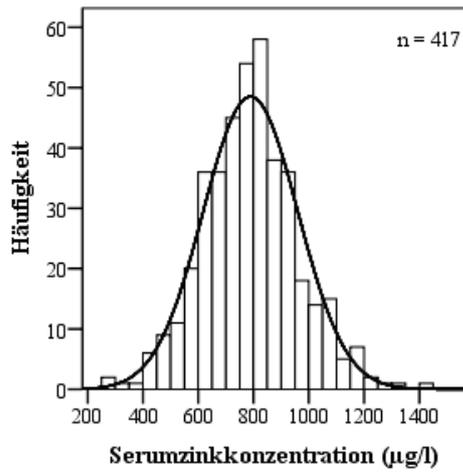


Abb. 51: Häufigkeitsverteilung
Serumzinkkonzentration (EW).

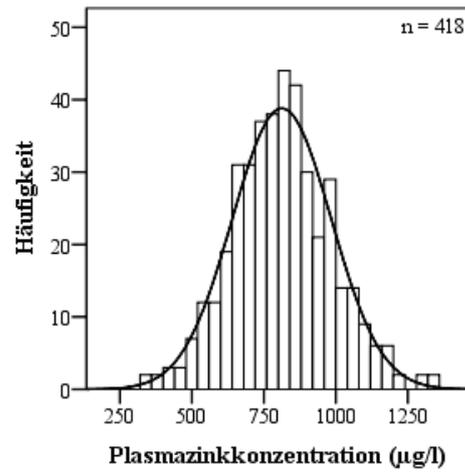


Abb. 52: Häufigkeitsverteilung
Plasmazinkkonzentration (EW).

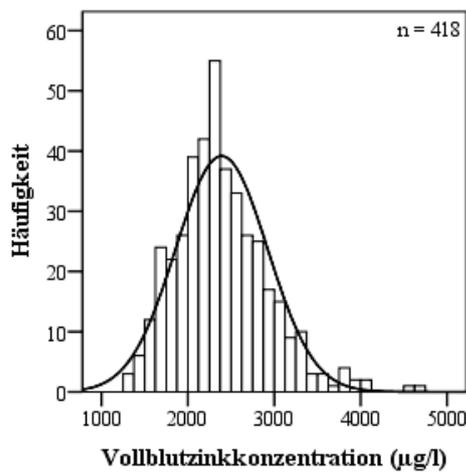


Abb. 53: Häufigkeitsverteilung
Vollblutzinkkonzentration (EW).

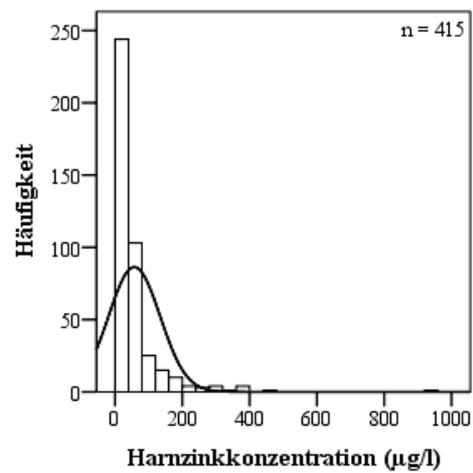


Abb. 54: Häufigkeitsverteilung
Harnzinkkonzentration (EW).

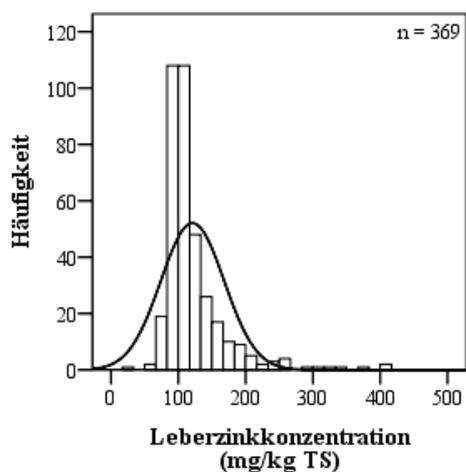


Abb. 55: Häufigkeitsverteilung
Leberzinkkonzentration (EW).

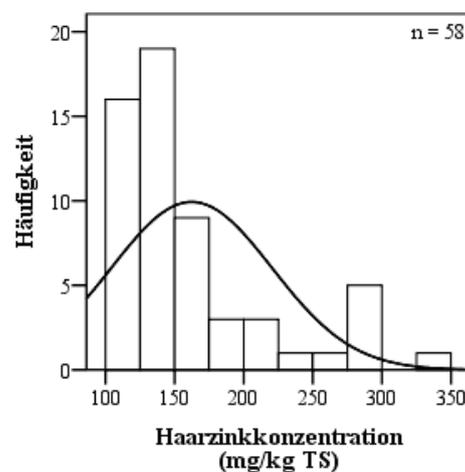


Abb. 56: Häufigkeitsverteilung
Haarzinkkonzentration (SPW).

4.5.2 Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serumzinkkonzentrationen (Einzelwerte)

Die mittlere Differenz ($\bar{x}_{Dm} = 23 \mu\text{g/l}$) zwischen den Einzelwerten der Zinkkonzentrationen im Plasma (PI-Zn-EW) und im Serum (S-Zn-EW) ist statistisch signifikant ($p < 0,05$) (Tab. 57). Die Übereinstimmungsgrenzen liegen bei $-112 \mu\text{g/l}$ und $158 \mu\text{g/l}$. Eine Abhängigkeit der Differenzen vom Wertebereich besteht nicht ($p > 0,05$) (Abb. 57). Der Ausschluss der Extremwerte ($n = 10$) führt zu einer deutlichen Einengung des Übereinstimmungsbereichs ($-102 \mu\text{g/l}$ bis $144 \mu\text{g/l}$). Die mittlere Differenz der beiden Parameter minimiert sich hiernach auf $21 \mu\text{g/l}$.

Tab. 57: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serumzinkkonzentrationen (Einzelwerte).

	n	\bar{x}	\bar{x}_{Dm} [KI \bar{x}_{Dm}]	p	s_{Dm}	Übereinstimmungsgrenzen		Regression	
						untere	obere	b	r
Einheit		$\mu\text{g/l}$			$\mu\text{g/l}$				
PI-Zn-EW	417	812	23	0,00	68,7	-112	158	0,01	0,01
S-Zn-EW		789	[17 - 30]					$p > 0,05$	

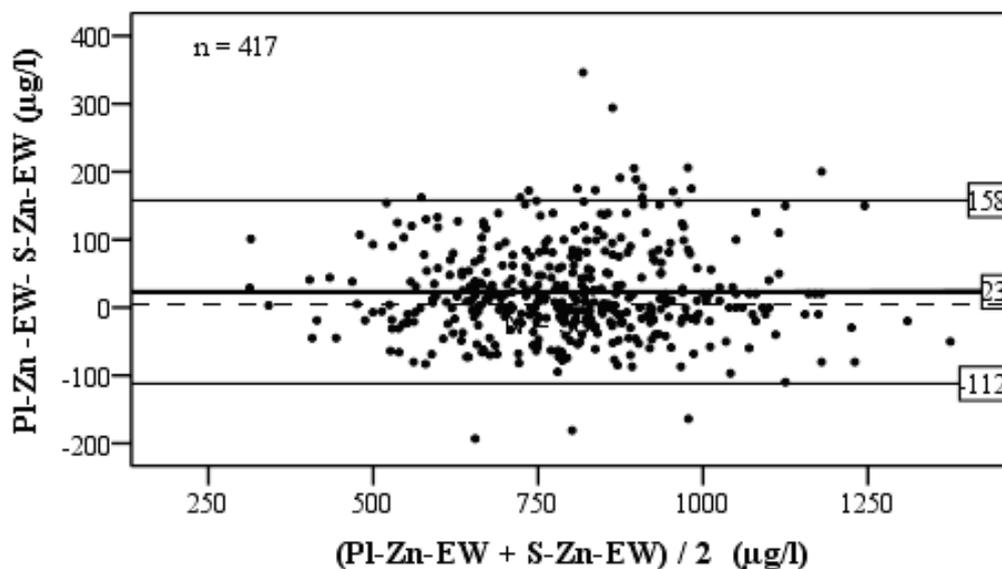


Abb. 57: Bland-Altman-Diagramm der Plasma- und Serumzinkkonzentrationen (EW).

4.5.3 Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmazinkkonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten

Die mittlere Differenz ($\bar{x}_{Dm} = -10 \mu\text{g/l}$) zwischen der Plasmazinkkonzentration der Gruppenmittelwerte (PI-Zn-MW) und den entsprechenden Poolwertkonzentrationen (PI-Zn-PW) ist bei weiten Übereinstimmungsgrenzen ($-190 \mu\text{g/l}$ und $169 \mu\text{g/l}$) gering und statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$). Zwischen Wertebereich und mittlerer Differenz von Mittel- und Poolwerten besteht ein signifikanter negativer Zusammenhang ($p < 0,05$) (Tab. 58, Abb. 58). Die Eliminierung der zwei Extremwerte aus der Verteilung der Differenzen führt zu einer deutlichen Anhebung der unteren Übereinstimmungsgrenze und einer Verringerung der oberen Übereinstimmungsgrenze (Übereinstimmungsbereich: $-159 \mu\text{g/l}$ bis $140 \mu\text{g/l}$). Der signifikante negative Zusammenhang zwischen Wertebereich und mittlerer Differenz bleibt hierbei erhalten.

Tab. 58: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmazinkkonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten.

	n	\bar{x}	\bar{x}_{Dm} [KI \bar{x}_{Dm}]	p	s_{Dm}	Übereinstimmungsgrenzen		Regression	
						untere	obere	b	r
Einheit		$\mu\text{g/l}$			$\mu\text{g/l}$				
PI-Zn-MW	58	814	-10	0,37	88,9	-190	169	-0,34	-0,39
PI-Zn-PW		824	[-34 - 13]					p < 0,05	

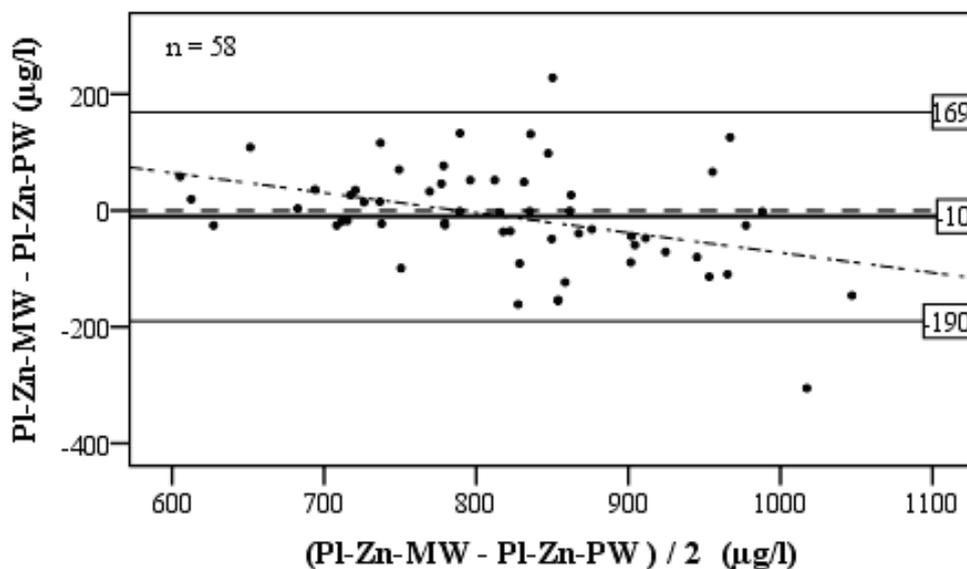


Abb. 58: Bland-Altman-Diagramm der Plasmazinkkonzentrationen (MW-PW).

4.5.4 Korrelationsanalyse der Zinkkonzentrationen in den Substraten

Tab. 59 führt die Korrelationen zwischen den Zinkkonzentrationen in den Probenmaterialien auf. Die Serum- und Plasmazinkkonzentrationen (EW, MW) weisen einen sehr engen Zusammenhang auf ($r > 0,9$). Während die EW der Serum-/Plasma- und der Leberzinkkonzentrationen mit einem $r = -0,08$ bzw. $r = 0,05$ nur auf einem sehr geringen Niveau korrelieren, besteht zwischen den MW dieser Probenmedien ein mittlerer negativer Zusammenhang ($r = -0,57$ bzw. $r = -0,55$). Ansonsten sind zwischen den Substratkonzentrationen nur geringe oder sehr geringe Korrelationen feststellbar. Das Verhältnis zwischen Leber- und Plasmazinkkonzentration (EW) ist in Abb. 59 veranschaulicht.

Tab. 59: Korrelationsmatrix der Zinkkonzentrationen in den Substraten.

	Parameter	Serum	Plasma	Vollblut	Harn	Leber	Haar	Ration
Serum	r		0,90**	0,31*	0,09	-0,57**	0,20	0,15
	n		57	57	54	29	57	54
Plasma	r	0,91**		0,37**	0,21	-0,55**	0,22	0,14
	n	417		58	55	29	58	55
Vollblut	r	0,36**	0,34**		0,36**	0,17	0,13	-0,06
	n	417	418		55	29	58	55
Harn	r	0,06	0,05	0,10*		0,41*	0,22	0,00
	n	414	415	415		29	55	53
Leber	r	-0,08	-0,05	0,08	0,14**		-0,11	-0,03
	n	368	369	369	367		28	28
Haar	r							-0,04
	n							55

EW: normal, MW und SPW: fett,

**: $p < 0,01$, *: $p < 0,05$.

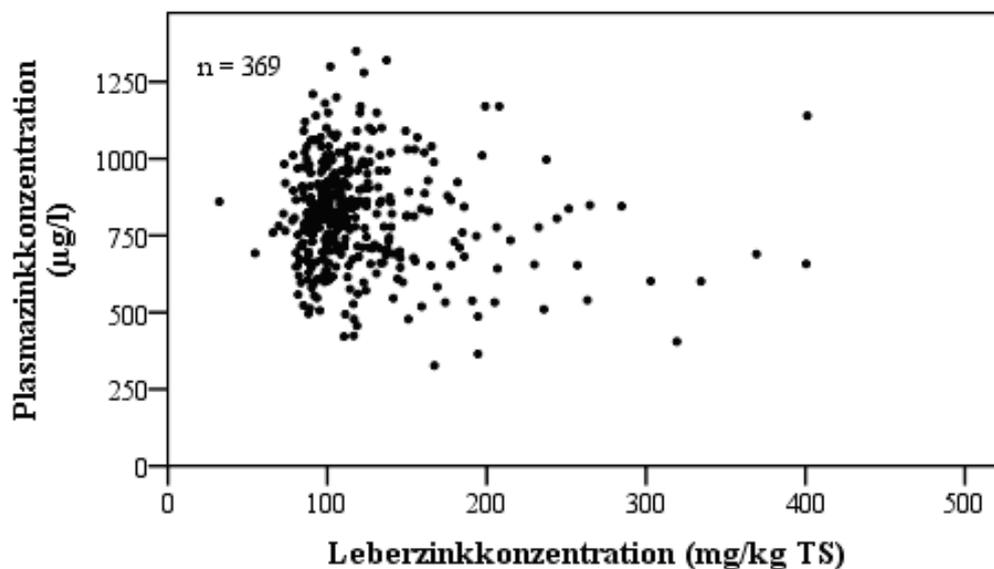


Abb. 59: Verhältnis zwischen Leber- und Plasmazinkkonzentration (EW).

4.5.5 Laktationsverlauf der Substratzinkkonzentrationen

Die Ergebnisse der laktationsphasendifferenzierten Betrachtung der Substratzinkkonzentrationen sind in Tab. 60 und in Abb. 60 bis Abb. 65 veranschaulicht. Für die Probenmedien Serum, Plasma, Harn und Leber sind statistisch relevante Konzentrationsunterschiede zwischen den Laktationsabschnitten feststellbar. Hingegen sind für die medianen Vollblut- und Haarzinkkonzentrationen sowie die medianen Rationszinkgehalte der FM-, HL- und SL-Kühe keine signifikanten Unterschiede nachweisbar. Auffällig ist, dass der Konzentrationsverlauf der Serum-/Plasma- und Leberzinkkonzentration über die Laktationsabschnitte nicht gleichgerichtet ist.

Tab. 60: Median der Substratzinkkonzentrationen differenziert nach Laktationsstadien.

Substrat	Serum	Plasma	Vollblut	Harn	Leber	Haar	Ration
	Einzelwerte					Sammelprobenwerte	
Einheit	µg/l					mg/kg TS	
FM	709 ^a	745 ^a	2335	40 ^a	134 ^a	133	104
HL	818 ^b	826 ^b	2370	36 ^a	101 ^b	153	107
SL	812 ^b	844 ^b	2290	28 ^b	102 ^b	147	114
n	417	418	418	415	369	58	57

unterschiedliche Buchstaben (a-c) kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Laktationsgruppen in den Spalten (Mann-Whitney-U-Test, $p < 0,05$).

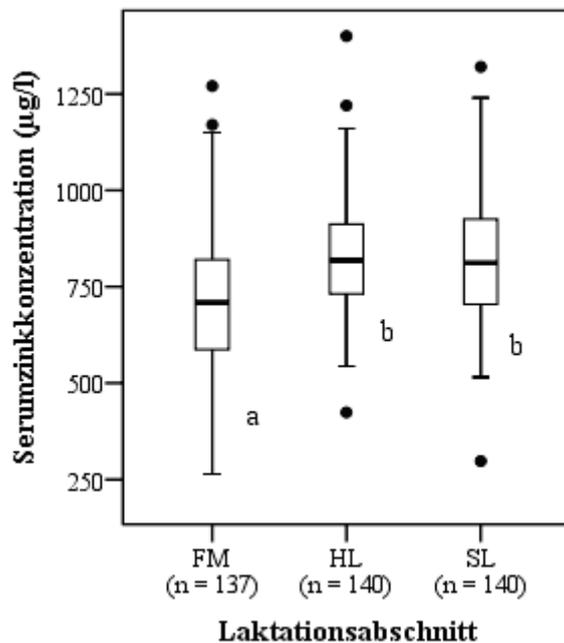


Abb. 60: Serumzinkkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

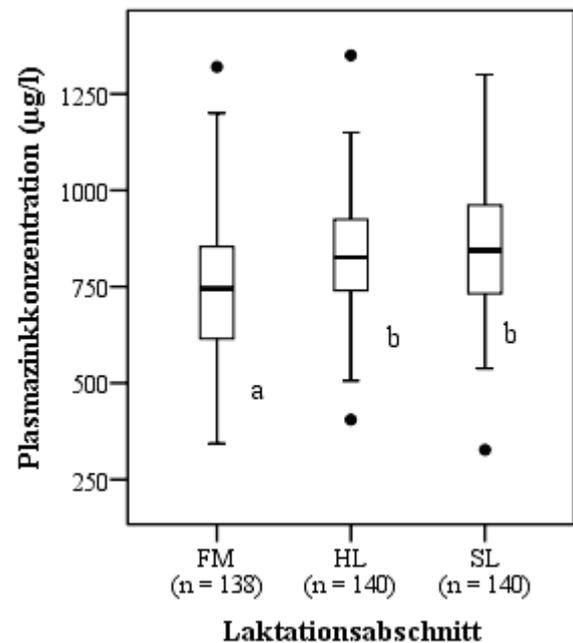


Abb. 61: Plasmazinkkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

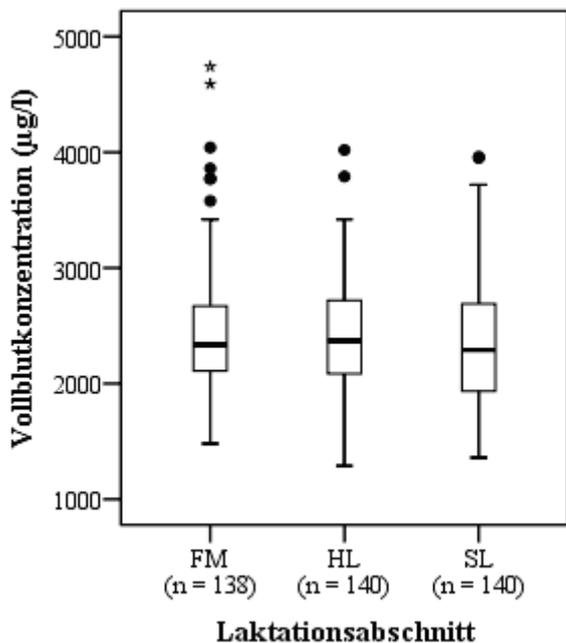


Abb. 62: Vollblutkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

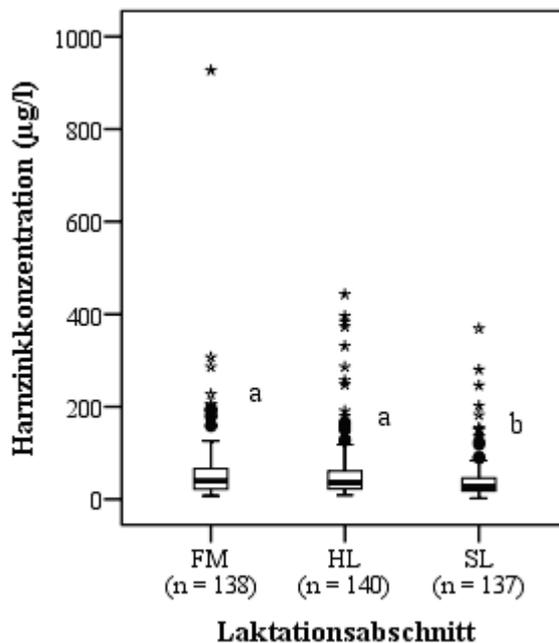


Abb. 63: Harnzinkkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

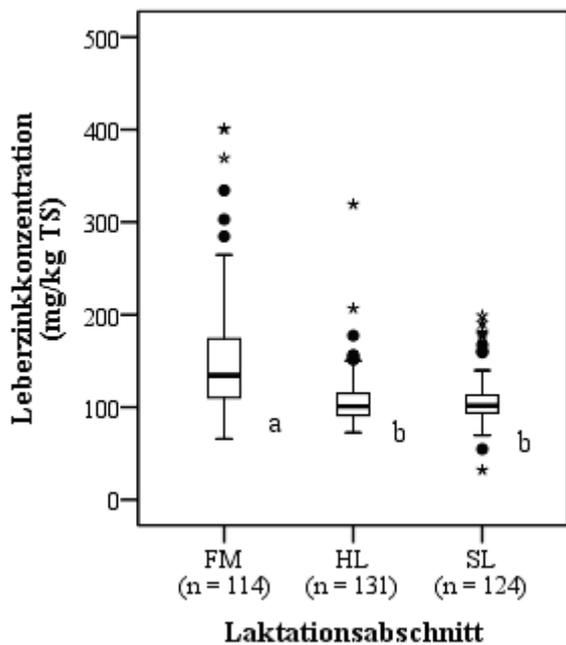


Abb. 64: Leberzinkkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

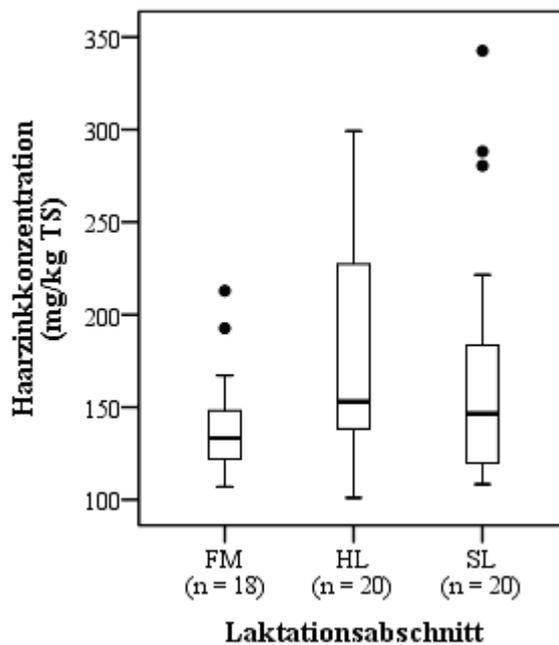


Abb. 65: Haarzinkkonzentration im Laktationsverlauf (SPW).

4.5.6 Referenzbereichsermittlung für die Substratzinkkonzentrationen

In Tab. 61 sind die für die in der Betrachtung stehenden Parameter der Substratzinkkonzentrationen erstellten Referenzintervalle dargestellt. Sofern signifikante Unterschiede für die Einzelwertkonzentration in den Substraten vorliegen (Tab. 60), führt Tab. 62 gesonderte Referenzbereiche für die betroffenen Laktationsabschnitte auf.

Tab. 61: Ermittelte Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) für die Zinkkonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Vollblut, Harn, Leber und Haar (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).

Substrat	Einheit	n	Einzelwerte	n	Mittelwerte	n	Poolwerte
Serum	µg/l	417	451 - 1160	57	583 - 1019	57	583 - 1017
Plasma		418	482 - 1170	58	618 - 1010	58	586 - 1146
Vollblut		418	1524 - 3746	58	1955 - 3122	58	1707 - 3033
Harn		415	9 - 284	55	13 - 293		
Leber	µg/kg TS	369	78 - 262	28	-		
Haar						58	104 - 322*

-. nicht berechnet (n < 40), *: SPW.

Tab. 62: Ermittelte Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) für die Zinkkonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Harn, Vollblut und Leber differenziert nach Laktationsgruppen (Einzelwerte).

Substrat	Einheit	Einzelwerte		
		Frischmelker	Hochlaktation	Spätlaktation
Serum	µg/l	396 - 1128	544 - 1170	
Plasma		402 - 1181	551 - 1170	
Harn		11 - 308		6 - 226
Leber	mg/kg TS	81 - 373	74 - 189	

n ist aus Abb. 60, Abb. 61, Abb. 63 und Abb. 64 zu entnehmen.

4.6 Ergebnisse Mangan

4.6.1 Deskriptive Statistik und Test auf Normalverteilung der Mangankonzentrationen in den Substraten

Die statistischen Kennzahlen der Mangansubstratkonzentrationen der untersuchten Parameter sind in Tab. 63 zusammengefasst. Der KS-Test weist die Verteilung der Mangankonzentrationen in den meisten Probenmedien als nicht normalverteilt aus ($p < 0,05$). Lediglich die Leber- (EW und MW), Haar- (SPW), Serum- (MW), und Vollblutkonzentration (MW) folgen einer Normalverteilung. Die Histogramme der Serum-, Plasma-, Vollblut-, Harn-, Leber- (EW) und Haarmangankonzentration (SPW) sind in Abb. 66 bis Abb. 71 dargestellt.

Tab. 63: Statistische Kennzahlen und Test auf Normalverteilung der Mangankonzentrationen in den Substraten (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).

Substrat		n	\bar{x}	Q _{0,25}	Q _{0,75}	\bar{x}	s	x _{min}	x _{max}	p	Schiefe	Kurtosis
		µg/l										
Serum	-EW	417	1,8	1,5	2,1	1,9	0,7	0,9	7,3	0	2,886	14,85
	-MW	57	1,9	1,6	2,1	1,9	0,44	1,2	3,6	0,051	1,305	2,699
	-PW	57	1,8	1,6	2,1	1,8	0,37	1,2	2,7	0,023	0,474	-0,466
Plasma	-EW	418	2	1,7	2,6	2,3	1,36	0,8	18,3	0	6,002	54,57
	-MW	58	2,2	1,9	2,7	2,3	0,74	1,2	6,5	0,003	3,287	17,49
	-PW	58	2,2	1,8	2,6	2,3	0,64	1,3	5	0,037	1,45	4,337
Vollblut	-EW	418	7,1	5,7	8,9	7,6	2,85	3,1	23,7	0	1,612	4,115
	-MW	58	7,4	6,5	8,4	7,7	1,69	5,1	13,4	0,193	1,91	1,863
	-PW	58	7	6,2	7,7	7,1	1,48	5,1	12,3	0,001	1,328	2,236
Harn	-EW	413	0,7	0,4	1,8	2,0	4,81	0	57,9	0	7,842	74,83
	-MW	53	1,0	0,6	2,5	1,9	2,11	0,1	11	0	2,727	8,752
		µg/kg TS										
Leber	-EW	369	8733	7765	9991	8852	1766	2964	16127	0,2	0,15	1,03
	-MW	29	8593	8154	9427	8827	997,7	6965	10922	0,109	0,523	-0,108
Haar	-SPW	58	4074	2473	5939	4342	2400	358	10266	0,2	0,494	-0,428

p: Signifikanzwert des KS-Tests.

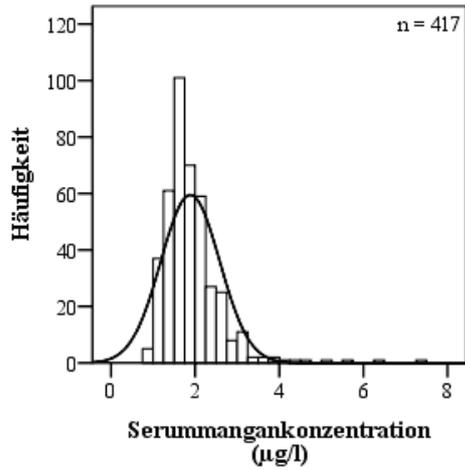


Abb. 66: Häufigkeitsverteilung Serummangankonzentration (EW).

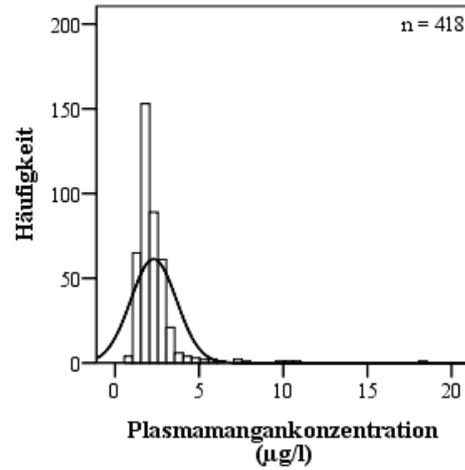


Abb. 67: Häufigkeitsverteilung Plasmamangankonzentration (EW).

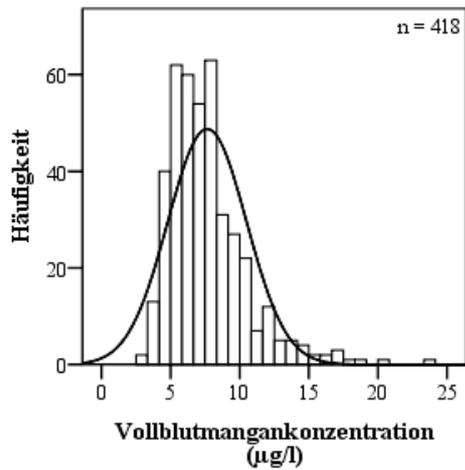


Abb. 68: Häufigkeitsverteilung Vollblutmangankonzentration (EW).

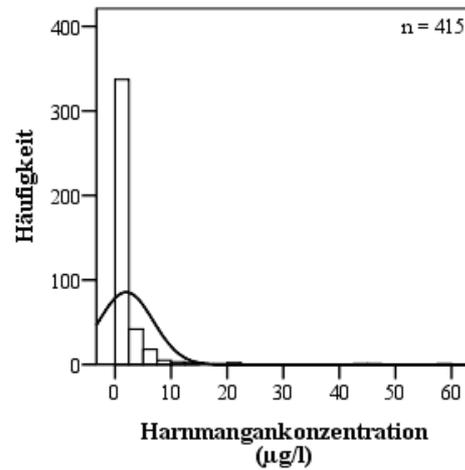


Abb. 69: Häufigkeitsverteilung Harnmangankonzentration (EW).

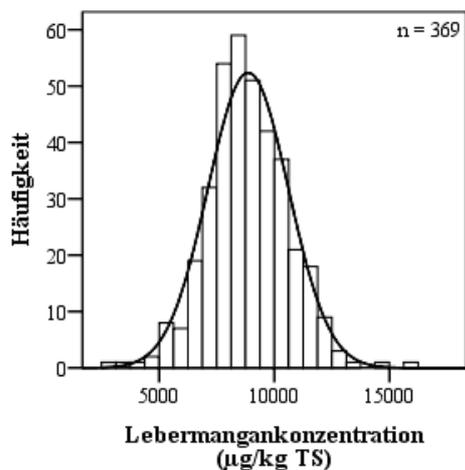


Abb. 70: Häufigkeitsverteilung Lebermangankonzentration (EW).

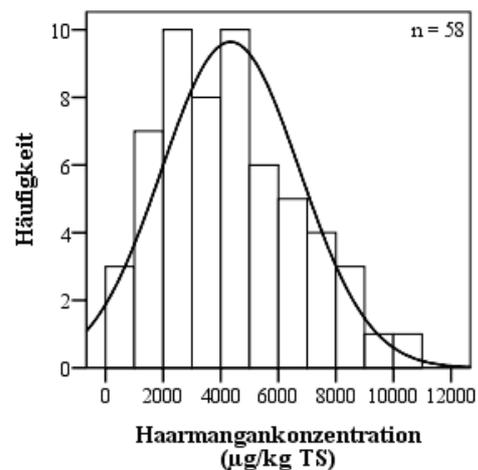


Abb. 71: Häufigkeitsverteilung Haarmangankonzentration (SPW).

4.6.2 Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serummangankonzentrationen (Einzelwerte)

In Tab. 64 und Abb. 72 sind die Ergebnisse des Bland-Altman-Methodenvergleichs zwischen den Einzelwerten der Plasma- (Pl-Mn-EW) und Serummangankonzentration (S-Mn-EW) aufgeführt. Die mittlere Differenz zwischen den beiden Parametern ist statistisch signifikant ($p < 0,05$) und beträgt $0,41 \mu\text{g/l}$. Die Übereinstimmungsgrenzen liegen bei $-1,94$ und $2,76 \mu\text{g/l}$. Die Regressionsgerade "Mittelwerte auf Differenzen" weist auf eine signifikante positive Abhängigkeit der Differenzen vom Wertebereich hin ($p < 0,05$). Die Verteilung der mittleren Differenzen weist eine Vielzahl von Extremwerten ($n = 45$) auf, deren Ausschluss zu einer erheblichen Reduktion der mittleren Differenz führt ($\bar{x}_{Dm} = 0,24 \mu\text{g/l}$). Die Übereinstimmungsgrenzen liegen hiernach bei $-0,49 \mu\text{g/l}$ und $0,96 \mu\text{g/l}$. Die positive Abhängigkeit der Differenzen vom Wertebereich bleibt erhalten.

Tab. 64: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serummangankonzentrationen (Einzelwerte).

	n	\bar{x}	\bar{x}_{Dm} [KI \bar{x}_{Dm}]	p	s_{Dm}	Übereinstimmungsgrenzen		Regression	
						untere	obere	b	r
Einheit			$\mu\text{g/l}$		$\mu\text{g/l}$				
Pl-Mn-EW	417	2,29	0,41	0,00	1,194	-1,94	2,76	0,84	0,63
S-Mn-EW		1,88	[0,29 - 0,52]					p < 0,05	

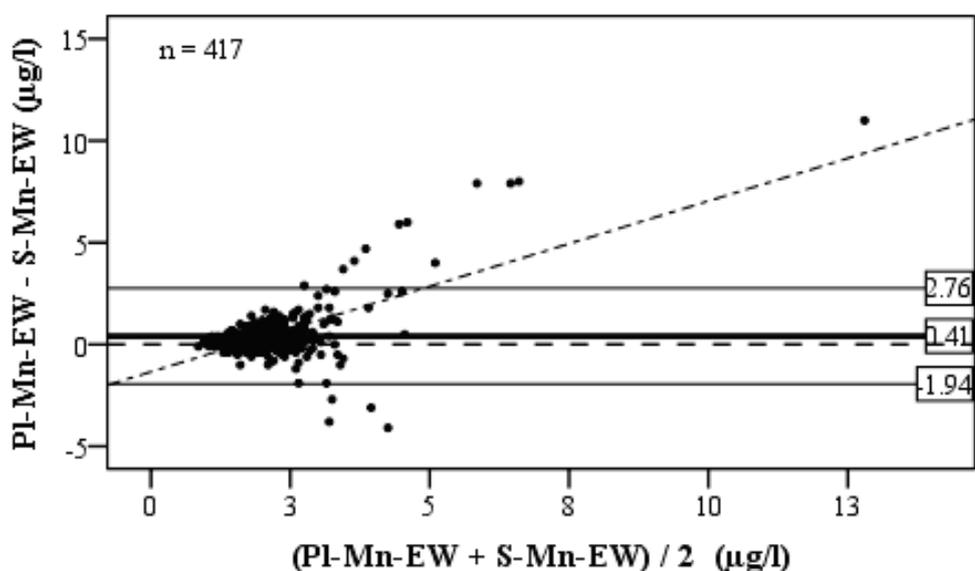


Abb. 72: Bland-Altman-Diagramm der Plasma- und Serummangankonzentrationen (EW).

4.6.3 Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmamangankonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten

Die mittlere Differenz zwischen der Plasmamangankonzentration der Gruppenmittelwerte (PI-Mn-MW) und den gepaarten Poolwertkonzentrationen (PI-Mn-PW) ist gering ($\bar{x}_{Dm} = -0,01 \mu\text{g/l}$) und statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$), bei weiten Übereinstimmungsgrenzen ($-0,89 \mu\text{g/l}$ und $0,87 \mu\text{g/l}$) (Tab. 65, Abb. 73). Die Differenzen sind zufällig über den Wertebereich verteilt ($p > 0,05$). Die Verteilung der Differenzen weist zwei Extremwerte und einen Ausreißerwert auf. Der Ausschluss dieser Werte führt zu einer deutlichen Einengung des Übereinstimmungsbereichs ($-0,67 \mu\text{g/l}$ bis $0,66 \mu\text{g/l}$).

Tab. 65: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmamangankonzentration der Gruppenmittel- und Poolwerten.

Einheit	n	\bar{x}	\bar{x}_{Dm} [KI \bar{x}_{Dm}]	p	s_{Dm}	Übereinstimmungsgrenzen		Regression	
						untere	obere	b	r
			$\mu\text{g/l}$			$\mu\text{g/l}$			
PI-Mn-MW	58	2,30	-0,01	0,92	0,438	-0,89	0,87	0,15	0,22
PI-Mn-PW		2,31	[-0,12 - 0,11]					$p > 0,05$	

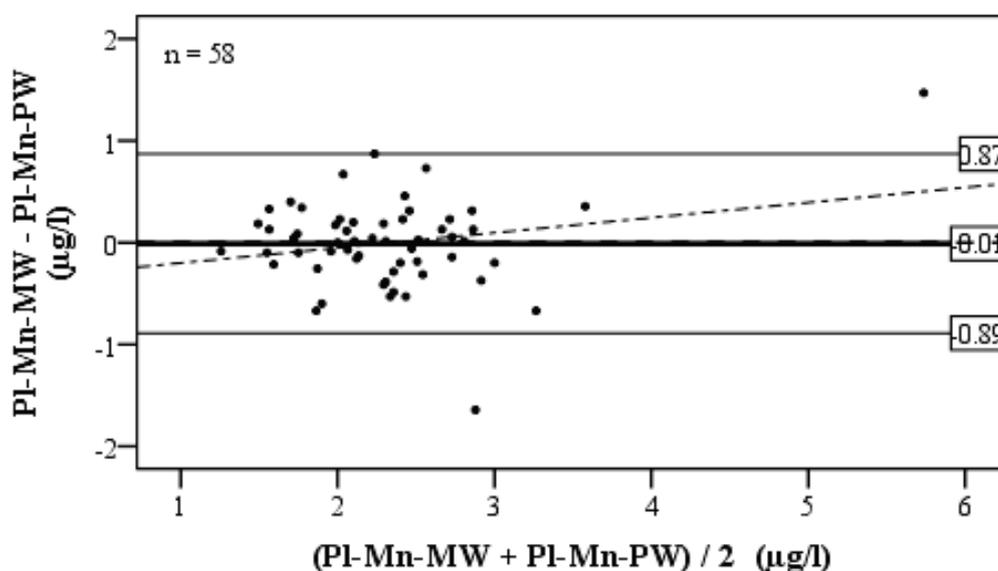


Abb. 73: Bland-Altman-Diagramm der Plasmamangankonzentrationen (MW-PW).

4.6.4 Bland-Altman-Methodenvergleich der Vollblutmangankonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten

Zwischen der mittleren Vollblutmangankonzentration der Gruppenmittelwerte (Vb-Mn-MW) und der mittleren Konzentration der Poolwerte (Vb-Mn-PW) besteht ein statistisch bedeutsamer Unterschied ($\bar{x}_{Dm} = 0,52 \mu\text{g/l}$) ($p < 0,05$). Die Übereinstimmungsgrenzen der Differenzen liegen bei $-1,67 \mu\text{g/l}$ und $2,71 \mu\text{g/l}$ (Tab. 66 und Abb. 74). Eine Abhängigkeit der Differenzen vom Wertebereich liegt nicht vor ($p > 0,05$). Bei Diskriminierung der drei in der Verteilung der Differenzen vorhandenen Extremwerte ergibt sich eine mittlere Differenz von $0,48 \mu\text{g/l}$ zwischen den beiden Messgrößen. Das Übereinstimmungsintervall reduziert sich hiernach auf einen Bereich von $-1,15 \mu\text{g/l}$ bis $2,12 \mu\text{g/l}$.

Tab. 66: Bland-Altman-Methodenvergleich der Vollblutmangankonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten.

	n	\bar{x}	\bar{x}_{Dm} [KI \bar{x}_{Dm}]	p	s_{Dm}	Übereinstimmungsgrenzen		Regression	
						untere	obere	b	r
Einheit		$\mu\text{g/l}$				$\mu\text{g/l}$			
Vb-Mn-MW	58	7,66	0,52	0,00	1,086	-1,67	2,71	0,15	0,20
Vb-Mn-PW		7,14	[0,23 - 0,80]					p > 0,05	

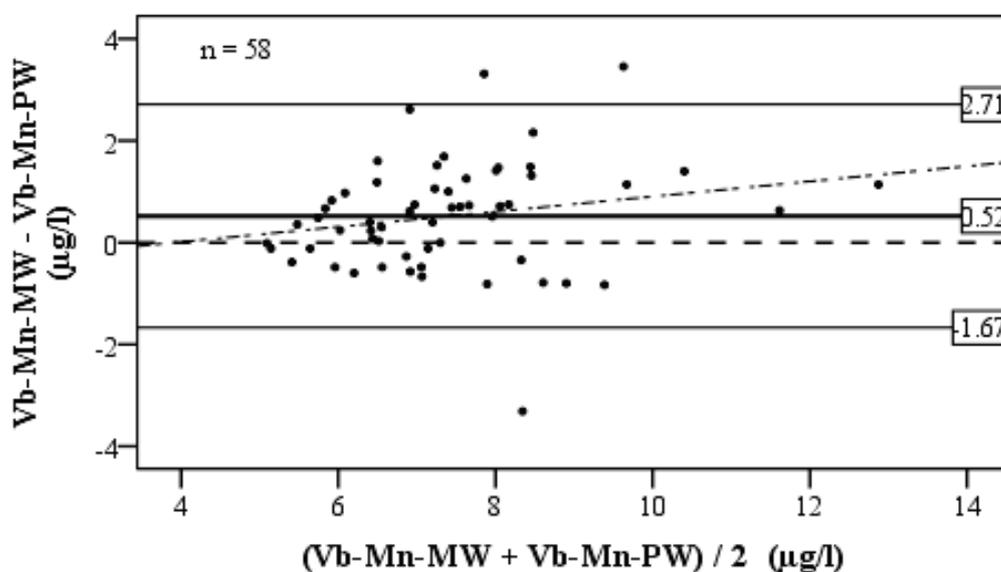


Abb. 74: Bland-Altman-Diagramm der Vollblutmangankonzentrationen (MW-PW).

4.6.5 Korrelationsanalyse der Mangankonzentrationen in den Substraten

Tab. 67 führt die zwischen den untersuchten Mangansubstratkonzentrationen berechneten Korrelationskoeffizienten auf. Die Serum-, Plasma- und Vollblutmangankonzentrationen (EW, MW) korrelieren, mit Ausnahme der Serum- und Vollblut-EW, auf einem mittlerem Niveau ($r > 0,5$ bis $r \leq 0,7$). Zwischen der Leber- und den Blutmedienkonzentrationen sind betreffend der EW geringe und betreffend der MW mittlere Zusammenhänge nachweisbar. Die Harn-, Haar- und Rationsmangengehalte korrelieren untereinander und mit den übrigen Substratkonzentrationen nur auf einem geringen oder sehr geringen Niveau. Abb. 75 veranschaulicht das Verhältnis zwischen der Leber- und Vollblutkonzentration (EW).

Tab. 67: Korrelationsmatrix der Mangankonzentrationen in den Substraten.

	Parameter	Serum	Plasma	Vollblut	Harn	Leber	Haar	Ration
Serum	r		0,60**	0,58**	0,26	0,54**	0,07	0,10
	n		57	57	52	28	57	54
Plasma	r	0,66**		0,57**	0,41**	0,58**	-0,04	0,23
	n	417		58	53	29	58	55
Vollblut	r	0,38**	0,52**		0,47**	0,63**	0,10	0,08
	n	417	418		53	29	58	55
Harn	r	0,18*	0,20**	0,16**		0,36	0,11	0,41**
	n	412	413	413		29	53	52
Leber	r	0,26**	0,26**	0,29**	0,07		0,12	-0,02
	n	368	369	369	365		29	28
Haar	r							-0,12
	n							55

EW: normal, MW und SPW: fett,

**: $p < 0,01$, *: $p < 0,05$.

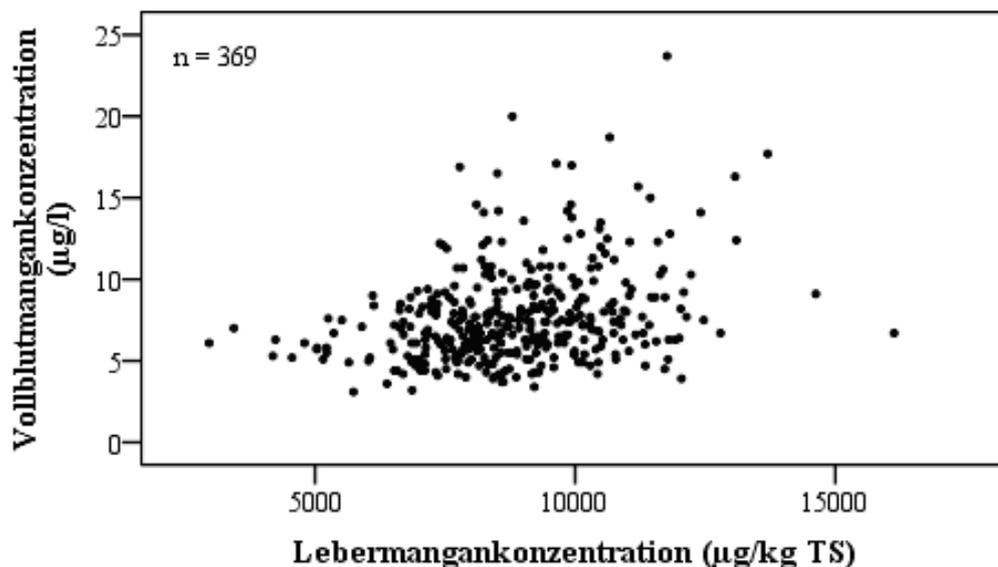


Abb. 75: Verhältnis zwischen Leber- und Vollblutmangankonzentration (EW).

4.6.6 Laktationsverlauf der Substratmangankonzentrationen

Die Ergebnisse des Vergleichs der verschiedenen Substratkonzentrationen in Bezug zum Laktationsabschnitt sind in Tab. 68 und in Abb. 76 bis Abb. 81 dargestellt. Der globale Kruskal-Wallis-Test zeigt zwischen den verschiedenen Laktationsabschnitten einen signifikanten Konzentrationsunterschied in den Substraten Serum, Plasma, Vollblut, Harn und Leber auf ($p < 0,05$). Die HL-Kühe weisen im Vergleich zu den FM- und SL-Kühen in den genannten Substraten, mit Ausnahme des Harns, durchweg die höchste mediane Mangankonzentration auf.

Die Verteilung der Mangankonzentration des Haars und der Ration unterscheidet sich hingegen zwischen den Laktationsabschnitten nicht signifikant ($p > 0,05$).

Tab. 68: Median der Substratmangankonzentrationen differenziert nach Laktationsstadien.

Substrat	Serum	Plasma	Vollblut	Harn	Leber	Haar	Ration
	Einzelwerte					Sammelprobenwerte	
Einheit	$\mu\text{g/l}$				$\mu\text{g/kg TS}$	mg/kg TS	
FM	1,5 ^a	1,8 ^a	7,0 ^a	0,6 ^a	8157 ^a	3956	91
HL	1,9 ^b	2,2 ^b	7,9 ^b	0,8 ^b	9671 ^b	4274	87
SL	1,8 ^c	1,9 ^c	6,9 ^a	0,9 ^b	8387 ^a	4286	98
n	417	418	418	413	369	58	55

unterschiedliche Buchstaben (a-c) kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Laktationsgruppen in den Spalten (Mann-Whitney-U-Test, $p < 0,05$).

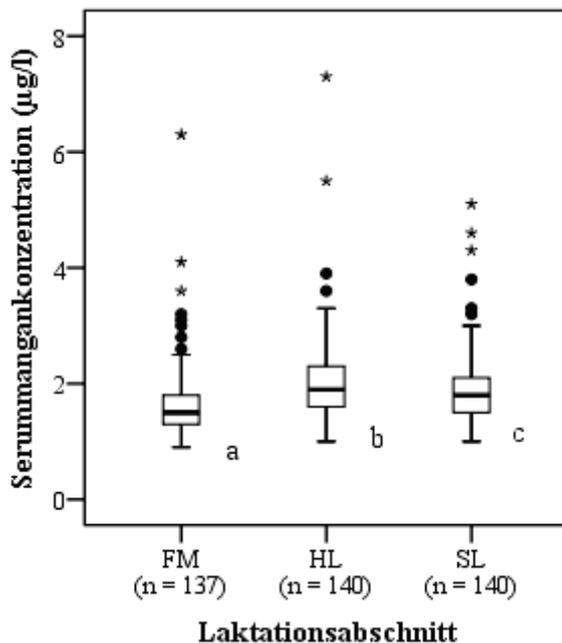


Abb. 76: Serum mangankonzentration im Laktationsverlauf (EW).

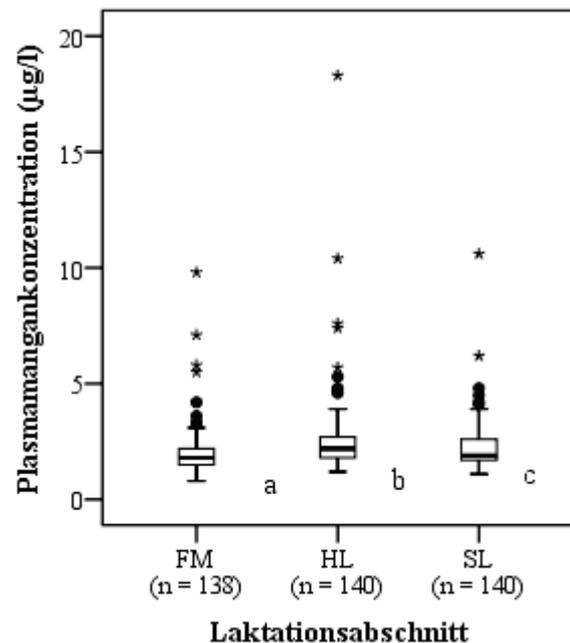


Abb. 77: Plasmamangankonzentration im Laktationsverlauf (EW).

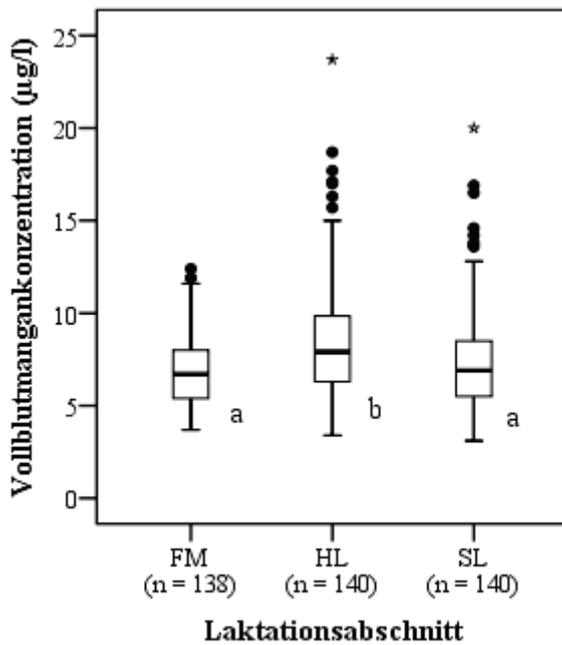


Abb. 78: Vollblutmangankonzentration im Laktationsverlauf (EW).

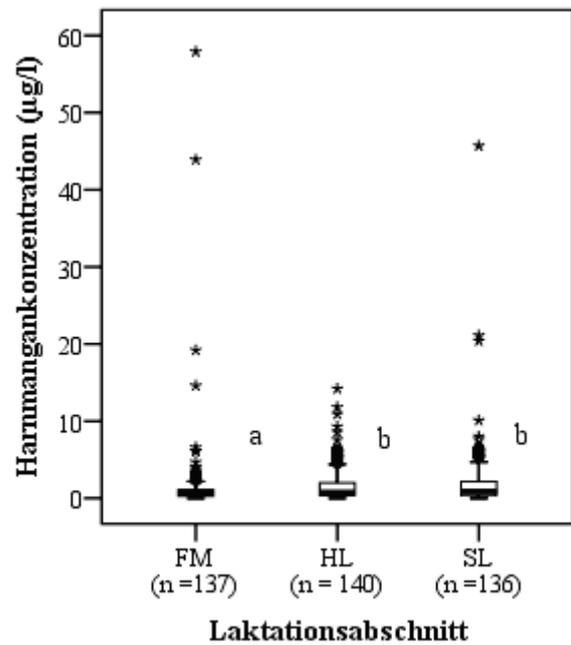


Abb. 79: Harnmangankonzentration im Laktationsverlauf (EW).

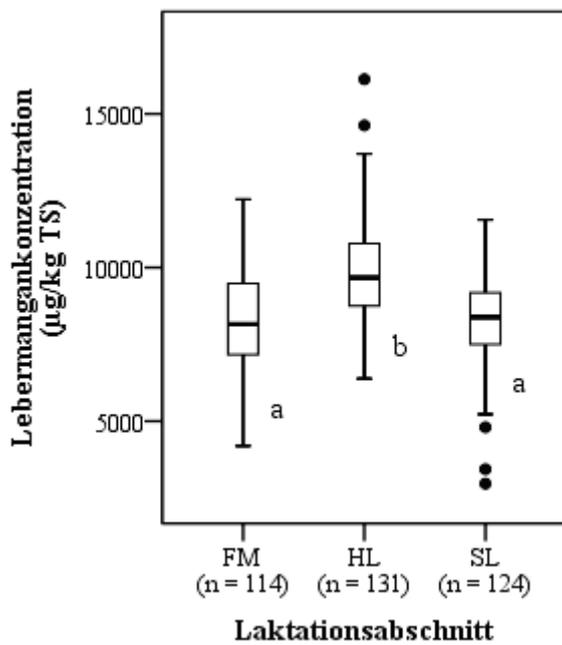


Abb. 80: Lebermangankonzentration im Laktationsverlauf (EW).

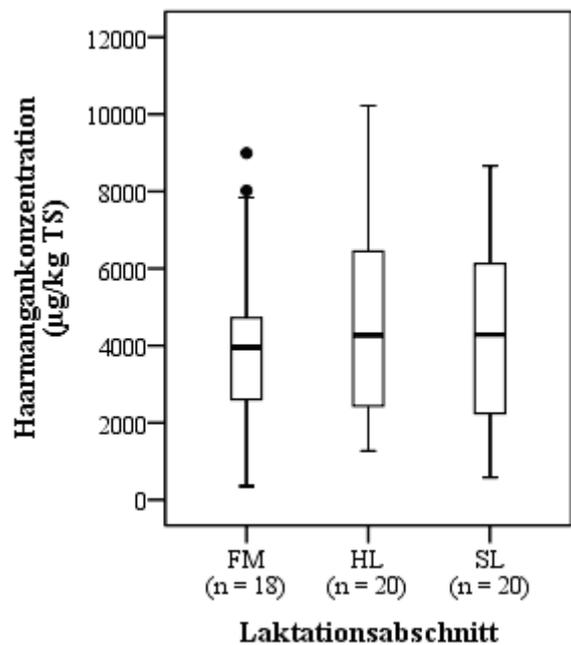


Abb. 81: Haarmangankonzentration im Laktationsverlauf (SPW).

4.6.7 Referenzbereichsermittlung für die Substratmangankonzentrationen

Die ermittelten Referenzbereiche der Mangankonzentration in den untersuchten Substraten sind für die EW, MW, PW und SPW in Tab. 69 aufgeführt. Da sich für alle Substrate signifikante Konzentrationsunterschiede im Laktationsverlauf nachweisen lassen (Tab. 68), werden in Abhängigkeit von den sich unterscheidenden Laktationsabschnitten separate Referenzgrenzen für die Einzelwertkonzentrationen ausgewiesen (Tab. 70).

Tab. 69: Ermittelte Referenzbereiche (2,5. bis 97,5.-Perzentil) für die Mangankonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Vollblut, Harn, Leber und Haar (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).

Substrat	Einheit	n	Einzelwerte	n	Mittelwerte	n	Poolwerte
Serum	µg/l	417	1,1 - 3,6	57	1,3 - 3,3	57	1,3 - 2,7
Plasma		418	1,2 - 5,6	58	1,3 - 5,2	58	1,4 - 4,4
Vollblut		418	4,0 - 15,4	58	5,1 - 12,7	58	5,2 - 11,8
Harn		413	0,10 - 10,6	53	0,2 - 10,5		
Leber	µg/kg TS	369	5220 - 12205	29	-		
Haar						58	465 - 8972*

-: nicht ermittelt (n < 40), *: SPW.

Tab. 70: Ermittelte Referenzbereiche (2,5. bis 97,5.-Perzentil) für die Mangankonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Harn, Vollblut und Leber differenziert nach Laktationsgruppen (Einzelwerte).

Substrat	Einheit	Einzelwerte		
		Frishmelker	Hochlaktation	Spätlaktation
Serum	µg/l	0,9 - 3,4	1,2 - 3,7	1,1 - 4,0
Plasma		1,0 - 5,6	1,4 - 7,5	1,3 - 4,6
Harn		0,1 - 17,1	0,1 - 10,2	
Substrat	Einheit	Spätlaktation	Frishmelker	Hochlaktation
Vollblut	µg/l	4,0 - 13,6		3,8 - 17,4
Leber	µg/kg TS	4795 - 11427		6922 - 13520

n ist aus Abb. 76 bis Abb. 80 zu entnehmen.

4.7 Ergebnisse Selen

4.7.1 Deskriptive Statistik und Test auf Normalverteilung der Selenkonzentrationen in den Substraten

In Tab. 71 sind die statistischen Lagemaße der Selenkonzentration in den verschiedenen Substraten für die EW, MW, PW und SPW aufgeführt. Sowohl die EW als auch die MW und PW der Serumselenkonzentration sind als normalverteilt zu betrachten, während das Plasma ausschließlich in den PW einer Normalverteilung folgt. Während das Vollblut und das Haar keine Normalverteilung aufweisen, sind die Leber- und Harnselenkonzentration nur in den MW normalverteilt. Die Häufigkeitsverteilung der Serum-, Plasma-, Vollblut-, Harn-, Leber- (EW) und der Haarselenkonzentration (SPW) wird in Abb. 82 bis Abb. 87 veranschaulicht.

Tab. 71: Statistische Kennzahlen und Test auf Normalverteilung der Selenkonzentrationen in den Substraten (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).

Substrat		n	\bar{x}	Q _{0,25}	Q _{0,75}	\bar{x}	s	x _{min}	x _{max}	p	Schiefe	Kurtosis
		µg/l										
Serum	-EW	417	84	73	96	85	17,4	35	166	0,2	0,444	1,126
	-MW	57	83	76	92	85	14,4	59	129	0,2	0,674	1,145
	-PW	57	82	71	92	83	15	56	117	0,2	0,45	-0,495
Plasma	-EW	418	93	82	105	95	19,5	46	211	0	1,163	3,96
	-MW	58	92	85	103	95	16	70	163	0,024	1,596	4,74
	-PW	58	93	84	106	96	17,7	70	161	0,188	1,496	3,829
Vollblut	-EW	418	219	195	250	225	53,9	80	472	0	0,874	2,607
	-MW	58	219	202	236	225	48,2	121	394	0	1,051	2,834
	-PW	58	216	184	242	220	49,6	107	360	0,022	0,637	0,998
Harn	-EW	413	116	70	179	135	94,4	3	633	0	1,507	0,12
	-MW	53	123	80	167	133	70,7	29	357	0,191	1,033	1,042
		µg/kg TS										
Leber	-EW	369	1854	1512	2441	2100	1123	600	13125	0	4,486	34,12
	-MW	29	1859	1508	2336	1939	527,4	897	3154	0,2	0,208	-0,187
Haar	-SPW	58	1042	942	1216	1101	287	474	1771	0,01	0,452	-0,024

p: Signifikanzwert des KS-Tests.

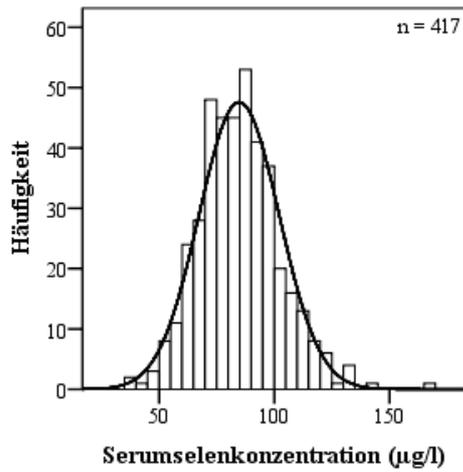


Abb. 82: Häufigkeitsverteilung Serumselenkonzentration (EW).

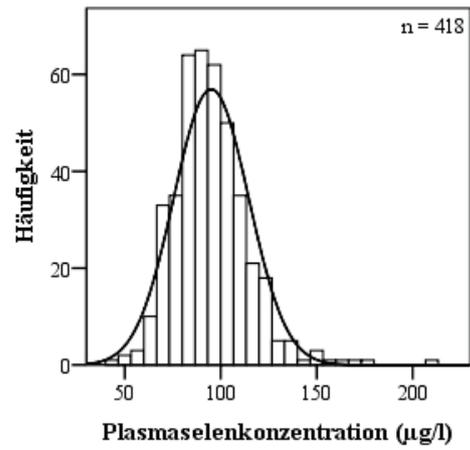


Abb. 83: Häufigkeitsverteilung Plasmaseleknkonzentration (EW).

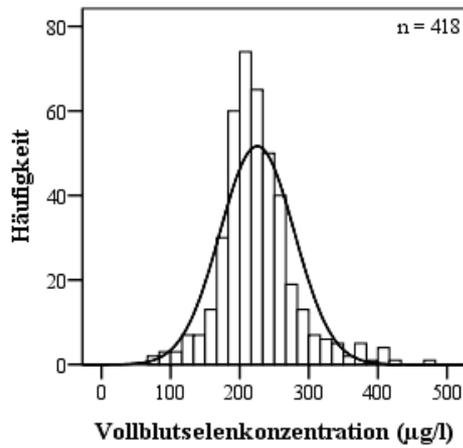


Abb. 84: Häufigkeitsverteilung Vollblutselenkonzentration (EW).

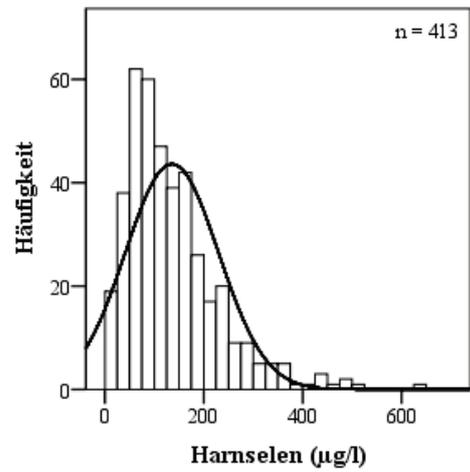


Abb. 85: Häufigkeitsverteilung Harnselenkonzentration (EW).

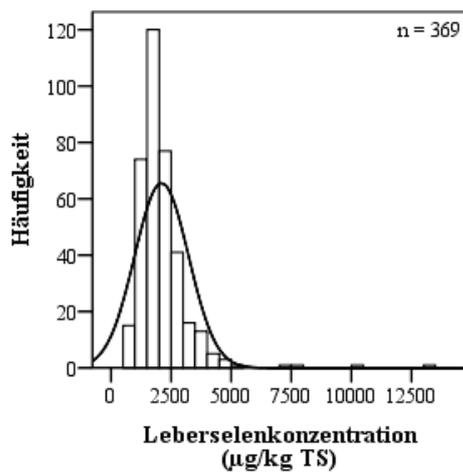


Abb. 86: Häufigkeitsverteilung Leberselenkonzentration (EW).

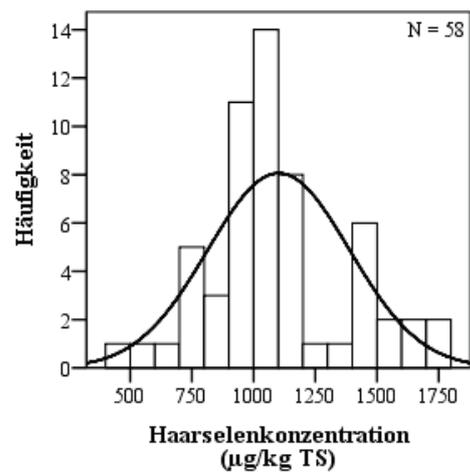


Abb. 87: Häufigkeitsverteilung Haarselenkonzentration (SPW).

4.7.2 Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serumselenkonzentrationen (Einzelwerte)

Die Einzelwerte der Serumselenkonzentration (S-Se-EW) sind durchschnittlich 10,3 µg/l geringer als die gepaarten Plasmakonzentrationswerte (P-Se-EW). Die Differenz zwischen den beiden Messgrößen ist statistisch signifikant ($p < 0,05$). Die absoluten Übereinstimmungsgrenzen liegen bei -15,7 µg/l und 36,3 µg/l (Tab. 72, Abb. 88). Die Regressionsgerade "Mittelwerte auf Differenzen" weist auf eine signifikante positive Abhängigkeit der Differenzen vom Wertebereich hin ($p < 0,05$). Nach Ausschluss der Extremwerte ($n = 17$) ergibt sich eine mittlere Differenz von 9,4 µg/l, hierbei liegt die untere Übereinstimmungsgrenze bei -12,3 µg/l und die obere Übereinstimmungsgrenze bei 31,0 µg/l. Die signifikante Abhängigkeit der Differenzen vom Wertebereich geht durch die Entnahme der Extremwerte verloren.

Tab. 72: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serumselenkonzentrationen (Einzelwerte).

	n	\bar{x}	\bar{x}_{Dm} [KI \bar{x}_{Dm}]	p	s_{Dm}	Übereinstimmungsgrenzen		Regression	
						untere	obere	b	r
Einheit		µg/l			µg/l				
Pl-Se-EW	417	95,1	10,3	0,00	13,22	-15,7	36,3	0,13	0,17
S-Se-EW		84,8	[9,1 - 11,6]					p < 0,05	

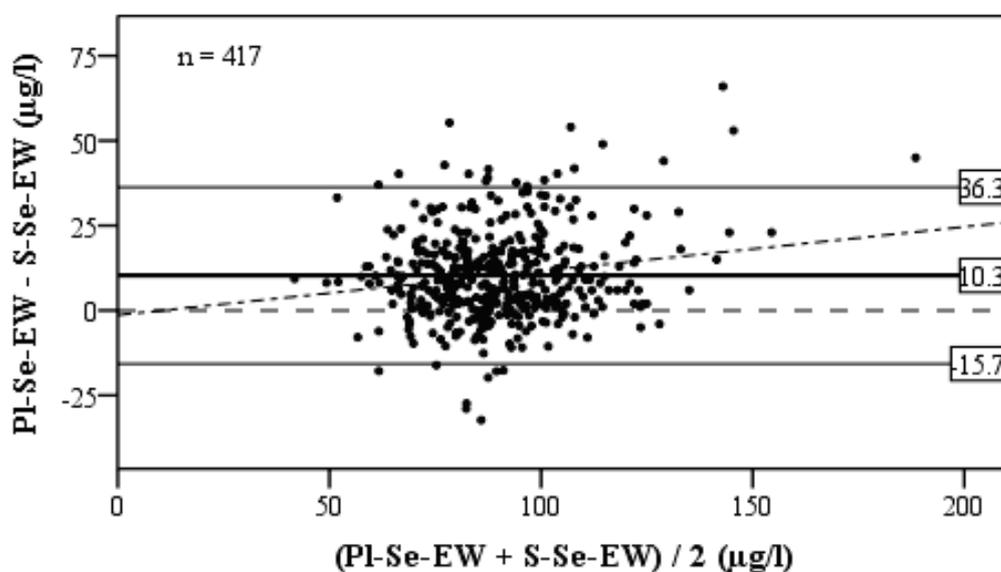


Abb. 88: Bland-Altman-Diagramm der Plasma- und Serumselenkonzentrationen (EW).

4.7.3 Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmaselenkonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten

Die mittlere Verzerrung ($\bar{x}_{Dm} = -1 \mu\text{g/l}$) zwischen der Plasmaselenkonzentration der Gruppenmittelwerte (PI-Se-MW) und der Konzentration der gepaarten Poolwerte (PI-Se-PW) ist statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$). Die Übereinstimmungsgrenzen liegen bei $-20,7 \mu\text{g/l}$ und $18,7 \mu\text{g/l}$ (Tab. 73, Abb. 89). Die Differenzen sind zufällig über den Wertebereich verteilt ($p > 0,05$). Die Entnahme der Extremwerte ($n = 3$) aus der Verteilung der einzelnen Differenzen erhöht die untere Übereinstimmungsgrenze auf $-13,2 \mu\text{g/l}$ und erniedrigt die obere auf $14,5 \mu\text{g/l}$. Die mittlere Differenz liegt hiernach bei $1 \mu\text{g/l}$.

Tab. 73: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmaselenkonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten.

	n	\bar{x}	\bar{x}_{Dm} [KI \bar{x}_{Dm}]	p	s_{Dm}	Übereinstimmungsgrenzen		Regression	
						untere	obere	b	r
Einheit		$\mu\text{g/l}$			$\mu\text{g/l}$				
PI-Se-MW	58	95,1	-1,0	0,46	9,75	-20,7	18,7	-0,11	-0,18
PI-Se-PW		96,0	[-3,5 - 1,6]					$p > 0,05$	

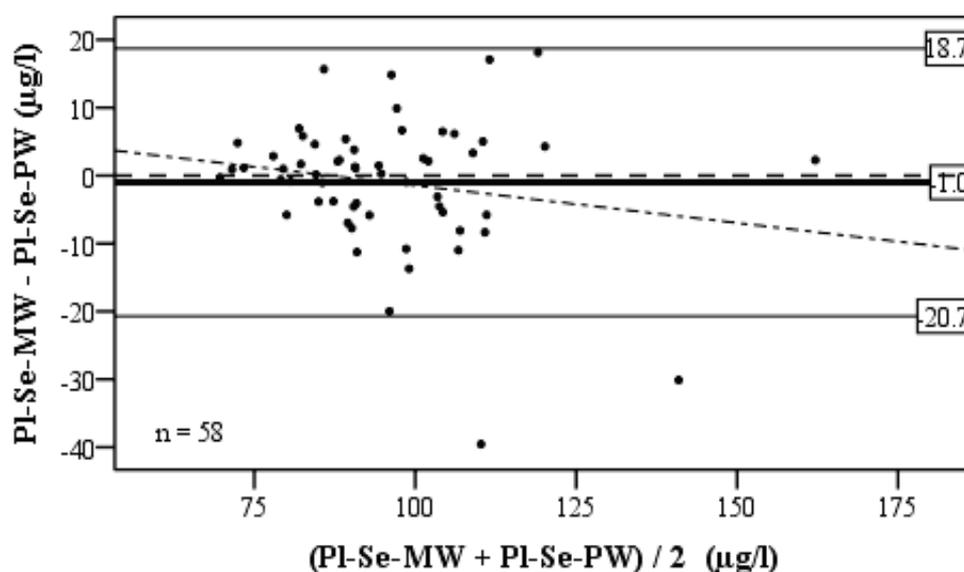


Abb. 89: Bland-Altman-Diagramm der Plasmaselenkonzentrationen (MW-PW).

4.7.4 Bland-Altman-Methodenvergleich der Vollblutselenkonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten

Im Durchschnitt sind die Vollblutselenpoolwerte (Vb-Se-PW) 5,1 $\mu\text{g/l}$ geringer als die gepaarten Gruppenmittelwerte (Vb-Se-MW) (Tab. 74, Abb. 90). Die mittlere Differenz zwischen den beiden Parametern ist statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$). Die Übereinstimmungsgrenzen liegen bei -55,1 $\mu\text{g/l}$ und 65,2 $\mu\text{g/l}$. Eine Abhängigkeit der Differenzen vom Wertebereich liegt nicht vor ($p > 0,05$). Durch die Eliminierung der Extremwerte ($n = 6$) ergibt sich eine mittlere Differenz von 1,7 $\mu\text{g/l}$ und ein Übereinstimmungsintervall, das von -35,0 $\mu\text{g/l}$ und 38,3 $\mu\text{g/l}$ begrenzt wird.

Tab. 74: Bland-Altman-Methodenvergleich der Vollblutselenkonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten.

	n	\bar{x}	\bar{x}_{Dm} [KI \bar{x}_{Dm}]	p	s_{Dm}	Übereinstimmungsgrenzen		Regression	
						untere	obere	b	r
Einheit		$\mu\text{g/l}$			$\mu\text{g/l}$				
Vb-Se-MW	58	225,5	5,1	0,20	29,79	-55,1	65,2	-0,03	-0,05
Vb-Se-PW		220,4	[-2,8 - 12,9]					$p > 0,05$	

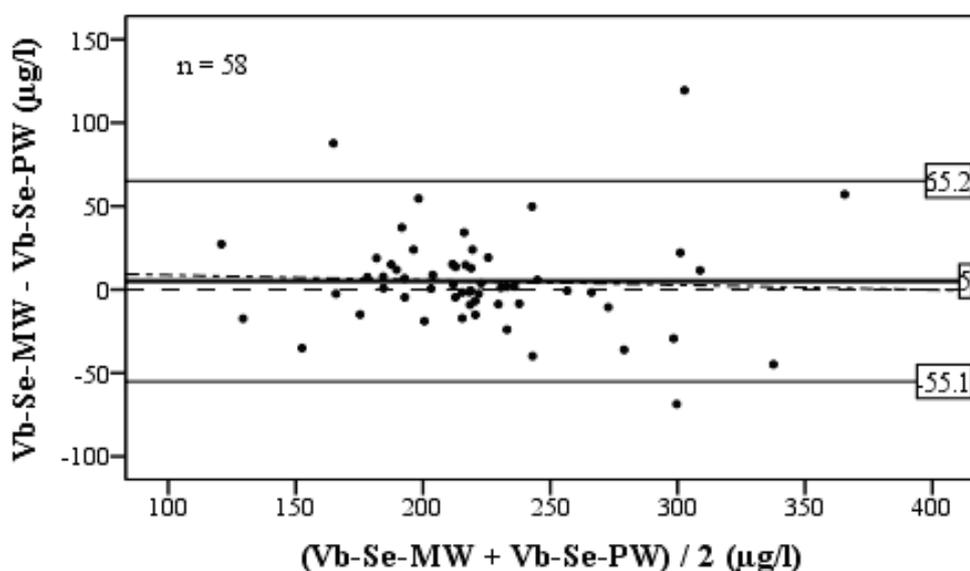


Abb. 90: Bland-Altman-Diagramm der Vollblutselenkonzentrationen (MW-PW).

4.7.5 Korrelationsanalyse der Selenkonzentrationen in den Substraten

Die zwischen den Substratselenkonzentrationen berechneten Korrelationen sind in Tab. 75 aufgeführt. Die Zusammenhänge zwischen den Serum- und Plasmakonzentrationen (EW, MW) sind als hoch zu bewerten ($r = 0,71$ bzw. $r = 0,84$). Zwischen den EW der Plasma-, Vollblut-, Harn- und Leberselenkonzentrationen sind nur geringe Korrelationen nachweisbar ($r \geq 0,28$ bis $r \leq 0,43$). Die MW dieser Probenmedienkonzentrationen korrelieren hingegen auf einem mittleren Niveau ($r = 0,51$ bis $r = 0,69$). Die Selenkonzentrationen der Haar- und Rationssammelproben korrelieren mit den MW der übrigen Substrate auf einem geringem oder nur sehr geringem Niveau ($r \leq 0,5$). Abb. 91 veranschaulicht das Verhältnis zwischen Leber- und Plasmaselenkonzentration (EW).

Tab. 75: Korrelationsmatrix der Selenkonzentrationen in den Substraten.

	Parameter	Serum	Plasma	Vollblut	Harn	Leber	Haar	Ration
Serum	r		0,84**	0,38**	0,46**	0,37	0,09	-0,06
	n		57	57	52	28	57	47
Plasma	r	0,71**		0,61**	0,59**	0,55**	0,14	-0,03
	n	417		58	53	29	58	48
Vollblut	r	0,30**	0,42**		0,50**	0,65**	0,08	0,14
	n	417	418		53	29	58	48
Harn	r	0,31**	0,36**	0,29**		0,69**	0,26	0,32*
	n	412	413	413		29	53	45
Leber	r	0,25**	0,28**	0,43**	0,40**		0,37*	0,06
	n	368	369	369	365		29	24
Haar	r							0,49**
	n							48

EW: normal, MW und SPW: **fett**,

** : $p < 0,01$, * : $p < 0,05$.

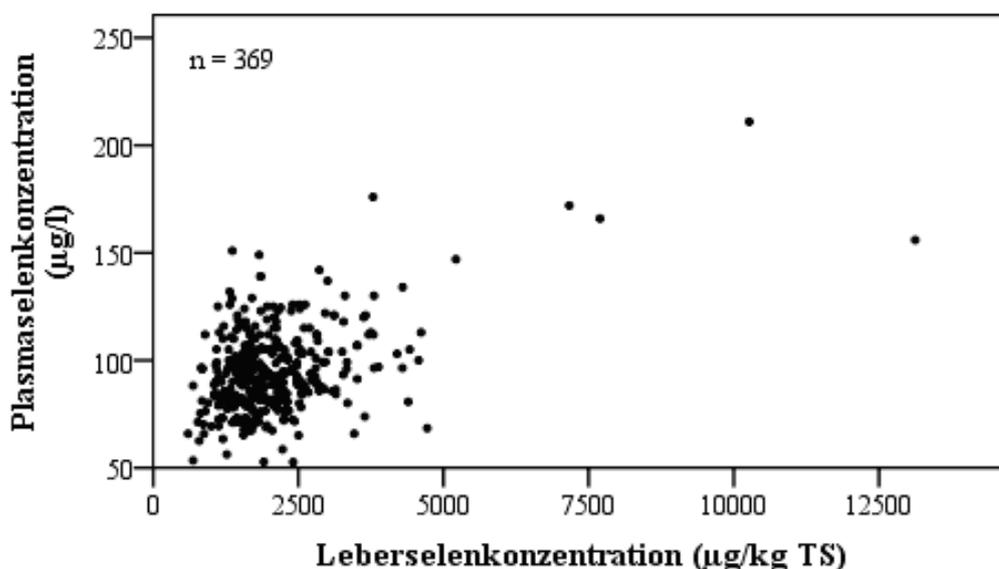


Abb. 91: Verhältnis zwischen Leber- und Plasmaselenkonzentration (EW).

4.7.6 Laktationsverlauf der Substratselenkonzentrationen

In Tab. 76 und Abb. 92 bis Abb. 97 sind die Ergebnisse der laktationsphasendifferenzierten Betrachtung der Selenkonzentrationen in den untersuchten Probenmedien aufgeführt. Für die Substrate Vollblut, Haar und Ration ist kein signifikanter Unterschied zwischen den Laktationsgruppen nachweisbar. Hingegen unterscheiden sich die Konzentrationsverteilungen der Serum-, Plasma-, Harn- und Leberselenkonzentration zwischen den Laktationsabschnitten signifikant. Hierbei ist ein tendenziell gleichgerichteter Konzentrationsverlauf über die drei Laktationsphasen in diesen Substraten festzustellen.

Tab. 76: Median der Substratselenkonzentrationen differenziert nach Laktationsstadien.

Substrat	Serum	Plasma	Vollblut	Harn	Leber	Haar	Ration
	Einzelwerte					Sammelprobenwerte	
Einheit	µg/l				µg/kg TS		mg/kg TS
FM	83 ^a	92 ^a	213	95 ^a	1646 ^a	993	0,46
HL	90 ^b	100 ^b	216	129 ^b	1977 ^b	1091	0,43
SL	78 ^a	88 ^a	224	108 ^{a,b}	1867 ^b	1082	0,45
n	417	418	418	413	369	58	50

unterschiedliche Buchstaben (a-c) kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Laktationsgruppen in den Spalten (Mann-Whitney-U-Test, $p < 0,05$).

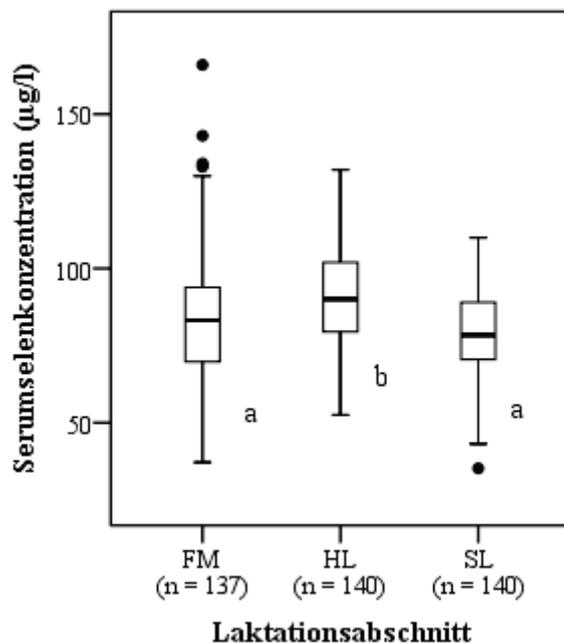


Abb. 92: Serumselenkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

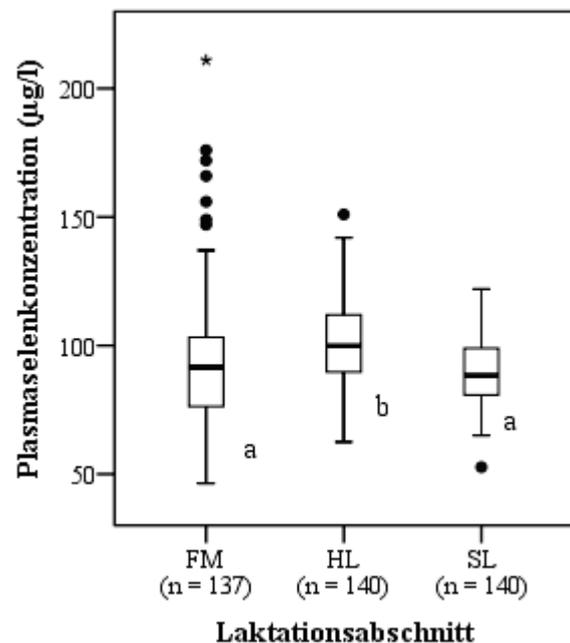


Abb. 93: Plasmaselenkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

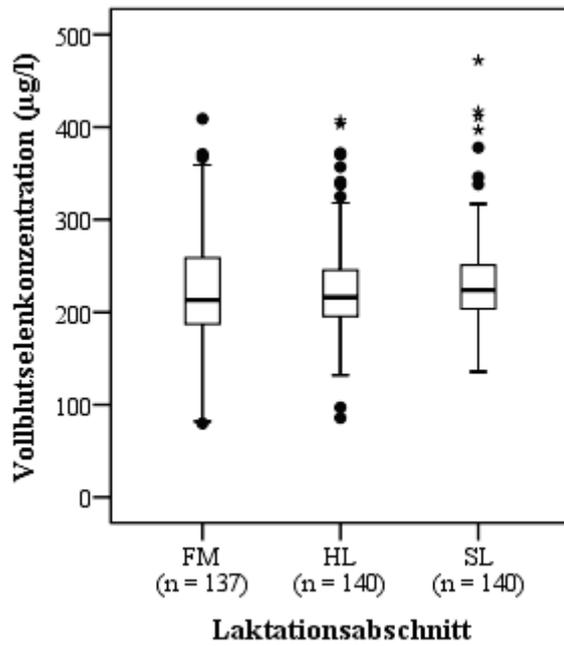


Abb. 94: Vollblutselenkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

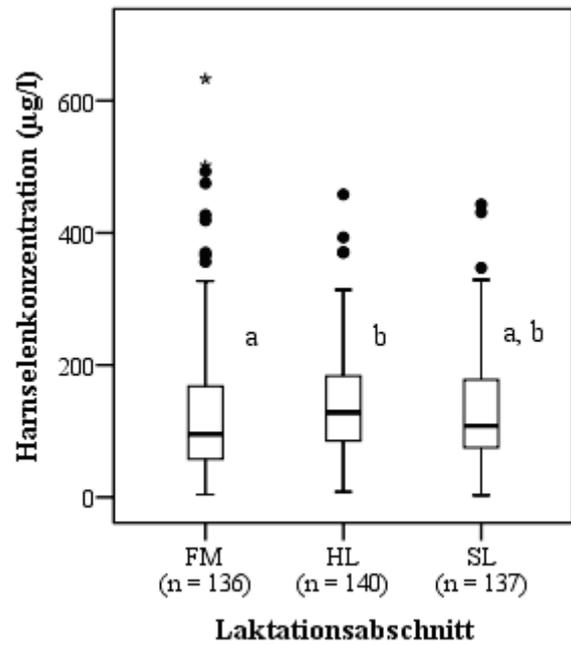


Abb. 95: Harnselenkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

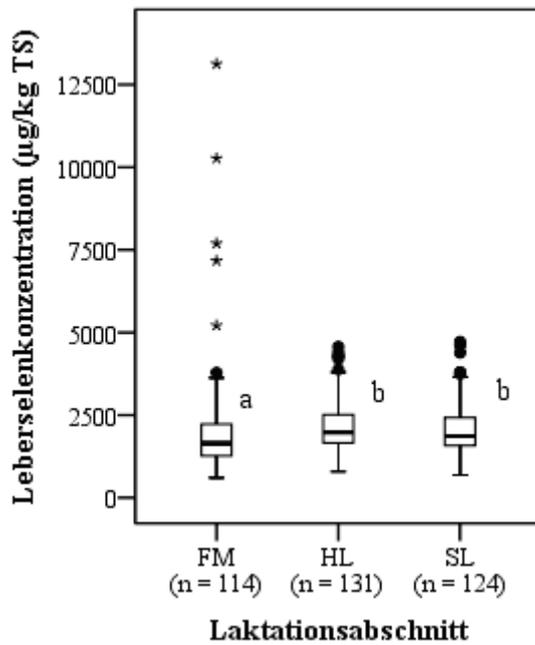


Abb. 96: Leberselenkonzentration im Laktationsverlauf (EW).

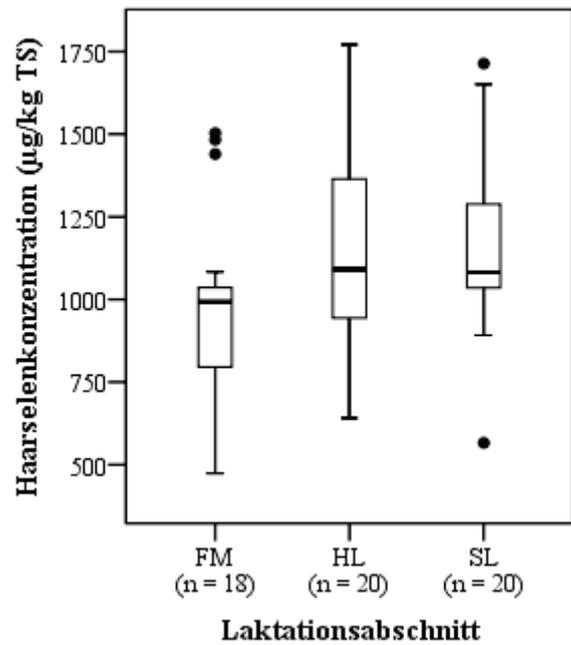


Abb. 97: Haarselenkonzentration im Laktationsverlauf (SPW).

4.7.7 Referenzbereichsermittlung für die Substratselenkonzentrationen

In Tab. 77 sind die ermittelten Referenzintervalle für die Selenkonzentration der untersuchten Substrate für die EW, MW, PW und SPW aufgeführt. Signifikante Unterschiede zwischen den medianen Substratselenkonzentrationen der drei Laktationsabschnitte (Tab. 76) werden durch die Ausweisung von differenzierten Referenzbereichen in Tab. 78 berücksichtigt.

Tab. 77: Ermittelte Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) für die Selenkonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Vollblut, Harn, Leber und Haar (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).

Substrat	Einheit	n	Einzelwerte	n	Mittelwerte	n	Poolwerte
Serum	µg/l	417	53 - 123	57	59 - 125	57	58 - 117
Plasma		418	65 - 139	58	71 - 147	58	70 - 159
Vollblut		418	124 - 371	58	127 - 379	58	114 - 349
Harn		415	15 - 385	53	30 - 336		
Leber	µg/kg TS	369	842 - 4411	29	-		
Haar						58	518 - 1744*

-: nicht berechnet (n < 40), *: SPW.

Tab. 78: Ermittelte Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) für die Selenkonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Harn, Vollblut und Lebern differenziert nach Laktationsgruppen (Einzelwerte).

Substrat	Einheit	Einzelwerte		
		Spätlaktation	Frischmelker	Hochlaktation
Serum	µg/l	51 - 123		62 - 123
Plasma		63 - 147		69 - 139
Substrat	Einheit	Hochlaktation	Spätlaktation	Frischmelker
Harn	µg/l	16 - 485		13 - 348
Substrat	Einheit	Frischmelker	Hochlaktation	Spätlaktation
Leber	µg/kg TS	760 - 8017	1087 - 4294	

n ist aus Abb. 92, Abb. 93, Abb. 95 und Abb. 96 zu entnehmen.

4.8 Korrelationsanalyse zwischen den Spurenelementkonzentrationen der Substrate Plasma und Leber

Tab. 79 führt die zwischen den Plasma- und Leberspurenelementkonzentrationen berechneten Korrelationskoeffizienten auf. Signifikante Korrelationen sind in der Tabelle, in den an der eingezeichneten Linie gespiegelten Feldern, ausgewiesen. Zwischen den Kupfer- und Selenkonzentrationen der Lebergewebe ist ein mittlerer Zusammenhang festzustellen ($r = 0,56$). Ferner sind nur sehr geringe oder geringe Korrelationen zwischen den Spurenelementkonzentrationen der Substrate Plasma und Leber zu beobachten (Tab. 79). Das Verhältnis zwischen Kupfer und Selen in der Leber (EW) ist zur Veranschaulichung in Abb. 98 graphisch dargestellt.

Tab. 79: Korrelationsmatrix der Spurenelementkonzentrationen in den Substraten Plasma und Leber (Einzelwerte).

r		Cu-		Mo-		Fe-		Zn-		Mn-		Se-	
		PI	L	PI	L	PI	L	PI	L	PI	L	PI	L
Cu-	PI		**		**			**	**	**	**		
	L	-0,14			**		**	**		*	**	**	**
Mo-	PI	-0,03	-0,01							*		**	
	L	-0,20	0,39	0,10		**	**				**		**
Fe-	PI	0,02	-0,08	-0,02	-0,23		*	**	**	**			
	L	0,04	-0,22	-0,02	-0,20	0,13			**		**	**	*
Zn-	PI	-0,14	0,18	0,07	0,03	0,35	-0,06			**	*	**	*
	L	0,34	-0,02	-0,01	0,02	-0,26	0,16	-0,05					
Mn-	PI	0,18	0,12	0,13	-0,02	0,29	-0,04	0,29	-0,04		**	**	*
	L	-0,15	0,23	0,08	0,40	-0,02	-0,28	0,11	-0,06	0,26		**	*
Se-	PI	0,00	0,20	0,25	-0,03	0,03	-0,19	0,20	-0,05	0,17	0,17		**
	L	-0,10	0,56	-0,01	0,15	0,06	-0,11	0,11	-0,04	0,11	0,13	0,28	

PI: Plasma (n = 418), L: Leber (n = 369),

** p < 0,01, * p < 0,05.

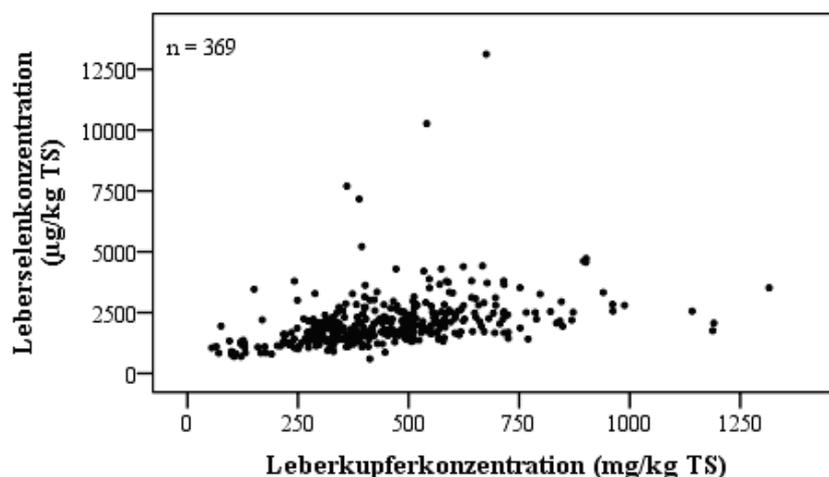


Abb. 98: Verhältnis zwischen Leberkupfer- und Leberselenkonzentration (EW).

5 Diskussion

5.1 Rationsanalyse

Die Ergebnisse der Rationsanalysen geben grundsätzlich nur eine Übersicht der Versorgungssituation zum Zeitpunkt der Probenahme wieder, deren Niveau aber aufgrund kalkulierter Fütterungsregime in den Betrieben als mittel- bis langfristig bestehend angenommen werden kann. In der Praxis ist, trotz korrekter Berechnung und Zusammenstellung der Ration, durch fehlerhafte Futtermischtechnik mit einer gewissen Inhomogenität der Spurenelementgehalte in den Rationen zu rechnen (Steinhöfel 2008). Aus diesem Grund wurden neben den einzelnen, die mittleren Rationsgehalte in den Betrieben zur Auswertung herangezogen.

In der Gesamtschau ist die Spurenelementversorgung der hier untersuchten Milchkühe (Tab. 31, Tab. 32) nach den Angaben des NRC (2001; 2005) als bedarfsgerecht bis hochversorgt zu bewerten. Da die Ergebnisse signifikante Unterschiede in der Spurenelementversorgung der drei beprobten Laktationsabschnitte vermissen lassen (Tab. 39, Tab. 46, Tab. 53, Tab. 60, Tab. 68, Tab. 76), ist davon auszugehen, dass signifikante Konzentrationsunterschiede in den Probenmedienkonzentrationen vorwiegend auf versorgungsunabhängige Einflüsse zurückzuführen sind.

5.1.1 Kupfer

Die mittlere Kupferversorgung der Milchkühe ($\bar{x} = 20 \pm 8,5$ mg Cu/kg TS) ist nach den Versorgungsempfehlungen des NRC (2001) (13,7 bis 15,7 mg Cu/kg TS) als hochadäquat zu beurteilen. Der minimale und maximale tolerierbare Rationskupfergehalt (8 mg/kg TS (Underwood 1977) bzw. 40 mg/kg TS (NRC 2005)) wird im Mittel auf keinem Milchviehbetrieb unter- bzw. überschritten. Hierbei werden die für die Kupferhomöostase von Suttle (2004) als kritisch zu betrachtenden Verhältnisse von Molybdän/Kupfer ($> 0,3$ bis $1/1$), Eisen/Kupfer (> 50 bis $100/1$) und Schwefel/Kupfer (> 500 bis $1000/1$) in den Rationen nicht überschritten (Tab. 33).

5.1.2 Molybdän

Der mittlere Molybdängehalt der Rationen ist mit $0,69 \pm 0,42$ mg/kg TS als unproblematisch zu bewerten. Der maximal tolerierbare Gehalt wird vom NRC (2005) mit 5 bis 10 mg/kg TS angegeben, welcher in keiner Ration ($x_{\max} = 1,77$ mg Mo/kg TS) erreicht wird. Zudem ist ein deutlicher Abstand zum kritischen Molybdän/Kupfer-Verhältnis von $0,3$ bis $1/1$ (Suttle 2004) in den Futterrationen gegeben ($x_{\max} = 0,1/1$).

Folglich kann von einer negativen Auswirkung der Rationsmolybdängehalte auf die Kupferhomöostase der Milchkühe nicht ausgegangen werden.

5.1.3 Eisen

Die Eisenversorgung der Milchkühe ist mit einem mittleren Futtereisengehalt von $423 \pm 187,3$ mg/kg TS und bei einer Spannweite von 186 bis 1148 mg/kg TS nach den Angaben des NRC (2005) (maximal tolerierbarer Gehalt < 500 mg Fe/kg TS) als kritisch zu bewerten. Jedoch werden in diesem Zusammenhang ausschließlich Fütterungsversuche zitiert, die leicht lösliche Eisenquellen (Eisensulfat) und noch nicht ausgewachsene Versuchstiere verwenden (Standish et al. 1969; Koong et al. 1970; Jenkins und Hidiroglou 1987). Bei natürlichen Eisenquellen (Bodenkontamination, Futterpflanzen), welche den hauptsächlichen Anteil des Futtereisens in dieser Untersuchung ausmachen dürften, ist von einer geringeren Bioverfügbarkeit auszugehen (Whitehead 2000; NRC 2005; Suttle 2010). Suttle (2010) hingegen sieht erst einen Eisengehalt ab 700 bis 1200 mg Fe/kg TS als kritischen Versorgungsbereich an, welcher in dieser Untersuchung im Betriebsmittel, mit Ausnahme von Betrieb Nr. 11 ($\bar{x} = 706$ mg/kg TS), nicht erreicht wird.

Zwar suggeriert der In-Vitro-Versuch von Hansen und Spears (2009), dass sich die Löslichkeit des durch Erdkontamination ins Futter eingetragene Eisen durch den Silierungsprozess erhöht, dennoch ist unter den vorliegenden Futtereisengehalten bei ruminierenden Rindern, bedingt durch die effektiven Homöostasemechnismen (Kap. 2.4.1), nicht von einer übermäßigen Eisenresorption auszugehen.

Auch ein negativer Effekt des hohen Futtereisengehalts auf die Kupferhomöostase erscheint in dieser Untersuchung unwahrscheinlich. Durch Erhöhung des Kupferangebots ist eine Amortisierung von schädlichen Effekten hoher Eisengehalte auf die Kupferhomöostase möglich (Chase et al. 2000). Der von Suttle (2004) diesbezüglich für das Eisen/Kupfer-Verhältnis angegebene kritische Bereich (> 50 bis $100/1$) wird von keinem der untersuchten Betriebe ($x_{\max} = 38/1$) erreicht. Insgesamt erscheint somit die hohe Eisenversorgung als tolerierbar.

5.1.4 Zink

Der vom NRC (2001) mit 22,8 bis 63 mg Zn/kg TS vorgeschlagene Versorgungsbereich für Milchkühe wird durchschnittlich um das Zweifache ($\bar{x} = 126 \pm 57,8$ mg/kg TS) überschritten. Der Toleranzbereich von 22,8 bis 1000 mg Zn/kg TS (Miller et al. 1989; NRC 2001; NRC 2005) wird allerdings in keiner Ration unter- bzw. überschritten ($x_{\min} = 43$ mg/kg TS, $x_{\max} = 315$ mg/kg TS).

5.1.5 Mangan

Das mittlere Manganversorgungsniveau der Betriebe ($\bar{x} = 108 \pm 44$ mg/kg TS) liegt nach den Angaben des NRC (2001) (16,7 bis 17,8 mg/kg TS) deutlich über den Versorgungsempfehlungen. Ein ausreichender Abstand zum tolerierbaren Gehalt von 1000 mg Mn/kg TS (NRC 2005) ist allerdings mit einem maximalen Gehalt von 256 mg/kg TS gegeben.

5.1.6 Selen

Der durchschnittliche Selengehalt der Rationen entspricht mit $0,55 \pm 0,31$ mg/kg TS etwa dem Zweifachen des empfohlenen Versorgungsniveaus von 0,1 bis 0,3 mg Se/kg TS (NRC 2001)). Der Toleranzbereich für Selen wird durch den NRC (2001; 2005) mit 0,1 bis 5 mg/kg TS angegeben. Keine der analysierten Rationen unter- oder überschreitet den Toleranzbereich ($x_{\min} = 0,10$ mg/kg TS, $x_{\max} = 1,43$ mg/kg TS).

5.1.7 Schwefel

Der mittlere Schwefelgehalt der analysierten Rationen ($\bar{x} = 2,6 \pm 0,7$ g S/kg TS) liegt innerhalb der Bedarfsempfehlungen des NRC (2001). Der vom NRC (2005) angegebene maximal zu tolerierende Futterschwefelgehalt (4 g/kg TS) wird allerdings in wenigen Vorbereiterrationen überschritten. Die erhöhten Schwefelgehalte sind hierbei dem Einsatz von Anionenrationen, welche zur Gebärpäresprophylaxe frühestens drei Wochen a. p. bis zur Abkalbung eingesetzt werden, geschuldet.

Aufgrund des zeitlich limitierten Einsatzes der Anionenrationen und des günstigen Schwefel-/Kupfer-Verhältnisses der Rationen ($x_{\max} = 286/1$) (kritischer Bereich: 500 bis 1000/1 (Suttle 2004)) sowie der hohen mittleren Versorgung mit Kupfer und Selen erscheint ein negativer Effekt, der zu einer Dekompensation der Kupfer- und Selenhomöostase führen könnte, als unwahrscheinlich.

5.2 Wasseranalyse

Die Wasserqualität in den untersuchten Betrieben ist insgesamt als gut zu bewerten (Tab. 34). Lediglich zwei Betriebe zeigen deutliche Abweichungen von den Orientierungswerten für die Tränkewasserqualität von Kamphues et al. (2007).

Betrieb Nr. 4 weist nach den Angaben von Kamphues et al. (2007) (Grenzwert für SO_4^{2-} : 500 mg/l) eine bedenkliche Sulfatkonzentration (898 mg/l) auf, welche allerdings nach den Angaben des NRC (2001) und von Meyer und Casey (2012) (Grenzwert: < 1000 mg/l) noch als vertretbar ausgewiesen wird. Hohe Konzentrationen sulfathaltigen Wassers

können sich negativ auf die Kupferhomöostase bei Rindern auswirken (Smart et al. 1986; Cammack et al. 2010). Die Aufnahme von 3651 mg $\text{SO}_4^{2-}/\text{l}$ Tränkewasser führte in der Untersuchung von Cammack et al. (2010) zu einem deutlichen Leberkupferverlust bei Mastbullen, während 566 mg $\text{SO}_4^{2-}/\text{l}$ keinen negativen Effekt auf die Leberkupferkonzentration hatten. Legt man die von Meyer et al. (2004) und Kume et al. (2010) beobachtete Trockensubstanz- und Tränkewasseraufnahme von laktierenden HF-Kühen zugrunde, würde sich der Schwefelgehalt in den Rationen des Betriebs Nr. 4 um durchschnittlich 1,1 g S/kg TS erhöhen. Die trockenstehenden Kühe würden nach den Angaben von Kume et al. (2010) durchschnittlich 0,6 g S/kg TS mehr aufnehmen. Hierdurch würden ausschließlich die Transitzühe in Betrieb Nr. 4 den Toleranzbereich von 4 g/kg um 1,9 g S/kg TS überschreiten, was nach Oetzel et al. (1988) in diesem Haltungsabschnitt zur Gebärpäresprophylaxe noch tolerierbar ist.

Die Eisenkonzentration im Tränkewasser des Betriebes Nr. 7 liegt mit 7,8 mg Fe/l oberhalb des von Kamphues et al. (2007) aufgeführten Grenzwertes von 3 mg/l. Nach Beede (1991) existieren allerdings keine experimentellen Grundlagen für Wiederkäuer, um Rückschlüsse auf einen maximal tolerierbaren Eisengehalt im Tränkewasser zu ziehen. Nach den Angaben von Kume et al. (2010) und Meyer et al. (2004) würden die laktierenden Kühe in diesem Betrieb durchschnittlich 30 mg Fe/kg TS durch das Tränkewasser mehr aufnehmen, wodurch der maximal tolerierbare Gehalt von 500 mg Fe/kg TS (NRC 2005) allerdings in keiner Ration des Betriebes überschritten werden würde.

Auch bei der Berücksichtigung der zusätzlichen Aufnahme von Schwefel in Betrieb Nr. 4 und Eisen in Betrieb Nr. 11 würden die von Suttle (2004) als kritisch zu betrachtenden Bereiche der Verhältnisse von Schwefel/Kupfer bzw. Eisen/Kupfer nicht erreicht werden.

5.3 Bland-Altman-Methodenvergleiche zwischen den gepaarten Spurenelementkonzentrationen des Plasmas und Serums

Die Substrate Plasma und Serum werden in der Literatur zur Bestimmung des Spurenelementstatus überwiegend als gleichwertig und gegenseitig ersetzbar angesehen. Systematische Untersuchungen zwischen den beiden Probenmedien finden sich nach Kenntnisstand des Autors ausschließlich für die Kupferbestimmung (Paynter 1982; Kincaid et al. 1986; Laven und Livesey 2006; Laven et al. 2007; Laven et al. 2008). Diese Arbeit zeigt, ebenso wie die vorausgegangenen Untersuchungen von Laven und Livesey (2006) und Laven et al. (2007), dass bei einer erheblichen Streuung der einzelnen

Differenzen eine diagnostisch relevante Verzerrung zwischen der mittleren Plasma- und Serumkupferkonzentration besteht (Tab. 80). Die geringeren Serumkupferwerte sind auf die Vernetzung des Coeruloplasmins mit dem Fibrinkoagulum während des Gerinnungsprozesses zurückzuführen (Paynter 1982). Dieses könnte darauf zurückzuführen sein, dass eine strukturelle Ähnlichkeit des Coeruloplasmins mit dem Gerinnungsfaktor VIII aufweist (Saenko et al. 1994).

Tab. 80: Ergebnisse verschiedener methodischer Untersuchungen zur Bestimmung der Kupferkonzentration in gepaarten Plasma- und Serumproben (EW).

Quelle	eigene Untersuchung	Laven und Livesey (2006)	Laven et al. (2007)
r	0,81	0,77	n. v.
mittlere Differenz (Plasma - Serum) (µg/l)	166	311	186
signifikanter Unterschied der mittleren Differenzen	+	+	+
untere Übereinstimmungsgrenze (µg/l)	-54	n. v.	-28
obere Übereinstimmungsgrenze (µg/l)	386	n. v.	399
signifikante Abhängigkeit der Differenzen vom Wertebereich	-	n. v.	-

n. v.: nicht verfügbar, +: liegt vor, -: liegt nicht vor.

Die Ergebnisse der Methodenvergleiche zur Bestimmung der übrigen untersuchten Plasma- und Serumspurenelementkonzentrationen lassen eine Sequestration weiterer spurenelementtransportierender Plasmaproteine vermuten, da mit Ausnahme der Serumolybdänkonzentration durchgehend geringere mittlere Serumkonzentrationen nachweisbar waren (Tab. 81).

Tab. 81: Ergebnisse der Bland-Altman-Methodenvergleiche zur Bestimmung der Spurenelementkonzentrationen in gepaarten Plasma- und Serumproben (EW).

Spurenelement	Cu	Mo	Fe	Zn	Mn	Se
mittlere Differenz (Plasma - Serum) (µg/l)	166	-0,8	339	23	0,41	10,3
signifikanter Unterschied der mittleren Differenzen	+	+	+	+	+	+
untere Übereinstimmungsgrenze (µg/l)	-54	-7,8	-306	-112	-1,94	-15,7
obere Übereinstimmungsgrenze (µg/l)	386	6,2	985	158	2,76	36,3
signifikante Abhängigkeit der Differenzen vom Wertebereich	-	-	+	-	+	+

+: liegt vor, -: liegt nicht vor.

Die für Fe, Mn und Se festgestellte positive Abhängigkeit der Differenzen vom Wertebereich ist möglicherweise auf einen steigenden Gerinnungsverlust bei stärkerer Absättigung der Plasmaproteine im höheren Konzentrationsbereich zurückzuführen. Die

allen Methodenvergleichen innewohnende geringe bis mäßige Übereinstimmungsgüte ist wahrscheinlich einer Kombination aus präanalytischen Fehlern (Probenentnahme, -transport, -aufbereitung und -lagerung), individuell variablem Gerinnungsverlust und der methodenintrinsischen Präzisionsgüte der Spurenelementanalyse geschuldet (Tab. 29).

Unter der Annahme, dass sich die Extremwerte in der Verteilung der einzelnen Differenzen aus Fehlmessungen ergeben, erscheint ihre Eliminierung in der Beurteilung der Übereinstimmungsgüte der Methodenvergleiche gerechtfertigt. Allerdings erbringt der Ausschluss der Extremwerte in der Verteilung der Differenzen nur teilweise eine wesentliche Verbesserung der Übereinstimmungsgüte (Mn).

Da das Plasma, den nicht durch die Gerinnung artifiziell veränderten Körperzustand wiedergibt, sollte das Plasma in der Spurenelementdiagnostik dem Serum bevorzugt werden. Bei Verwendung des Serums kann allerdings durch die Berücksichtigung der mittleren Verzerrung zwischen Serum- und Plasmawerten eine deutliche Reduzierung von Fehleinschätzungen über den Spurenelementstatus erreicht werden.

5.4 Bland-Altman-Methodenvergleiche zwischen den gepaarten Gruppenmittel- und Poolwertspurenelementkonzentrationen des Plasmas bzw. des Vollbluts

Der Einsatz von Stichprobenmittelwerten ist gegenüber Einzelwerten in der Herdendiagnostik unweigerlich mit einem Informationsverlust verbunden. Jedoch ist ein wesentlicher Vorteil in Form einer erheblichen Reduktion der Analysekosten gegeben, wenn Poolwerte Verwendung finden. Hierdurch wäre die Integration einer regelmäßigen Spurenelementanalyse in die prophylaktische Bestandsbetreuung von Milchviehherden realisierbar.

Grundsätzlich ist davon auszugehen, dass Kühe unter gleichen Haltungs- und Fütterungsbedingungen in der Auslenkung ihrer diagnostischen Metaboliten gleich reagieren (Rossow et al. 1987), so dass anzunehmen ist, dass die Verwendung von Stichprobenmittelwerten auch in der Spurenelementdiagnostik eine sinnvolle Vorgehensweise darstellt. Die Ergebnisse von Borchardt und Staufenbiel (2012) suggerieren, dass Stichprobenmittelwerte (Gruppenmittel- und Poolwerte) in der Herdendiagnostik angewendet werden können. Die Autoren konnten nachweisen, dass die pathologische Auslenkung von Einzelwerten der NEFA- und BHB-Serumkonzentrationen aus einer Stichprobe von Kühen durch den entsprechenden Gruppenmittel- und Poolwert wiedergegeben wird. Die mittleren Gruppenmittel- und Poolwerte des jeweiligen

Parameters unterschieden sich hierbei nicht signifikant und eine ausreichende Übereinstimmung der beiden Messgrößen konnte festgestellt werden.

Auch in dieser Untersuchung unterscheiden sich die mittleren Konzentrationen der Gruppenmittel- und Poolwerte der einzelnen Spurenelemente in den Probenmedien Plasma und Vollblut erwartungsgemäß nicht signifikant. (Tab. 82).

Tab. 82: Ergebnisse der Bland-Altman-Methodenvergleiche zwischen den Gruppenmittel- und Poolwertspurenelementkonzentrationen des Plasmas bzw. des Vollbluts.

Substrat	Plasma-						Vollblut-	
	Cu	Mo	Fe	Zn	Mn	Se	Mn	Se
mittlere Differenz (MW - PW) (µg/l)	0,3	0,3	36	-10	-0,01	-1,0	0,52	5,1
signifikanter Unterschied der mittleren Differenzen	-	-	-	-	-	-	+	-
untere Übereinstimmungsgrenze (µg/l)	-215	-3,8	-315	-190	-0,89	-20,7	-1,67	-55,1
obere Übereinstimmungsgrenze (µg/l)	216	4,4	387	169	0,87	18,7	2,71	65,2
signifikante Abhängigkeit der Differenzen vom Wertebereich	-	-	-	+	-	-	-	-

+: liegt vor, -: liegt nicht vor.

Lediglich die Vollblutmangankonzentration bildet hier eine Ausnahme. Die Ursache der mittleren Verzerrung zwischen Gruppenmittel- und Poolwerten der Vollblutmangankonzentration ist unklar. Immunologische Reaktionen zwischen den Plasmaproteinen und den Erythrozyten, die bei der Herstellung von Vollblutpoolproben induziert werden könnten und sich auf die Analyseergebnisse auswirken, sind hier denkbar.

Eine Vielzahl von methodischen Arbeiten zu Mittel- und Poolwerten (Lehwenich 1999; Tornquist und Van Saun 1999; van Saun 2005; Borchardt und Staufenbiel 2012) konnten übereinstimmend mit dieser Untersuchung ebenfalls keine signifikanten Konzentrationsunterschiede für diverse diagnostische Analyten in verschiedenen diagnostischen Medien bei Rindern beobachten.

Die geringe bis sehr geringe Übereinstimmungsgüte der durchgeführten Methodenvergleiche zwischen Gruppen- und Mittelwerten verdeutlicht, dass präanalytische Variabilitätsfaktoren und die geringe analytische Messgenauigkeit der Spurenelementanalyse (Fe, Mo, Mn, Se) grundsätzliche Problemfelder in der Spurenelementdiagnostik darstellen. Da sowohl für den Poolwert als auch für den Gruppenmittelwert von einer Abweichung vom unbekanntem wahren Wert auszugehen ist, ist die Verwendung von Pool- gegenüber Mittelwerten in der Herdendiagnostik grundsätzlich nicht abzulehnen.

5.5 Korrelationsanalyse

In dieser Untersuchung konnten unter Ausnahme des Zusammenhangs von Plasma und Serum keine engen Zusammenhänge zwischen den Spurenelementkonzentrationen in den Substraten ermittelt werden. Die teilweise zu beobachtende Diskrepanz zwischen Einzel- und Gruppenmittelwerten bei den ermittelten Zusammenhängen kann auf den geringeren Stichprobenumfang bei den Gruppenmittelwerten und die Verringerung der Variation durch die Mittelwertbildung zurückgeführt werden. Hohe Korrelationskoeffizienten zwischen den Blutmedien und der Leber sind aufgrund der unterschiedlichen Spurenelementkinetik in den Substraten, nach Verbrauch der endogenen Reserven (Kincaid 2000) und/oder Erreichen eines Gleichgewichtszustandes zwischen Repletion und Depletion (Millar 1983) nur bei defizitären Tieren zu erwarten. Zudem ist davon auszugehen, dass in dieser Untersuchung versorgungs- und statusunabhängige Faktoren (Akute-Phase-Reaktion) auf die Gewebekonzentration einwirken, die das gegenseitige Reflektionsvermögen zwischen den Substraten stören.

5.6 Referenzbereiche

Die erarbeiteten Referenzbereichsvorschläge (Tab. 94) basieren im Wesentlichen auf dem in dieser Untersuchung gewonnenen Datenmaterial, welchem eine Population von bedarfsgerecht bis hoch versorgt zu bewertenden (Kap. 5.1), klinisch unauffälligen Milchkühen zugrunde liegt. Abweichungen hiervon begründen sich in der durchgeführten Literaturliteraturarbeit. Insbesondere wurden Fütterungsversuche und bereits veröffentlichte Referenzbereichsangaben berücksichtigt.

Untersuchungsergebnisse die innerhalb der vorgeschlagenen Referenzgrenzen liegen, lassen je nach Aussagekraft der betreffenden Substratkonzentration mit hoher Wahrscheinlichkeit auf das Vorliegen einer bedarfsgerechten Spurenelementversorgung bzw. eines adäquaten Spurenelementstatus schließen. Der Umkehrschluss, dass Werte die außerhalb der Referenzbereiche liegen eine Fehlversorgung anzeigen, ist hierbei nur im Ausnahmefall gestattet (Plasmakupferkonzentration, Kap. 5.7.1). Referenzbereiche hierfür, müssten an einer fehlversorgten bzw. kranken Population erhoben werden.

Das von Willer (1982) vorgeschlagene Verfahren zur Berechnung von zweiseitigen Referenzgrenzen für Stichprobenmittelwerte wurde durch die vielfachen und partiell erheblichen Abweichungen der Substratsporenelementkonzentrationen von einer

Normalverteilungsfunktion abgelehnt. Nur für 5 von 30 untersuchten Einzelwertkonzentrationen und für 32 von 54 Gruppenmittel- und Poolwertkonzentrationen konnte eine Normalverteilungsfunktion angenommen werden (Tab. 35, Tab. 42, Tab. 49, Tab. 56, Tab. 63, Tab. 71). Aufgrund dessen wurde das von Solberg (2004) befürwortete, verteilungsunabhängige nicht parametrische Verfahren zur Ermittlung der Referenzbereiche bei den Einzel- als auch den Gruppenmittel- und Poolwertkonzentrationen herangezogen.

Zwischen den aus den Einzelwerten und den Stichprobenmittelwerten (Gruppenmittel- und Poolwerte) ermittelten Referenzgrenzen lassen sich überwiegend nur geringe und zudem nicht einheitlich ausgerichtete Abweichungen feststellen (Tab. 40, Tab. 47, Tab. 54, Tab. 61, Tab. 69, Tab. 77). Die Referenzbereiche der Gruppenmittel- und Poolwerte weisen hierbei insgesamt eine gute Übereinstimmung auf. Die Verwendung von eigenständigen Referenzgrenzen für Einzel- und Stichprobenmittelwerte bis zu einer Stichprobengröße von $n \leq 7$ ist daher nicht erforderlich. Mit wachsender Stichprobengröße ist allerdings, unabhängig von der Verteilungsform der Einzelwerte, von einer generellen Annäherung der Stichprobenmittelwerte an eine Normalverteilungsfunktion auszugehen. Dies ist unweigerlich mit einer zunehmenden Konvergenz der Gruppenmittel- und Poolwerte an den Populationsmittelwert verbunden (Willer 1982), wodurch sich eine Notwendigkeit eigenständiger Referenzgrenzen für Einzelwerte und Stichprobenmittelwerte ergeben könnte.

Signifikante Unterschiede zwischen den Spurenelementkonzentrationen der beprobten Laktationsabschnitte wurden durch die Ermittlung von laktationsphasenspezifischen Referenzbereichen berücksichtigt (Tab. 41, Tab. 48, Tab. 55, Tab. 62, Tab. 70, Tab. 78). Als statusunabhängiger Einflussfaktor auf die Laktationsdynamik verschiedener Substratkonzentrationen und auf die diesbezüglich gebildeten Referenzbereiche konnte die abkalbungsbedingte Akute-Phase-Reaktion ermittelt werden (Kap. 5.7.1, Kap.5.7.3, Kap. 5.7.4). Da dieser Einfluss als unerwünscht zu betrachten ist, wurde er bei den für die betreffenden Spurenelementkonzentrationen erarbeiteten Referenzbereichsvorschläge weitestmöglich ausgeschlossen (Tab. 84, Tab. 87, Tab. 89), sodass die Verwendung von laktationsphasenspezifischen Referenzbereichen ebenfalls nicht erforderlich ist.

5.7 Diagnostik der Spurenelementversorgung

5.7.1 Kupfer

Die ermittelten Substratkupferkonzentrationen können mit den Ergebnissen der in Tab. 83 aufgeführten Untersuchungen stimmig in Relation gesetzt werden.

Tab. 83: Vergleich von Kupfersubstratkonzentrationen von Rindern verschiedener Untersuchungen.

Quelle	Parameter	Ration		Plasma		Harn	Leber		Haar
		mg/kg TS		µg/l			mg/kg TS		
		Basal	Zusatz						
eigene Untersuchung	\bar{x} (s)	20,5 (8,5)		742 (170)*		107 (186)	451 (194)		11,2 (6,4)
	$x_{\min} - x_{\max}$	8,3 - 44,2		381 - 1330*		10 - 2490	55 - 1315		6,9 - 47,4
	\bar{x} (s)			906 (178)					
	$x_{\min} - x_{\max}$			520 - 1580					
Spolders et al. (2008)	n = 20			d (128)			d (128)		d (128)
	\bar{x} (s)	11,2		852 (184)*			383 (130)		6,8 (0,5)
	\bar{x} (s)	22,6		794 (159)*			506 (129)		7,4 (1,0)
Engle et al. (2001)	n = 24	n. v.		d (0)	d (61)		d (0)	d (61)	
	\bar{x}		0	870	1070		374	372	
	\bar{x}		+ 10	970	1050		324	431	
	\bar{x}		+ 40	1010	1010		352	826	
Gustafson (2000)	n = 28					70			
	\bar{x}	15,4				< 70† - 640			
Xin et al. (1993)	n = 18			d (0)	d (128)		d (0)	d (128)	
	\bar{x}	5,5		1230	1450		390	233	
	\bar{x}	15,5		1190	1240		326	322	
	\bar{x}	20,5		1270	1330		340	417	

*: Serum, d: Versuchstag, n. v.: Daten nicht verfügbar, †: Nachweisgrenze.

Der ermittelte Korrelationskoeffizient zwischen den Serum-/Plasma- und den Leberkupferkonzentrationen (EW: $r = 0,10/-0,14$) steht in Übereinstimmung mit den Angaben von Littlelike et al. (1995) ($r = -0,01$), Chase et al. (2000) ($r = 0,18$), Lopez-Alonso et al. (2006) ($r = 0,14$) und Grace et al. (2010) ($r = 0,05$).

Wie die dargestellten Ergebnisse von Xin et al. (1993), Engle et al. (2001) und Spolders et al. (2008) verdeutlichen, führt eine Kupferzulage bei Rindern zu einer Erhöhung der Leberkupferkonzentration, während die Serum-/Plasmakonzentration nicht wesentlich reagiert, wodurch ein enger Zusammenhang zwischen den Parametern verhindert wird. Legleiter und Spears (2007) ermittelten bei Kälbern, die einer progressiven Kupferdepletion ausgesetzt wurden, einen Korrelationskoeffizienten zwischen Plasma- und Leberkonzentration von $r = 0,93$. Die Diskrepanz zwischen den Ergebnissen ist durch das kurvenlineare Verhältnis zwischen Leber- und Plasmakupferkonzentration zu erklären

(Claypool et al. 1975; Stoszek et al. 1986; Mulryan und Mason 1992). Hieran wird deutlich, dass ein gegenseitiges Reflektionsvermögen nur bei unzureichenden Leberkupferreserven bestehen kann. Dieser Zustand liegt der Untersuchung von Legleiter und Spears (2007) zugrunde. Bei einem ausreichenden Leberkupferspeicher, wie er in dieser Untersuchung vorliegt (55 mg/kg TS bis 1355 mg/kg TS), ist hingegen nur mit physiologischen Schwankungen des Plasmaspiegels (520 µg/l bis 1580 µg/l) zu rechnen. Die abweichenden Ergebnisse von Vermunt und West (1994) und Tessman et al. (2001) lassen sich auf die Verwendung des Probenmediums Serum zurückführen, was wie oben dargestellt (Kap. 4.2.2 und Kap. 5.3) zu einer Maskierung des physiologischen Verhältnisses zwischen Leber- und Plasmakupferkonzentration führen kann.

Der nicht gleichgerichtete Laktationsverlauf der Serum-/Plasma- und Leberkupferkonzentration lässt sich plausibel auf den Einfluss der mit der Abkalbung einhergehenden Akute-Phase-Reaktion zurückführen. Die Abkalbung stellt eine physiologische Stressreaktion dar, die mit der Induktion einer Akute-Phase-Reaktion einhergeht (Koets et al. 1998; Galvão et al. 2011; Silvestre et al. 2011). Hierbei führt die vermehrte Coeruloplasminsynthese zu einer Erhöhung der plasmatischen Kupferkonzentration bei Frischkalbinnen. Scaletti et al. (2003) und Hussein und Staufenbiel (2012) dokumentieren übereinstimmend mit den Beobachtungen dieser Untersuchung höhere Plasmakupferkonzentrationen der FM-Kühe gegenüber Kühen anderer Haltungsabschnitte. Neben der höheren Plasmakonzentration weisen die frischlaktierenden Kühe geringere Leberkupferkonzentrationen auf, was auch von Smart et al. (1986) und Xin et al. (1993) beobachtet werden konnte. Dies ist vermutlich vorwiegend auf die Kupferreservoirbildung durch den Foetus in der Spätträchtigkeit zurückzuführen. Ferner kann angenommen werden, dass zwischen der verringerten TS-Aufnahme der Vorbereiterkühe (Grummer et al. 1995; Janovick und Drackley 2010) und der verminderten Leberkupferkonzentration der frischlaktierenden Kühe eine Abhängigkeit besteht. Die Kupferkonzentration im Vollblut weist eine Laktationsdynamik auf, die tendenziell mit der des Serums/Plasmas gleichgerichtet verläuft. Hierbei ist davon auszugehen, dass das physiologische Verhältnis zwischen erythrozytärer und plasmatischer Kupferkonzentration gering ist, sodass sich Schwankungen der Plasmakupferkonzentration auch im Vollblut bemerkbar machen. Die Kupferkonzentration im Haar lässt wie die übrigen Spurenelementkonzentrationen dieses Substrates signifikante Unterschiede zwischen den Laktationsstadien vermissen. Nur die Haarfollikel sind metabolisch aktiv und folglich ist ein enger Bezug zwischen Haar- und Plasmapurenelementkonzentrationen

nur in diesem Bereich des Haares zu erwarten (Kempson et al. 2007). Das äußere Haar repräsentiert in seiner gesamten Länge einen Querschnitt der über die Wachstumsphase in das Haar inkorporierten Spurenelemente, sodass sich die kurzfristigen Fluktuationen des Plasmaspiegels unter einer adäquaten Leberkupferkonzentration nicht durch Veränderung der Haarkupferkonzentration bemerkbar machen. Die Harnkupferkonzentration weist keinen gleichförmigen Verlauf mit einer der übrigen untersuchten Substratkupferkonzentrationen auf. Da die endogene Ausscheidung von Kupfer primär biliär verläuft (Gooneratne et al. 1994; 2011) und der Exkretion von Kupfer gegenüber der Kupferspeicherung in der Kupferhomöostase von Wiederkäuern nur eine untergeordnete Bedeutung beizumessen ist (Suttle 2010), sind enge Zusammenhänge zwischen Harnkonzentration und den Substratkonzentrationen sowie der Versorgungslage folglich nicht zu erwarten.

Durch den Vergleich der ermittelten Referenzgrenzen mit der Literatur erscheint für die praktische Anwendung ein Angleich der ermittelten Referenzgrenzen für die Substrate Leber und Serum/Plasma sinnvoll (Tab. 84). Die ermittelte Referenzobergrenze der Leberkupferkonzentration ist im Vergleich zu den Literaturangaben (Tab. 4) als sehr hoch zu bewerten. Nach den Ergebnissen von Minervino et al. (2008) ist sie aber noch als unbedenklich zu betrachten. Die Autoren konnten eine beginnende Leberzellschädigung bei Rindern erst oberhalb von 1000 mg Cu/kg TS im Lebergewebe dokumentieren. Die in dieser Untersuchung ermittelte obere Referenzgrenze für die Leberkupferkonzentration sollte allerdings eher als Toleranzgrenze aufgefasst werden, deren Erreichen in der Praxis sicherlich nicht anzustreben ist. Die von Kincaid (2000), Ouweltjes et al. (2007) und Herdt und Hoff (2011) angegebene Referenzobergrenze von 600 mg/kg TS für die Leberkonzentration erscheint zur Beurteilung einer angemessenen Kupferversorgung daher sinnvoller. Die ermittelte Referenzuntergrenze für die Plasmakupferkonzentration (Tab. 84) ist im Vergleich zu den meisten Literaturangaben (Tab. 2) niedrig. Eine Absenkung auf die von Suttle (1993) und McDowell (2003) angegebenen 600 µg/l erscheint aufgrund des in den Arbeiten von Claypool et al. (1975), Stoszek et al. (1986) sowie Mulryan und Mason (1992) aufgezeigten Verhältnisses zwischen Plasma- und Leberkupferkonzentration dennoch sinnvoll. Diese Arbeiten lassen darauf schließen, dass bei einer Plasmakupferkonzentration unterhalb von 600 µg/l mit hoher Wahrscheinlichkeit von einem entleerten Leberkupferspeicher ausgegangen werden kann. Die Festlegung der Serumreferenzuntergrenze auf 450 µg/l berücksichtigt annäherungsweise die in dieser Untersuchung berechnete mittlere Verzerrung zwischen Serum- und Plasmawerten.

Tab. 84: Aus der eigenen Untersuchung in Verbindung mit der Literatur erarbeitete, praktisch anwendbare Referenzbereiche für die Kupferkonzentration des Serums, Plasmas und der Leber im Vergleich mit den Angaben der Literatur.

Quelle	Referenzbereiche		
	Serum	Plasma	Leber
	µg/l		mg/kg TS
eigene Untersuchung	454 - 1100	639 - 1326	106 - 901
Herdt und Hoff (2011)	> 600		50 - 600
Ouweltjes (2007)	477 - 1144		100 - 600
McDowell (2003)		> 600	
Kincaid (2000)		700 - 900	125 - 600
Suttle (1993)	> 480	> 600	-
Empfehlung	450 - 1100	600 - 1300	100 - 600

5.7.2 Molybdän

Die ermittelten Plasma-, Harn- und Lebermolybdänkonzentrationen stimmen bei vergleichbarem Versorgungsniveau von der Größenordnung her mit den in Tab. 85 aufgeführten Untersuchungen überein (Lesperance et al. 1985; Xin et al. 1991; Galyean et al. 1996; Gustafson 2000).

Tab. 85: Vergleich von Substratmolybdänkonzentrationen von Rindern verschiedener Untersuchungen.

Quelle	Parameter	Ration	Plasma	Harn	Leber
		mg/kg TS	µg/l		µg/kg TS
eigene Untersuchung	\bar{x} (s)	0,69 (0,42)	9,8 (7,37)	110 (98,8)	3361 (851,4)
	$x_{\min} - x_{\max}$	0,11 - 1,77	0,7 - 55,1	4 - 602	965 - 10187
Gustafson (2000)	$n = 28$ \bar{x} (s)	1,35 (0,08)		190	
	$x_{\min} - x_{\max}$	0,86 - 2,08		< 70 - 480	
Galyean et al. (1996)	$n = 12$ \bar{x}				3550
	x_{\max}	< 0,6			
Xin et al. (1991)	$n = 12$ \bar{x}				3610
	x_{\max}	< 1,9			
Lesperance et al. (1985)	$n = 32$ \bar{x}	3			
	x_{\max}		< 100		

Die ermittelten Korrelationen zwischen Plasma-, Harn- und Haarmolybdänkonzentrationen (MW: $r \geq 0,50$) lassen einen engen kinetischen Zusammenhang zwischen den Substratkonzentrationen vermuten. Lesperance et al. (1985) registrierten nach Molybdänsupplementierung eine deutliche Reaktion der Plasma- als auch der Haarmolybdänkonzentration bei Rindern. Darüber hinaus konnten sie beobachten, dass mit

steigender Molybdänversorgung die Bedeutung des Harns als Exkretionsroute für Molybdän zunahm. Die Autoren sehen hierdurch eine diagnostische Eignung des Harns zur Beurteilung der Molybdänversorgung als wahrscheinlich an. Dies wird durch die in dieser Untersuchung festgestellte Korrelation von $r = 0,40$ zwischen Harnkonzentration- und Rationsgehalt bestärkt.

Die fehlenden bis geringen Korrelationen zwischen den Blutsubstrat- und Lebermolybdänkonzentrationen (EW: $r \leq 0,17$, MW: $r \leq 0,27$) lassen bei dem vorliegenden Versorgungsniveau einen engen kinetischen Zusammenhang zwischen diesen Medien als unwahrscheinlich erscheinen. Nichtsdestotrotz konnten Clawson et al. (1972) nach Molybdänsupplementierung eine gleichgerichtete Reaktion von Plasma- und Lebermolybdänkonzentration beobachten.

Der Laktationsverlauf der analysierten Substratkonzentration ist nicht gleichgerichtet, was aufgrund unzureichender Literatur schwierig zu begründen ist. Bei den FM-Kühen sind gegenüber den Kühen der folgenden Laktationsabschnitte signifikant geringere Leber- und numerisch geringere Blutsubstratmolybdänkonzentrationen nachweisbar. Jokubauskiene et al. (2010) konnten eine Verringerung der Serum-molybdänkonzentration um den Abkalbezeitraum von Milchkühen beobachten. Vermutlich ist dieses vorwiegend auf die Depression der TM-Aufnahme der Milchkühe zurückzuführen.

Da negative Zusammenhänge zwischen den Kupfer- und Molybdänkonzentrationen in den Substraten Plasma und Leber nicht nachgewiesen werden konnten (Tab. 79), lassen die ermittelten Molybdängewebekonzentrationen eine Störung des Kupfermetabolismus als unwahrscheinlich erscheinen. Dennoch kann grundsätzlich nicht davon ausgegangen werden, dass die innerhalb der ermittelten Referenzbereiche liegenden Substratmolybdänkonzentrationen eine Störung der Kupferhomöostase ausschließen und Konzentrationen oberhalb der Referenzbereiche eine Störung nachweisen. In der Untersuchung von Xin et al. (1993a) führte die molybdäninduzierte Kupferdeprivation von Mastbullen nicht zu einer Molybdänakkumulation in der Leber. Raisbeck et al. (2006) wiesen nach, dass hohe Plasma- und Lebermolybdänkonzentrationen nicht zwingend mit einer Störung der Kupferhomöostase oder Molybdänintoxikationserscheinungen einhergehen.

Neben den in der Literatur etablierten Substraten Serum/Plasma und Leber scheint die Verwendung des Harns zur Beurteilung der Molybdänversorgung möglich.

Die ermittelten Referenzbereiche für die Serum-/Plasma- und Leberkonzentrationen stehen in guter Übereinstimmung mit den Literaturangaben (Tab. 7, Tab. 86).

Tab. 86: Aus der eigenen Untersuchung erarbeitete, praktisch anwendbare Referenzbereiche für die Molybdänkonzentration des Serums, Plasmas, Harns und der Leber im Vergleich mit den Angaben der Literatur.

Quelle	Referenzbereiche			
	Serum	Plasma	Harn	Leber
	µg/l			µg/kg TS
eigene Untersuchung	1,6 - 30,6	1,4 - 29,4	8,5 - 454	1644 - 5090
Herdt und Hoff (2011)	2 - 35			1000 - 4000
Ouweltjes et al (2007)				2000 - 4000
Puls (1994)		10 - 100		520 - 5200
Empfehlung	1 - 30		10 - 450	1600 - 5100

5.7.3 Eisen

Der Vergleich der in dieser Untersuchung bestimmten Substrateisenkonzentrationen mit denen veröffentlichter Fütterungsversuche ist aufgrund der sich unterscheidenden Futtereisenquellen nicht sinnvoll. Im Unterschied zu den Studien von Standish et al. (1969; 1971) und McGuire et al. (1985) (Tab. 11) ist, wie in Kap 2.4.1 und Kap. 5.1.3 dargestellt, nicht mit einer Beeinflussung der untersuchten Probenmedienkonzentration durch die hohe Eisenversorgung auszugehen.

In dieser Untersuchung konnten nur geringe Korrelationen ($r \leq 0,39$) zwischen den Substrateisenkonzentrationen (Serum/Plasma, Vollblut, Harn, Leber, Haar und Ration) beobachtet werden. Wensing et al. (1986) konnte bei Kälbern zwischen Leber- und Serumkonzentration ebenfalls nur eine geringe Korrelation nachweisen ($r = 0,46$). Auch Miyata und Furugouri (1987) sowie Miltenburg et al. (1991) konnten bei Rindern keine engen Zusammenhänge zwischen der Lebereisenkonzentration und verschiedenen Blutparametern dokumentieren. Neben den effektiven Homöostasemechanismen des Eisenmetabolismus ist dies wahrscheinlich der Akute-Phase-Reaktion als statusunabhängigem Faktor zuzuschreiben.

Wie die beobachtete Laktationsdynamik von Leber- und Harnkonzentration vermuten lässt, beeinflusst die abkalbungsbedingte Akute-Phase-Reaktion, welche selbst bei nicht traumatischen Geburten auftritt (Mateos González et al. 2009), das Verhältnis zwischen den verschiedenen Probenmedien. Durch Entzündungsmediatoren wird die Synthese der eisenregulatorischen Proteine Hepcidin und Ferritin gesteigert, während die des Transportproteins Transferrin herunterreguliert wird (Roy und Andrews 2005). Dies führt dazu, dass die Freisetzung von Eisen aus dem retikuloendothelialen System gehemmt wird.

Gleichzeitig wird die Aufnahme in das selbige gefördert. Darüber hinaus wird vermehrt Eisen ausgeschieden (Verga Falzacappa und Muckenthaler 2005; Munoz et al. 2009).

Dies lässt sich mit der signifikant höheren Leber- und Haareisenkonzentration der Frischkalbinnen gegenüber den Kühen der folgenden Laktationsabschnitte gut in Übereinstimmung bringen. Die gleichzeitig zu erwartende verringerte Serum- und Plasmakonzentration konnte allerdings nicht nachgewiesen werden. Allerdings konnte verschiedenste Autoren eine deutliche Reduktion der Plasmaeisenkonzentration p.p. registrieren (Miltenburg et al. 1991; Azab und Abdel-Maksoud 1999; Fonteque et al. 2010; Weiss et al. 2010).

Die fehlende Laktationsdynamik von Vollblut- und Haareisenkonzentration lässt sich plausibel auf den nur langsam bzw. nicht mobilisierbaren Eisenpool dieser Substrate zurückführen. Dieser limitiert bzw. verhindert, dass sich kurzzeitige Konzentrationsschwankungen in Serum, Plasma und Leber merklich in diesen Substraten auswirken.

Zur Beurteilung der Versorgungslage erscheint die Bestimmung der Lebereisenkonzentration (Speicherpool) grundsätzlich als am sinnvollsten, unter realistischen Fütterungsbedingungen bei ruminierenden Rindern allerdings entbehrlich. Eine Probenentnahme bei FM-Kühen ist aufgrund der anzunehmenden Abhängigkeit der Probenmedienkonzentrationen von einer Akute-Phase-Reaktion prinzipiell nicht zu empfehlen. Die unter Berücksichtigung der Laktationsdynamik und der Literatur erarbeiteten Referenzbereichsvorschläge für die Substrate Serum/Plasma und Leber finden sich in Tab. 87. Für Eisen ist die Relevanz der differenzierten Anwendung von unterschiedlichen Referenzgrenzen für das Serum und Plasma augenscheinlich.

Tab. 87: Aus der eigenen Untersuchung erarbeitete, praktisch anwendbare Referenzbereiche für die Eisenkonzentration des Serums, Plasmas und der Leber im Vergleich mit den Angaben der Literatur.

Quelle	Referenzbereich		
	Serum	Plasma	Leber
	µg/l		mg/kg TS
eigene Untersuchung	639 -1996	921 - 2696	179 - 630
Herdt und Hoff (2011)	900 - 2700		140 - 1000
Ouweltjes et al. (2007)	781 - 2513		150 - 1000
Empfehlung	650 - 2000	900 - 2700	170 - 600

5.7.4 Zink

Innerhalb der Versorgungsspannweite der eigenen Untersuchung ist bei Variation der Zinkzufuhr nicht mit einer signifikanten Reaktion der untersuchten Substratkonzentrationen zu rechnen. Die in Tab. 88 aufgeführten Studien und auch weitere Untersuchungen (Rojas et al. 1996; Spears et al. 2004; Pechova et al. 2006; Cope et al. 2009; Hackbart et al. 2010; Nemeč et al. 2012) belegen diesen fehlenden Zusammenhang. Die auftretende Variabilität zwischen den Analyseergebnissen der dargestellten Arbeiten kann wahrscheinlich vorwiegend den Einflussfaktoren Alter, Rasse und Geschlecht der Versuchstiere zugeordnet werden. Pavlata et al. (2005) dokumentierten bereits signifikante Unterschiede zwischen den Serumzinkkonzentrationen bei Kälbern, Färsen, Bullen und Milchkühen.

Tab. 88: Vergleich von Substratzinkkonzentrationen von Rindern verschiedener Untersuchungen.

Quelle	Parameter	Ration	Serum	Leber	Haar
		mg/kg TS	µg/l	mg/kg TS	
eigene Untersuchung	\bar{x} (s)	126 (57,8)	798 (171,4)	121 (47,1)	162 (58,2)
	$x_{\min} - x_{\max}$	43 - 315	264 - 1400	32 - 401	101 - 343
	\bar{x} (s)		812 (171,9)*		
	$x_{\min} - x_{\max}$		327 - 1350*		
Spolders et al. (2008)	n = 20				
	\bar{x} (s)	62,5	876 (111,1)	112 (43)	130 (19)
	\bar{x} (s)	113,2	987 (183,1)	140 (85)	123 (9)
Kessler et al. (2003)	n = 30				
	\bar{x} (s)	35	700 (100)	106 (15)	166 (38)
	\bar{x} (s)	50	700 (100)	115 (30)	154 (26)
Engle et al. (1997)	n = 40				
	\bar{x} (s)	17	940 (20)*	131 (12,3)	
	\bar{x} (s)	40	960 (90)*	94 (15,1)	
Beeson et al. (1977)	n = 40				
	\bar{x} (s)	19 (1,6)	1180		156
	\bar{x} (s)	38 (3,1)	1400		176
	\bar{x} (s)	77 (6,3)	1520		166
	\bar{x} (s)	156 (8,4)	1220		155
	\bar{x} (s)	298 (16,4)	1930		154

*: Plasma.

Der Körperzinkgehalt wird bei einer schwankenden Zinkversorgung durch Anpassung der Zinkabsorption und -exkretion in einem engen Bereich gehalten (Neathery et al. 1973b; Miller et al. 1989), was den fehlenden Zusammenhang ($r \leq 0,15$) zwischen Rationsgehalt und Probenmedienkonzentrationen grundsätzlich erklärt. Spolders et al. (2008; 2010)

konnten damit übereinstimmend nur geringe Korrelationen zwischen Leber- bzw. Serumzinkkonzentration und Zinkaufnahme nachweisen ($r = 0,23$ bzw. $r = 0,41$).

Die negativen Korrelationen zwischen Serum-/Plasma- und Leberkonzentration (EW: $r = -0,08$, MW: $r = -0,58$) und die gegenläufige Laktationsdynamik dieser Probenmedien lässt vermuten, dass ein Einfluss der abkalbungsinduzierten Akute-Phase-Reaktion auf das Verhältnis der Substratkonzentrationen besteht. Während der Abkalbung kommt es zur Freisetzung von Zytokinen wie Interleukin-1 und -6 und Tumornekrosefaktor- α (Galvão et al. 2011). Diese bewirken unter anderem die Synthese von Metallothionein im Lebergewebe, welches eine hohe Affinität zu Zink aufweist (Sato und Bremner 1993). Cousins und Leinart (1988) konnten an Ratten demonstrieren, dass die Injektion von Interleukin-1 zu einer transienten Depression der Plasmazinkkonzentration und einer gesteigerten Zinkaufnahme der Leber, des Knochenmarks und des Thymus führte. Auch Rinder reagieren nach Applizierung von Interleukin-1 mit einer Reduktion der Plasmazinkkonzentration (Godson et al. 1995). Der Einfluss der Abkalbung auf die Serum-/Plasmakonzentration wird durch die Untersuchungen von Goff und Stabel (1990), Campbell und Miller (1998) und Meglia et al. (2004) bekräftigt, welche ein Absinken der Plasmazinkkonzentrationen um den Abkalbezeitpunkt bei Kühen dokumentieren konnten. Auch Smart et al. (1986) und Xin et al. (1993) beobachteten übereinstimmend mit der eigenen Untersuchung geringere Leberzinkkonzentrationen bei frischlaktierenden Kühen gegenüber Kühen anderer Laktations- bzw. Haltungsabschnitte bei Milch- und Fleischkühen.

Die im Gegensatz zur Serum-/Plasma-, Harn- und Leberzinkkonzentration nicht feststellbare Laktationsdynamik der Vollblut- und Haarkonzentration lässt sich durch die Kinetik des Zinks in diesen beiden Substraten erklären. Durch das hohe Verhältnis zwischen der korpuskulären- und plasmaproteingebundenen Zinkfraktion (Roth und Kirchgessner 1997; Roth und Kirchgessner 1999) ist der Zinkpool des Vollbluts insgesamt als ebenso reaktionsträge zu betrachten wie der des Haars. Die Reaktionsträgheit der beiden Substrate gegenüber dem Serum wird durch die Beobachtungen von Schwarz und Kirchgessner (1975) bzw. Yu (1992) bekräftigt. Während sich die Serumkonzentration bei zinkunversorgten Versuchstieren in diesen Untersuchungen verringerte, zeigte die Haar- bzw. Erythro- und Leukozytenzinkkonzentration eine verzögerte bzw. keine Reduktion.

Die Harnkonzentration weist mit keiner der untersuchten Substratkonzentrationen einen gleichgerichteten Laktationsverlauf auf. Die festgestellten numerisch höheren Harnwerte der Frischkalbinnen im Vergleich zu den Kühen der folgenden Laktationsabschnitte

können möglicherweise der Akute-Phase-Reaktion geschuldet sein. Orr et al. (1990) konnten neben rückläufigen Serumwerten bei Kälbern nach Infektion mit dem IBR-Virus eine forcierte Harnzinkexkretion beschreiben. Grundsätzlich ist die Bedeutung der renalen Zinkausscheidung für die Zinkhomöostase allerdings gering (Miller et al. 1966; Gooneratne et al. 1994; Gooneratne et al. 2011). Miller et al. (1966) beobachteten zwischen zwei verschiedenen Zinksupplementierungen keinen signifikanten Unterschied in der ausgeschiedenen Harnzinkmenge.

Unter der Prämisse, dass versorgungsunabhängige Faktoren, die sich in einer Umverteilung des Körperzinks zwischen den Geweben bemerkbar machen (Akute-Phase-Reaktion) ausgeschlossen werden können, erscheint die Bestimmung der Zinkkonzentration in den prinzipiell schnellreagierenden Substraten Serum/Plasma und Leber zum Nachweis eines Zinkmangels geeignet. Hierdurch wäre eine Minimierung, der von Miller (1969) zwischen bedarfsgerecht- und unterversorgten Tieren beobachteten Überschneidung von Substratzinkkonzentrationen denkbar. Unter praktischen Gesichtspunkten ist dies allerdings schwierig zu realisieren, da selbst subklinische Erkrankungen einen deutlichen Einfluss auf die Zinkkonzentrationen in den Geweben nehmen können (Zhang et al. 2010). Um eine Fehlinterpretation der Zinkversorgungslage zu vermeiden, sollte neben der Bestimmung der Zinkkonzentrationen in Serum/Plasma oder in der Leber eine Rationszinkanalyse vorgenommen werden.

Da der Einfluss der abkalbungsbedingten Akute-Phase-Reaktion (Tab. 60) bei der Referenzbereichsbildung ein deutliches Ausmaß annimmt (Tab. 61, Tab. 62), erscheint die Exklusion der FM-Kühe aus der Referenzpopulation sinnvoll. Die für die Serum-/Plasmakonzentration zu allen dargestellten Literaturangaben offensichtlichen Negativabweichungen (Tab. 13, Tab. 89) werden hierdurch reduziert.

Tab. 89: Aus der eigenen Untersuchung erarbeitete, praktisch anwendbare Referenzbereiche für die Zinkkonzentration des Serums, Plasmas und der Leber im Vergleich mit den Angaben der Literatur.

Quelle	Referenzbereiche		
	Serum	Plasma	Leber
	µg/l		mg/kg TS
eigene Untersuchung	451 - 1160	482 - 1170	78 - 262
Herdt und Hoff (2011)	600 - 1900		90 - 400
Spolders et al. (2010)	520 - 1240		
Kincaid (2000)		800 - 1400	25 - 200
Empfehlung	550 - 1200		70 - 200

5.7.5 Mangan

Die Gegenüberstellung der ermittelten Substratmangankonzentrationen verschiedener Untersuchungen zur Manganversorgung von Rindern (Tab. 90) legt dar, dass eine extreme Inhomogenität zwischen den Analyseergebnissen der aufgeführten Studien besteht.

Tab. 90: Vergleich von Substratmangankonzentrationen von Rindern verschiedener Untersuchungen.

Quelle	Parameter	Ration	Serum	Harn	Vollblut	Leber
		mg/kg TS	µg/l			µg/kg TS
eigene Untersuchung	\bar{x} (s)	108 (44)	1,88 (0,70)	1,98 (4,81)	7,64 (2,85)	8852 (1766)
	$x_{\min} - x_{\max}$	42 - 256	0,9 - 7,3	0,0 - 57,9	3,1 - 23,7	2964 - 16127
	\bar{x} (s)		2,29 (1,36)*			
	$x_{\min} - x_{\max}$		0,8 - 18,3*			
van de Weyer et al. (2010)	n = 761					
	\bar{x} $x_{\min} - x_{\max}$		5* 2 - 47*			
Jokubauskiene et al. (2010)	n = 520 $x_{\min} - x_{\max}$		22,0 - 55,9			
Pechová et al. (2008)	n = 161 \bar{x} (s)	66			14,03 (3,24)	
Hansen et al. (2006a)	n = 20 $\bar{x}_{\min} - \bar{x}_{\max}$	15,8 - 65,8	9,85 - 20,47*			8200 - 11000
Legleiter et al. (2005)	n = 20 $\bar{x}_{\min} - \bar{x}_{\max}$	8 - 128	10,5 - 13,2 *			12100 - 15100
Gelfert und Staufenbiel (2000)	n = 202 [†] \bar{x} (s) $x_{\min} - x_{\max}$		2,46 (1,02) 0,5 - 6,9			
Gustafson (2000)	n = 17 \bar{x} (s) $x_{\min} - x_{\max}$	85 (2) 65 - 96		52 < 30 [‡] - 480		
Gehrke und Lachowski (1997a)	n = \bar{x} (s) $x_{\min} - x_{\max}$		147 2,11 (3,01) 1,27 - 4,85		117 6,56 (7,78) 5,1 - 12,35	

†: Poolwerte, *: Plasma, ‡: Nachweisgrenze.

Trotz der bedarfsgerechten bis hohen Versorgungssituation in der eigenen Untersuchung weichen die bestimmten mittleren Substratmangankonzentrationen deutlich negativ von den Untersuchungen mit vergleichbarem oder sogar geringerem Versorgungsniveau ab (Gustafson 2000; Legleiter et al. 2005; Hansen et al. 2006a; Pechová et al. 2008).

Underwood und Suttle (1999) sehen die Heterogenität der Analyseergebnisse als Folge der analytischen Schwierigkeiten der Manganbestimmung. Bei der Verwendung von störanfälligen Messmethoden wie der Atomabsorptionsspektrometrie, können Interferenzen mit anderen Elementen wie Chlor und Silizium auftreten und daher zu fälschlich erhöhten Analyseergebnissen führen (Gelfert und Staufenbiel 2000).

Die Harnmangankonzentration zeigt im Vergleich zu den anderen tierischen Substratkonzentrationen mit einem $r = 0,41$ den höchsten Zusammenhang zum Rationsmangangehalt, wodurch der Eindruck vermittelt wird, dass durch die Messung der Harnkonzentration die Manganversorgung reflektiert wird. Dies ist aber aufgrund der Beobachtungen von Weiss und Socha (2005) als unwahrscheinlich zu betrachten. Die Autoren konnten bei Milchkühen nachweisen, dass die Harnmanganexkretion nicht von der Mangansupplementierung beeinflusst wird und weniger als 0,1 % der aufgenommenen Manganmenge ausmacht.

Diverse Fütterungsversuche belegen, dass unter realistischen Fütterungsbedingungen kein diagnostisch nutzbares Verhältnis zwischen Manganversorgung und Gewebekonzentrationen existiert (Bentley und Phillips 1951; Olson et al. 1999; Ahola et al. 2004; Legleiter et al. 2005; Krys et al. 2009; DeFrain et al. 2010; Dorton et al. 2010; Hackbart et al. 2010; van de Weyer et al. 2010).

Die beobachteten Korrelationen zwischen den Mangankonzentrationen der Serum- und Vollblutproben (EW: $r = 0,38$, MW: $r = 0,58$) und den Serum- und Leberproben (EW: $r = 0,26$, MW: $r = 0,54$) erreichen bezüglich der MW annähernd das Niveau, das Gehrke und Lachowski (1997a; 1999) zwischen Serum- und Vollblutprobenkonzentrationen ($r = 0,68$) bzw. Serum- und Leberkonzentrationen ($r = 0,62$) beobachten konnten. Auch der von Gelfert und Staufienbiel (2000) beobachtete fehlende Zusammenhang zwischen der Serum- und Haarmangankonzentration ($r = 0,09$) findet sich in dieser Untersuchung mit einem $r = 0,07$ wieder.

Neben den moderaten Korrelationen zwischen den Serum-, Plasma-, Vollblut- und Lebermangankonzentrationen lässt sich eine tendenziell gleichgerichtete Laktationsdynamik der Mangankonzentrationen in diesen Probenmedien festhalten. Jokubauskiene et al. (2010) konnten übertragbar auf diese Untersuchung, eine Verringerung der Serumkonzentrationen zur Abkalbung mit folgendem Anstieg der Serumwerte in der Laktation bei Milchkühen beobachten. Grundsätzlich lässt sich der Laktationsverlauf der Probenkonzentration mit dem Verlauf der TS-Aufnahme von Milchkühen (Douglas et al. 2006; Janovick und Drackley 2010) in Übereinstimmung bringen. Ein kausaler Zusammenhang erscheint allerdings als unwahrscheinlich. Vielmehr ist von einem, von der Manganversorgung weitestgehend unabhängigen, selbstbalancierenden Mechanismus der Manganhomöostase bei Rindern auszugehen. Ein über die Analyse des Rationsgehalts hinausgehender Informationsgewinn über die Manganversorgungslage ist durch die Bestimmung von Gewebekonzentrationen nicht zu

erwarten. Selbst bei den wenigen belegbaren Fällen eines Manganmangels (Rationsgehalt < 20 mg Mn/kg TS und klinische Symptome) (Rojas et al. 1965; Hansen et al. 2006b) ließen die gemessenen Substratkonzentrationen nicht zwischen Tieren mit Anzeichen eines Manganmangels und unauffälligen Tieren differenzieren.

Die in dieser Untersuchung ermittelten Referenzbereiche (Tab. 91) für die häufig verwendeten Probenmedienkonzentrationen weisen eine deutliche Negativabweichung zu den meisten etablierten Literaturangaben auf (Tab. 20). Eine bemerkenswerte Übereinstimmung ist zu den Angaben von Herdt und Hoff (2011) gegeben, welche für die Spurenelementanalyse ebenfalls die ICP-OES verwendeten.

Tab. 91: Aus der eigenen Untersuchung erarbeitete, praktisch anwendbare Referenzbereiche für die Mangankonzentration des Serums, Plasmas, Vollbluts und der Leber im Vergleich mit den Angaben der Literatur.

Quelle	Referenzbereiche			
	Serum	Plasma	Vollblut	Leber
	µg/l			mg/kg TS
eigene Untersuchung	1,1 - 3,6	1,2 - 5,6	4,0 - 15,4	5220 - 12205
Herdt und Hoff (2011)	0,9 - 6,0			5000 - 15000
Maas (2007)			70 - 200	
Pechová et al. (2004)			> 22	
Gibbons et al.(1976)		5 - 10		
Empfehlung	1 - 6		4 - 16	5000 - 12500

5.7.6 Selen

Die in dieser Untersuchung ermittelten Probenmedienkonzentrationen lassen sich bei der zugrundeliegenden Selenversorgung mit denen der in Tab. 92 aufgeführten Fütterungsversuche stimmig in Relation setzen. Wie die Untersuchungen von Knowles et al. (1999), Gierus et al. (2002) und Juniper et al. (2006) exemplarisch aufzeigen, wird eine Veränderung in der Selensupplementierung durch die Messung der verwendeten Substratkonzentrationen wiedergegeben.

Tab. 92: Vergleich von Substratselenkonzentrationen von Rindern verschiedener Untersuchungen.

Quelle	Parameter	Ration		Plasma	Vollblut	Harn	Leber
		mg/kg TS		µg/l			µg/kg TS
		Basal	Zusatz				
eigene Untersuchung	\bar{x} (s)	0,55 (0,31)		95 (19,5)	225 (53,9)	135 (94,4)	2100 (1123)
	$x_{\min} - x_{\max}$	0,10 - 1,43		46 - 211	79,9 - 472	3 - 633	600 - 13125
Pechová et al. (2008)	$n = 161$ \bar{x} (s)	0,4			184 (29,6)		
Juniper et al. (2006)	$n = 30$ \bar{x}		0		d (35) 211	d (35) 20	
	\bar{x}		0,10*		208	60	
	\bar{x}	0,15	0,12†		214	50	
	\bar{x}		0,18†		235	80	
	\bar{x}		0,25†		251	140	
Gierus et al. (2002)	$n = 18$ \bar{x}	0,045	0,085*	d (35) 37,7			
	\bar{x}		0,275*	61,5			
	$x_{\min} - x_{\max}$	0,29 0,25 - 0,32				87 (6) 34 - 172	
Knowles et al. (1999)	$n = 35$ \bar{x} (s)		0		d (133) ≈ 20		d (133) 259 (67,3)
	\bar{x} (s)		0,16*		≈ 100		544 (89,4)
	\bar{x} (s)	0,03	0,29*		≈ 150		763 (121,8)
	\bar{x} (s)		0,16†		≈ 140		685 (99,2)
	\bar{x} (s)		0,29 †		≈ 190		1105 (67,9)

d: Versuchstag, *: Na₂SeO₃, †: Selenohefen.

Enge Zusammenhänge zwischen den Rationsselegehalten und den analysierten Probenmedienkonzentrationen wie sie Weiss et al. (1990) zwischen dem Rationsgehalt und der Plasma- bzw. der Vollblutkonzentration feststellten ($r = 0,92$ bzw. $r = 0,74$), konnten in dieser Untersuchung nicht nachgewiesen werden. Die abweichenden Ergebnisse der eigenen Untersuchung stehen aber nicht zwingend in Widerspruch mit den Beobachtungen dieser Autoren. Im Unterschied zu der Untersuchung von Weiss et al. (1990) können

Schwankungen in der Selenversorgung der untersuchten Milchviehbetriebe nicht ausgeschlossen werden.

Die zwischen Harn-, Plasma-, Leber- und Vollblutselenkonzentrationen nachgewiesenen Korrelationen (MW: $r = 0,50$ bis $r = 0,69$) suggerieren einen engen kinetischen Zusammenhang zwischen den Substraten, während die ermittelten Korrelationskoeffizienten zwischen der Selenkonzentration im Haar und den aufgeführten Substraten (MW: $r \leq 0,37$) eine solche Beziehung nicht vermuten lassen.

Die Ergebnisse der Korrelationsanalyse lassen sich mit dem von Ellis et al. (1997), Taylor (2005) und Davis et al. (2012) aufgezeigten zeitlichen Reaktionsvermögen der Substrate gut in Übereinstimmung bringen. Die Untersuchung von Ellis et al. (1997) legt nahe, dass der Harn, die Leber, das Serum/Plasma und das Vollblut in abnehmender Reihenfolge als schnell und stark reagierende Indikatoren der Selenversorgung zu betrachten sind. Das Haar ist im Vergleich dazu ein träge reagierender Indikator, was Taylor (2005) und Davis et al. (2012) nachweisen konnten.

Knowles et al. (1999) bestimmten zwischen Leber- und Vollblutselenkonzentration eine Korrelation von $r = 0,79$. Der ermittelte Korrelationskoeffizient zwischen Serum-/Plasma- und Vollblutselenkonzentration wird von Maas et al. (1992) mit $r = 0,88$, von Waldner et al. (1998) mit $r = 0,65$ und von Wolf et al. (1998) mit $r = 0,74$ bzw. $r = 0,61$ angegeben. Demgegenüber konnten Ivancic und Weiss (2001) keinen nennenswerten Zusammenhang zwischen Plasma- und Vollblutselenkonzentration vermerken. Die differierenden Ergebnisse können sich aus den unterschiedlichen Untersuchungsbedingungen, insbesondere die Kontinuität der Supplementierung und den Zeitpunkt der Konzentrationsbestimmung betreffen, begründen.

Die beobachtete Laktationsdynamik der Serum-/Plasma-, Leber- und Harnkonzentration ist tendenziell gleichgerichtet. Zust et al. (1996), Weiss und Hogan (2005) und Cappelli et al. (2007) registrierten mit den eigenen Beobachtungen vergleichbare, sich zur Abkalbung verringende und im Laktationsverlauf wieder ansteigende Serum-/Plasmaseelenkonzentrationen. Da Selen dazu tendiert, konstant als Fraktion der Futter-TS resorbiert zu werden (Gustafson und Olsson 2004), ist ein paralleler Konzentrationsverlauf der schnell reagierenden Probenmedien mit der TS-Ausnahmekurve zu erwarten. Diesen Zusammenhang konnten Koenig und Beauchemin (2009) für die Plasmaseelenkonzentration bereits nachweisen.

Die fehlende Laktationsdynamik der Vollblut- und Haarselenkonzentration lässt sich wahrscheinlich auf die trägere Reaktionszeit der Substrate zurückführen, wodurch

kurzfristige Veränderungen in der Selenaufnahme keinen ausschlaggebenden Effekt auf die Konzentrationen in den beiden Substraten nehmen dürften.

Entsprechend ihres zeitlichen Bezugs zur Selenversorgung sind alle untersuchten Substrate grundsätzlich geeignet, die Selenversorgung widerzuspiegeln. Hierbei stellen sich die Aussagekraft und das Reaktionsvermögen des Harns, des Serums/Plasmas und der Leber in der Bestandsbetreuung als günstig dar, wobei das Plasma aufgrund seiner Praktikabilität hervorzuheben ist.

Die in dieser Untersuchung ermittelten Referenzgrenzen für das Serum bzw. das Vollblut weisen eine annehmbare Übereinstimmung mit den Angaben von Maas (2007) und Herdt und Hoff (2011) auf (Tab. 87). Sie weichen deutlich von den von Wolf et al. (1998) und Kincaid (2000) veröffentlichten Angaben ab. Verschiedene Studien (Erskine et al. 1987; Weiss et al. 1990; Jukola et al. 1996b; Yaeger et al. 1998; Cebra et al. 2003) dokumentieren, dass zwischen Plasma-/Vollblutkonzentration und Prävalenz bzw. Schweregrad von Mastitiden sowie verschiedenen Immunfunktionsparametern ein statistisch signifikanter Zusammenhang besteht. Cebra et al. (2003) beobachtete bei Milchkühen mit Vollblutkonzentrationen oberhalb von 300 µg Se/l eine gesteigerte Superoxidproduktion der neutrophilen Granulozyten, was ein höheres Potential, Mikroben abzutöten, suggeriert. Allerdings sind nach den Aufzeichnungen von Yaeger et al. (1998) Vollblutkonzentrationen über 400 µg/l und Serumkonzentrationen über 200 µg/l mit einer Depression verschiedener Immunfunktionsparametern bei Kühen verbunden. Auf der Basis dieser beiden Arbeiten erscheinen die für diese beiden Substrate festgelegten Referenzgrenzen gerechtfertigt.

Tab. 93: Aus der eigenen Untersuchung erarbeitete, praktisch anwendbare Referenzbereiche für die Selenkonzentration des Serums, Plasmas, Vollbluts, Harns und der Leber im Vergleich mit den Angaben der Literatur.

Quelle	Referenzbereiche				
	Serum	Plasma	Vollblut	Harn	Leber
	µg/l				mg/kg TS
eigene Untersuchung	53 - 123	65 - 139	124 - 371	14 - 385	842 - 4411
Herdt und Hoff (2011)	60 - 200		120 - 300		700 - 2200
Maas (2007)			100 - 350		900 - 1750
Kincaid (2000)			210 - 1200		1250 - 2500
Wolf et al. (1998)	40 - 70		70 - 120		
Empfehlung	55 - 130	65 - 140	120 - 350	20 - 380	850 - 4400

6 Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse dieser Untersuchung lassen in Verbindung mit der Literatur folgende Schlussfolgerungen zur Diagnostik der Spurenelementversorgung zu:

- Der erste Schritt in der Diagnostik der Spurenelementversorgung sollte in der Bestimmung der Rationsspurenelementgehalte bestehen, um grundlegende Informationen über die Versorgungssituation einer Milchviehherde zu gewinnen und nach Abschluss der Diagnostik Maßnahmen zur Behebung von Fehlversorgungen einleiten zu können.
- Bei der weiterführenden Diagnostik ist zu berücksichtigen, dass die Aussagekraft der verschiedenen Indikatoren maßgeblich durch elementspezifische homöostatische Regulationsmechanismen beeinflusst wird. In dieser Untersuchung stellt sich dieser Umstand in den variablen und zudem überwiegend sehr geringen bis geringen Korrelationen zwischen den untersuchten Substratkonzentrationen dar.
- Die überwiegend bzw. gänzlich fehlende Laktationsdynamik der Spurenelementkonzentrationen im Vollblut und im Haar deutet auf ein grundsätzlich träges Reaktionsverhalten der beiden Substrate hin. Hierdurch ist ihre Verwendung im Rahmen der prophylaktischen Bestandsbetreuung, in der Abweichungen von einer bedarfsgerechten Versorgungssituation frühzeitig erkannt werden sollen, als ungünstig zu betrachten.
- Die Serum-/Plasma- und die Lebersporenelementkonzentrationen sind im Allgemeinen als schnell reagierende Parameter zu betrachten und deshalb zur Beurteilung der Spurenelementversorgungslage im Rahmen der Bestandsbetreuung zu empfehlen.
- An der beobachteten Laktationsdynamik der untersuchten Substratkonzentrationen wird deutlich, dass die abkalbungsbedingte Akute-Phase-Reaktion einen limitierenden Effekt auf die Aussagesicherheit verschiedener Serum-/Plasma- und Lebersporenelementkonzentration ausübt. Grundsätzlich ist während des Ablaufes einer Akute-Phase-Reaktion mit einer Erhöhung der Cu-Konzentration im Serum/Plasma und der Fe- und Zn-Konzentration im Lebergewebe sowie einer Erniedrigung der Fe- und Zn-Konzentration im Serum/Plasma zu rechnen. Aufgrund dessen ist ihre Bestimmung zur Beurteilung der Spurenelement-

versorgungslage in der Frühlaktations-Phase (ca. 0 bis 8 Wochen p. p.) nicht zu empfehlen, da in diesem Zeitraum mit einem vermehrten Auftreten von entzündlichen Prozessen (Metritiden, Mastitiden) bei Milchkühen zu rechnen ist.

- Die festgestellte mittlere Differenz zwischen den gepaarten Plasma- und Serumkonzentrationen der Spurenelemente Cu, Fe, und Se besitzt diagnostische Relevanz. Das Plasma ist dem Serum als Probenmedium grundsätzlich vorzuziehen, da es keiner artifiziellen Veränderung durch den Gerinnungsprozess unterliegt.
- Für die Plasmaspurenelementkonzentration ist bei der Verwendung von Gruppenmittel- und Poolwerten im Mittel vom gleichen Informationsgehalt auszugehen. Jedoch stellt sich die erhebliche Streuung der einzelnen Differenzen der beiden Messgrößen für alle Spurenelemente als unbefriedigend dar. Hieran wird deutlich, dass der Einfluss von präanalytischen Variabilitätsfaktoren und die geringe analytische Messgenauigkeit an sich generelle Problemfelder in der Spurenelementdiagnostik darstellen. Die Evaluierung von Poolwerten zur Diagnostik der Spurenelementversorgung benötigt weitere Untersuchungen.
- Die Anzahl der zu untersuchenden Tiere richtet sich grundsätzlich nach dem gewählten Stichprobentestverfahren. Sieben Tiere pro Untersuchungsgruppe sollten im Allgemeinen aber als Orientierungsrichtlinie nicht unterschritten werden.
- **Kupfer:** Die ausschließliche Bestimmung des Rationskupfergehalts kann, bedingt durch die Wechselwirkung von Kupfer zu seinen Antagonisten, zu Fehlinterpretationen der Versorgungslage führen. Die Bestimmung der Leberkupferkonzentration stellt den Goldstandard zur Diagnostik der Kupferversorgung dar und gibt Aufschluss über die bestehende Leberkupferreserve. Die Bestimmung der Serum-/Plasmakupferkonzentration dient hingegen zum Nachweis eines Kupfermangels, da sie erst nach Verlust der Leberkupferreserve mit einer Verringerung reagiert. Zudem wird eine Überversorgung durch das Serum/Plasma nicht reflektiert. Die Abhängigkeit der Serum/Plasmakonzentration von einer Akute-Phase-Reaktion ist bei der Interpretation von Analyseergebnissen zu berücksichtigen.
- **Molybdän:** Die Bestimmung der Molybdänkonzentration im Serum/Plasma, in der Leber oder im Harn kann grundlegende Erkenntnisse über die Molybdänversorgung erbringen. Der praktische Nutzen von diagnostischen Maßnahmen, die über die

Bestimmung des Rationsmolybdängehalts hinausgehen, ist allerdings gering. Zum einen kommt eine Molybdänunterversorgung bei Rindern in der Praxis nicht vor, zum anderen kommt der Molybdänübersorgung lediglich eine Bedeutung in der Entwicklung von Kupferverwertungsstörungen zu, worüber ermittelte Molybdänsubstratkonzentrationen keine zuverlässige Aussage zulassen.

- **Eisen:** Grundsätzlich lässt sich die Eisenübersorgung durch die Bestimmung der Leberkonzentration nachweisen und dem Serum/Plasma ist eine diagnostische Eignung zum Nachweis von Eisenmangelzuständen (milchgetränkte Kälber) beizumessen. Bei der Interpretation der Analyseergebnisse ist die potenzielle Abhängigkeit der Substratkonzentrationen von einer Akute-Phase-Reaktion zu berücksichtigen. Da unter realistischen Fütterungsbedingungen bei ruminierenden Rindern, aufgrund effektiver Regulationsmechanismen der Eisenhomöostase, mit keiner fütterungsbedingten Reaktion der untersuchten Substratkonzentrationen zu rechnen ist, erscheint die Bestimmung des Rationsgehalt zur Beurteilung der Eisenversorgung von Milchkühen als ausreichend.
- **Zink:** Die Diagnostik der Zinkversorgung stellt sich aufgrund der Besonderheiten der Zinkhomöostase schwierig dar. Innerhalb des Bereiches der bedarfsgerechten bis hohen Versorgung ist mit keiner fütterungsbedingten Reaktion der untersuchten Substratkonzentrationen zu rechnen. Das Serum/Plasma und das Lebergewebe sind aber grundsätzlich zum Nachweis eines Zinkmangels geeignet. Da allerdings bei einer Unterversorgung nur eine geringe Zinkdepression in den Substraten auftritt und Abweichungen von den Referenzbereichen sich ebenso durch den Ablauf einer Akute-Phase-Reaktion begründen können, ist es empfehlenswert die Plausibilität der Analyseergebnisse immer in Verbindung mit den Ergebnissen der Rationszinkanalyse abzuklären.
- **Mangan:** Selbst Manganmangelsituationen, die mit der Ausbildung von klinischen Symptomen einhergehen, werden nicht durch die untersuchten Substratmangankonzentrationen reflektiert. Nur eine exorbitante Übersorgung mit der unter praktischen Bedingungen nicht zu rechnen ist, geht mit einer Konzentrationserhöhung von Serum-/Plasma-, Vollblut- und Leberwerten einher. Die Bestimmung des Rationsmangangehalts stellt, aufgrund mangelnder Alternativen, die zweckdienlichste Maßnahme zur Diagnostik der Manganversorgung bei Rindern dar.

- **Selen:** Aufgrund der schlecht einzuschätzenden Bioverfügbarkeit des Futterseleens und möglicher Wechselwirkungen andere Elemente zu Se sollten neben der Bestimmung des Rationseleengehalts weitere diagnostische Maßnahmen durchgeführt werden. Entsprechend ihres zeitlichen Bezugs zur Selenversorgung sind grundsätzlich alle untersuchten Substrate geeignet die Selenversorgung widerzuspiegeln. Während die Harn-, die Serum-/Plasma- und die Leberkonzentration die aktuelle Versorgungslage reflektieren, ist das Vollblut als mittel- bis langfristiger und das Haar als langfristiger Selenversorgungsindikator einzuordnen. Das Plasma ist aufgrund der einfachen Probenahme und dem günstigen zeitlichen Verhältnis zur Supplementierung in der Praxis zu bevorzugen.
- **Referenzbereiche:** Die in dieser Untersuchung zur Diagnostik der Spurenelementversorgung erarbeiteten Referenzbereichsvorschläge können als Orientierungsrichtlinie in der Praxis verwendet werden. Von der differenzierten Verwendung von Referenzbereichen für Einzel- und Stichprobenmittelwerte (Gruppen- und Poolwerte) bis zu einer Stichprobengröße von $n \leq 7$ kann abgesehen werden. Auch eine laktationsphasenspezifische Verwendung von Referenzbereichen ist nicht erforderlich, da die Akute-Phase-Reaktion, welche den wichtigsten statusunabhängigen Variationsfaktor auf die Laktationsdynamik der Serum-/Plasma- (Cu, Fe, Zn) und der Leberkonzentration (Fe, Zn) darstellt, bei den erarbeiteten Referenzbereichsvorschlägen (Tab. 94) weitestgehend ausgeschlossen wurde.

Tab. 94: Zur Diagnostik der Spurenelementversorgung vorzuschlagende Referenzmedien und -bereiche

	Serum	Plasma	Vollblut	Harn	Leber	Ration
	µg/l			mg/kg TS		
Cu	450 - 1100	600 - 1300	-	-	100 - 600	10 - 20
Mo	1 - 30		-	10 - 450	1,6 - 5,1	2 - 5*
Fe	650 - 2000	900 - 2700	-	-	170 - 600	700 - 1200*
Zn	550 - 1200		-	-	70 - 200	40 - 100
Mn	1 - 6		4 - 16	-	5 - 12,5	40 - 100
Se	55 - 130	65 - 140	120 - 350	20 - 380	0,85 - 4,4	0,2 - 0,5

-: keine praktische Relevanz für die Diagnostik der Spurenelementversorgung,

*: Überversorgung.

7 Zusammenfassung

Untersuchungen zur Diagnostik der Spurenelementversorgung von Holstein-Friesian-Milchkühen

Für die Herdengesundheit und -produktivität ist eine bedarfsgerechte Versorgung mit Spurenelementen essenziell. Die Diagnostik der Spurenelementversorgung ist allerdings mit erheblichen Unsicherheiten verbunden. Diese betreffen besonders die Wahl des geeigneten diagnostischen Probenmediums und die jeweils anzuwendenden Referenzbereiche.

Ziel dieser Arbeit ist es, eine Empfehlung für die Diagnostik der Spurenelementversorgung von Milchkühen zu erarbeiten.

Zu diesem Zweck wurde auf 20 Milchviehbetrieben in den neuen Bundesländern Probenmaterial von jeweils sieben Kühen aus den Laktationsabschnitten Frischmelker (0 bis 7 Tage p. p.), Hochlaktation (105 bis 126 Tage p. p.) und Spätlaktation (308 bis 329 Tage p. p.) genommen. Insgesamt standen 418 klinisch unauffällige Milchkühe zur Verfügung. In den gewonnenen Probenmaterialien Serum, Plasma, Vollblut, Harn, Leber und Haar wurden die Konzentrationen von Cu, Mo, Fe, Zn, Mn und Se mittels optischer Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES) bestimmt. Zusätzlich wurden Tränkwasser- und Futterrationsanalysen vorgenommen. Neben den in den Einzelproben analysierten Spurenelementkonzentrationen wurden Poolproben aus gleichen Volumina der sieben Einzelproben der einzelnen Laktationsgruppen gebildet und analysiert. Des Weiteren wurden arithmetische Mittelwerte aus den Einzelprobenkonzentrationen der jeweiligen Laktationsgruppen errechnet.

In dieser Untersuchung konnten, mit Ausnahme des Zusammenhangs zwischen den Serum- und Plasmakonzentrationen der einzelnen Spurenelemente, keine engen Korrelationen ($r > 0,7$) zwischen den unterschiedlichen Probenmedien beobachtet werden. Die Variabilität der Ergebnisse der Korrelationsanalyse ist der elementspezifischen Spurenelementkinetik und statusunabhängigen Faktoren (Akute-Phase-Reaktion) zuzuordnen.

Zwischen den Laktationsabschnitten konnten signifikante Konzentrationsunterschiede in den Substraten Serum und Plasma (Ausnahme Mo) sowie Harn und Leber ermittelt werden. Die Laktationsdynamik der Cu-, Fe- und Zn-Konzentrationen im Serum und Plasma und der Fe- und Zn-Konzentrationen im Lebergewebe lässt darauf schließen, dass die abkalbungsinduzierte Akute-Phase-Reaktion einen maßgeblichen Einfluss auf die

Konzentrationsverteilungen dieser Spurenelemente bei den Frischmelkerkühen ausübt. Aufgrund dieser Situation ist die Aussagesicherheit dieser Substratkonzentrationen über die Versorgungssituation im frühen postpartalen Zeitraum und grundsätzlich bei allen Krankheitsgeschehen, die mit dem Ablauf einer Akute-Phase-Reaktion einhergehen, als gering einzuschätzen. Weiterhin wurde festgestellt, dass im Verlauf der Laktation die Konzentration der untersuchten Spurenelemente im Vollblut nur partiell (Cu, Mn) und im Haar nicht signifikant variieren.

Die Bland-Altman-Methodenvergleiche zwischen den gepaarten Serum- und Plasmaspurenelementkonzentrationen zeigten, dass Serumwerte, mit Ausnahme von Mo, im Mittel signifikant niedriger sind als die entsprechenden Plasmakonzentrationen und dass eine erhebliche Streuung der einzelnen Differenzen der beiden Messgrößen vorliegt. Dieses bedeutet, dass das Plasma bevorzugt in der Praxis einzusetzen ist, da es keinem artifiziell bedingten Gerinnungsverlust unterliegt.

Die Bland-Altman-Methodenvergleiche zwischen den gepaarten Gruppenmittel- und Poolwertspurenelementkonzentrationen des Plasmas (Cu, Mo, Fe, Zn, Mn, Se) und Vollbluts (Mn, Se) zeigten, dass die mittleren Konzentrationen der beiden Messgrößen, mit Ausnahme der Vollblutmangankonzentrationen, sich nicht signifikant unterscheiden. Allerdings liegt nur eine geringe Übereinstimmung zwischen den beiden Parametern vor. Hieraus lässt sich folgern, dass präanalytische Variabilitätsfaktoren und die Messgenauigkeit der Spurenelementanalyse an sich grundsätzliche Problemfelder in der Spurenelementdiagnostik darstellen.

Ferner wurden Referenzbereiche aus dem vorhandenen Datenmaterial ermittelt, aus denen in Verbindung mit der Literatur Referenzbereichsvorschläge für praxisrelevante Substratkonzentrationen entwickelt wurden. Von der differenzierten Verwendung von Referenzbereichen für Einzel- und Stichprobenmittelwerte (Gruppenmittel- und Poolwerte) bis zu einer Stichprobengröße von $n \leq 7$ kann abgesehen werden.

Zur Diagnostik der Versorgungslage mit Cu und Se lassen sich eindeutige Empfehlungen geben. Im ersterem Fall ist das Lebergewebe und im letzteren Fall das Plasma Medium der Wahl. Zur Diagnostik der Spurenelementversorgung mit Mo, Fe, Zn und Mn sind eindeutige Empfehlungen schwierig vorzunehmen, da das Aussagevermögen bzw. die Aussagesicherheit der verfügbaren diagnostischen Indikatoren über den Versorgungsstatus begrenzt ist. Unter realistischen Fütterungsbedingungen ist davon auszugehen, dass die Bestimmung des Rationsgehalts dieser Spurenelemente ausreichend Information zur Beurteilung der Versorgungslage erbringt.

8 Summary

Investigations on diagnostics of trace element supply in Holstein-Friesian dairy cows

A sufficient supply of trace elements is essential for herd health and productivity. However, its diagnosis comprises considerable uncertainties, particularly regarding the choice of the appropriate diagnostic sample medium and the applicable reference ranges.

The aim of this study is to develop recommendations for diagnosis of trace elements supply in dairy cows.

For this purpose, samples were collected on 20 dairy farms in the states of the former East Germany between 2008 and 2010. On each farm, seven fresh (0 to 7 days p. p.), seven mid-lactation (105 to 126 days p. p.), and seven late-lactation cows (308 to 329 days p. p.) were sampled. A total of 418 clinically healthy cows were available.

The trace element concentrations of Cu, Mo, Fe, Zn, Mn, and Se in the substrates serum, plasma, whole blood, urine, liver and hair were determined using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). Furthermore, Total Mixed Ration (TMR) and drinking water samples were analyzed.

In addition to the analyses of trace element concentrations in individual samples, pooled samples were derived from equal volumes of the seven individual samples of each lactation group, and analyzed in a similar manner. Arithmetic means were calculated from the individual sample concentrations for each lactation group in each herd.

Strong correlations ($r > 0.7$) between the substrate concentrations were only detected for the relationship between serum and plasma. The variability of the results of the correlation analysis can be explained by the element-specific kinetics, due to homeostatic mechanisms and status independent factors (acute-phase reaction).

Trace element concentrations were observed to differ significantly in serum and plasma (except for the Mo concentration), urine, as well as liver among the stages of lactation. The lactation dynamic of Cu, Zn and Fe in serum and plasma, as well as Zn and Fe in liver demonstrates the influence of the calving-induced acute-phase reaction on the distribution of the trace element concentrations in fresh cows. Therefore, the reliability of these substrate concentrations for Cu, Fe, and Zn to predict feed trace element supply is considered to be low in the early postpartum period and in cases of diseases which are associated with an acute-phase reaction.

Furthermore, it was shown that the concentrations of the studied trace elements vary only partly in whole blood (Cu, Mn) and insignificantly in hair during lactation.

The Bland-Altman plots between the paired serum and plasma trace element concentrations showed that, with exception of Mo, all trace element concentrations in serum are, on average, significantly lower than in plasma. Moreover the respective differences of the two values scatter to a very high extent. In contrast to serum, plasma is not artificially influenced by blood clotting and should be preferred over serum in practice. The Bland-Altman plots between the paired group means and pool values of plasma (Cu, Mo, Fe, Zn, Mn, Se) and whole blood (Mn, Se) trace element concentrations showed that the mean concentrations of the two values do not differ significantly (except whole blood Mn). However, the two parameters agree only poorly. Therefore, factors of pre-analytic variability and the accuracy of measurement are limiting factors in trace element diagnostics.

Furthermore, reference ranges were determined from present data, from which, taking the literature into account, proposals for reference ranges were developed for practically relevant substrate concentrations. The use of different reference ranges for individual values, pool or group mean values up to a sample size of $n \leq 7$ is not necessary.

For the diagnosis of the supply situation of Cu and Se clear recommendations can be given. For the determination of Cu supply liver tissue is the medium of choice, for Se it is plasma. No consistent recommendations for diagnostics of the trace element supply of Mo, Fe, Zn and Mn can be made, because there is only limited predictive ability or reliability of available diagnostic indicators. Under realistic feeding conditions the determination of feed content of these trace elements is adequate to give sufficient information about the supply situation.

9 Literaturverzeichnis

Ahola, J. K.; Baker, D. S.; Burns, P. D.; Mortimer, R. G.; Enns, R. M.; Whittier, J. C.; Geary, T. W. und Engle, T. E. (2004):
Effect of copper, zinc, and manganese supplementation and source on reproduction, mineral status, and performance in grazing beef cattle over a two-year period.
J Anim Sci. 82(8), 2375-2383.

Aisen, P.; Wessling-Resnick, M. und Leibold, E. A. (1999):
Iron metabolism.
Curr Opin Chem Biol. 3(2), 200-206.

Aitken, P. (2001):
Selenium toxicity.
In Practice. 23(5), 286-289.

Alfaro, E.; Neathery, M. W.; Miller, W. J.; Crowe, C. T.; Gentry, R. P.; Fielding, A. S.; Pugh, D. G. und Blackmon, D. M. (1988):
Influence of a wide range of calcium intakes on tissue distribution of macroelements and microelements in dairy calves.
J Dairy Sci. 71(5), 1295-1300.

Ammerman, C. B. (1970):
Recent developments in cobalt and copper in ruminant nutrition: A review.
J Dairy Sci. 53(8), 1097-1107.

Andrews, G. W. und Smith, J. E. (2010):
Iron and copper deficiencies and disorders of iron metabolism.
In: D. J. Weiss und O. W. Schalm (Hrsg.): Schalm's veterinary hematology. 6. Auflage.
Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, 129-133.

Anke, M. (1966):
Der Mengen- und Spurenelementgehalt des Rinderhaares als Indikator der Calcium-, Magnesium-, Phosphor-, Kalium-, Natrium-, Eisen-, Zink-, Mangan-, Kupfer-, Molybdän- und Kobaltversorgung.
Arch Tierernährg. 16(1), 57-75.

Anke, M.; Groppe, B. und Grun, M. (1985):
Essentiality, toxicity, requirement and supply of molybdenum in human and animals.
In: C. F. Mills, I. Bremner und J. K. Chesters (Hrsg.): Trace elements in man and animals - Tema-5: Proceedings of the fifth international symposium on trace elements in man and animals.
Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Slough, 154-157.

Anke, M. und Risch, M. (1979):
Haaranalyse und Spurenelementstatus.
Gustav Fischer Verlag, Jena

- ARC (1980):
The nutrient requirements of ruminant livestock.
Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Slough
- Arthington, J. D.; Corah, L. R. und Blecha, F. (1996):
The effect of molybdenum-induced copper deficiency on acute-phase protein concentrations, superoxide dismutase activity, leukocyte numbers, and lymphocyte proliferation in beef heifers inoculated with bovine herpesvirus-1.
J Anim Sci. 74(1), 211-217.
- Aspila, P. (1991):
Metabolism of selenite, selenomethionine and feed incorporated selenium in lactating goats and dairy cows.
J Agr Sci Finland. 63(1), 69-73.
- Atyabi, N.; Gharagozloo, F. und Nassiri, S. (2006):
The necessity of iron supplementation for normal development of commercially reared suckling calves.
Comp Clin Path. 15(3), 165-168.
- Au, C.; Benedetto, A. und Aschner, M. (2008):
Manganese transport in eukaryotes: The role of DMT1.
Neurotoxicology. 29(4), 569-576.
- Auza, N. J.; Olson, W. G.; Murphy, M. J. und Linn, J. G. (1999):
Diagnosis and treatment of copper toxicosis in ruminants.
J Am Vet Med Assoc. 214(11), 1624-1628.
- Awadeh, F. T.; Abdelrahman, M. M.; Kincaid, R. L. und Finley, J. W. (1998):
Effect of selenium supplements on the distribution of selenium among serum proteins in cattle.
J Dairy Sci. 81(4), 1089-1094.
- Azab, M. E. und Abdel-Maksoud, H. A. (1999):
Changes in some hematological and biochemical parameters during prepartum and postpartum periods in female Baladi goats.
Small Rumin Res. 34(1), 77-85.
- Balemi, S. C.; Grace, N. D.; West, D. M.; Smith, S. L. und Knowles, S. O. (2010):
Accumulation and depletion of liver copper stores in dairy cows challenged with a Cu-deficient diet and oral and injectable forms of Cu supplementation.
N Z Vet J. 58(3), 137-141.
- Barber, E. F. und Cousins, R. J. (1988):
Interleukin-1 stimulated induction of ceruloplasmin synthesis in normal and copper-deficient rats.
J Nutr. 118(3), 375-381.

- Barceloux, D. G. (1999a):
Selenium.
J Toxicol Clin Toxicol. 37(2), 145-172.
- Barceloux, D. G. (1999b):
Molybdenum.
J Toxicol Clin Toxicol. 37(2), 231-237.
- Beard, J. und Han, O. (2009):
Systemic iron status.
Biochim Biophys Acta. 1790(7), 584-588.
- Beede, D. K. (1991):
Mineral and water nutrition.
Vet Clin North Am Food Anim Pract. 7(2), 373-390.
- Beeson, W. M.; Perry, T. W. und Zurcher, T. D. (1977):
Effect of supplemental zinc on growth and on hair and blood serum levels of beef cattle.
J Anim Sci. 45(1), 160-165.
- Bentley, O. G. und Phillips, P. H. (1951):
The effect of low manganese rations upon dairy cattle.
J Dairy Sci. 34(5), 396-403.
- Bernier, J. F.; Fillion, F. J. und Brisson, G. J. (1984):
Dietary fibers and supplementary iron in a milk replacer for veal calves.
J Dairy Sci. 67(10), 2369-2379.
- Bidewell, C. A.; David, G. P. und Livesey, C. T. (2000):
Copper toxicity in cattle.
Vet Rec. 147(14), 399-400.
- Bingley, J. B. und Dick, A. T. (1969):
The pH optimum for ceruloplasmin oxidase activity in the plasma of several species of animal.
Clin Chim Acta. 25(3), 480-482.
- Black, J. R.; Ammerman, C. B. und Henry, P. R. (1985):
Effects of high dietary manganese as manganese oxide or manganese carbonate in sheep.
J Anim Sci. 60(3), 861-866.
- Blakley, B. R. und Hamilton, D. L. (1985):
Ceruloplasmin as an indicator of copper status in cattle and sheep.
Can J Comp Med. 49(4), 405-408.
- Bland, J. M. und Altman, D. G. (1986):
Statistical-methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement.
Lancet. 1(8476), 307-310.

- Bland, J. M. und Altman, D. G. (1999):
Measuring agreement in method comparison studies.
Stat Methods Med Res. 8(2), 135-160.
- Bleackley, M. R.; Wong, A. Y. K.; Hudson, D. M.; Wu, C. H. Y. und MacGillivray, R. T. A. (2009):
Blood iron homeostasis: Newly discovered proteins and iron imbalance.
Transfus Med Rev. 23(2), 103-123.
- Boila, R. J. (1987):
Supplementary trace minerals for the feedlot finishing of beef steers.
Can J Anim Sci. 67(3), 765-774.
- Borchardt, S. und Staufenbiel, R. (2012):
Evaluation of the use of nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate concentrations in pooled serum samples for herd-based detection of subclinical ketosis in dairy cows during the first week after parturition.
JAVMA. 240(8), 1003-1011.
- Boyne, R. (1978):
Changes in leucocyte cytochrome oxidase activity associated with deficiency of copper in laboratory and farm animals.
Res Vet Sci. 24(2), 134-138.
- Bradley, C. H. (1993):
Copper poisoning in a dairy herd fed a mineral supplement.
Can Vet J. 34(5), 287-292.
- Bremner, I. (1987):
Involvement of metallothionein in the hepatic metabolism of copper.
J Nutr. 117(1), 19-29.
- Bremner, I. (1998):
Manifestations of copper excess.
Am J Clin Nutr. 67(5 Suppl), 1069-1073.
- Bremner, I. und Beattie, J. H. (1990):
Metallothionein and the trace minerals.
Annu Rev Nutr. 10, 63-83.
- Bremner, I.; Brockway, J. M. und Donnelly, H. T. (1976):
Anaemia and veal calf production.
Vet Rec. 99(11), 203-205.
- Bremner, I. und Dalgarno, A. C. (1973):
Iron metabolism in the veal calf.
Br J Nutr. 29(2), 229-243.

- Broderius, M. A. und Prohaska, J. R. (2009):
Differential impact of copper deficiency in rats on blood cuproproteins.
Nutr Res. 29(7), 494-502.
- Bühl, A. und Zöfel, P. (2000):
SPSS Version 9: Einführung in die moderne Datenanalyse unter Windows. 6. Auflage.
Addison Wesley, München u.a.
- Buitkamp, J.; Semmer, J. und Gotz, K. U. (2011):
Arachnomelia syndrome in Simmental cattle is caused by a homozygous 2-bp deletion in the molybdenum cofactor synthesis step 1 gene (MOCS1).
Bmc Genetics. 12(11), 1-10.
- Burguera, J. L. und Burguera, M. (2007):
Molybdenum in human whole blood of adult residents of the Merida State (Venezuela).
J Trace Elem Electrolytes Health Dis. 21(3), 178-183.
- Calamari, L.; Petrera, F. und Bertin, G. (2010):
Effects of either sodium selenite or Se yeast (Sc CNCM I-3060) supplementation on selenium status and milk characteristics in dairy cows.
Livest Sci. 128(1-3), 154-165.
- Cammack, K. M.; Wright, C. L.; Austin, K. J.; Johnson, P. S.; Cockrum, R. R.; Kessler, K. L. und Olson, K. C. (2010):
Effects of high-sulfur water and clinoptilolite on health and growth performance of steers fed forage-based diets.
J Anim Sci. 88(5), 1777-1785.
- Campbell, M. H. und Miller, J. K. (1998):
Effect of supplemental dietary vitamin E and zinc on reproductive performance of dairy cows and heifers fed excess iron.
J Dairy Sci. 81(10), 2693-2699.
- Cao, H. N.; Pauff, J. M. und Hille, R. (2010):
Substrate orientation and catalytic specificity in the action of xanthine oxidase the sequential hydroxylation of hydroxylation of hypoxanthine to uric acid.
J Biol Chem. 285(36), 28044-28053.
- Cappelli, F. P.; Trevisi, E.; Mbuta, A. B. und Gubbiotti, A. (2007):
Change of selenium in plasma of dairy cows receiving two levels of sodium-selenite during the transition period.
Ital J Anim Sci. 6, 336-338.
- Cebra, C. K.; Heidel, J. R.; Crisman, R. O. und Stang, B. V. (2003):
The relationship between endogenous cortisol, blood micronutrients, and neutrophil function in postparturient Holstein cows.
J Vet Intern Med. 17(6), 902-907.

- Ceron, J. J.; Eckersall, P. D. und Martinez-Subiela, S. (2005):
Acute phase proteins in dogs and cats: Current knowledge and future perspectives.
Vet Clin Pathol. 34(2), 85-99.
- Cerone, S. I.; Sansinanea, A. S.; Streitenberger, S. A.; Garcia, M. C. und Auza, N. J. (2000):
Cytochrome c oxidase, Cu, Zn-Superoxide dismutase, and ceruloplasmin activities in copper-deficient bovines.
Biol Trace Elem Res. 73(3), 269-278.
- Chase, C. R.; Beede, D. K.; Van Horn, H. H.; Shearer, J. K.; Wilcox, C. J. und Donovan, G. A. (2000):
Responses of lactating dairy cows to copper source, supplementation rate, and dietary antagonist (iron).
J Dairy Sci. 83(8), 1845-1852.
- Chirase, N. K.; Hutcheson, D. P. und Thompson, G. B. (1991):
Feed intake, rectal temperature, and serum mineral concentrations of feedlot cattle fed zinc oxide or zinc methionine and challenged with infectious bovine rhinotracheitis virus.
J Anim Sci. 69(10), 4137-4145.
- Clark, R. G. und Ellison, R. S. (1993):
Mineral testing: The approach depends on what you want to find out.
N Z Vet J. 41(2), 98-100.
- Clawson, W. J.; Lesperance, A. L.; Bohman, V. R. und Layhee, D. C. (1972):
Interrelationship of dietary molybdenum and copper on growth and tissue composition of cattle.
J Anim Sci. 34(3), 516-520.
- Claypool, D. W.; Adams, F. W.; Pendell, H. W.; Hartmann, N. A., Jr. und Bone, J. F. (1975):
Relationship between the level of copper in the blood plasma and liver of cattle.
J Anim Sci. 41(3), 911-914.
- Colvin, R. A.; Holmes, W. R.; Fontaine, C. P. und Maret, W. (2010):
Cytosolic zinc buffering and muffling: Their role in intracellular zinc homeostasis.
Metallomics. 2(5), 306-317.
- Combs, D. K. (1987):
Hair analysis as an indicator of mineral status of livestock.
J Anim Sci. 65(6), 1753-1758.
- Combs, D. K.; Goodrich, R. D. und Meiske, J. C. (1982):
Mineral concentrations in hair as indicators of mineral status: A review.
J Anim Sci. 54(2), 391-398.
- Conrad, H. R. und Moxon, A. L. (1979):
Transfer of dietary selenium to milk.
J Dairy Sci. 62(3), 404-411.

- Cope, C. M.; Mackenzie, A. M.; Wilde, D. und Sinclair, L. A. (2009):
Effects of level and form of dietary zinc on dairy cow performance and health.
J Dairy Sci. 92(5), 2128-2135.
- Corrigan, W.; Dalgarno, A. C.; Ewen, L. A. und Williams, R. B. (1976):
Modulation of plasma copper and zinc concentrations by disease states in ruminants.
Vet Rec. 99(20), 396-397.
- Cousins, R. J. (1985):
Absorption, transport, and hepatic metabolism of copper and zinc: Special reference to metallothionein and ceruloplasmin.
Physiol Rev. 65(2), 238-309.
- Cousins, R. J. und Leinart, A. S. (1988):
Tissue-specific regulation of zinc-metabolism and metallothionein genes by interleukin-1.
FASEB J. 2(13), 2884-2890.
- Cousins, R. J.; Liuzzi, J. P. und Lichten, L. A. (2006):
Mammalian zinc transport, trafficking, and signals.
J Biol Chem. 281(34), 24085-24089.
- Coyle, P.; Philcox, J. C. und Rofe, A. M. (1995):
Metallothionein induction in cultured rat hepatocytes by arthritic rat serum, activated macrophages, interleukin-6, interleukin-11 and leukaemia inhibitory factor.
Inflamm Res. 44(11), 475-481.
- Cummings, J. E. und Kovacic, J. P. (2009):
The ubiquitous role of zinc in health and disease.
J Vet Emerg Crit Care. 19(3), 215-240.
- Cunningham, G. N.; Wise, M. B. und Barrick, E. R. (1966):
Effect of high dietary levels of manganese on the performance and blood constituents of calves.
J Anim Sci. 25(2), 532-538.
- Dargatz, D. A. und Ross, P. F. (1996):
Blood selenium concentrations in cows and heifers on 253 cow-calf operations in 18 states.
J Anim Sci. 74(12), 2891-2895.
- Davis, T. Z.; Stegelmeier, B. L.; Panter, K. E.; Cook, D.; Gardner, D. R. und Hall, J. O. (2012):
Toxicokinetics and pathology of plant-associated acute selenium toxicosis in steers.
J Vet Diagn Investig. 24(2), 319-327.
- DeCarvalho, P. R.; Gonçalves Pita, M. C.; Loureiro, J. E.; Tanaka, H. R. und Soares Ribeiro, J. C. (2010):
Manganese deficiency in bovines: Connection between manganese metalloenzyme dependent in gestation and congenital defects in newborn calves.
Pak J Nutr. 9(5), 488-503.

- DeFrain, J. M.; Socha, M. T.; Tomlinson, D. J.; Hittmann, A. R. und McKay, B. J. (2010):
Effect of feeding metal amino acid complexed trace minerals to dairy cattle for the
prevention of facial eczema.
Livest Sci. 129(1-3), 1-12.
- Deore, M. D.; Srivastava, A. K. und Sharma, S. K. (2002):
Blood selenium levels during different stages of selenosis in buffaloes and its evaluation as
a diagnostic tool.
Vet Hum Toxicol. 44(5), 260-263.
- Deore, M. D.; Srivastava, A. K. und Sharma, S. K. (2005):
Effect of reduced glutathione treatment on selenosis, blood selenium concentration and
glutathione peroxidase activity after repeated short-term selenium exposure in buffalo
calves.
Toxicology. 213(1-2), 169-174.
- Dirksen, G.; Gründer, H. D. und Stöber, M. (2006):
Innere Medizin und Chirurgie des Rindes. 5. Auflage.
MVS Medizinverlage Stuttgart, Stuttgart
- Dohoo, I.; Martin, W. und Stryhn, H. (2003):
Sampling.
In: I. Dohoo, W. Martin und H. Stryhn (Hrsg.): Veterinary Epidemiologic Research.
AVC Inc, Charlottetown, PEI, Canada, 2 -52.
- Dorton, K. L.; Wagner, J. J.; Larson, C. K.; Enns, R. M. und Engle, T. E. (2010):
Effects of trace mineral source and growth implants on trace mineral status of growing and
finishing feedlot steers.
Asian-australas J Anim Sci. 23(7), 907-909.
- Douglas, G. N.; Overton, T. R.; Bateman II, H. G.; Dann, H. M. und Drackley, J. K.
(2006):
Prepartal plane of nutrition, regardless of dietary energy source, affects periparturient
metabolism and dry matter intake in Holstein cows.
J Dairy Sci. 89(6), 2141-2157.
- Du, Z.; Hemken, R. W. und 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), 1873-1880.
- Dyer, I. A. und Rojas, M. A. (1965):
Manganese requirements and functions in cattle.
J Am Vet Med Assoc. 147(12), 1393-1396.
- Eisa, A. M. A. und Elgebaly, L. S. (2010):
Effect of ferrous sulphate on haematological, biochemical and immunological parameters
in neonatal calves.
Vet Ital. 46(3), 329-335.

- Ellis, R. G.; Herdt, T. H. und Stowe, H. D. (1997):
Physical, hematologic, biochemical and immunologic effects of supranutritional supplementation with dietary selenium in Holstein cows.
Am J Vet Res. 58(7), 760-764.
- Engle, T. E.; Fellner, V. und Spears, J. W. (2001):
Copper status, serum cholesterol, and milk fatty acid profile in Holstein cows fed varying concentrations of copper.
J Dairy Sci. 84(10), 2308-2313.
- Engle, T. E.; Nockels, C. F.; Kimberling, C. V.; Weaber, D. L. und Johnson, A. B. (1997):
Zinc repletion with organic or inorganic forms of zinc and protein turnover in marginally zinc deficient calves.
J Anim Sci. 75(11), 3074-3081.
- Engle, T. E. und Spears, J. W. (2000):
Effects of dietary copper concentration and source on performance and copper status of growing and finishing steers.
J Anim Sci. 78(9), 2446-2451.
- Enjalbert, F.; Lebreton, P. und 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), 459-466.
- Erskine, R. J. und Bartlett, P. C. (1993):
Serum concentrations of copper, iron, and zinc during *Escherichia coli* induced mastitis.
J Dairy Sci. 76(2), 408-413.
- Erskine, R. J.; Eberhart, R. J.; Hutchinson, L. J. und Scholz, R. W. (1987):
Blood selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in dairy herds with high and low somatic cell counts.
J Am Vet Med Assoc. 190(11), 1417-1421.
- Fairweather-Tait, S. J.; Bao, Y. P.; Broadley, M. R.; Collings, R.; Ford, D.; Hesketh, J. E. und Hurst, R. (2011):
Selenium in human health and disease.
Antioxid Redox Signal. 14(7), 1337-1383.
- Fitsanakis, V. A.; Zhang, N.; Garcia, S. und Aschner, M. (2010):
Manganese (Mn) and iron (Fe): Interdependency of transport and regulation.
Neurotox Res. 18(2), 124-131.
- Flachowsky, G. (2000):
Spurenelemente.
In: W. v. Engelhardt und G. Breves (Hrsg.): *Physiologie der Haustiere.*
Enke in Hippokrates Verlag, Stuttgart, 609-620.

- Fonteque, J. H.; Takahira, R. K.; Saito, M. E.; Valente, A. C. D.; Barioni, G. und Kohayagawa, A. (2010):
Erythrogram, iron metabolism and serum erythropoietin concentration in female Saanen caprine in the pregnancy, parturition and postpartum periods.
Pesqui Vet Bras. 30(11), 991-995.
- Frieden, E. (1986):
Perspectives on copper biochemistry.
Clin Physiol Biochem. 4(1), 11-19.
- Fürll, M. (2005):
Spurenelementuntersuchung.
In: W. Kraft und U. M. Dürr (Hrsg.): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 6. Auflage.
Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, 468-471.
- Fürll, M.; Sattler, T. und Anke, M. (2004):
Secondary manganese deficiency as a herd problem in cattle: A case report.
Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere. 32(3), 126-132.
- Galvão, K. N.; Santos, N. R.; Galvão, J. S. und Gilbert, R. O. (2011):
Association between endometritis and endometrial cytokine expression in postpartum Holstein cows.
Theriogenology. 76(2), 290-299.
- Galyean, M. L.; Ralphs, M. H.; Reif, M. N.; Graham, J. D. und Braselton, W. E. (1996):
Effects of previous grazing treatment and consumption of locoweed on liver mineral concentrations in beef steers.
J Anim Sci. 74(4), 827-833.
- Gardner, W. C.; Broersma, K.; Popp, J. D.; Mir, Z.; Mir, O. S. und Buckley, W. T. (2003):
Copper and health status of cattle grazing high-molybdenum forage from a reclaimed mine tailing site.
Can J Anim Sci. 83(3), 479-485.
- Gehrke, M. und Lachowski, A. (1997a):
Determination of manganese in cow blood using the flameless atomic absorption spectrophotometry. Part 1: Analytical parameters of the precision and accuracy of the method.
Bull Vet Inst Puławy. 41(2), 109-114.
- Gehrke, M. und Lachowski, A. (1999):
The relationship between manganese content in the liver and its concentration in the serum of cattle.
Med Weter. 55(2), 126-128.
- Gelfert, C. C. und Staufienbiel, R. (1998):
Disorders in trace element status in cattle from the view of herd supervision. Part 1: Classical trace elements.
Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere. 26(2), 55-66.

- Gelfert, C. C. und Staufenbiel, R. (2000):
Problems in diagnostic of manganese status in dairy herds by herd supervision.
Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere. 28(2), 69-73.
- Gengelbach, G. P. und Spears, J. W. (1998):
Effects of dietary copper and molybdenum on copper status, cytokine production, and humoral immune response of calves.
J Dairy Sci. 81(12), 3286-3292.
- Gengelbach, G. P.; Ward, J. D. und 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), 2722-2727.
- Gerloff, B. J. (1992):
Effect of selenium supplementation on dairy cattle.
J Anim Sci. 70(12), 3934-3940.
- GfE (2001):
Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchtrinder.
DLG-Verlag, Frankfurt am Main
- Gibbons, R. A.; Dixon, S. N.; Hallis, K.; Russell, A. M.; Sansom, B. F. und Symonds, H. W. (1976):
Manganese metabolism in cows and goats.
Biochim Biophys Acta. 444(1), 1-10.
- Gierus, M.; Schwarz, F. J. und Kirchgessner, M. (2002):
Selenium supplementation and selenium status of dairy cows fed diets based on grass, grass silage or maize silage.
J Anim Physiol Anim Nutr. 86(3-4), 74-82.
- Givens, D. I.; Allison, R.; Cottrill, B. und Blake, J. S. (2004):
Enhancing the selenium content of bovine milk through alteration of the form and concentration of selenium in the diet of the dairy cow.
J Sci Food Agric. 84(8), 811-817.
- Godson, D. L.; Bacaestrada, M. E.; Vankessel, A. G.; Hughes, H. P. A.; Morsy, M. A.; Vandonkersgoed, J.; Harland, R. J.; Shuster, D. E.; Daley, M. J. und Babiuk, L. A. (1995):
Regulation of bovine acute-phase-responses by recombinant interleukine-1 β .
Can J Vet Res. 59(4), 249-255.
- Goff, J. P. und Stabel, J. R. (1990):
Decreased plasma retinol, α -tocopherol, and zinc concentration during the periparturient period: Effect of milk fever.
J Dairy Sci. 73(11), 3195-3199.

- Gooneratne, S. R.; Christensen, D. A.; Bailey, J. V. und Symonds, H. W. (1994):
Effects of dietary copper, molybdenum and sulfur on biliary copper and zinc excretion in Simmental and Angus cattle.
Can J Anim Sci. 74(2), 315-325.
- Gooneratne, S. R.; Laarveld, B.; Chaplin, R. K. und Christensen, D. A. (1989):
Profiles of Cu in blood, bile, urine and faeces from Cu-primed lambs: Effect of Mo-labelled tetrathiomolybdate on the metabolism of Cu after long-term storage.
Br J Nutr. 61(02), 373-385.
- Gooneratne, S. R.; Laarveld, B.; Pathirana, K. K. und Christensen, D. A. (2011):
Effects of dietary Cu, Mo and S on urinary Cu and Zn excretion in Simmental and Angus cattle.
Res Vet Sci. 91(3), e116-e120.
- Gould, L. und Kendall, N. R. (2011):
Role of the rumen in copper and thiomolybdate absorption.
Nut Res Rev. 24(2), 176-182.
- Grace, N. D.; Ankenbauer-Perkins, K. L.; Alexander, A. M. und Marchant, R. M. (2001):
Relationship between blood selenium concentration or glutathione peroxidase activity, and milk selenium concentrations in New Zealand dairy cows.
N Z Vet J. 49(1), 24-28.
- Grace, N. D.; Knowles, S. O. und Hittmann, A. R. (2010):
High and variable copper status identified among dairy herds in the Waikato region by concentrations of Cu in liver sourced from biopsies and cull cows.
N Z Vet J. 58(3), 130-136.
- Grace, N. D. und Suttle, N. F. (1979):
Some effects of sulphur intake on molybdenum metabolism in sheep.
Br J Nutr. 41(1), 125-136.
- Graf, U.; Henning, H.-J.; Stange, K. und Wilrich, P.-T. (1998):
Formeln und Tabellen der angewandten mathematischen Statistik. 3., völlig neu überarbeitete Auflage.
Springer-Verlag, Berlin u.a.
- Graham, T. W. (1991):
Trace element deficiencies in cattle.
Vet Clin North Am Food Anim Pract. 7(1), 153-215.
- Graham, T. W.; Holmberg, C. A.; Keen, C. L.; Thurmond, M. C. und Clegg, M. S. (1988):
A pathologic and toxicologic evaluation of veal calves fed large amounts of zinc.
Vet Pathol. 25(6), 484-491.
- Grassman, E. und Kirchgessner, M. (1973):
Catalase activity in blood of unweaned piglets and fattened calves with insufficient supply of iron.
Zentralbl Veterinarmed A. 20(6), 481-486.

- Grohn, Y. und Lindberg, L. A. (1982):
Methodological aspects of the microscopy of bovine liver biopsies.
J Comp Pathol. 92(4), 567-578.
- Gromer, S.; Eubel, J. K.; Lee, B. L. und Jacob, J. (2005):
Human selenoproteins at a glance.
Cell Mol Life Sci. 62(21), 2414-2437.
- Grotelueschen, D. M.; Wohlers, A.; Dewey, C.; Rush, I. G.; Braselton, W. E.; Hamar, D.;
Johnson, A. B. und Pollreis, J. H. (2001):
Effect of pasture trace mineral supplementation on liver mineral levels and feedlot
morbidity and mortality.
Bov Pract. 35, 73-84.
- Grouven, U.; Bender, R.; Ziegler, A. und Lange, S. (2007):
Comparing methods of measurement.
Dtsch Med Wochenschr. 132(Suppl 1), 69-73.
- Grummer, R. R.; Hoffman, P. C.; Luck, M. L. und Bertics, S. J. (1995):
Effect of prepartum and postpartum dietary energy on growth and lactation of primiparous
cows.
J Dairy Sci. 78(1), 172-180.
- Grunder, H. D. und Auer, S. (1995):
Selenversorgung in hessischen Rinderbeständen und Möglichkeiten der Prophylaxe.
Tierärztl Umsch. 50, 250-255.
- Gunshin, H.; Mackenzie, B.; Berger, U. V.; Gunshin, Y.; Romero, M. F.; Boron, W. F.;
Nussberger, S.; Gollan, J. L. und Hediger, M. A. (1997):
Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter.
Nature. 388(6641), 482-488.
- Gupta, R. C.; Kwatra, M. S. und Singh, N. (1982):
Chronic selenium toxicity as a cause of hoof and horn deformities in buffalo, cattle and
goat.
Indian Vet J. 59(9), 738-740.
- Gustafson, G. M. (2000):
Partitioning of nutrient and trace elements in feed among milk, faeces and urine by
lactating dairy cows.
Acta Agric Scand Sect A-Anim Sci. 50(2), 111-120.
- Gustafson, G. M. und Olsson, I. (2004):
Partitioning of nutrient and trace elements in feed between body retention, faeces and urine
by growing dairy-breed steers.
Acta Agric Scand A Anim Sci. 54(1), 10-19.
- Guyot, H.; Saegerman, C.; Lebreton, P.; Sandersen, C. und Rollin, F. (2009):
Epidemiology of trace elements deficiencies in Belgian beef and dairy cattle herds.
J Trace Elem Med Biol. 23(2), 116-123.

- Gygax, M.; Hirni, H.; Wahlen, R. Z.; Lazary, S. und Blum, J. W. (1993):
Immune functions of veal calves fed low amounts of iron.
Zentralbl Veterinarmed A. 40(1-10), 345-358.
- Haase, H. und Rink, L. (2010):
Das essenzielle Spurenelement Zink. Ein Metall in Biologie und Medizin.
Biol Unserer Zeit. 40(5), 314-321.
- Hackbart, K. S.; Ferreira, R. M.; Dietsche, A. A.; Socha, M. T.; Shaver, R. D.; Wiltbank, M. C. und Fricke, P. M. (2010):
Effect of dietary organic zinc, manganese, copper, and cobalt supplementation on milk production, follicular growth, embryo quality, and tissue mineral concentrations in dairy cows.
J Anim Sci. 88(12), 3856-3870.
- Halliwell, B. und Guttridge, J. M. (1999):
Free Radicals in Biology and Medicine. 3. Auflage.
Oxford University Press, New York
- Hamar, D. W.; Bedwell, C. L.; Johnson, J. L.; Schultheiss, P. C.; Raisbeck, M.; Grotelueschen, D. M.; Williams, E. S.; O'Toole, D.; Paumer, R. J.; Vickers, M. G. und Graham, T. J. (1997):
Iatrogenic copper toxicosis induced by administering copper oxide boluses to neonatal calves.
J Vet Diagn Invest. 9(4), 441-443.
- Hampton, D. L.; Miller, W. J.; Blackmon, D. M.; Gentry, R. P.; Neathery, M. W.; Lassiter, J. W.; Kincaid, R. L. und Stake, P. E. (1976):
Zinc absorption from the small intestine in young calves.
J Dairy Sci. 59(4), 712-715.
- Han, O. (2011):
Molecular mechanism of intestinal iron absorption.
Metallomics. 3(2), 103-109.
- Hansen, S. L.; Ashwell, M. S.; Legleiter, L. R.; Fry, R. S.; Lloyd, K. E. und 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), 1068-1078.
- Hansen, S. L.; Ashwell, M. S.; Moeser, A. J.; Fry, R. S.; Knutson, M. D. und Spears, J. W. (2010b):
High dietary iron reduces transporters involved in iron and manganese metabolism and increases intestinal permeability in calves.
J Dairy Sci. 93(2), 656-665.

Hansen, S. L.; Schlegel, P.; Legleiter, L. R.; Lloyd, K. E. und Spears, J. W. (2008):
Bioavailability of copper from copper glycinate in steers fed high dietary sulfur and molybdenum.

J Anim Sci. 86(1), 173-179.

Hansen, S. L. und Spears, J. W. (2009):

Bioaccessibility of iron from soil is increased by silage fermentation.

J Dairy Sci. 92(6), 2896-2905.

Hansen, S. L.; Spears, J. W.; Lloyd, K. E. und Whisnant, C. S. (2006a):

Growth, reproductive performance, and manganese status of heifers fed varying concentrations of manganese.

J Anim Sci. 84(12), 3375-3380.

Hansen, S. L.; Spears, J. W.; Lloyd, K. E. und Whisnant, C. S. (2006b):

Feeding a low manganese diet to heifers during gestation impairs fetal growth and development.

J Dairy Sci. 89(11), 4305-4311.

Hansen, S. L.; Trakooljul, N.; Liu, H. C. S.; Hicks, J. A.; Ashwell, M. S. und Spears, J. W. (2010a):

Proteins involved in iron metabolism in beef cattle are affected by copper deficiency in combination with high dietary manganese, but not by copper deficiency alone.

J Anim Sci. 88(1), 275-283.

Harrison, J. H.; Hancock, D. D. und Conrad, H. R. (1984):

Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow.

J Dairy Sci. 67(1), 123-132.

Hartley, W. J.; Mullins, J. und Lawson, B. M. (1959):

Nutritional siderosis in the bovine.

N Z Vet J. 7(4), 99-105.

Harvey, J. W. (2008):

Iron metabolism and its disorders.

In: J. J. Kaneko, J. W. Harvey und M. L. Bruss (Hrsg.): Clinical biochemistry of domestic animals. 6. Auflage.

Elsevier Academic Press, Amsterdam u.a., 259-285.

Hastka, J.; Lasserre, J. J.; Schwarzbeck, A. und Hehlmann, R. (1994):

Central role of zinc protoporphyrin in staging iron deficiency.

Clin Chem. 40(5), 768-773.

Hefnawy, A. E. G. und Tortora-Perez, J. L. (2010):

The importance of selenium and the effects of its deficiency in animal health.

Vet Res Commun. 89(2-3), 185-192.

- Heidarpour Bami, M.; Mohri, M.; Seifi, H. A. und Alavi Tabatabaee, A. A. (2008):
Effects of parenteral supply of iron and copper on hematology, weight gain, and health in neonatal dairy calves.
Vet Res Commun. 32(7), 553-561.
- Herd, T. H. und Hoff, B. (2011):
The use of blood analysis to evaluate trace mineral status in ruminant livestock.
Vet Clin North Am Food Anim Pract. 27(2), 255-283.
- Herd, T. H.; Rumbelha, W. und Braselton, W. E. (2000):
The use of blood analyses to evaluate mineral status in livestock.
Vet Clin North Am Food Anim Pract. 16(3), 423-444.
- Hidiroglou, M. (1979):
Manganese in ruminant nutrition.
Can J Anim Sci. 79(2), 217-236.
- Hidiroglou, M.; Calder, A. G.; McAllister, A. J. und Williams, C. J. (1987):
Prepartum supplementation of selenium and vitamin E to dairy cows: Assessment of selenium status and reproductive performance.
J Dairy Sci. 70(6), 1281-1288.
- Hidiroglou, M.; Carson, R. B. und Brossard, G. A. (1965):
Influence of selenium on the selenium contents of hair and on the incidence of nutritional muscular diseases in beef cattle.
Can J Anim Sci. 45, 197-202.
- Hidiroglou, M.; Ivan, M. und McDowell, R. L. (1990):
Copper metabolism and status in cattle.
World Congress of Biometrics, Mexico, 1247-1251.
- Hidiroglou, M. und Knipfel, J. E. (1984):
Zinc in mammalian sperm: A review.
J Dairy Sci. 67(6), 1147-1156.
- Hidiroglou, M.; Proulx, J. und Jolette, J. (1985):
Intraruminal selenium pellet for control of nutritional muscular dystrophy in cattle.
J Dairy Sci. 68(1), 57-66.
- Ho, S. Y.; Miller, W. J.; Gentry, R. P.; Neathery, M. W. und Blackmon, D. M. (1984):
Effects of high but nontoxic dietary manganese and iron on their metabolism by calves.
J Dairy Sci. 67(7), 1489-1495.
- Hoshino, Y.; Ichijo, S.; Osame, S. und Takahashi, E. (1989):
Studies on serum tocopherol, selenium levels and blood glutathione peroxidase activities in calves with white muscle disease.
Jpn J Vet Sci. 51(4), 741-748.

- Humphries, W. R.; Phillippo, M.; Young, B. W. und Bremner, I. (1983):
The influence of dietary iron and molybdenum on copper metabolism in calves.
Br J Nutr. 49(01), 77-86.
- Hurley, L. S. und Keen, C. L. (1987):
Manganese.
In: W. Mertz (Hrsg.): Trace elements in human and animal nutrition. 5. Auflage.
Academic Press, New York, 185-223.
- Hussein, H. A. und 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), 47-52.
- Ingraham, R. H. und Kappel, L. C. (1988):
Metabolic profile testing.
Vet Clin North Am Food Anim Pract. 4(2), 391-411.
- Ivan, M. und Hidirolou, M. (1980):
Effect of dietary manganese on growth and manganese metabolism in sheep.
J Dairy Sci. 63(3), 385-390.
- Ivancic, J. J. und Weiss, W. P. (2001):
Effect of dietary sulfur and selenium concentrations on selenium balance of lactating
Holstein cows.
J Dairy Sci. 84(1), 225-232.
- James, L. F. und Shupe, J. L. (1984):
Selenium poisoning in livestock.
Rangelands. 6(2), 64-67.
- Janovick, N. A. und Drackley, J. K. (2010):
Prepartum dietary management of energy intake affects postpartum intake and lactation
performance by primiparous and multiparous Holstein cows.
J Dairy Sci. 93(7), 3086-3102.
- Jenkins, K. J. und Hidirolou, M. (1987):
Effect of excess iron in milk replacer on calf performance.
J Dairy Sci. 70(11), 2349-2354.
- Jenkins, K. J. und Hidirolou, M. (1991):
Tolerance of the preruminant calf for excess manganese or zinc in milk replacer.
J Dairy Sci. 74(3), 1047-1053.
- Johnson, J. L. (1997):
Molybdenum
In: B. L. O'Dell und R. A. Sunde (Hrsg.): Handbook of nutritionally essential mineral
elements. 6. Auflage.
Marcel Dekker, New York, 413-438.

- Johnson, M. A. (1990):
Iron: Nutrition monitoring and nutrition status assessment.
J Nutr. 120(Suppl 11), 1486-1491.
- Jokubauskiene, V.; Špakauskas, V.; Matusevičius, A.; Klimienė, I.; Ružauskas, M. und Žilinskaitė, M. (2010):
Manganese, molybdenum and iron concentration in sera in calf and milk cows under the influence of different factors.
Vet Med Zoot. 50(70), 15-22.
- Jukola, E.; Hakkarainen, J.; Saloniemi, H. und Sankari, S. (1996a):
Effect of selenium fertilization on selenium in feedstuffs and selenium, vitamin E, and β -carotene concentrations in blood of cattle.
J Dairy Sci. 79(5), 831-837.
- Jukola, E.; Hakkarainen, J.; Saloniemi, H. und Sankari, S. (1996b):
Blood selenium, vitamin E, vitamin A, and β -carotene concentrations and udder health, fertility treatments, and fertility.
J Dairy Sci. 79(5), 838-845.
- Julien, W. E.; Conrad, H. R.; Jones, J. E. und Moxon, A. L. (1976):
Selenium and vitamin E and incidence of retained placenta in parturient dairy cows.
J Dairy Sci. 59(11), 1954-1959.
- Juniper, D. T.; Phipps, R. H.; Jones, A. K. und Bertin, G. (2006):
Selenium supplementation of lactating dairy cows: Effect on selenium concentration in blood, milk, urine, and feces.
J Dairy Sci. 89(9), 3544-3551.
- Kambe, T.; Yamaguchi-Iwai, Y.; Sasaki, R. und Nagao, M. (2004):
Overview of mammalian zinc transporters.
Cell Mol Life Sci. 61(1), 49-68.
- Kamphues, J.; Bohm, R.; Flachowsky, G.; Lahrssen-Wiederholt, M.; Meyer, U. und Schenkel, H. (2007):
Recommendations for evaluating the hygienic quality of drinking water(1) for food producing animals in accordance with current regulatory framework.
Landbauforschung Volkenrode. 57(3), 255-272.
- Kaneko, J. J.; Harvey, J. W. und Bruss, M. L. (2008):
Clinical biochemistry of domestic animals. 6. Auflage.
Academic Press, Amsterdam u.a.
- Kellaway, R. C.; Sitorus, P. und Leibholz, J. M. (1978):
The use of copper levels in hair to diagnose hypocuprosis.
Res Vet Sci. 24(3), 352-357.

- Kempson, I. M.; Skinner, W. M. und 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), 611-622.
- Kendall, N. R.; Illingworth, D. V. und Telfer, S. B. (2001):
Cu-responsive infertility in British cattle: The use of blood ceruloplasmin to Cu ratio in determining a requirement for copper supplementation.
In: M. G. Diskin (Hrsg.): Fertility in the high producing dairy cow.
Occasional Publication No 26, British Society of Animal Science, Edinburgh, 429-432.
- Kendall, N. R.; Marsters, P.; Guo, L.; Scaramuzzi, R. J. und Campbell, B. K. (2006):
Effect of copper and thiomolybdates on bovine theca cell differentiation in vitro.
J Endocrinol. 189(3), 455-463.
- Kessler, J.; Morel, I.; Dufey, P. A.; Gutzwiller, A.; Stern, A. und Geyer, H. (2003):
Effect of organic zinc sources on performance, zinc status and carcass, meat and claw quality in fattening bulls.
Livest Prod Sci. 81(2-3), 161-171.
- Kinal, S.; Korniewicz, A.; M., S.; Bodarski, R.; Korniewicz, D. und Čermák, B. (2007):
Effect of the application of bioplexes of zinc, copper and manganese on milk quality and composition of milk and colostrum and some indices of the blood metabolic profile of cows.
Czech J Anim Sci(52), 423-429.
- Kincaid, R. L. (2000):
Assessment of trace mineral status of ruminants: A review.
J Anim Sci. 77, 1-10.
- Kincaid, R. L. und Cronrath, J. D. (1979):
Effects of dietary zinc upon tissue zinc and percent unsaturated plasma zinc binding capacity.
J Dairy Sci. 62(4), 572-576.
- Kincaid, R. L.; Gay, C. C. und 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(5), 1157-1159.
- Kincaid, R. L. und Hodgson, A. S. (1989):
Relationship of selenium concentrations in blood of calves to blood selenium of the dam and supplemental selenium.
J Dairy Sci. 72(1), 259-263.
- Kincaid, R. L.; Miller, W. J.; Fowler, P. R.; Gentry, R. P.; Hampton, D. L. und Neathery, M. W. (1976):
Effect of high dietary zinc upon zinc metabolism and intracellular distribution in cows and calves.
J Dairy Sci. 59(9), 1580-1584.

- King, J. C. (1990):
Assessment of zinc status.
J Nutr. 120(11), 1474-1479.
- King, J. C.; Shames, D. M. und Woodhouse, L. R. (2000):
Zinc homeostasis in humans.
J Nutr. 130(5), 1360-1366.
- Kirchgessner, M. und Schwarz, W. A. (1975):
Relations between clinical symptoms of zinc deficiency and zinc status of lactating cows.
Zentralbl Veterinarmed A. 22(7), 572-582.
- Knowles, S. O.; Grace, N. D.; Wurms, K. und Lee, J. (1999):
Significance of amount and form of dietary selenium on blood, milk, and casein selenium concentrations in grazing cows.
J Dairy Sci. 82(2), 429-37.
- Knowles, S. O.; Grace, N. D.; Wurms, K. und Lee, J. (1999):
Significance of amount and form of dietary selenium on blood, milk, and casein selenium concentrations in grazing cows.
J Dairy Sci. 82(2), 429-437.
- Koenig, K. M. und Beauchemin, K. A. (2009):
Supplementing selenium yeast to diets with adequate concentrations of selenium: Selenium status, thyroid hormone concentrations and passive transfer of immunoglobulins in dairy cows and calves.
Can J Anim Sci. 89(1), 111-122.
- Koets, A. P.; de Schwartz, N.; Tooten, P.; Kankofer, M.; Broekhuijsen-Davies, J. M.; Rutten, V. P. M. G.; van Leengoed, L. A. M. G.; Taverne, M. A. M. und 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), 797-812.
- Kolb, E. (1963):
The metabolism of iron in farm animals under normal and pathologic condition.
Adv Vet Sci Comp Med. 19, 49-114.
- Koller, L. D.; South, P. J.; Exon, J. H.; Whitbeck, G. A. und Maas, J. (1984):
Comparison of selenium levels and glutathione peroxidase activity in bovine whole blood.
Can J Comp Med. 48(4), 431-433.
- Koong, L.-L.; Wise, M. B. und Barrick, E. R. (1970):
Effect of elevated dietary levels of iron on the performance and blood constituents of calves.
J Anim Sci. 31(2), 422-427.
- Krys, S.; Lokajova, E.; Podhorsky, A. und Pavlata, L. (2009):
Microelement supplementation in dairy cows by mineral lick.
Acta Vet Brno. 78(1), 29-36.

- Kumar, N.; Verma, R. P.; Singh, L. P.; Varshney, V. P. und Dass, R. S. (2006):
Effect of different levels and sources of zinc supplementation on quantitative and qualitative semen attributes and serum testosterone level in crossbred cattle (*Bos indicus* x *Bos taurus*) bulls.
Reprod Nutr Dev. 46(6), 663-675.
- Kume, S.; Nonaka, K.; Oshita, T. und Kozakai, T. (2010):
Evaluation of drinking water intake, feed water intake and total water intake in dry and lactating cows fed silages.
Livest Sci. 128(1-3), 46-51.
- Kuo, Y. M.; Gybina, A. A.; Pyatskowitz, J. W.; Gitschier, J. und Prohaska, J. R. (2006):
Copper transport protein (Ctr1) levels in mice are tissue specific and dependent on copper status.
J Nutr. 136(1), 21-26.
- Lamand, M.; Lab, C.; Mignon, M. und Tressol, J. C. (1983):
A zinc deficient diet for ruminants: Diagnosis and treatment of deficiency.
Ann Rech Vet. 14(3), 211-215.
- Laven, R. A.; Lawrence, K. E. und 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), 171-176.
- Laven, R. A.; Lawrence, K. E. und Livesey, C. T. (2008):
An evaluation of the copper sequestered during clotting in cattle: Is it just caeruloplasmin?
Vet J. 176(3), 397-399.
- Laven, R. A. und 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), 295-300.
- Laven, R. A.; Livesey, C. T.; Harmon, R. J. und Scaletti, R. (2006):
Factors affecting the relationship between caeruloplasmin activity and plasma copper concentration in cattle.
Vet Rec. 159(8), 250-251.
- Laven, R. A.; Livesey, C. T. und May, S. A. (2004b):
Relationship between acute phase proteins and hoof horn haemorrhages in postpartum first-lactation heifers.
Vet Rec. 154(13), 389-395.
- Laven, R. A.; Livesey, C. T.; Offer, N. W. und Fountain, D. (2004a):
Apparent subclinical hepatopathy due to excess copper intake in lactating Holstein cattle.
Vet Rec. 155(4), 120-121.

- Leach, R. M.; Harris, J. und Harris, E. D. (1997):
Manganese.
In: L. O'Dell und R. A. Sunde (Hrsg.): Handbook of nutritionally essential mineral elements. 6. Auflage.
Marcel Dekker, New York, 335-356.
- Leach, R. M. und Muenster, A. M. (1962):
Studies on the role of manganese in bone formation: Part 1. Effect upon the mucopolysaccharide content of chick bone.
J Nutr. 78(1), 51-56.
- Lean, I. J.; Troutt, H. F.; Boermans, H.; Moller, G.; Webster, G. und Tracy, M. (1990):
An investigation of bulk tank milk selenium levels in the san joaquin valley of california.
Cornell Vet. 80(1), 41-51.
- Lee, S. H.; Park, B. Y.; Yeo, J. M.; Lee, S. S.; Lee, J. H.; Ha, J. K. und Kim, W. Y. (2007):
Effects of different selenium sources on performance, carcass characteristics, plasma glutathione peroxidase activity and selenium deposition in finishing Hanwoo steers.
Asian Australas J Anim Sci. 20(2), 229-236.
- Legleiter, L. R. und Spears, J. W. (2007):
Plasma diamine oxidase: A biomarker of copper deficiency in the bovine.
J Anim Sci. 85(9), 2198-2204.
- Legleiter, L. R.; Spears, J. W. und Lloyd, K. E. (2005):
Influence of dietary manganese on performance, lipid metabolism, and carcass composition of growing and finishing steers.
J Anim Sci. 83(10), 2434-2439.
- Lehwenich, T. (1999):
Untersuchungen zur Durchführung der Stoffwechselüberwachung in der Bestandsbetreuung von Milchküherden.
Dissertation, Freie Universität Berlin
- Lesperance, A. L. und Bohman, V. R. (1963):
Effect of inorganic molybdenum and type of roughage on bovine.
J Anim Sci. 22(3), 686-694.
- Lesperance, A. L.; Bohman, V. R. und Oldfield, J. E. (1985):
Interaction of molybdenum, sulfate and alfalfa in the bovine.
J Anim Sci. 60(3), 791-802.
- Levander, O. A. (1986):
Selenium.
In: W. Mertz (Hrsg.): Trace elements in human and animal nutrition. 5. Auflage.
Academic Press, New York, 206-209.

Li, G. J.; Choi, L. S.; Wang, X.; Liu, J.; Waalkes, M. P. und Zheng, W. (2006):
Molecular mechanism of distorted iron regulation in the blood-CSF barrier and regional
blood-brain barrier following in vivo subchronic manganese exposure.
Neurotoxicology. 27(5), 737-744.

Lichten, L. A. und Cousins, R. J. (2009):
Mammalian zinc transporters: Nutritional and physiologic regulation.
Ann Rev Nutr. 29(1), 153-176.

Linder, M. C. und Hazegh-Azam, M. (1996):
Copper biochemistry and molecular biology.
Am J Clin Nutr. 63(5), 797-811.

Linder, M. C.; Lomeli, N. A.; Donley, S.; Mehrbod, F.; Cerveza, P.; Cotton, S. und
Wooten, L. (1999):
Copper transport in mammals.
In: A. Leone und J. F. B. Mercer (Hrsg.): Copper transport and its disorders: Molecular and
cellular aspects.
Kluwer Academic/ Plenum Publishers, New York u.a., 1-16.

Linder, M. C.; Wooten, L.; Cerveza, P.; Cotton, S.; Shulze, R. und Lomeli, N. (1998):
Copper transport.
Am J Clin Nutr. 67(5 Suppl), 965-971.

Lindt, F. und Blum, J. W. (1994a):
Occurrence of iron deficiency in growing cattle.
Zentralbl Veterinarmed A. 41(1-10), 237-246.

Lindt, F. und Blum, J. W. (1994b):
Growth performance, haematological traits, meat variables, and effects of treadmill and
transport stress in veal calves supplied different amounts of iron.
Zentralbl Veterinarmed A. 41(5), 333-342.

Littledike, E. T.; Wittum, T. E. und Jenkins, T. G. (1995):
Effect of breed, intake, and carcass composition on the status of several macro and trace
minerals of adult beef cattle.
J Anim Sci. 73(7), 2113-2119.

Liuzzi, J. P.; Bobo, J. A.; Lichten, L. A.; Samuelson, D. A. und Cousins, R. J. (2004):
Responsive transporter genes within the murine intestinal-pancreatic axis form a basis of
zinc homeostasis.
Proc Natl Acad Sci U S A. 101(40), 14355-14360.

Liuzzi, J. P. und Cousins, R. J. (2004):
Mammalian zinc transporters.
Ann Rev Nutr. 24(1), 151-172.

- Liuzzi, J. P.; Lichten, L. A.; Rivera, S.; Blanchard, R. K.; Aydemir, T. B.; Knutson, M. D.; Ganz, T. und Cousins, R. J. (2005):
Interleukin-6 regulates the zinc transporter Zip14 in liver and contributes to the hypozincemia of the acute-phase response.
Proc Natl Acad Sci U S A. 102(19), 6843-6848.
- Livesey, C.; Suttle, N.; Laven, R.; Payne, J. und Harwood, D. (2010):
Establishing the plasma copper reference range in Boer goats.
Vet Rec. 167(16), 627-628.
- Lopez-Alonso, M. (2008):
Evaluation of chronic hepatic copper accumulation in cattle.
In: T. Yoshida (Hrsg.): Micronutrients an health research.
Nova Biomedical Books, New York, 207-226.
- Lopez-Alonso, M.; Crespo, A.; Miranda, M.; Castillo, C.; Hernandez, J. und Benedito, J. L. (2006):
Assessment of some blood parameters as potential markers of hepatic copper accumulation in cattle.
J Vet Diagn Invest. 18(1), 71-75.
- Lopez-Alonso, M.; Prieto, F.; Miranda, M.; Castillo, C.; Hernandez, J. R. und Benedito, J. L. (2005):
Intracellular distribution of copper and zinc in the liver of copper-exposed cattle from northwest Spain.
Vet J. 170(3), 332-338.
- Maas, J. (1983):
Diagnosis of selenium-response disease in cattle.
Compend Cont Ed Prac Vet. 7, 393-399.
- Maas, J. (1987):
Relationship between nutrition and reproduction in beef cattle.
Vet Clin North Am Food Anim Pract. 3(3), 633-646.
- Maas, J. (2007):
Diagnostic considerations for evaluating nutritional problems in cattle.
Vet Clin North Am Food Anim Pract. 23(3), 527-539.
- Maas, J.; Galey, F. D.; Peuroi, J. R.; Case, J. T.; Littlefield, E. S.; Gay, C. C.; Koller, L. D.; Crisman, R. O.; Weber, D. W. und Warner, D. W. (1992):
The correlation between serum selenium and blood selenium in cattle.
J Vet Diagn Invest. 4(1), 48-52.
- Maas, J.; Peuroi, J. R.; Tonjes, T.; Karlonas, J.; Galey, F. D. und Han, B. (1993):
Intramuscular selenium administration in selenium-deficient cattle.
J Vet Intern Med. 7(6), 342-348.

- Mackenzie, A. M.; Illingworth, D. V.; Jackson, D. W. und Telfer, S. B. (1996):
A comparison of methods of assessing copper and selenium status in cattle in the field.
XIX World Biutric Congress, Edingburgh, 405-408.
- Mackenzie, A. M.; Illingworth, D. V.; Jackson, D. W. und Telfer, S. B. (1997):
The use of caeruloplasmin activities and plasma copper concentrations as an indicator of
copper status in ruminats.
In: P. W. F. Fischer, M. R. L'Abbé, K. A. Cockell und R. S. Gibson (Hrsg.): Trace
elements in man and animals - Tema-9: Proceedings of the ninth international symposium
on trace elements in man and animals.
NRC Research Press (Canada), Ottawa, 137-138.
- Mackenzie, B.; Takanaga, H.; Hubert, N.; Rolfs, A. und Hediger, M. A. (2007):
Functional properties of multiple isoforms of human divalent metal-ion transporter 1
(DMT1).
Biochem J. 403, 59-69.
- Majak, W.; Steinke, D.; Lysyk, T.; Ogilvie, K. und McGillivray, J. (2006):
Efficacy of copper supplementation in the prevention of molybdenosis in cattle.
Rang Ecol Manag. 59(3), 285-292.
- Majak, W.; Steinke, D.; McGillivray, J. und Lysyk, T. (2004):
Clinical signs in cattle grazing high molybdenum forage.
Rang Ecol Manag. 57(3), 269-274.
- Maret, W. (2000):
The function of zinc metallothionein: A link between cellular zinc and redox state.
J Nutr. 130(5), 1455-1458.
- Mason, J. und Cardin, C. J. (1977):
Competition of molybdate and sulfate-ions for a transport-sytem in ovine small-intestine.
Res Vet Sci. 22(3), 313-315.
- Masters, D. G.; Paynter, D. I.; Briegel, J.; Baker, S. K. und Purser, D. B. (1988):
Influence of manganese intake on body, wool and testicular growth of young rams and on
the concentration of manganese and the activity of manganese enzymes in tissues.
Aust J Agr Res. 39(3), 517-524.
- Mateos González, M. E.; de la Cruz Bértolo, J.; López Laso, E.; Valdés Sánchez, M. D.
und Nogales Espert, A. (2009):
Revisión de los parámetros hematológicos y bioquímicos para identificar la ferropenia.
Anales de Pediatría. 71(2), 95-102.
- Maus, R. W.; Martz, F. A.; Belyea, R. L. und Weiss, M. F. (1980):
Relationship of dietary selenium to selenium in plasma and milk from dairy cows.
J Dairy Sci. 63(4), 532-537.

- McDowell, L. R. (1976):
Mineral deficiencies and toxicities and their effect on beef production in developing countries.
In: A. J. Smith (Hrsg.): Beef cattle production in developing countries.
University of Edinburgh Press, Edinburgh, 216-241.
- McDowell, L. R. (1997):
Minerals for grazing ruminants in tropical regions. 3. Auflage.
University of Florida Press, Gainesville
- McDowell, L. R. (2003):
Minerals in animal and human nutrition. 2. Auflage.
Elsevier, Amsterdam
- McDowell, L. R.; Salih, Y.; Hentges, J. F. und Wilcox, C. J. (1990):
Selenium supplementation and concentrations of selenium in cattle tissues and fluids.
Nutr Res. 10(7), 793-800.
- McGuire, S. O.; Miller, W. J.; Gentry, R. P.; Neathery, M. W.; Ho, S. Y. und Blackmon, D. M. (1985):
Influence of high dietary iron as ferrous carbonate and ferrous sulfate on iron metabolism in young calves.
J Dairy Sci. 68(10), 2621-2628.
- McLaren, P. J.; Cave, J. G.; Parker, E. M. und Slocombe, R. F. (2007):
Chondrodysplastic calves in northeast victoria.
Vet Pathol. 44(3), 342-354.
- Meglia, G. E.; Holtenius, K.; Petersson, L.; Öhagen, P. und Waller, K. P. (2004):
Prediction of vitamin A, vitamin E, selenium and zinc status of periparturient dairy cows using blood sampling during the mid dry period.
Acta Vet Scand. 45(2), 119-128.
- Meglia, G. E.; Johannisson, A.; Petersson, L. und Waller, K. P. (2001):
Changes in some blood micronutrients, leukocytes and neutrophil expression of adhesion molecules in periparturient dairy cows.
Acta Vet Scand. 42(1), 139-150.
- Meyer, J. A. und Casey, N. H. (2012):
Establishing risk assessment on water quality for livestock.
Animal Frontiers. 2(2), 44-49.
- Meyer, U.; Everinghoff, M.; Gadeken, D. und Flachowsky, G. (2004):
Investigations on the water intake of lactating dairy cows.
Livest Prod Sci. 90(2-3), 117-121.
- Millar, K. R. (1983):
Selenium
In: N. D. Grace (Hrsg.): The mineral requirements of grazing ruminants.
New Zealand Society of Animal Production, Hamilton, 38-47.

- Miller, W. J. (1969):
Absorption, tissue distribution, endogenous excretion, and homeostatic control of zinc in ruminants.
Am J Clin Nutr. 22(10), 1323-1331.
- Miller, W. J. (1970):
Zinc nutrition of cattle: A review.
J Dairy Sci. 53(8), 1123-1135.
- Miller, W. J. (1975):
New concepts and developments in metabolism and homeostasis of inorganic elements in dairy cattle: A review.
J Dairy Sci. 58(10), 1549-1560.
- Miller, W. J.; Amos, H. E.; Gentry, R. P.; Blackmon, D. M.; Durrance, R. M.; Crowe, C. T.; Fielding, A. S. und Neathery, M. W. (1989):
Long-term feeding of high zinc sulfate diets to lactating and gestating dairy cows.
J Dairy Sci. 72(6), 1499-1508.
- Miller, W. J.; Blackmon, D. M.; Gentry, R. P.; Powell, G. W. und Perkins, H. F. (1966):
Influence of zinc deficiency on zinc and dry matter content of ruminant tissues and on excretion of zinc.
J Dairy Sci. 49(11), 1446-1453.
- Mills, C. F. (1987):
Biochemical and physiological indicators of mineral status in animals: Copper, cobalt and zinc.
J Anim Sci. 65(6), 1702-1711.
- Mills, C. F.; Dalgarno, A. C.; Williams, R. B. und Quarterman, J. (1967):
Zinc deficiency and the zinc requirements of calves and lambs.
Br J Nutr. 21(3), 751-768.
- Milne, D. B.; Johnson, P. E.; Klevay, L. M. und Sandstead, H. H. (1990):
Effect of copper intake on balance, absorption, and status indices of copper in men.
Nutr Res. 10(9), 975-986.
- Miltenburg, G. A. J.; Wensing, T.; van Vliet, J. P. M.; Schuijt, G.; Van de Broek, J. und Breukink, H. J. (1991):
Blood hemoglobin, plasma iron, and tissue iron in dams in late gestation, at calving, and in veal calves at delivery and later.
J Dairy Sci. 74(9), 3086-3094.
- Miltimore, J. E. und Mason, J. (1971):
Copper to molybdenum ratio and molybdenum and copper concentrations in ruminant.
Can J Anim Sci. 51(1), 193-200.
- Minatel, L. und Carfagnini, J. C. (2002):
Evaluation of the diagnostic value of plasma copper levels in cattle.
Prev Vet Med. 53(1-2), 1-5.

- Minervino, A. H. H.; Barrêto, R. A.; Ferreira, R. N. F.; Rodrigues, F. A. M. L.; Headley, S. A.; Mori, C. S. und Ortolani, E. L. (2009):
Clinical observations of cattle and buffalos with experimentally induced chronic copper poisoning.
Res Vet Sci. 87(3), 473-478.
- Minervino, A. H. H.; Barreto, R. A.; Queiroz, G. F.; Headley, S. A. und Ortolani, E. L. (2008):
Predictive values of aspartate aminotransferase and gamma-glutamyl transferase for the hepatic accumulation of copper in cattle and buffalo.
J Vet Diagn Invest. 20(6), 791-795.
- Miyata, Y. und Furugouri, K. (1987):
The relationship between serum ferritin concentration and tissue non-heme iron or tissue ferritin in dairy cattle.
Jpn J Vet Sci. 49(6), 1157-1159.
- Mohri, M.; Sarrafzadeh, F.; Seifi, H. A. und Farzaneh, N. (2004):
Effects of oral iron supplementation on some haematological parameters and iron biochemistry in neonatal dairy calves.
Comp Clin Path. 13(2), 39-42.
- Mollerberg, L. (1975):
A hematologic and blood chemical study of Swedish purchased calves.
Acta Vet Scand. 16(2), 170-177.
- Moschini, M.; Battaglia, M.; Beone, G. M.; Piva, G. und Masoero, F. (2010):
Iodine and selenium carry over in milk and cheese in dairy cows: Effect of diet supplementation and milk yield.
Animal. 4(1), 147-155.
- Mulryan, G. und Mason, J. (1992):
Assessment of liver copper status in cattle from plasma copper and plasma copper enzymes.
Ann Rech Vet. 23(3), 233-238.
- Munoz, M.; Villar, I. und Antonio Garcia-Erce, J. (2009):
An update on iron physiology.
World J Gastroenterol. 15(37), 4617-4626.
- Muth, O. H.; Oldfield, J. E.; Remmert, L. F. und Schubert, J. R. (1958):
Effects of selenium and vitamin E on white muscle disease.
Science. 128, 1090-1090.
- Naylor, J. M.; Kasari, T. R.; Blakley, B. R. und Townsend, H. G. (1989):
Diagnosis of copper deficiency and effects of supplementation in beef cows.
Can J Vet Res. 53(3), 343-348.

- Neathery, M. W.; Miller, W. J.; Blackmon, D. M. und Gentry, R. P. (1973a):
Performance and milk zinc from low-zinc intake in Holstein cows.
J Dairy Sci. 56(2), 212-217.
- Neathery, M. W.; Miller, W. P.; Blackmon, D. M.; Gentry, R. P. und Jones, J. B. (1973b):
Absorption and tissue zinc content in lactating dairy cows as affected by low dietary zinc.
J Anim Sci. 37(3), 848-852.
- Nelson, A. O. und Miller, R. F. (1987):
Responses to selenium in a range beef herd.
California Agriculture. 41(March-April), 4-5.
- Nemec, L. M.; Richards, J. D.; Atwell, C. A.; Diaz, D. E.; Zanton, G. I. und Gressley, T. F. (2012):
Immune responses in lactating Holstein cows supplemented with Cu, Mn, and Zn as sulfates or methionine hydroxy analogue chelates.
J Dairy Sci. 95(8), 4568-4577.
- Nemeth, E.; Tuttle, M. S.; Powelson, J.; Vaughn, M. B.; Donovan, A.; Ward, D. M.; Ganz, T. und Kaplan, J. (2004):
Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization.
Science. 306(5704), 2090-2093.
- Nisbet, C.; Yarim, G. F.; Ciftci, G.; Arslan, H. H. und Ciftci, A. (2006):
Effects of trichophytosis on serum zinc levels in calves.
Biol Trace Elem Res. 113(3), 273-280.
- Nockels, C. F.; DeBonis, J. und Torrent, J. (1993):
Stress induction affects copper and zinc balance in calves fed organic and inorganic copper and zinc sources.
J Anim Sci. 71(9), 2539-2545.
- Nose, Y. und Thiele, D. J. (2010):
Mechanism and regulation of intestinal copper absorption.
Genes Nutr. 5, 11-14.
- Nose, Y.; Wood, L. K.; Kim, B.-E.; Prohaska, J. R.; Fry, R. S.; Spears, J. W. und Thiele, D. J. (2010):
Ctr1 is an apical copper transporter in mammalian intestinal epithelial cells in vivo that is controlled at the level of protein stability.
J Biol Chem. 285(42), 32385-32392.
- NRC (1980):
Mineral tolerance of animals.
National Academy Press, Washington D.C.
- NRC (1989):
Nutrient requirements of dairy cattle. 5. Auflage.
National Academic Press, Washington D.C.

- NRC (2001):
Nutrient requirements of dairy cattle.
National Academy Press, Washington D.C.
- NRC (2005):
Mineral tolerance of animals.
National Academies Press, Washington, D.C.
- Nunnery, G. A.; Vasconcelos, J. T.; Parsons, C. H.; Salyer, G. B.; Defoor, P. J.; Valdez, F. R. und Galyean, M. L. (2007):
Effects of source of supplemental zinc on performance and humoral immunity in beef heifers.
J Anim Sci. 85(9), 2304-2313.
- O'Toole, D.; Kelly, E. J.; McAllister, M. M.; Layton, A. W.; Norrdin, R. W.; Russell, W. C.; Saeb-Parsy, K. und Walker, A. P. (2001):
Hepatic failure and hemochromatosis of Salers and Salers-cross cattle.
Vet Pathol. 38(4), 372-389.
- O'Toole, D.; Raisbeck, M.; Case, J. C. und Whitson, T. D. (1996):
Selenium-induced "blind staggers" and related myths. A commentary on the extent of historical livestock losses attributed to selenosis on western US rangelands.
Vet Pathol. 33(1), 109-116.
- O'Toole, D. und Raisbeck, M. F. (1995):
Pathology of experimentally induced chronic selenosis (alkali disease) in yearling cattle.
J Vet Diagn Invest. 7(3), 364-373.
- Oetzel, G. R. (2004):
Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease.
Vet Clin North Am Food Anim Pract. 20(3), 651-674.
- Oetzel, G. R.; Olson, J. D.; Curtis, C. R. und Fettman, M. J. (1988):
Ammonium-chorid and ammonium-sulfate for prevention of parturient paresis in dairy-cows.
J Dairy Sci. 71(12), 3302-3309.
- Öhlschläger, S. (2006):
Mineralstoff-, Spurenelement- und Vitamingehalte im Blutserum bei erstlaktierenden Kühen (Deutsche Holstein) in Abhängigkeit von deren Versorgungsniveau.
Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover
- Olson, P. A.; Brink, D. R.; Hickok, D. T.; Carlson, M. P.; Schneider, N. R.; Deutscher, G. H.; Adams, D. C.; Colburn, D. J. und Johnson, A. B. (1999):
Effects of supplementation of organic and inorganic combinations of copper, cobalt, manganese, and zinc above nutrient requirement levels on postpartum two-year-old cows.
J Anim Sci. 77(3), 522-532.

- Orr, C. L.; Hutcheson, D. P.; Grainger, R. B.; Cummins, J. M. und Mock, R. E. (1990):
Serum copper, zinc and phosphorus concentrations of calves stressed by bovine
respiratory-disease and infectious bovine-rhinotracheitis.
J Anim Sci. 68(9), 2893-2900.
- Ortman, K. und Pehrson, B. (1999):
Effect of selenate as a feed supplement to dairy cows in comparison to selenite and
selenium yeast.
J Anim Sci. 77(12), 3365-3370.
- Ouweltjes, W.; de Zeeuw, A. C.; Moen, A. und Counotte, G. H. (2007):
Measurement of the status of trace elements in cattle using liver biopsy samples.
Tijdschr Diergeneesk. 132(3), 76-83.
- Papp, L. V.; Lu, J.; Holmgren, A. und Khanna, K. K. (2007):
From selenium to selenoproteins: Synthesis, identity, and their role in human health.
Antioxid Redox Signal. 9(7), 775-806.
- Pappas, A. C.; Zoidis, E.; Surai, P. F. und Zervas, G. (2008):
Selenoproteins and maternal nutrition.
Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 151(4), 361-372.
- Parada, R. (1981):
Zinc deficiency in molybdenum poisoned cattle.
Vet Hum Toxicol. 23(1), 16-21.
- Pavlata, L.; Pechova, A. und Illek, J. (2000):
Direkt and indirekt assessment of selenium status in cattle a comparison.
Acta Vet Brno. 69, 281-287.
- Pavlata, L.; Podhorsky, A.; Pechova, A. und Chomat, P. (2005):
Differences in the occurrence of selenium, copper and zinc deficiencies in dairy cows,
calves, heifers and bulls.
Vet Med Int. 50(9), 390-400.
- Payne, J. M.; Dew, S. M.; Manston, R. und Faulks, M. (1970):
Use of a metabolic profile test in dairy herds.
Vet Rec. 87(6), 150-158.
- Paynter, D. I. (1982):
Differences between serum and plasma ceruloplasmin activities and copper concentrations:
Investigations of possible contributing factors.
Aust J Biol Sci. 35(4), 353-361.
- Paynter, D. I. (1987):
The diagnosis of copper insufficiency.
In: J. M. Howell und J. M. Gawthorne (Hrsg.): Copper in animals and man.
CRC Press, Boca Raton.

- Pechová, A.; Pavlata, L.; Dvořák, R. und Lokajova, E. (2008):
Contents of Zn, Cu, Mn and Se in milk in relation to their concentrations in blood, milk yield and stage of lactation in dairy cattle.
Acta Vet Brno. 77(4), 523-531.
- Pechová, A.; Pavlata, L.; Hofírek, B. und Dvořák, R. (2004):
Metabolic profile test.
In: B. Hofírek, A. Pechová, R. Doležel et al. (Hrsg.): Herd health management in dairy cattle (in Czech).
VFU Brno, 31-49.
- Pechova, A.; Pavlata, L. und Lokajova, E. (2006):
Zinc supplementation and somatic cell count in milk of dairy cows.
Acta Vet Brno. 75(3), 355-361.
- Pehrson, B. und Johnsson, S. (1985):
Addition of selenium to beef cattle given a selenium-deficient diet.
Zentralbl Veterinarmed A. 32(1-10), 428-432.
- Perrin, D. J.; Schiefer, H. B. und Blakley, B. R. (1990):
Chronic copper toxicity in a dairy herd.
Can Vet J. 31(9), 629-632.
- Perry, T. W.; Beeson, W. M.; Smith, W. H. und Mohler, M. T. (1968):
Value of zinc supplementation of natural rations for fattening beef cattle.
J Anim Sci. 27(6), 1674-1677.
- Phillippo, M.; Humphries, W. R.; Atkinson, T.; Henderson, G. D. und Garthwaite, P. H. (1987):
The effect of dietary molybdenum and iron on copper status, puberty, fertility and estrous cycles in cattle.
J Agric Sci. 109, 321-336.
- Pinto-Santini, L.; Godoy, S.; Chicco, C. und Chacon, T. (2007):
High levels of dietary iron and molybdenum on copper nutrition in cross bred cows.
Rev Cient (Maracaibo). 17(6), 588-596.
- Puls, R. (1994):
Mineral levels in animal health: Diagnostic data. 2. Auflage.
Sherpa International, Clearbrook
- Puschner, B.; Choi, Y.; Tegzes, J. und Thurmond, M. (2004):
Influence of age, sex, and production class on liver zinc concentration in calves.
J Vet Diagn Invest. 16(4), 278-282.
- Quiroz-Rocha, G. F.; Bouda, J.; Núñez, O. L.; Sosa, F. C. und Castillo, M. D. A. (2003):
Comparación de la ceruloplasmina y cobre séricos con cobre hepático, como indicadores de cobre corporal en vacas de desecho voluntario.
Vet Mex. 34(2), 143-148.

Raisbeck, M. F. (2000):
Selenosis.

Vet Clin North Am Food Anim Pract. 16(3), 465-480.

Raisbeck, M. F.; Siemion, R. S. und Smith, M. A. (2006):
Modest copper supplementation blocks molybdenosis in cattle.
J Vet Diagn Invest. 18(6), 566-572.

Rampal, S.; Kumar, R.; Randhawa, C. S. und Sood, N. (2008):
Maturation arrest of neutrophils: A possible reason for the leucopenia in sodium selenite induced sub chronic selenosis in cow calves.
Environ Toxicol Pharmacol. 25(1), 39-42.

Rogers, P. A. M. (1996):
Trace element supplementation of cows.
XIX World Biutric Congress, Edinburgh, 394-396.

Rojas, L. X.; McDowell, L. R.; Martin, F. G.; Wilkinson, N. S.; Johnson, A. B. und Njeru, C. A. (1996):
Relative bioavailability of zinc methionine and two inorganic zinc sources fed to cattle.
J Trace Elem Med Biol. 10(4), 205-209.

Rojas, M. A.; Dyer, I. A. und Cassatt, W. A. (1965):
Manganese deficiency in bovine.
J Anim Sci. 24(3), 664-667.

Rosenfeld, I. und Beath, O. A. (1964):
Selenium: Geobotany, biochemistry, toxicity, and nutrition.
Academic Press, New York

Rossow, N. und Bolduan, G. (1994):
Stoffwechselstörungen bei Haustieren.
Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart

Rossow, N.; Jacobi, U.; Schäfer, M.; Lippmann, R.; Furcht, G.; Slanina, L.; Vrzgula, L. und Ehrentraut, W. (1987):
Stoffwechselüberwachung bei Haustieren - Probleme, Hinweise und Referenzwerte.
Eberswalde-Finow

Roth, H. P. und Kirchgessner, M. (1997):
Course of concentration changes of growth hormone, IGF-1, insulin and C-peptide in serum, pituitary and liver of zinc-deficient rats.
J Anim Physiol Anim Nutr. 77(2), 91-101.

Roth, H. P. und Kirchgessner, M. (1999):
Diagnosis of zinc deficiency.
Z Gerontol Geriatr. 32(1), 55-63.

- Roth, J. A. (2006):
Homeostatic and toxic mechanisms regulating manganese uptake, retention and elimination.
Biol Res. 39(1), 45-57.
- Rouault, T. A. und Cooperman, S. (2006):
Brain iron metabolism.
Semin Pediatr Neurol. 13(3), 142-148.
- Roy, C. N. und Andrews, N. C. (2005):
Anemia of inflammation: The hepcidin link.
Curr Opin Hematol. 12(2), 107-111.
- Saenko, E. L.; Yaropolov, A. I. und Harris, E. D. (1994):
Biological functions of ceruloplasmin expressed through copper-binding sites and a cellular receptor.
J Trace Elem Exp Med 7(2), 69-88.
- Salgueiro, M. J.; Zubillaga, M.; Lysionek, A.; Sarabia, M. I.; Caro, R.; De Paoli, T.; Hager, A.; Weill, R. und Boccio, J. (2000):
Zinc as an essential micronutrient: A review.
Nutr Res. 20(5), 737-755.
- Salyer, G. B.; Galyean, M. L.; Defoor, P. J.; Nunnery, G. A.; Parsons, C. H. und Rivera, J. D. (2004):
Effects of copper and zinc source on performance and humoral immune response of newly received, lightweight beef heifers.
J Anim Sci. 82(8), 2467-73.
- Sanders, D. E. (1984):
Use of selenium in problem cattle herds.
Mod Vet Pract. 65(2), 136-138.
- Sato, M. und Bremner, I. (1993):
Oxygen free radicals and metallothionein.
Free Radical Biology and Medicine. 14(3), 325-337.
- Sato, M. und Bremner, I. (1993):
Oxygen free radicals and metallothionein.
Free Radic Biol Med. 14(3), 325-337.
- Scaletti, R. W.; Trammell, D. S.; Smith, B. A. und Harmon, R. J. (2003):
Role of dietary copper in enhancing resistance to *Escherichia coli* mastitis.
J Dairy Sci. 86(4), 1240-1249.
- Scholz, R. W. und Hutchinson, L. J. (1979):
Distribution of glutathione peroxidase activity and selenium in the blood of dairy cows.
Am J Vet Res. 40(2), 245-249.

- Schrauzer, G. N. (2003):
The nutritional significance, metabolism and toxicology of selenomethionine.
Adv Food Nutr Res. 47, 73-112.
- Schwarz, W. A. und Kirchgessner, M. (1975):
Zinc concentration in cattle hair during zinc deficiency.
Dtsch Tierarztl Wochenschr. 82(4), 141-143.
- Silvestre, F. T.; Carvalho, T. S. M.; Crawford, P. C.; Santos, J. E. P.; Staples, C. R.; Jenkins, T. und Thatcher, W. W. (2011):
Effects of differential supplementation of fatty acids during the peripartum and breeding periods of Holstein cows: 2. Neutrophil fatty acids and function, and acute phase proteins.
J Dairy Sci. 94(5), 2285-2301.
- Singh, A. P.; Netra, P. R.; Vashistha, M. S. und Sharma, S. N. (1994):
Zinc deficiency in cattle.
Indian J Anim Sci. 64, 35-40.
- Slavik, P.; Illek, J.; Brix, M.; Hlavicova, J.; Rajmon, R. und Jilek, F. (2008):
Influence of organic versus inorganic dietary selenium supplementation on the concentration of selenium in colostrum, milk and blood of beef cows.
Acta Vet Scand. 50, 43-48.
- Small, J. A.; Charmley, E.; Rodd, A. V. und Freeden, A. H. (1997):
Serum mineral concentrations in relation to estrus and conception in beef heifers and cows fed conserved forage.
Can J Anim Sci. 77(1), 55-62.
- Smart, M. E.; Cohen, R.; Christensen, D. A. und Williams, C. M. (1986):
The effects of sulphate removal from drinking water on the plasma and liver copper and zinc concentrations of beef cows and their calves.
Can J Anim Sci. 66(3), 669-680.
- Smart, M. E.; Cymbaluk, N. F. und Christensen, D. A. (1992):
A review of copper status of cattle in Canada and recommendations for supplementation.
Can Vet J. 33(3), 163-170.
- Smith, B. und Coup, M. R. (1973):
Hypocuprosis: A clinical investigation of dairy herds in Northland.
N Z Vet J. 21(12), 252-258.
- Smith, J. E. (1997):
Iron metabolism and its disorders.
In: J. J. Kaneko, J. W. Harvey und M. I. Bruss (Hrsg.): *Clinical biochemistry of domestic animals.* 5. Auflage.
Academic Press, San Diego u.a., 223-238.
- Smith, K. T.; Failla, M. L. und Cousins, R. J. (1979):
Identification of albumin as the plasma carrier for zinc absorption by perfused rat intestine
Biochem J. 184(3), 627-633.

- Smith, S. L.; Grace, N. D.; West, D. M. und Balemi, S. C. (2010):
The impact of high zinc intake on the copper status of dairy cows in New Zealand.
N Z Vet J. 58(3), 142-145.
- Solberg, H. E. (1987):
Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 5. Statistical
treatment of collected reference values. Determination of reference limits.
Clin Chim Acta. 170(2-3), 13-32.
- Solberg, H. E. (2004):
The IFCC recommendation on estimation of reference intervals: The RefVal Program.
Clin Chem Lab Med. 42(7), 710-714.
- Spears, J. W. (1989):
Zinc methionin for ruminants - relative bioavailability of zinc in lambs and effects of
growth and performance of growing heifers.
J Anim Sci. 67(3), 835-843.
- Spears, J. W. (2003):
Trace mineral bioavailability in ruminants.
J Nutr. 133(5), 1506-1509.
- Spears, J. W.; Harvey, R. W. und Segerson, E. C. (1986):
Effects of marginal selenium deficiency and winter protein supplementation on growth,
reproduction and selenium status of beef cattle.
J Anim Sci. 63(2), 586-594.
- Spears, J. W.; Schlegel, P.; Seal, M. C. und Lloyd, K. E. (2004):
Bioavailability of zinc from zinc sulfate and different organic zinc sources and their effects
on ruminal volatile fatty acid proportions.
Livest Prod Sci. 90(2-3), 211-217.
- Spears, J. W. und Weiss, W. P. (2008):
Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows.
Vet J. 176(1), 70-6.
- Spolders, M.; Holtershinken, M.; Meyer, U.; Rehage, J. und Flachowsky, G. (2010):
Assessment of reference values for copper and zinc in blood serum of first and second
lactating dairy cows.
Vet Med Int. 2010b, 1-8.
- Spolders, M.; Oehlschlaeger, S.; Rehage, J. und Flachowsky, G. (2010):
Inter- and intra-individual differences in serum copper and zinc concentrations after
feeding different amounts of copper and zinc over two lactations.
J Anim Physiol Anim Nutr. 94(2), 162-173.
- Spolders, M.; Sun, H. D.; Wahner, M.; Grun, M.; Rehage, J. und Flachowsky, G. (2008):
Influence of different copper and zinc supply on their concentrations in blood serum, liver
and hair of dairy cows.
Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 121(7-8), 278-285.

- Stabel, J. R.; Spears, J. W.; Brown, T. T. und Brake, J. (1989):
Selenium effects on glutathione peroxidase and the immune response of stressed calves challenged with *pasteurella hemolytica*.
J Anim Sci. 67(2), 557-564.
- Staley, G. P.; Vanderlugt, J. J.; Axsel, G. und Loock, A. H. (1994):
Congenital malformations in Holstein calves associated with putative manganese.
J S Afr Vet Assoc. 65(2), 73-78.
- Standish, J. F.; Ammerman, C. B.; Palmer, A. Z. und Simpson, C. F. (1971):
Influence of dietary iron and phosphorus on performance, tissue mineral composition and mineral absorption in steers.
J Anim Sci. 33(1), 171-178.
- Standish, J. F.; Ammerman, C. B.; Simpson, C. F.; Neal, F. C. und Palmer, A. Z. (1969):
Influence of graded levels of dietary iron, as ferrous sulfate, on performance and tissue mineral composition of steers.
J Anim Sci. 29(3), 496-503.
- Steele, T. M.; Frazer, D. M. und Anderson, G. J. (2005):
Systemic regulation of intestinal iron absorption.
IUBMB Life. 57(7), 499-503.
- Stefanidou, M.; Maravelias, C.; Dona, A. und Spiliopoulou, C. (2006):
Zinc: A multipurpose trace element.
Archi Toxicol. 80(1), 1-9.
- Steinhöfel, O. (2008):
Minerale und Spurenelemente: Wie viel gehört in die Ration?
27. Tag des Milchviehhalters in Sachsen-Anhalt, Bernburg,
<http://www.lkv-st.de/index.php?name=download&dclid=116>
- Stogdale, L. (1978):
Chronic copper poisoning in dairy cows.
Aust Vet J. 54(3), 139-141.
- Stoszek, M. J.; Mika, P. G.; Oldfield, J. E. und Weswig, P. H. (1986):
Influence of copper supplementation on blood and liver copper in cattle fed tall fescue or quackgrass.
J Anim Sci. 62(1), 263-271.
- Stowe, H. D. und Herdt, T. H. (1992):
Clinical assessment of selenium status of livestock.
J Anim Sci. 70(12), 3928-3933.
- Suttle, N. (1993):
Overestimation of copper deficiency.
Vet Rec. 133(5), 123-124.

- Suttle, N. (2004):
Assessing the needs of cattle for trace elements.
In Practice. 26(10), 553-561.
- Suttle, N. F. (1986a):
Problems in the diagnosis and anticipation of trace-element deficiencies in greazing livestock.
Vet Rec. 119(7), 148-152.
- Suttle, N. F. (1986b):
Copper deficiency in ruminants: Recent developments.
Vet Rec. 119(21), 519-522.
- Suttle, N. F. (1991):
The interactions between copper, molybdenum, and sulphur in ruminant nutrition.
Annu Rev Nutr. 11, 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), 237-240.
- Suttle, N. F. (2010):
Mineral nutrition of livestock. 4. Auflage.
CABI Publishing, Wallingford u.a.
- Suttle, N. F. und Angus, K. W. (1976):
Experimental copper deficiency in the calf.
J Comp Pathol. 86(4), 595-608.
- Suttle, N. F. und McMurray, C. H. (1983):
Use of erythrocyte Cu:Zn superoxide dismutase activity and hair or fleece copper concentrations in the diagnosis of hypocuprosis in ruminants.
Res Vet Sci. 35(1), 47-52.
- Suzuki, K. T. und Ogra, Y. (2002):
Metabolic pathway for selenium in the body: Speciation by HPLC-ICP MS with enriched Se.
Food Addit Contam. 19(10), 974-983.
- Swan, D.; Creeper, J.; White, C.; Ridings, M.; Smith, G. und Costa, N. (1998):
Molybdenum poisoning in feedlot cattle.
Aust Vet J. 76(5), 345-349.
- Swenson, C. K.; Ansotegu, R. P.; Swensson, E. J. und Paterson, J. A. (1996):
Influence of mineral supplementation on blood serum and liver mineral concentrations in first-calf beef heifers and their calves.
J Anim Sci. 74(Suppl. 1), 616.

- Symons, L. E. A. (1983):
Plasma zinc and inappetence in sheep infected with *Trichostrongylus colubriformis*.
J Comp Pathol. 93(4), 547-550.
- Takeda, A.; Ishiwatari, S. und Okada, S. (2000):
Influence of transferrin on manganese uptake in rat brain.
J Neurosci Res. 59(4), 542-552.
- Tapiero, H. und Tew, K. D. (2003):
Trace elements in human physiology and pathology: Zinc and metallothioneins.
Biomed Pharmacother. 57(9), 399-411.
- Tapiero, H.; Townsend, D. M. und Tew, K. D. (2003):
Trace elements in human physiology and pathology: Copper.
Biomed Pharmacother. 57(9), 386-398.
- Taylor, J. B. (2005):
Time-dependent influence of supranutritional organically bound selenium on selenium accumulation in growing wether lambs.
J Anim Sci. 83(5), 1186-1193.
- Telfer, S. B.; Kendall, N. R.; Illingworth, D. V. und Mackenzie, A. M. (2004):
Molybdenum toxicity in cattle: An underestimated problem.
Cattle Practice. 12, 259-262.
- Telfer, S. B.; Kendall, N. R.; Illingworth, D. V. und Mackenzie, A. M. (2006):
Caeruloplasmin: Plasma copper ratios in cows.
Vet Rec. 159(18), 607-608.
- Telfer, S. B.; Mackenzie, A. M.; Illingworth, D. V. und Jackson, D. W. (1996):
The use of caeruloplasmin activities and plasma Copper concentrations as indicators of copper status in cattle.
XIX World Biutric Congress, Edingburgh, 402-476.
- Tessman, R. K.; Lakritz, J.; Tyler, J. W.; Casteel, S. W.; Williams, J. E. und Dew, R. K. (2001):
Sensitivity and specificity of serum copper determination for detection of copper deficiency in feeder calves.
J Am Vet Med Assoc. 218(5), 756-760.
- Thompson, J. C.; Thornton, R. N.; Bruere, S. N. und Ellison, R. S. (1998):
Selenium reference ranges in New Zealand cattle.
N Z Vet. J. 46(2), 65-67.
- Thompson, K. G. und Ellison, R. S. (1993):
Blood selenium or serum selenium?
J Vet Diagn Invest. 5(2), 145-147.

- Thompson, K. G.; Fraser, A. J.; Harrop, B. M. und Kirk, J. A. (1980):
Glutathione peroxidase activity in bovine serum and erythrocytes in relation to selenium concentrations of blood, serum and liver.
Res Vet Sci. 28(3), 321-324.
- Thompson, K. G.; Fraser, A. J.; Harrop, B. M.; Kirk, J. A.; Bullians, J. und Cordes, D. O. (1981):
Glutathione peroxidase activity and selenium concentration in bovine blood and liver as indicators of dietary selenium intake.
N Z Vet J. 29(1-2), 3-6.
- Todd, J. R. (1969):
Chronic copper toxicity of ruminants.
Proc Nutr Soc. 28(2), 189-198.
- Tornquist, S. J. und Van Saun, R. J. (1999):
Comparison of biochemical parameters in individual and pooled bovine sera.
Vet Pathol. 36(5), 487 (Abstract).
- Trinder, N.; Hall, R. J. und Renton, C. P. (1973):
Relationship between intake of selenium and vitamin E on incidence of retained placentae in dairy cows.
Vet Rec. 93(25), 641-644.
- Underwood, E. J. (1977):
Trace elements in human and animal nutrition. 4. Auflage.
Academic Press, New York
- Underwood, E. J. und Suttle, N. F. (1999):
The mineral nutrition of livestock. 3. Auflage.
CAB International, Midlothian, UK
- Vallee, B. L. und Falchuk, K. H. (1993):
The biochemical basis of zinc physiology.
Physiol Rev. 73(1), 79-118.
- van Bruwaene, R.; Gerber, G. B.; Kirchmann, R.; Colard, J. und van Kerckom, J. (1984):
Metabolism of ⁵¹Cr, ⁵⁴Mn, ⁵⁹Fe and ⁶⁰Co in lactating dairy cows.
Health Phys. 46(5), 1069-1082.
- van de Weyer, L. M.; Hendrick, S. und Waldner, C., L. (2010):
Serum micronutrient concentrations in beef cows before and after the summer grazing season.
Can J Anim Sci. 90(4), 563-574.
- van Saun, R. J. (1990):
Rational approach to selenium supplementation essential.
Feedstuffs(January 15), 15-17.

- van Saun, R. J. (2005):
Use and interpretation of pooled metabolic profiles for evaluating transition cow health status.
Proc Am Assoc Bov Pract. 38, 180.
- van Saun, R. J. (2007):
Application of a pooled sample metabolic profile for use as a herd screening tool.
In Proceedings: Danish Bovine Practitioner Seminar, Middelfart, Denmark, 1-9.
- van Saun, R. J.; Herdt, T. H. und Stowe, H. D. (1989):
Maternal and fetal selenium concentrations and their interrelationships in dairy cattle.
J Nutr. 119(8), 1128-1137.
- van Vleet, J. F. (1980):
Current knowledge of selenium-vitamin E deficiency in domestic animals.
J Am Vet Med Assoc. 176(4), 321-325.
- Vendeland, S. C.; Butler, J. A. und Whanger, P. D. (1992):
Intestinal absorption of selenite, selenate, and selenomethionine in the rat.
J Nutr Biochem. 3(7), 359-365.
- Verga Falzacappa, M. V. und Muckenthaler, M. U. (2005):
Hepcidin: Iron-hormone and anti-microbial peptide.
Gene. 364(0), 37-44.
- Vermunt, J. J. und West, D. M. (1994):
Predicting copper status in beef cattle using serum copper concentrations.
N Z Vet J. 42(5), 194-195.
- Villar, D.; Arthur, J. R.; Gonzalez, J. M.; Pallares, F. J. und Carson, T. L. (2002):
Selenium status in cattle: Interpretation of laboratory results.
Bov Pract. 36(1), 73-80.
- Volker, H. und Rotermund, L. (2000):
The possibilities of oral iron supply in calves to maintain their health status.
Dtsch Tierarztl Wochenschr. 107(1), 16-22.
- Vyskočil, A. und Viau, C. (1999):
Assessment of molybdenum toxicity in humans.
J Appl Toxicol. 19(3), 185-192.
- Waldner, C.; Campbell, J.; Jim, G. K.; Guichon, P. T. und Booker, C. (1998):
Comparison of 3 methods of selenium assessment in cattle.
Can Vet J. 39(4), 225-231.
- Ward, G. M. (1978):
Molybdenum toxicity and hypocuprosis in ruminants: A review.
J Anim Sci. 46(4), 1078-1085.

- Ward, J. D. und 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), 3057-3065.
- Watanabe, K.; Ozawa, M.; Ochiai, H.; Kamohara, H.; Iijima, N.; Negita, H.; Orino, K. und Yamamoto, S. (1998):
Changes in iron and ferritin in anemic calves infected with *Theileria sergenti*.
J Vet Med Sci. 60(8), 943-947.
- Weeks, B. R.; Smith, J. E.; DeBowes, R. M. und Smith, J. M. (1989):
Decreased serum iron and zinc concentrations in cattle receiving intravenous dexamethasone.
Vet Pathol. 26(4), 345-346.
- Wegner, T. N.; Ray, D. E.; Lox, C. D. und Stott, G. H. (1973):
Effect of stress on serum zinc and plasma corticoid in dairy cattle.
J Dairy Sci. 56(6), 748-752.
- Weiser, M. und Lukas, E. (1965):
Manganese determinations in the blood of horses, cattle and swine.
Wien Tierarztl Monatsschr. 52(9), 829-837.
- Weiss, D. J. (2010):
Iron and copper deficiencies and disorders of iron metabolism.
In: D. J. Weiss, J. K. Wardrop und O. W. Schalm (Hrsg.): *Schalm's veterinary hematology.* 6. Auflage.
Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, 167-171.
- Weiss, W. P. und Hogan, J. S. (2005):
Effect of selenium source on selenium status, neutrophil function, and response to intramammary endotoxin challenge of dairy cows.
J Dairy Sci. 88(12), 4366-4374.
- Weiss, W. P.; Hogan, J. S.; Smith, K. L. und Hoblet, K. H. (1990):
Relationships among selenium, vitamin E, and mammary gland health in commercial dairy herds.
J Dairy Sci. 73(2), 381-390.
- Weiss, W. P.; Pinos-Rodríguez, J. M. und Socha, M. T. (2010):
Effects of feeding supplemental organic iron to late gestation and early lactation dairy cows.
J Dairy Sci. 93(5), 2153-2160.
- Weiss, W. P. und Socha, M. T. (2005):
Dietary manganese for dry and lactating Holstein cows.
J Dairy Sci. 88(7), 2517-2523.

- Wensing, T.; Abdelrahim, A. und Schotman, A. (1986):
Some aspects of extra iron supply in veal calf fattening.
Vet Res Commun. 10(1), 283-296.
- Whitehair, C. K. (1986):
Vitamin E and selenium in cattle production.
Bov Pract. 21, 87-90.
- Whitehead, D. C. (2000):
Micronutrient cations: Iron, manganese, zinc, copper and cobalt.
In: (Hrsg.): Nutrient elements in grassland: Soil-plant-animal relationships.
CABI Publishing, Wallingford, UK, 220-254.
- Wichtel, J. J. (1998a):
A review of selenium deficiency in grazing ruminants. Part 1: New roles for selenium in ruminant metabolism.
N Z Vet J. 46(2), 47-52.
- Wichtel, J. J. (1998b):
A review of selenium deficiency in grazing ruminants. Part 2: Towards a more rational approach to diagnosis and prevention.
N Z Vet J. 46(2), 54-58.
- Wichtel, J. J.; Craigie, A. L.; Varela-Alvarez, H. und Williamson, N. B. (1994):
The effect of intra-ruminal selenium pellets on growth rate, lactation and reproductive efficiency in dairy cattle.
N Z Vet J. 42(6), 205-210.
- Wichtel, J. J.; Keefe, G. P.; Van Leeuwen, J. A.; Spangler, E.; McNiven, M. A. und Ogilvie, T. H. (2004):
The selenium status of dairy herds in Prince Edward Island.
Can Vet J. 45(2), 124-132.
- Wiesner, E. (1970):
Ernährungsschäden der landwirtschaftlichen Nutztiere. 2. Auflage.
Gustav Fischer Verlag, Jena
- Wikse, S. E.; Herd, D.; Field, R. und Holland, P. (1992):
Diagnosis of copper deficiency in cattle.
J Am Vet Med Assoc. 200(11), 1625-1629.
- Willer, H. (1982):
Praktische Stichprobenplanung.
Gustav Fischer Verlag, Jena
- Willer, H.; Rossow, N. und Dudzus, M. (1976):
Stichprobenplanung für die Stoffwechselüberwachung von Milchviehherden. Planung des erforderlichen Stichprobenumfangs und Auswertung der Stichprobenmittelwerte.
Tierhygiene-Information, Eberswalde-Finow

- Windisch, W. und Kirchgessner, M. (2000a):
Selenium true absorption and tissue concentration of rats at dietary selenite, seleno cysteine, and seleno methionine.
In: A. M. Roussel, R. A. Anderson und A. E. Favrier (Hrsg.): Trace elements in man and animals - Tema-10: Proceedings of the tenth international symposium on trace elements in man and animals.
Kluwer Academic/ Plenum Publishers, New York u.a, 173-174.
- Windisch, W. und Kirchgessner, M. (2000b):
True absorption, excretion, and tissue retention of selenium at widely varying selenium supply to rats.
In: A. M. Roussel, R. A. Anderson und A. E. Favrier (Hrsg.): Trace elements in man and animals - Tema-10: Proceedings of the tenth international symposium on trace elements in man and animals.
Kluwer Academic/ Plenum Publishers, New York u.a., 883-886.
- Wolf, C.; Bladt, A. und Altmann, B. (1998):
Selenium status of cows - deficiency or excess? 1st communication: Diagnosis of selenium supply of cows.
Prakt Tierarzt. 79(7), 651-656.
- Wolffram, S.; Anliker, E. und Scharrer, E. (1986):
Uptake of selenate and selenite by isolated intestinal brush border membrane vesicles from pig, sheep, and rat.
Biol Trace Elem Res. 10(4), 293-306.
- Wright, C. L. und Spears, J. W. (2004):
Effect of zinc source and dietary level on zinc metabolism in Holstein calves.
J Dairy Sci. 87(4), 1085-1091.
- Xin, Z.; Silvia, W. J.; Waterman, D. F.; Hemken, R. W. und Tucker, W. B. (1993a):
Effect of copper status on luteinizing-hormone secretion in dairy steers.
J Dairy Sci. 76(2), 437-444.
- Xin, Z.; Waterman, D. F.; Hemken, R. W. und Harmon, R. J. (1991):
Effects of copper status on neutrophil function, superoxide dismutase, and copper distribution in steers.
J Dairy Sci. 74(9), 3078-3085.
- Xin, Z.; Waterman, D. F.; Hemken, R. W. und Harmon, R. J. (1993):
Copper status and requirement during the dry period and early lactation in multiparous holstein cows.
J Dairy Sci. 76(9), 2711-2716.
- Xu, C.; Wensing, T. und Beynen, A. C. (1997):
The effects of dietary soybean versus skim milk protein on plasma and hepatic concentrations of zinc in veal calves.
J Dairy Sci. 80(9), 2156-2161.

Yaeger, M. J.; Neiger, R. D.; Holler, L.; Fraser, T. L.; Hurley, D. J. und Palmer, I. S. (1998):

The effect of subclinical selenium toxicosis on pregnant beef cattle.

J Vet Diagn Invest. 10(3), 268-273.

Yu, W. (1992):

Einfluss von Zinkmangel auf die Immunglobulinproduktion von Rindern.

Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover

Zebeli, Q.; Dunn, S. M. und Ametaj, B. N. (2010):

Strong associations among rumen endotoxin and acute phase proteins with plasma minerals in lactating cows fed graded amounts of concentrate.

J Anim Sci. 88(4), 1545-1553.

Zhang, Z.; Liu, G.; Li, X.; Gao, L.; Guo, C.; Wang, H. und Wang, Z. (2010):

Evaluation of the change of serum copper and zinc concentrations of dairy cows with subclinical ketosis.

Biol Trace Elem Res. 138(1-3), 8-12.

Zust, J.; Hrovatin, B. und Simundic, B. (1996):

Assessment of selenium and vitamin E deficiencies in dairy herds and clinical disease in calves.

Vet Rec. 139(16), 391-394.

10 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Abfolge der biochemischen Veränderungen im Verlauf der Kupferverarmung nach Underwood und Suttle (1999).....	7
Abb. 2: Abfolge der biochemischen Veränderungen im Verlauf der Eisenverarmung nach Suttle (2010).....	20
Abb. 3: Abfolge der biochemischen Veränderungen im Verlauf der Manganverarmung nach Suttle (2010).	34
Abb. 4: Selenabhängige Störungen nach Villar et al. (2002).....	39
Abb. 5: Übersicht zur Probandenauswahl, zum Probenmaterial und zur Probenaufbereitung.	46
Abb. 6: Häufigkeitsverteilung Serumkupferkonzentration (EW).....	59
Abb. 7: Häufigkeitsverteilung Plasmakupferkonzentration (EW).	59
Abb. 8: Häufigkeitsverteilung Vollblutkupferkonzentration (EW).....	59
Abb. 9: Häufigkeitsverteilung Harnkupferkonzentration (EW).....	59
Abb. 10: Häufigkeitsverteilung Leberkupferkonzentration (EW).....	59
Abb. 11: Häufigkeitsverteilung Haarkupferkonzentration (SPW).	59
Abb. 12: Bland-Altman-Diagramm der Plasma- und Serumkupferkonzentrationen (EW). 60	
Abb. 13: Bland-Altman-Diagramm der Plasmakupferkonzentrationen (MW-PW).....	61
Abb. 14: Verhältnis zwischen Plasma- und Leberkupferkonzentration (EW).	62
Abb. 15: Serumkupferkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	63
Abb. 16: Plasmakupferkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	63
Abb. 17: Vollblutkupferkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	64
Abb. 18: Harnkupferkonzentration im Laktationsverlauf (EW).	64
Abb. 19: Leberkupferkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	64
Abb. 20: Haarkupferkonzentration im Laktationsverlauf (SPW).....	64
Abb. 21: Häufigkeitsverteilung der Serumolybdänkonzentration (EW).....	67
Abb. 22: Häufigkeitsverteilung der Plasmamolybdänkonzentration (EW).....	67
Abb. 23: Häufigkeitsverteilung der Vollblutmolybdänkonzentration (EW).....	67
Abb. 24: Häufigkeitsverteilung der Harnmolybdänkonzentration (EW).	67
Abb. 25: Häufigkeitsverteilung der Lebermolybdänkonzentration (EW).....	67
Abb. 26: Häufigkeitsverteilung der Haarmolybdänkonzentration (SPW).....	67
Abb. 27: Bland-Altman-Diagramm der Plasma- und Serumolybdänkonzentrationen (EW).....	68

Abb. 28: Bland-Altman-Diagramm der Plasmamolybdänkonzentrationen (MW-PW).....	69
Abb. 29: Verhältnis zwischen Leber- und Plasmamolybdänkonzentration (EW).....	70
Abb. 30: Serumolybdänkonzentration im Laktationsverlauf (EW).	71
Abb. 31: Plasmamolybdänkonzentration im Laktationsverlauf (EW).	71
Abb. 32: Vollblutmolybdänkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	72
Abb. 33: Harnmolybdänkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	72
Abb. 34: Lebermolybdänkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	72
Abb. 35: Haarmolybdänkonzentration im Laktationsverlauf (SPW).	72
Abb. 36: Häufigkeitsverteilung Serumeisenkonzentration (EW).....	75
Abb. 37: Häufigkeitsverteilung Plasmaeisenkonzentration (EW).....	75
Abb. 38: Häufigkeitsverteilung Vollbluteisenkonzentration (EW).....	75
Abb. 39: Häufigkeitsverteilung Harneisenkonzentration (EW).	75
Abb. 40: Häufigkeitsverteilung Lebereisenkonzentration (EW).....	75
Abb. 41: Häufigkeitsverteilung Haareisenkonzentration (SPW).	75
Abb. 42: Bland-Altman-Diagramm der Plasma- und Serumeisenkonzentrationen (EW)...	76
Abb. 43: Bland-Altman-Diagramm der Plasmaeisenkonzentrationen (MW-PW).....	77
Abb. 44: Verhältnis zwischen Leber- und Plasmaeisenkonzentration (EW).	78
Abb. 45: Serumeisenkonzentration im Laktationsverlauf (EW).	79
Abb. 46: Plasmaeisenkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	79
Abb. 47: Vollbluteisenkonzentration im Laktationsverlauf (EW).	80
Abb. 48: Harneisenkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	80
Abb. 49: Lebereisenkonzentration im Laktationsverlauf (EW).	80
Abb. 50: Haareisenkonzentration im Laktationsverlauf (SPW).....	80
Abb. 51: Häufigkeitsverteilung Serumzinkkonzentration (EW).	83
Abb. 52: Häufigkeitsverteilung Plasmazinkkonzentration (EW).....	83
Abb. 53: Häufigkeitsverteilung Vollblutzinkkonzentration (EW).	83
Abb. 54: Häufigkeitsverteilung Harnzinkkonzentration (EW).....	83
Abb. 55: Häufigkeitsverteilung Leberzinkkonzentration (EW).	83
Abb. 56: Häufigkeitsverteilung Haarzinkkonzentration (SPW).....	83
Abb. 57: Bland-Altman-Diagramm der Plasma- und Serumzinkkonzentrationen (EW)...	84
Abb. 58: Bland-Altman-Diagramm der Plasmazinkkonzentrationen (MW-PW).	85
Abb. 59: Verhältnis zwischen Leber- und Plasmazinkkonzentration (EW).....	86
Abb. 60: Serumzinkkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	87
Abb. 61: Plasmazinkkonzentration im Laktationsverlauf (EW).	87

Abb. 62: Vollblutzinkkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	88
Abb. 63: Harnzinkkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	88
Abb. 64: Leberzinkkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	88
Abb. 65: Haarzinkkonzentration im Laktationsverlauf (SPW).....	88
Abb. 66: Häufigkeitsverteilung Serumzinkkonzentration (EW).....	91
Abb. 67: Häufigkeitsverteilung Plasmazinkkonzentration (EW).....	91
Abb. 68: Häufigkeitsverteilung Vollblutzinkkonzentration (EW).....	91
Abb. 69: Häufigkeitsverteilung Harnzinkkonzentration (EW).....	91
Abb. 70: Häufigkeitsverteilung Leberzinkkonzentration (EW).....	91
Abb. 71: Häufigkeitsverteilung Haarzinkkonzentration (SPW).....	91
Abb. 72: Bland-Altman-Diagramm der Plasma- und Serumzinkkonzentrationen (EW).	92
Abb. 73: Bland-Altman-Diagramm der Plasmazinkkonzentrationen (MW-PW).....	93
Abb. 74: Bland-Altman-Diagramm der Vollblutzinkkonzentrationen (MW-PW).....	94
Abb. 75: Verhältnis zwischen Leber- und Vollblutzinkkonzentration (EW).....	95
Abb. 76: Serumzinkkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	96
Abb. 77: Plasmazinkkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	96
Abb. 78: Vollblutzinkkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	97
Abb. 79: Harnzinkkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	97
Abb. 80: Leberzinkkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	97
Abb. 81: Haarzinkkonzentration im Laktationsverlauf (SPW).....	97
Abb. 82: Häufigkeitsverteilung Serumzinkkonzentration (EW).....	100
Abb. 83: Häufigkeitsverteilung Plasmazinkkonzentration (EW).....	100
Abb. 84: Häufigkeitsverteilung Vollblutzinkkonzentration (EW).....	100
Abb. 85: Häufigkeitsverteilung Harnzinkkonzentration (EW).....	100
Abb. 86: Häufigkeitsverteilung Leberzinkkonzentration (EW).....	100
Abb. 87: Häufigkeitsverteilung Haarzinkkonzentration (SPW).....	100
Abb. 88: Bland-Altman-Diagramm der Plasma- und Serumzinkkonzentrationen (EW).....	101
Abb. 89: Bland-Altman-Diagramm der Plasmazinkkonzentrationen (MW-PW).....	102
Abb. 90: Bland-Altman-Diagramm der Vollblutzinkkonzentrationen (MW-PW).....	103
Abb. 91: Verhältnis zwischen Leber- und Plasmazinkkonzentration (EW).....	104
Abb. 92: Serumzinkkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	105
Abb. 93: Plasmazinkkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	105
Abb. 94: Vollblutzinkkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	106

Abb. 95: Harnselenkonzentration im Laktationsverlauf (EW).....	106
Abb. 96: Leberselenkonzentration im Laktationsverlauf (EW).	106
Abb. 97: Haarselenkonzentration im Laktationsverlauf (SPW).....	106
Abb. 98: Verhältnis zwischen Leberkupfer- und Leberselenkonzentration (EW).....	108

11 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Empfehlungen zur Kupferversorgung von Milchkühen (mg/kg TS).....	7
Tab. 2: Referenzgrenzen und -bereiche für die Serum-, Plasma- und Vollblutkupferkonzentration von Rindern ($\mu\text{g/l}$).	10
Tab. 3: Schema für den kombinierten Gebrauch dreier Kupferstatusindikatoren zur Diagnose eines subklinischen und klinischen Kupfermangels nach McMurry und Suttle (1983).	11
Tab. 4: Referenzgrenzen und -bereiche für die Leberkupferkonzentration von Rindern (mg/kg TS).	13
Tab. 5: Referenzgrenzen und -bereiche für die Nierenkupferkonzentration von Rindern (mg/kg TS).	14
Tab. 6: Referenzgrenzen und -bereiche für die Haarkupferkonzentration von Rindern (mg/kg TS).	14
Tab. 7: Referenzgrenzen und -bereiche für die Molybdänkonzentration diverser Gewebe von Rindern.	17
Tab. 8: Empfehlungen zur Eisenversorgung von Milchkühen (mg/kg TS).	19
Tab. 9: Kriterien zur Abgrenzung verschiedener Eisenmangelzustände und der Anämie chronischer Erkrankungen nach Hastka et al. (1994) und Johnson (1990).	21
Tab. 10: Referenzmedien, -grenzen und -bereiche für verschiedene Eisenstatusindikatoren von Rindern.	22
Tab. 11: Einfluss des Futtereisens auf diverse Eisenstatusindikatoren.	24
Tab. 12: Empfehlungen zur Zinkversorgung von Milchkühen (mg/kg TS).....	26
Tab. 13: Referenzgrenzen und -bereiche für die Serum- und Plasmazinkkonzentration von Rindern ($\mu\text{g/l}$).	29
Tab. 14: Einfluss des Futterzinks auf den Zinkgehalt diverser Gewebe.	30
Tab. 15: Referenzgrenzen und -bereiche für die Leberzinkkonzentration von Rindern (mg/kg TS).	31
Tab. 16: Referenzgrenzen und -bereiche für die Haarzinkkonzentration von Rindern (mg/kg TS).	31
Tab. 17: Empfehlungen zur Manganversorgung von Milchkühen (mg/kg TS).	33
Tab. 18: Referenzgrenzen und -bereiche für die Plasma-, Serum- und Vollblutmangankonzentration von Rindern ($\mu\text{g/l}$).	35

Tab. 19: Einfluss des Futtermangans auf die Mangankonzentration von Plasma und Leber.	35
Tab. 20: Referenzgrenzen und -bereiche für die Lebermangankonzentration von Rindern ($\mu\text{g}/\text{kg}$ TS).	37
Tab. 21: Referenzgrenzen und -bereiche für die Haarmangankonzentration von Rindern ($\mu\text{g}/\text{kg}$ TS).	37
Tab. 22: Referenzgrenzen und -bereiche der Serum-, Plasma- und Vollblutselenkonzentration von Rindern ($\mu\text{g}/\text{l}$).	42
Tab. 23: Referenzgrenzen und -bereiche der Leberselenkonzentration von Rindern ($\mu\text{g}/\text{kg}$ TS).	44
Tab. 24: Referenzgrenzen und -bereiche für die Haarselenkonzentration von Rindern ($\mu\text{g}/\text{kg}$ TS).	44
Tab. 25: Referenzgrenzen und -bereiche für die Milchselenkonzentration von Rindern ($\mu\text{g}/\text{kg}$ TS).	45
Tab. 26: Übersicht zu den Probandengruppen.....	47
Tab. 27: Stichprobenübersicht.....	47
Tab. 28: Übersicht zu den analysierten Futterrationen.....	49
Tab. 29: Angaben des Analyselabors zur Messungslinien, Variationskoeffizienten (VK) des Intra-day- und Inter-day-Assays (10-fach Messung) von Feststoffen (Haar) und Flüssigkeiten (Serum) für die Spurenelemente Cu, Mo, Fe, Zn, Mn und Se mittels ICP-OES-Analyse.....	50
Tab. 30: Beurteilungsschema der Korrelationen nach Bühl und Zöfel (2000).	52
Tab. 31: Ergebnisse der Futterrationsanalysen der Milchviehbetriebe.	55
Tab. 32: Ausgewählte mittlere Rationsmineralgehalte der Milchviehbetriebe.	56
Tab. 33: Ausgewählte Verhältnisse mittlerer Rationsmineralgehalte der Milchviehbetriebe.	57
Tab. 34: Ergebnisse der Tränkewasseranalysen der Milchviehbetriebe.....	57
Tab. 35: Statistische Kennzahlen und Test auf Normalverteilung der Kupferkonzentrationen in den Substraten (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).....	58
Tab. 36: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serumkupferkonzentrationen (Einzelwerte).	60
Tab. 37: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmakupferkonzentrationen von Gruppenmittel- und Poolwerten.	61
Tab. 38: Korrelationsmatrix der Kupferkonzentrationen in den Substraten.	62

Tab. 39: Median der Substratkupferkonzentrationen differenziert nach Laktationsstadien.	63
Tab. 40: Ermittelte Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) für die Kupferkonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Vollblut, Harn, Leber und Haar (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).	65
Tab. 41: Ermittelte Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) für die Kupferkonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Harn, Vollblut und Lebern differenziert nach Laktationsgruppen (Einzelwerte).	65
Tab. 42: Statistische Kennzahlen und Test auf Normalverteilung der Molybdänkonzentrationen in den Substraten (Einzel-, Mittel- und Poolwerte)...	66
Tab. 43: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serummolybdänkonzentrationen (Einzelwerte).	68
Tab. 44: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmamolybdänkonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten.	69
Tab. 45: Korrelationsmatrix der Molybdänkonzentrationen in den Substraten.	70
Tab. 46: Median der Substratmolybdänkonzentrationen differenziert nach Laktationsstadien.	71
Tab. 47: Ermittelte Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) für die Molybdänkonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Vollblut, Harn, Leber und Haar (Einzel-, Mittel- und Poolwerte.	73
Tab. 48: Ermittelte Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) für die Molybdänkonzentration in den Substraten Harn und Leber differenziert nach Laktationsgruppen (Einzelwerte).	73
Tab. 49: Statistische Kennzahlen der Eisenkonzentrationen und Test auf Normalverteilung in den Substraten (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).	74
Tab. 50: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serumeisenkonzentrationen (Einzelwerte).	76
Tab. 51: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmaeisenkonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten.	77
Tab. 52: Korrelationsmatrix der Eisenkonzentrationen in den Substraten.	78
Tab. 53: Median der Substrateisenkonzentrationen differenziert nach Laktationsstadien..	79
Tab. 54: Ermittelte Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) für die Eisenkonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Vollblut, Harn, Leber und Haar (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).	81

Tab. 55: Ermittelte Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) für die Eisenkonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Harn, Vollblut und Leber differenziert nach Laktationsgruppen (Einzelwerte).	81
Tab. 56: Statistische Kennzahlen und Test auf Normalverteilung der Zinkkonzentrationen in den Substraten (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).	82
Tab. 57: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serumzinkkonzentrationen (Einzelwerte).	84
Tab. 58: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmazinkkonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten.	85
Tab. 59: Korrelationsmatrix der Zinkkonzentrationen in den Substraten.	86
Tab. 60: Median der Substratzinkkonzentrationen differenziert nach Laktationsstadien.	87
Tab. 61: Ermittelte Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) für die Zinkkonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Vollblut, Harn, Leber und Haar (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).	89
Tab. 62: Ermittelte Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) für die Zinkkonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Harn, Vollblut und Leber differenziert nach Laktationsgruppen (Einzelwerte).	89
Tab. 63: Statistische Kennzahlen und Test auf Normalverteilung der Mangankonzentrationen in den Substraten (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).	90
Tab. 64: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serum Mangankonzentrationen (Einzelwerte).	92
Tab. 65: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmamangankonzentration der Gruppenmittel- und Poolwerten.	93
Tab. 66: Bland-Altman-Methodenvergleich der Vollblutmangankonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten.	94
Tab. 67: Korrelationsmatrix der Mangankonzentrationen in den Substraten.	95
Tab. 68: Median der Substratmangankonzentrationen differenziert nach Laktationsstadien.	96
Tab. 69: Ermittelte Referenzbereiche (2,5. bis 97,5.-Perzentil) für die Mangankonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Vollblut, Harn, Leber und Haar (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).	98
Tab. 70: Ermittelte Referenzbereiche (2,5. bis 97,5.-Perzentil) für die Mangankonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Harn, Vollblut und Leber differenziert nach Laktationsgruppen (Einzelwerte).	98

Tab. 71: Statistische Kennzahlen und Test auf Normalverteilung der Selenkonzentrationen in den Substraten (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).....	99
Tab. 72: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasma- und Serumselenkonzentrationen (Einzelwerte).	101
Tab. 73: Bland-Altman-Methodenvergleich der Plasmaselenkonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten.	102
Tab. 74: Bland-Altman-Methodenvergleich der Vollblutselenkonzentration von Gruppenmittel- und Poolwerten.	103
Tab. 75: Korrelationsmatrix der Selenkonzentrationen in den Substraten.....	104
Tab. 76: Median der Substratselenkonzentrationen differenziert nach Laktationsstadien.	105
Tab. 77: Ermittelte Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) für die Selenkonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Vollblut, Harn, Leber und Haar (Einzel-, Mittel- und Poolwerte).	107
Tab. 78: Ermittelte Referenzbereiche (2,5.- bis 97,5.-Perzentil) für die Selenkonzentration in den Substraten Serum, Plasma, Harn, Vollblut und Lebern differenziert nach Laktationsgruppen (Einzelwerte).	107
Tab. 79: Korrelationsmatrix der Spurenelementkonzentrationen in den Substraten Plasma und Leber (Einzelwerte).	108
Tab. 80: Ergebnisse verschiedener methodischer Untersuchungen zur Bestimmung der Kupferkonzentration in gepaarten Plasma- und Serumproben (EW).....	113
Tab. 81: Ergebnisse der Bland-Altman-Methodenvergleiche zur Bestimmung der Spurenelementkonzentrationen in gepaarten Plasma- und Serumproben (EW). 113	
Tab. 82: Ergebnisse der Bland-Altman-Methodenvergleiche zwischen den Gruppenmittel- und Poolwertspurenelementkonzentrationen des Plasmas bzw. des Vollbluts. .	115
Tab. 83: Vergleich von Kupfersubstratkonzentrationen von Rindern verschiedener Untersuchungen.	118
Tab. 84: Aus der eigenen Untersuchung in Verbindung mit der Literatur erarbeitete, praktisch anwendbare Referenzbereiche für die Kupferkonzentration des Serums, Plasmas und der Leber im Vergleich mit den Angaben der Literatur.....	121
Tab. 85: Vergleich von Substratmolybdänkonzentrationen von Rindern verschiedener Untersuchungen.	121
Tab. 86: Aus der eigenen Untersuchung erarbeitete , praktisch anwendbare Referenzbereiche für die Molybdänkonzentration des Serums, Plasmas, Harns und der Leber im Vergleich mit den Angaben der Literatur.	123

Tab. 87: Aus der eigenen Untersuchung erarbeitete, praktisch anwendbare Referenzbereiche für die Eisenkonzentration des Serums, Plasmas und der Leber im Vergleich mit den Angaben der Literatur.	124
Tab. 88: Vergleich von Substratzinkkonzentrationen von Rindern verschiedener Untersuchungen.	125
Tab. 89: Aus der eigenen Untersuchung erarbeitete, praktisch anwendbare Referenzbereiche für die Zinkkonzentration des Serums, Plasmas und der Leber im Vergleich mit den Angaben der Literatur.	127
Tab. 90: Vergleich von Substratmangankonzentrationen von Rindern verschiedener Untersuchungen.	128
Tab. 91: Aus der eigenen Untersuchung erarbeitete, praktisch anwendbare Referenzbereiche für die Mangankonzentration des Serums, Plasmas, Vollbluts und der Leber im Vergleich mit den Angaben der Literatur.	130
Tab. 92: Vergleich von Substratselenkonzentrationen von Rindern verschiedener Untersuchungen.	131
Tab. 93: Aus der eigenen Untersuchung erarbeitete, praktisch anwendbare Referenzbereiche für die Selenkonzentration des Serums, Plasmas, Vollbluts, Harns und der Leber im Vergleich mit den Angaben der Literatur.	133
Tab. 94: Zur Diagnostik der Spurenelementversorgung vorzuschlagende Referenzmedien und -bereiche	137

Veröffentlichungen

35. Fortbildungsveranstaltung Labordiagnostik und Bestandsbetreuung,
Medizinische Tierklinik Leipzig, Leipzig 25.06.2010:

Heggemann, V.; Müller, A. E.; Staufenbiel, R.,
„Diagnostik der Spurenelementversorgung von Milchkühen“

8. Berlin-Brandenburgischer Rindertag, Berlin, 07. bis 09.10.2010:

Staufenbiel, R.; Heggemann, V.; Raven, J.; Müller, A. E.,
„Überblick zur Diagnostik der Spurenelementversorgung von Milchkühen“

9. Berlin-Brandenburgischer Rindertag, Berlin, 07. bis 09.10.2012:

Heggemann, V.; Raven, J.; Müller, A. E.; Staufenbiel, R.,
„Beurteilung der Versorgung von Milchkühen mit Cu, Se, Zn, Mn, Mo und Fe mit Hilfe von
Diagnoseplänen“

Poster

Poster, 8. Berlin-Brandenburgischer Rindertag, Berlin, 07. bis 09.10.2010:

Heggemann, V.; Müller, A. E.; Staufenbiel, R.,
„Untersuchungen zum Kupferversorgungsstatus von Milchkühen in 20 Milchviehherden“

Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Staufenbiel für die Überlassung des Themas und seiner jederzeit gewährten freundlichen Unterstützung.

Frau Dr. Müller möchte ich für ihren unermüdlichen Einsatz bei der Analyse der Spurenelemente meinen Dank aussprechen.

Den Mitarbeitern aus dem klinischen Labor der Klauentierklinik, insbesondere Frau Waberowski, möchte ich für die Unterstützung bei der Aufbereitung des Probenmaterials bedanken.

Den Milchviehbetrieben danke ich für die Teilnahme an dieser Untersuchung und Bereitstellung der Probanden.

Laura möchte ich für ihre tatkräftige Unterstützung bei der Probenentnahme danken.

Nicht zuletzt danke ich meinen Eltern und meiner Schwester Carolin für ihre Unterstützung, ihr Verständnis und ihre Geduld.

Selbständigkeitserklärung

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

Berlin, den 02.03.2013

Volker Heggemann