

Rinder aktuell: Bedeutung von Akute-Phase-Proteinen

Haptoglobin erhöht: Rückschluss auf Entzündung beim Rind

Jedem Milchkuhhalter ist bewusst, dass die größte Gefahr für eventuelle gesundheitliche Probleme einer Kuh in den ersten fünf bis zehn Laktationswochen besteht. Als hauptsächlicher Grund hierfür wird allgemein die negative Energiebilanz angesehen. Infolgedessen können einerseits, zumeist subklinisch, ketotische Stoffwechselleiden entstehen und andererseits auch die Abwehrkräfte eines Tieres eingeschränkt sein.

Gerade in jüngerer Zeit wird in der Literatur aber immer öfter von einer über dieses Maß hinausgehenden besonderen Situation im Tierkörper berichtet, nämlich von Entzündungsprozessen in der Leber. Diese wiederum werden vermutlich bei der Kuh in erster Linie durch Infektionsprozesse in anderen Geweben, zum Beispiel im Euter, durch die sehr hohe Stoffwechselleistung der Milchkuhe (verbunden mit oxidativem Stress), durch den Geburtsstress und ferner auch durch subakute Pansenazidosen ausgelöst beziehungsweise begünstigt.

Auch der zuletzt genannte Aspekt verdient eine besondere Beachtung, besonders dann, wenn Futterrationen mit sehr hohem Gehalt an leicht verdaulichen pansenverfügbaren Kohlenhydraten, wie Zucker und Stärke, aber nur mit moderaten bis niedrigen Rohfasergehalten und daher eher eingeschränkter Strukturwirkung gefüttert werden. Gerade in diesem Zusammenhang, also für das Entstehen einer eventuellen Pansenazidose, spielt die Futteraufnahme eine sehr entscheidende Rolle. Kühe haben nicht vordergründig einen Bedarf an bestimmten Rohfasergehalten in der Ration, sondern einen Bedarf an einer gewissen Rohfasermenge. Folglich können energiereiche, rohfasärmerer Rationen nur dann „funktionieren“, wenn die Tiere viel fressen. Aber genau darin liegt das Problem in der Früh-laktation. Daher haben die Kühe in diesen ersten Wochen nach der Kalbung neben einer Ketosegefahr auch ein nicht unerhebliches Risiko für eine Pansenübersäuerung.

Untersuchungen zeigen, dass bei einem niedrigen pH-Wert im Pansen die Integrität, also die Unver-

sehrtheit der Pansenschleimhaut gestört ist, sodass dann die durch Bakterien gebildeten Endotoxine über die Pfortader zur Leber gelangen und dort zur Entstehung eines Entzündungsprozesses beitragen können.

Ein darüber hinausgehendes Phänomen, welches vor allem in der Humanmedizin öfter beschrieben wird, ist das des „durchlässigen Darms“, im Englischen als „leaky gut“ beschrieben. Hieraus erge-

Entzündung in der Leber

Ein Entzündungsprozess in der Leber ist dadurch gekennzeichnet, dass sogenannte Akute-Phase-Proteine gebildet werden, während zeitgleich die Bildung anderer Proteine („Negativ-Akute-Phase-Proteine“) gehemmt wird. Zu Letzteren zählen zum Beispiel Enzyme des Fettstoffwechsels und Proteine, die für den Abtransport von Fetten

Verbrauch an Aminosäuren, zum Beispiel für die Synthese der oben erwähnten Akute-Phase-Proteine, verbunden und nicht zuletzt mit einer verminderten Futteraufnahme assoziiert.

Akute-Phase-Proteine

Entzündungsprozesse gehen mit Gewebeerkrankungen einher. Hierauf reagiert der Organismus mit



Eine der größten Herausforderungen im Fütterungsmanagement von Milchkuhen mit hohen Leistungen ist der Spagat zwischen einer höchstmöglichen Nährstoff- und Energiedichte der Ration und der Sicherstellung, dass sie den Ansprüchen des Wiederkäuens gerecht wird. Fotos: Prof. Katrin Mahlkow-Nerge

ben sich nahezu die gleichen Gefahren. In einem gesunden Darm werden die kleinsten Bausteine, in die die komplexen Nahrungsbestandteile zuvor zerlegt wurden, absorbiert und gelangen somit in die Blutbahn und in die Lymphflüssigkeit. Dem entgegen stellt aber die Darmschleimhaut gegenüber Pathogenen, wie Bakterien, Toxinen, Pilzen und so weiter, eine gewisse Schutzbarriere dar.

Alles das, was die Darmintegrität beeinträchtigt, allem voran Stress, kann zu diesem Leaky-Gut-Syndrom führen. Infolgedessen können Pathogene in die Blutbahn gelangen und massive Entzündungserscheinungen hervorrufen.

aus der Leber verantwortlich sind. Wird die Entstehung dieser Enzyme und Proteine beeinträchtigt, verringert das die Kapazität der Leber zur Fettsäureoxidation und eben zum Abtransport von Fetten aus der Leber. Letztlich wird damit die Leber als das Hauptstoffwechselorgan und größte Drüse im Organismus – man könnte auch sagen, die chemische Zentrale des Körpers – in ihren über 1.000 Funktionen gestört.

Zudem ist die Entstehung eines Entzündungsprozesses immer mit einem gesteigerten Energieverbrauch des Organismus, zum Beispiel für das Auslösen von Fieber, aber auch mit einem vermehrten

einem Abwehrmechanismus, und zwar mit einer Erhöhung einiger Serumproteine, die in der Leber synthetisiert werden (Conner et al. 1989, Heinrich et al. 1990).

Derartige Proteine, deren Konzentration sich im Blut als Reaktion auf zum Beispiel Entzündungen erhöht (Eckershall und Conner 1988, Pepys 1989, Eckershall und Corner 1990), werden Akute-Phase-Proteine genannt. Diese werden von der Leber über das Blut zu dem geschädigten Gewebe geschickt.

Diese Reaktion des Organismus erfolgt, um eine weitere Zerstörung des Gewebes zu verhindern, um infektiöse Erreger zu isolieren und sie zu zerstören und um die

normale Funktion des Gewebes beziehungsweise des Organs wiederherzustellen (Gruys und Landmann 1997, Gabay und Kushner 1999).

Solche Akute-Phase-Proteine werden in der Humanmedizin bereits vielfach zur Gesundheitsüberwachung und zur Diagnostik verwendet (Kushner et al., 1981, Ernst 1990) und erlangten in den letzten Jahren auch in der Tiermedizin zunehmend an Bedeutung.

Transportprotein Haptoglobin

Es sind über 30 Akute-Phase-Proteine bekannt, aber eines der diagnostisch bedeutsamsten ist nach Aussage zahlreicher Autoren das Transportprotein des Hämoglobins, das Haptoglobin, unter anderem weil dieses sehr massiv in den oben beschriebenen physiologischen Stresssituationen nachweisbar ist.

So erhöht sich seine Serumkonzentration um das 20- bis 1.000-Fache (Kushner et al. 1981). Diese Konzentrationserhöhung führt dazu, dass das Haptoglobin beim Rind auch zu den sogenannten positiven Akute-Phase-Proteinen gezählt wird.

Allerdings ist das Haptoglobin nicht sehr spezifisch, es reagiert eher unspezifisch. Das heißt, dass aufgrund einer Konzentrationserhöhung im Blut keine Rückschlüsse auf ein spezifisches Krankheitsbild gezogen werden kann (Gruys et al. 1994, Young et al. 1995).

Bestimmungsmethoden von Haptoglobin

Es werden in der Literatur verschiedene Methoden zur Bestimmung von Haptoglobin beschrieben, aber nach Richter (1974) können nur mit der Peroxidasemethode (= Gujakolmethode nach Owen, 1960) auch geringe Konzentrationen unter 10 mg/100 ml erfasst werden. Somit wurde diese Methode der Messung der Peroxidaseaktivität des Haptoglobin-Methämoglobin-Komplexes dann schließlich von Skinner et al. (1991) in die Praxis eingeführt.

Werte bei gesunden und kranken Kühen

Eine systematische Untersuchung von Pietzsch (2010) zur diagnostischen Bedeutung des Haptoglobins beim Rind bezog zum einen 16 gesunde, klinisch unauffällige Kühe ein, deren Puls, Atmung, Körper-



Mit der Bestimmung des Haptoglobingehaltes in der Milch ist eine Frühdiagnostik bezüglich systemischer Entzündungsreaktionen möglich.

temperatur und Pansenbewegungen als physiologisch beurteilt wurden. Diese Kühe wiesen einen mit weniger als 0,5 g/l (Medianwert, da die Konzentration nicht normalverteilt war) vernachlässigbar geringen Haptoglobinwert im Blut auf.

Im Vergleich zu diesen gesunden Kühen wurden auch Kühe mit einer Lungenentzündung, mit Magen-Darm-Erkrankungen, Euterentzündungen, Gebärmutter-schleimhautentzündungen, Tiere mit einer gravierenden Störung des Allgemeinbefindens, mit Gliedmaßenkrankungen oder mit einer Labmagenverlagerung in diese Vergleichsstudie einbezogen.

Dabei fanden sich die signifikant höchsten Haptoglobinwerte bei Kühen mit einer Lungenentzündung (3,46 g/l), gefolgt von denen mit einer Labmagenverlagerung (1,90 g/l – gemessen vor der Operation; 2,64 g/l – gemessen nach der Operation), einer Gebärmutter-schleimhautentzündung (1,04 g/l), einer Mastitis (0,9 g/l). Kühe mit Gliedmaßenkrankungen, Magen-Darm-Erkrankungen und mit starken Störungen des Allgemeinbefindens hatten einen Haptoglobinwert im Blut von 0,29 g/l, 0,23 g/l beziehungsweise 0,19 g/l.

Alle Haptoglobinkonzentrationen der unterschiedlich erkrankten Kühe waren demnach im Vergleich zu denen gesunder Kühe statistisch signifikant erhöht.

Gleiches zeigten auch Untersuchungen von Alsemgeest (1994), wonach die höchsten Anstiege der Haptoglobinkonzentration bei Kühen mit entzündlichen Prozessen und Verlagerungen des Labmagens zu verzeichnen waren.

Aber auch bezüglich des Zeitpunktes eines beginnenden An-

stiegs der Haptoglobinkonzentration gibt es interessante Untersuchungen, wie zum Beispiel die von Füll et al. (1998), nach der sich zum Beispiel bei einer Labmagenverlagerung das Haptoglobin bei einer Mehrzahl der Kühe bereits frühzeitig erhöhte. In einer früheren Studie von Panndorf et al. (1976) wurden Rinder mit einem Verdacht auf eine Fremdkörpererkrankung zum einen vor der Operation und zum anderen danach hinsichtlich ihres Haptoglobingehaltes im Blut untersucht. Zu beiden Entnahmezeitpunkten konnte eine nahezu gleichermaßen erhöhte Konzentration dieses Akute-Phase-Proteins festgestellt werden.

Wichtige Bedeutung für die Diagnostik

Es existieren mittlerweile zahlreiche wissenschaftliche Untersuchungen, die aufzeigen, dass das Haptoglobin – als das wichtigste Akute-Phase-Protein – Ansatzpunkte in der Diagnostik von verschiedenen Krankheiten des Rindes, aber eben auch in deren Frühdiagnostik bietet.

Bedingt dadurch, dass Haptoglobin zum einen direkt aus dem Blut nach dem Überwinden der Blut-Milch-Schranke im Zuge der Akute-Phase-Reaktion in die Milch gelangen kann, zum anderen durch Blutleukozyten (Thielen et al., 2004) in die Milch transportiert wird, ist ein entsprechender Haptoglobinnachweis auch in der Milch möglich.

Untersuchung in der Milch

Im Rahmen eines von der Bundesanstalt für Landwirtschaft und

Ernährung (BLE) geförderten Verbundprojektes wurde von Möllmer et al. (2012) ein On-Farm-Analyseverfahren im Versuchsbetrieb des LVG Köllitsch getestet. Hierbei ging es zum einen um die Praktikabilität des Gerätes eProCheck zur Haptoglobinbestimmung und um die Analysegenauigkeit zwischen wiederholten Messungen. Zum anderen wurden die Wiederholbarkeit zwischen Anfangsgemelk und Sammelgemelk getestet und die Sensitivität und Spezifität auf die Vorhersage von entzündlichen Reaktionen bei der Milchkuh überprüft.

Der Haptoglobingehalt in der Milch wird hierbei nach dem Prinzip eines Sandwich-Elisa-Tests, der speziell für den Haptoglobinnachweis in der Rohmilch auf diesem Gerät entwickelt wurde, bestimmt. Der Wertebereich liegt zwischen 0,0 und 20 µg Haptoglobin je Milliliter Rohmilch.

Dafür wurden im Abstand von ein bis zwei Wochen Vollmilchproben (Anfangs- und Sammelgemelk, stets aus der Morgenmelkzeit) von 73 HF-Kühen (1. bis 8. Laktation, 6. bis 316. Laktationstag) genommen. In den Sammelgemelkproben erfolgte am Tag der Untersuchung eine Laboranalyse des Fett-, Eiweiß-, Laktose- und Harnstoffgehaltes sowie der Zellzahl.

In die Auswertung wurden 968 Haptoglobinanalysen von 375 Anfangsgemelk- und 371 Sammelgemelkproben einbezogen.

Wich der Messwert zwischen einer Anfangsgemelk- und der Sammelgemelkprobe eines Tieres an einem Probenahmetag um mehr als 1,2 µg/ml (bei einem Wertebereich von 0 bis 5) ab, erfolgte nachträglich in diesen Milchproben nochmals eine Doppelbestimmung.

Bei 369 auswertbaren Wertepaaren wurden für das Anfangsgemelk ein Haptoglobingehalt von 0,5 µg/ml ermittelt und für das Sammelgemelk ein Wert von 0,4 µg/ml (jeweils Median) beziehungsweise ein Mittelwert mit einer Standardabweichung von 2,41 ± 3,51 beziehungsweise 2,18 ± 3,53 µg/ml berechnet.

Die Überprüfung der Analysegenauigkeit anhand der Doppelbestimmung von 144 ausgewählten Probenpaaren ergab mit 0,99 eine sehr hohe Wiederholbarkeit. Daraufhin wurde anhand von 274 Proben eine erste Schätzung der Sensitivität und Spezifität des Haptoglobingehaltes in der Milch zur Vorhersage entzündlicher Erkrankungen beim Milchrind vorgenommen.

Wie sicher ist die Methode?

Sensitivität und Spezifität sind statistische Merkmale. Die Sensitivität misst den Anteil der tatsächlich Positiven, die auch korrekt als solche erkannt werden, in diesem Fall den prozentualen Anteil derjenigen Kühe, die anhand der tierärztlichen Bestandsbetreuung als krank eingestuft wurden und nun ebenfalls anhand eines erhöhten Haptoglobinwertes als krank charakterisiert wurden. Im Gegensatz dazu misst die Spezifität den Anteil der tatsächlichen Negativen, die korrekt als solche identifiziert werden, also in diesem Zusammenhang den Anteil der gesunden Kühe, die auch mittels der Haptoglobinbestimmung korrekt als nicht krank erkannt wurden.

Für die Proben des Anfangsgemelks ergab sich eine Sensitivität von 0,67, da 64 der tatsächlich 95 kranken Kühe auch mittels eines erhöhten Haptoglobinwertes in der Milch als krank eingestuft wurden (Tabelle).

Versuch in einem Großbetrieb

Ein daran anschließender Versuch zur Haptoglobinbestimmung mit demselben Gerät eProCheck wurde in einer Milchkuhherde mit mehr als 1.300 Kühen, ebenfalls in Sachsen, durchgeführt (Bergfeld et al., 2013). Das Leistungsniveau betrug zum Zeitpunkt der Untersuchungen 9.500 kg je Kuh und Jahr.

Dazu wurden 100 Kühe dieser Herde, die sich zwischen dem 2.



Das lückenlose frühe Aufspüren von krankheitsanfälligen Tieren ist womöglich die Chance, um langfristige hohe Leistungen mit guter Tiergesundheit zu kombinieren.

Tabelle: Sensitivität und Spezifität für Proben des Anfangsgemelks und des Sammelgemelks (Einstufung der Tiere am Probetag anhand der Haptoglobinkonzentration in der Milch: gesund: Haptoglobingehalt < 1,2 µg/ml; krank: > 1,2 µg/ml; Abgleich mit den im Herdenmanagementprogramm „Herde“ eingetragenen Erkrankungen ± 3 Tage zum Probedatum) (Möllmer et al., 2012)

| | | Anzahl kranker Kühe | Anzahl gesunder Kühe |
|--|-------------|---|---|
| | | entsprechend den Informationen aus dem Herdenmanagementprogramm | |
| 275 Milchproben aus dem Anfangsgemelk | | n = 95 | n = 180 |
| Haptoglobinwert | > 1,2 µg/ml | richtig positiv: n = 64 (= 67 %) | falsch positiv: n = 29 (= 16 %) |
| | < 1,2 µg/ml | falsch negativ: n = 31 (= 33 %) | richtig negativ: n = 151 (= 84 %) |
| 274 Milchproben aus dem Sammelgemelk | | n = 94 | n = 180 |
| Haptoglobinwert | > 1,2 µg/ml | richtig positiv: n = 65 (= 69 %) | falsch positiv: n = 20 (= 11 %) |
| | < 1,2 µg/ml | falsch negativ: n = 29 (= 31 %) | richtig negativ: n = 160 (= 89 %) |

Von den 180 gesunden Kühen wurden mittels der Haptoglobinmessung in der Milch 151 Tiere als gesund eingestuft, was demnach einer Spezifität von 0,84 entsprach. In den Sammelgemelksproben waren die Werte dieser beiden statistischen Merkmale ganz geringfügig höher, aber letztlich in gleicher Größenordnung.

und 44. Laktationstag befanden, zwei- bis dreimal wöchentlich beprobt.

Auch hier zeigte sich, dass gesunde Kühe Haptoglobingehalte in der Milch in nicht nachweisbarer Größenordnung aufwiesen, bei Erkrankungen aber dieser Wert deutlich anstieg.

Neben den Erkrankungen hatte nur noch die Laktationswoche einen signifikanten Einfluss auf die Haptoglobinkonzentration, besonders während der ersten zwei Wochen nach der Kalbung.

In dieser Untersuchung wurden eine Sensitivität und Spezifität von mehr als 0,75 ermittelt. Hierbei zeigte sich ein sogenannter Schwellenwert von über 1,85 µg Haptoglobin pro Milliliter Milch, um von einer Entzündungsreaktion auszugehen.

Die Wissenschaftler kamen ebenfalls zu dem Schluss, dass der Haptoglobingehalt in der Milch als Frühindikator für systemische Entzündungsreaktionen des Körpers bis zu drei bis fünf Tage vor den ersten sichtbaren Symptomen verwendet werden kann, und das nicht nur bei einer Mastitis.

Auch Hinweis auf Pansenazidosen

Mit sinkendem Pansen-pH-Wert werden die Pansenwand und auch die Darmschleimhaut insgesamt durchlässiger, und dieses eben auch für die gerade bei azidotischen Zuständen in höherem Maße gebildeten Lipopolysaccharide (LPS). Derartige LPS sind Verbindungen aus fettähnlichen (Lipo-) und Zuckerkomponenten (Polysacchariden) und Hauptbestandteil der äußeren Zellwand von gram-negativen Bakterien. Sie werden insbesondere bei einem

Zerfall von Bakterien, wie zum Beispiel bei pansenazidotischen Zuständen, massiv freigesetzt. Es handelt sich dabei um Endotoxine, die wiederum nach Übertritt ins Blut systemische, also den gesamten Organismus betreffende Entzündungen verursachen und darüber hinaus in der Leber die Akute-Phase-Reaktion auslösen können. Infolgedessen kann also ein Haptoglobinanstieg auch ein Indiz für eventuelle pansenazidotische Zustände sein.

Funktionalität und Kosten der Untersuchung

Eine schnelle Bestimmung des Haptoglobingehaltes ist zum Beispiel mit dem eProCheck möglich. Der Arbeitsaufwand für die Durchführung einer Probe beträgt zirka 1 min, das Ergebnis liegt innerhalb einer knappen Stunde vor. Da dieses Gerät zur Bestimmung des Haptoglobingehaltes (in Kombination mit dem Progesterongehalt), eProCheck 800 2.0, mit dem ein bis sechs Tests in einem Messablauf bestimmt werden können, aber mehr als 4.000 € kostet und eins, mit dem zeitgleich bis 22 Tests durchgeführt werden, fast 5.500 €, dürfte dieses Gerät eher größeren Tierarztpraxen vorbehalten sein. Das zugehörige Haptoglobintestkit für die Milch (mit einer Packungsgröße von 96 Well-Microplatten) kostet dann nochmals fast 200 € (netto).

Würde, ohne die Anschaffung eines solchen Gerätes, nur eine Mikrotiterplatte für insgesamt 96 Proben (Well mit Deckel, die in 12 x 8 teilbar ist) gekauft werden, um diese dann im Labor mit dem Elisa-Test untersuchen zu lassen, belaufen sich die Kosten hierfür auf 2,40 € je Probe.

Darüber hinaus können einzelne Proben für die Bestimmung direkt ins Labor geschickt werden. Dann kostet die Haptoglobinmessung 6,50 € je Probe. Die Ergebnisse werden innerhalb von zwei bis drei Werktagen nach Probeneingang versandt.

Prof. Katrin Mahlkow-Nerge
 Fachhochschule Kiel,
 Fachbereich Agrarwirtschaft
 Tel.: 0 43 31-84 51 38
 katrin.mahlkow-nerge@fh-kiel.de

FAZIT

Gerade bei hohem und weiterhin zunehmendem Leistungspotenzial der Milchkuhe ist ein Schlüssel im Gesundheitsmanagement die engmaschige und vor allem systematische Überwachung der Tiere, um möglichst frühzeitig gesundheitliche Belastungssituationen zu erkennen.

Haptoglobin als das wichtigste Akute-Phase-Protein kann als unspezifischer Marker für Entzündungen und andere Erkrankungen dienen, gerade auch dann, wenn bisherige standardmäßig im Gesundheitsmonitoring erhobene Parameter, wie zum Beispiel der Ketonkörper β -Hydroxybuttersäure oder die nicht veresterten freien Fettsäuren (Nefa), versagen.

Dieses Identifizieren von Tieren, die bisher nicht erkannt wurden, weil sie eben phänotypisch keinerlei Symptome zeigen und damit unauffällig sind, kann ein weiterer Wegbereiter dafür sein, hohe Leistungen unserer Kühe dauerhaft mit guter Gesundheit zu kombinieren.