

# **Endbericht**

**über die**

**‘Untersuchungen zum Einfluß elektromagnetischer Felder von Mobilfunkanlagen auf Gesundheit, Leistung und Verhalten von Rindern’**

**Teil 1 – Klinisch-genetische, -hämatologische, -chemische und epidemiologische Untersuchungen**

**Teil 2 – Verhalten und Labortests**

Diese Studie wurde im Auftrag  
des Bayerischen Staatsministeriums für Landesentwicklung und Umweltfragen von der

Ingenieurgesellschaft für Geowissenschaften und Umwelttechnik München<sup>1</sup>,  
vom

Institut für Veterinärpathologie - Fachgebiet Veterinärmedizinische Genetik und  
Zytogenetik - der  
Justus-Liebig-Universität Gießen<sup>2</sup>

und dem  
Institut für Tierhygiene, Verhaltenskunde und Tierschutz der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München<sup>3</sup>  
erstellt

**Autoren:**

**<sup>1</sup>Dr. Matthias Wuschek**

**<sup>2</sup> Dr. Klaus Volmer, Dr. Werner Hecht, Prof. Dr. Alexander Herzog**

**<sup>3</sup> Dr. Christoph Wenzel, Dr. Anna-Caroline Wöhr, Martina Klempt,  
Prof. Dr. Jürgen Unshelm**

# Inhaltsverzeichnis

<b>I.</b>	<b>Aufgabenstellung .....</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>Dokumentation und wissenschaftliche Auswertung .....</b>	<b>3</b>
	<b>der verwendeten Literatur</b>	
1.	<b>Definition elektromagnetische Felder.....</b>	<b>3</b>
2.	<b>Elektromagnetische Strahlung und ihre Wirkung auf den Organismus ....</b>	<b>4</b>
2.1	Biologische Wirkungen nieder- und hochfrequenter frequenter Strahlung .....	5
2.2	Nieder- und hochfrequente Strahlungswirkung auf das genetische Material....	8
2.3	Wirkungsmechanismen hochfrequenter Strahlung .....	9
3.	<b>Klinisch-genetische Parameter .....</b>	<b>13</b>
3.1	Mikronuklei.....	13
3.1.1	Mikronukleusbildung .....	15
3.1.2	Strahlung und Mikronukleusbildung .....	16
3.1.3	Spezies-, Rassen- und geschlechtsspezifische Einflüsse auf die Mikronukleusinduktion .....	17
3.1.4	Bedeutung der Mikronuklei für den Organismus .....	18
3.1.4	Normalfrequenzen der Mikronuklei im Knochenmark und peripheren Blut.....	18
3.2	Schwesterchromatidaustausche (SCE).....	19
3.3	Metaphasenkinetik (MPK) .....	22
4.	<b>Mißbildungen beim Rind.....</b>	<b>24</b>
5.	<b>BVD (Bovine Virusdiarrhoe) als studienrelevante Infektionskrankheit ....</b>	<b>29</b>
6.	<b>Stallhygiene .....</b>	<b>34</b>
6.1	Luftkeime.....	34
6.2	Wasser .....	35
7.	<b>Verhalten .....</b>	<b>36</b>

<b>8.</b>	<b>Melatonin.....</b>	<b>39</b>
8.1	Biochemie .....	39
8.2	Hormonelle Regulation und Metabolisierung.....	39
8.3	Melatonin beim Rind.....	40
8.4	Wirkung elektromagnetischer Strahlung.....	41
<b>9.</b>	<b>Cortisol.....</b>	<b>46</b>
9.1	Biochemie .....	46
9.2	Hormonelle Regulation und Metabolisierung.....	46
9.3	Cortisol beim Rind .....	47
9.4	Cortisol als Stressparameter .....	47
9.5	ACTH-Stimulationstest .....	48
9.6	Cortisol im Speichel.....	48
<b>III.</b>	<b>Planung und Ablauf der Arbeiten .....</b>	<b>49</b>
	<b>Auswahl der Betriebe.....</b>	<b>49</b>
1.	<b>Arbeitsgruppe Gießen.....</b>	<b>49</b>
2.	<b>Arbeitsgruppe München .....</b>	<b>51</b>
<b>IV.</b>	<b>Angewandte wissenschaftliche und technische Methoden.....</b>	<b>54</b>
1.	<b>Arbeitsgruppe Gießen.....</b>	<b>54</b>
1.1	Betriebsspiegel.....	54
1.2	Probanden.....	54
1.3	Klinische Untersuchungen vor Ort.....	56
1.4	Laboruntersuchungen .....	57
1.4.1	Klinisch-chemische Untersuchungen .....	57
1.4.2	Klinisch-hämatologische Untersuchungen.....	57
1.4.3	Untersuchungen an Chromosomen, Schwesterchromatidaustausche .....	59
1.4.4	Metaphasenkinetik .....	60
1.4.5	Mikronuklei in Erythrozyten .....	61
1.4.6	Serologische Untersuchungen .....	61
1.4.7	Molekularbiologische Untersuchungen mittels Polymerasekettenreaktion .....	61
1.4.8	Statistik.....	62

<b>2.</b>	<b>Arbeitsgruppe München .....</b>	<b>63</b>
2.1	Betriebe allgemein, Stallklima, Stallbau .....	63
2.2	Stallhygiene.....	67
2.2.1	Luftkeime.....	67
2.3	Wasserproben.....	70
2.4	Verhalten.....	72
2.4.1	Stallbeobachtung.....	72
2.4.2	Weidebeobachtung .....	73
2.4.3	Statistik.....	76
2.5.	Melatonin.....	76
2.5.1	Melatoninbestimmung im Speichel.....	76
2.6.	ACTH-Stimulationstest und Cortisolbestimmung.....	79
2.6.1	ACTH-Stimulationstest.....	79
2.6.2	Cortisolbestimmung.....	80
<b>V.</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>82</b>
<b>1.</b>	<b>Betriebsdaten nach Fragebogen.....</b>	<b>82</b>
1.1	Allgemeine Betriebsdaten .....	82
1.2	Milchleistung und Eutergesundheit.....	84
1.3	Reproduktionsgeschehen.....	85
1.4	Krankheiten der Milchkühe.....	86
1.4.1	Puerperalerkrankungen.....	86
1.4.2	Haltungsbedingte Erkrankungen und Haltungsmängel .....	87
1.4.3	Innere Krankheiten der Milchkühe.....	87
1.4.4	Kälberkrankheiten .....	88

<b>2.</b>	<b>Vor Ort erhobene Betriebsdaten .....</b>	<b>91</b>
2.1	Betriebe allgemein.....	91
2.2	Daten aus der Milchleistungsprüfung .....	91
2.3	Stallhygiene.....	94
2.3.1	Stallklima.....	94
2.3.2	Luftkeime.....	94
2.3.3	Wasserproben .....	104
2.3.4	Stallbau .....	107
2.3.5	Technopathien.....	107
2.3.6	Bewertung der Betriebe.....	108
2.3.7	Ergebnis der Bewertung .....	115
<b>3.</b>	<b>Verhalten .....</b>	<b>115</b>
3.1	Stallbeobachtung.....	115
3.2	Weidebeobachtung .....	122
3.3	Zusammenfassende Diskussion.....	131
<b>4.</b>	<b>Melatonin .....</b>	<b>132</b>
4.1	Ergebnisse .....	132
4.2	Diskussion.....	138
<b>5.</b>	<b>Cortisol.....</b>	<b>140</b>
<b>6.</b>	<b>Zytogenetische Untersuchungen.....</b>	<b>142</b>
6.1	Mikronukleifrequenz, Mikronuklei (MN).....	142
6.2	Schwesterchromatidaustausche (SCE).....	144
6.3	Metaphasenkinetik (MPK).....	148
<b>7.</b>	<b>Klinische und immunologische Parameter .....</b>	<b>151</b>
<b>8.</b>	<b>Infektion mit dem Virus der BVD, BVD-Problematik.....</b>	<b>162</b>
<b>9.</b>	<b>Mißbildungen, Aborte und sonstige Krankheitsbefunde .....</b>	<b>165</b>
9.1	Mißbildungen.....	165
9.2	Aborte.....	168
9.3	Sonstiges Krankheitsgeschehen .....	170
9.4	Betriebsevaluation aus tiermedizinischer Sicht .....	171

<b>VI.</b>	<b>Kurzfassung des Gesamtberichtes .....</b>	<b>174</b>
1.	<b>Einleitung.....</b>	<b>174</b>
2.	<b>Untersuchungen und Ergebnisse der drei Arbeitsgruppen .....</b>	<b>174</b>
2.1	Messtechnische Ermittlung der Feldexposition .....	174
2.1.1	Einführung.....	174
2.1.2	Immissionsklassifizierung mit Untergruppen .....	176
2.1.2.1	Unterteilung der Betriebe in vier Gruppen .....	176
2.1.2.2	Unterteilung der Betriebe in zwei Gruppen.....	178
2.1.3	Zusammenfassung der messtechnischen Ermittlungen der Feldexposition ...	179
2.2	Klinisch-genetische, hämatologische, chemische und epidemiologische Untersuchungen .....	179
2.2.1	Datenbasis und Untersuchungsziel .....	179
2.2.2.	Untersuchungsergebnisse mit weiteren Untergruppen.....	181
2.2.2.1	Charakterisierung der Untersuchungsbetriebe .....	181
2.2.2.2	Bovine Virusdiarrhoe / Mucosal Disease (BVD/MD) als studienrelevante Infektionskrankheit .....	182
2.2.2.3	Missbildungen .....	182
2.2.2.4	Klinisch-genetische Parameter.....	183
2.2.2.5	Klinisch-Hämatologische Parameter .....	185
2.2.3	Zusammenfassung und Schlussfolgerungen des Abschnittes 2.2 .....	185
2.3	Verhalten und Labortests .....	185
2.3.1	Datenbasis und Untersuchungsziel.....	185
2.3.2	Untersuchungsergebnisse.....	186
2.3.2.1	Verhalten .....	186
2.3.2.2	ACTH-Stimulationstest.....	188
2.3.2.3	Melatonin.....	188
2.3.3	Zusammenfassung und Schlussfolgerungen des Abschnittes 2.3 .....	190

<b>VII. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>191</b>
<b>1. Literaturverzeichnis Giessener Arbeitsgruppe.....</b>	<b>191</b>
<b>2. Literaturverzeichnis Münchener Arbeitsgruppe.....</b>	<b>202</b>
2.1 Literatur Hygiene.....	202
2.2 Literatur Verhalten.....	203
2.3 Literatur Melatonin .....	206
2.4 Literatur Cortisol.....	209
<b>VII. Danksagung .....</b>	<b>211</b>

## I. Aufgabenstellung

Epidemiologische Studien zum Einfluss elektromagnetischer Felder sowohl auf die Gesundheit des Menschen als auch des Tieres deuten auf ein gehäuftes Auftreten von Gesundheitsstörungen hin. Insbesondere wird sowohl von Landwirten als auch in der Presse vermehrt von Tumorerkrankungen, Fehlgeburten, Missbildungen, Fruchtbarkeitsproblemen, Aufzuchtverlusten, Verhaltensänderungen sowie Leistungsminderung bei in der Nähe von Mobilfunkanlagen lebenden Tieren berichtet. Somit ergab sich die Fragestellung und Zielsetzung der Studie durch die in den vergangenen Jahren zunehmende Installation von Mobilfunkanlagen an vielen exponierten Stellen der an der Studie auf freiwilliger Basis beteiligten Betriebe und zeitgleich auftretender Erkrankungen, Aborte, Mißbildungen und Leistungsrückgänge bei Rindern.

Zur Feststellung des möglichen Einflusses der von diesen Anlagen ausgehenden hochfrequenten Strahlung auf Stoffwechsel-, Leistungs-, klinische und genotoxische Parameter bei Rindern wurde daher am 21.08.1998 das Fachgebiet Veterinärmedizinische Genetik und Zytogenetik der Justus-Liebig-Universität Gießen und das Institut für Tierhygiene, Verhaltenskunde und Tierschutz der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München vom Bayerischen Ministerium für Landesentwicklung und Umweltfragen mit der Studie 'Untersuchungen zum Einfluß elektromagnetischer Strahlung von Mobilfunkanlagen auf Gesundheit, Leistung und Verhalten von Rindern' beauftragt. Insgesamt wurden auf 38 (30)\* landwirtschaftlichen Betrieben im Großraum Hessen und Bayern epidemiologische, zuchthygienische, klinische, verhaltenskundliche und genetische Untersuchungen durchgeführt. Entsprechend der Messungen von Wuschek (1999 und 2000) wurden die Betriebe in exponierte Gruppen und Kontrollgruppen eingeteilt.

Im Einzelnen hat sich die Arbeitsgruppe I (Gießen) mit folgender Problematik befasst:

Allgemeine Erhebungen zu den beteiligten landwirtschaftlichen Betrieben und Erfassung des Gesundheitszustandes sowohl der Herde als auch einzelner Tiere, klinisch-chemische und klinisch-hämatologische Untersuchungen, Untersuchungen an Chromosomen (Schwesterchromatidaustausch), Bestimmung der Metaphasenkinetik, Mikronukleitest sowie serologische und mikrobiologische Diagnostik.

---

\* Münchner Arbeitsgruppe

Die Arbeitsgruppe II (München) hat im Rahmen des Projektes folgende Untersuchungen durchgeführt: Allgemeine Erhebungen zu den beteiligten landwirtschaftlichen Betrieben und Erfassung der Daten aus den Milchleistungsprüfungen. Des Weiteren die Untersuchung der Stallhygiene und die Beurteilung des Stallbaues zur Erfassung des Einflusses auf Leistung, Gesundheit und Verhalten der Rinder. Zur Aufgabenstellung zählten weiterhin Verhaltensbeobachtungen sowohl im Stall als auch auf der Weide sowie die Untersuchung biochemischer Regelkreise. Davon wurden im Einzelnen die Melatoninrhythmik und die Belastung der Rinder mittels des ACTH-Stimulationstest überprüft.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen werden in dem hier vorliegenden Endbericht vorgestellt. Dabei ist hervorzuheben, dass es sich bei der vorliegenden Studie um eine Feldstudie im eigentlichen Sinne handelt. Epidemiologische Feldstudien dieser Art bedürfen eines mehrstufigen Aufbaus der Untersuchung. Die erste deskriptive Phase der Untersuchungen bestand aus Vorerhebungen in den Betrieben einschließlich der Beschreibung und Quantifizierung von Ereignissen, der Bildung von Hypothesen und dadurch Vorbereitung der eigentlichen analytisch-epidemiologischen Phase mit der Durchführung von klinischen Studien. Diese Phase endete mit der Darstellung und statistischen Auswertung der Untersuchungsergebnisse.

Feldstudien dieses Aufbaus haben mit zahlreichen Störgrößen (Confounding effects) zu rechnen. Der entscheidende Vorteil ist, dass in Feldstudien diese deutlich zu erkennen und statistisch zu bewerten sind. Ohne diese Kenntnisse sind experimentelle Folgeuntersuchungen unter dann kontrollierten Versuchsbedingungen nicht denkbar.

Zu betonen ist, dass es nicht Aufgabe der Studie ist und sein kann, die Kausalität eines pathogenen Einflusses von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern von Basisstationen des Mobilfunks auf die untersuchten Parameter zu erstellen. Dies muss einer experimentellen Studie mit standardisierten Ausgangsbedingungen, insbesondere unter Berücksichtigung der in der vorliegenden Studie erarbeiteten Störgrößen, vorbehalten bleiben.

## II. Dokumentation und wissenschaftliche Auswertung der verwendeten Literatur

### 1. Definition elektromagnetischer Felder

Elektromagnetische Felder bauen sich um jeden Wechselstrom auf. Man unterscheidet elektrische und magnetische Felder. Das elektrische Feld einer Ladung ist der Raum, in dem die von der Ladung ausgehenden Coulombschen Kräfte wirksam sind. Die elektrischen Feldlinien veranschaulichen den Feldverlauf, indem diese stets von der positiven zur negativen Ladung verlaufen. Ein magnetisches Feld baut sich um bewegte Ladungen auf, die Richtung der Kräfte wird durch Feldlinien beschrieben. Die Richtung der Feldlinien ist so definiert worden, dass sie außerhalb eines Magneten vom Nord- zum Südpol verlaufen, während bei einem durch einen Strom erzeugten Magnetfeld die magnetischen Feldlinien geschlossene Feldlinien darstellen und in sich zurücklaufen (HARMS, 1989).

Die Intensität des elektrischen Feldes ist abhängig von der Höhe der anliegenden Spannung, wird aber von anderen Faktoren (Leiteranordnungen u. a.) beeinflusst und sinkt sehr schnell mit der Entfernung und wird in Volt pro Meter (V/m) angegeben. Die Stärke des magnetischen Feldes steigt mit der Stromstärke, sie wird meist in Tesla (T) ausgedrückt. Auch in der Möglichkeit der Abschirmung besteht ein Unterschied: das elektrische Feld lässt sich durch Abschirmung weitestgehend eliminieren, während das Magnetfeld sich nicht abschirmen lässt (HELLENTHAL, 1979).

Im Rahmen dieses Projektes beschränken sich die Untersuchungen auf elektromagnetische Felder, die durch Sendetürme von Mobilfunkanlagen hervorgerufen werden. Elektromagnetische Wellen sind Funkwellen, die von einer Sendeantenne abgestrahlt werden. Dabei stehen die elektrischen und magnetischen Feldlinien im Fernfeld senkrecht aufeinander und senkrecht auf der Ausbreitungsrichtung (HARMS, 1989). Das elektromagnetische Spektrum, das vom Mobilfunk genutzt wird, liegt etwa zwischen 30 MHz bis 6 GHz. Die elektromagnetische Feldstärke nimmt mit der Entfernung schnell ab (STAATSMINISTERIUM, 1998).

Nach ELSCHENBROICH (1996) zeichnen sich Magnetfelder dadurch aus, dass sie sowohl den menschlichen als auch den tierischen Körper sowie die meisten Materialien ungehindert durchdringen können. Im Körperinneren erzeugen dann Magnetfelder mit wachsender Frequenz zunehmende Wirbelströme. Niederfrequente elektrische Wechselfelder entstehen durch Wechselspannung zwischen zwei Leitern, der Strom spielt dabei keine Rolle (z.B. Kondensatoren). Niederfrequente Felder sind leicht abschirmbar und dringen nicht in den menschlichen und tierischen Körper ein. Hochfrequente elektromagnetische Felder erzeugen im menschlichen und tierischen Körper Wirbelströme, welche das elektrisch leitfähige Körpergewebe erwärmen und haben somit einen thermischen Effekt (s. u.).

## **Grenzwerte für den Hochfrequenzbereich**

Derzeit gelten für den Hochfrequenzbereich die Grenzwerte der 26. Verordnung zum Bundesimmissionsschutzgesetz, die seit 1. Januar 1997 in Kraft ist. Es ist hervorzuheben, dass bei der Grenzwertfestsetzung ausschließlich Wirkungen von Hochfrequenzstrahlung, welche auf thermischen Effekten beruhen, berücksichtigt werden (7).

Die Wirkungsschwelle für thermische Schäden beträgt 4 W/kg. Nach Berücksichtigung eines Sicherheitsfaktors beträgt der Basisgrenzwert für die berufliche Exposition 0,4 W/kg (WHO). Der Basisgrenzwert für die Öffentlichkeit beträgt 0,08 W/kg (IRPA 1984, WHO aus KATALYSE e.V., 1997). Da die Basisgrenzwerte (SAR-Werte) biophysikalische Reaktionen im Körper beschreiben und daher nur schwer messbar und berechenbar sind, werden abgeleitete Grenzwerte verwendet. Für das elektrische Feld werden die abgeleiteten Grenzwerte in V/m angegeben, für das Magnetfeld in A/m. Ausserdem ist auch eine Umrechnung in Leistungsflussdichten in W/m<sup>2</sup> möglich. Der Grenzwert betrifft also die elektrische und magnetische Feldstärke. Hieraus resultiert eine frequenzabhängige Umrechnung der SAR-Werte in Leistungsflussdichten.

Daraus ergeben sich für den Mobilfunkbereich Grenzwerte der Leistungsflussdichten in einem Bereich von 0,2 bis 1 mW/cm<sup>2</sup>. Vom Bundesamt für Strahlenschutz (BfS) werden im (Informationsheft „Strahlung und Strahlenschutz“ von 1999 folgende typische Sicherheitsabstände angegeben: C-Netz mit 450 Hz (23 Kanäle mit je 8 Watt) 5,70 m und D-Netz mit 900 MHz (8 Kanäle mit je 15 Watt) 3,30 m. Es ist jedoch darauf hinzuweisen, dass insbesondere nichtthermische Wirkungen wiederholt bei gepulster und amplitudenmodulierter Strahlung, wie sie im D-Netz verwendet wird, gefunden wurden. Bei diesen sind weniger die Leistungsflussspitzenwerte sondern vielmehr die Puls- und Modulationsfrequenz von Bedeutung.

Es ist zu bemerken, dass neben den Ganzkörper-SAR-Werten, auch Teilkörper-SAR-Werte festgelegt sind, die insbesondere Körperteile mit einer schlechten Thermoregulation (z.B. Auge) schützen sollen. Die absorbierte Strahlungsenergie pro 10 g Körpergewebe darf eine berufliche Exposition von 10 W/kg nicht überschreiten. Für die Öffentlichkeit beträgt der Wert 2 W/kg (KATALYSE e.V., 1997).

## **2. Elektromagnetische Strahlung und ihre Wirkung auf den Organismus**

In zunehmendem Maße sind die Auswirkungen von Strahlungen jeglicher Art auf den Organismus Gegenstand verschiedener Studien. Dabei werden nicht nur die Wirkungen von Röntgen- und direkt ionisierender Strahlung untersucht, sondern auch die Auswirkungen nieder- und hochfrequenter

Strahlung. Man spricht von niederfrequenter Strahlung im Bereich von 0 Hz bis 30 kHz, von hochfrequenter Strahlung im Bereich von 30 kHz (Radiowellen) bis 300 GHz (Mikrowellenbereich).

Von besonderem Interesse sind die Frequenzbereiche, denen Mensch und Tier im alltäglichen Leben ausgesetzt sind. Verschiedene Studien beschäftigten sich z.B. mit der Frage, inwieweit eine Strahlenbelastung mit dem Auftreten von Krebs in Verbindung gebracht werden kann. Von 50/60-Hz-magnetischen Feldern sind krebspromovierende und copromovierende Wirkungen in verschiedenen Tumormodellen, insbesondere Brustkrebsmodellen bekannt. Bei chronischer (lebenslanger) Belastung scheinen promovierende Effekte bei der Entwicklung gewisser „spontaner“ Tumoren möglich zu sein (LÖSCHER UND MEVISSEN, 1994). Auch sind Auswirkungen auf den Ca-Haushalt und die Melatoninsynthese bekannt (LÖSCHER UND MEVISSEN 1994; KATALYSE e.V., 1997). MEVISSEN (1995) und BENIASHVILI et al. (1991) berichten von einer krebspromovierenden oder auch copromovierenden Wirkung niederfrequenter Strahlung bei Tieren, welche zuvor mit Karzinogenen behandelt wurden. Es kommt neben einem beschleunigten Wachstum auch zu einem vermehrten Auftreten von Tumoren . Laut BRIX (1995) können Elektromagnetische Felder (EMF) zur Verkürzung der Latenzzeit führen.

Zudem wird in verschiedenen Untersuchungen ein Zusammenhang zwischen elektromagnetischer Strahlung verschiedenster Frequenzen und Flussdichten und dem Auftreten von Kinderleukämien festgestellt (BLANK 1995). Eine in den USA durchgeführte Untersuchung fand Parallelen zwischen dem Auftreten von caninen Lymphomen und Kinderleukämien (REIF et al., 1995). Epidemiologische Studien zeigen, dass Frauen die nieder- oder hochfrequenten elektromagnetischen Feldern (EMF) ausgesetzt sind, eine erhöhte Brustkrebsrate aufweisen. In Norwegen wurden bei Telegraphistinnen, die Radiowellen im Bereich 405 kHz bis 25 MHz ausgesetzt waren, eine um 50 % erhöhte Brustkrebsrate festgestellt. Besonders betroffen waren Frauen über 50 Jahre (KATALYSE e.V., 1996).

## **2.1 Biologische Wirkungen niederfrequenter und hochfrequenter Strahlung**

Niederfrequente Strahlung beeinflusst den Hormon- und Immunhaushalt des Organismus. Es konnte nachgewiesen werden, dass diese die Ausschüttung von Melatonin bzw. seine Synthese aus der Vorstufe Serotonin und den dazu benötigten Enzymen beeinflussen. Menschliche periphere Lymphozyten werden durch magnetische Wechselfelder im (T- und mT-Bereich) beeinflusst. Durch Disregulationen des Immunsystems steigt das Risiko von Autoimmunerkrankungen und Virusinfektionen sowie das Risiko einer viralen Kanzerogenese. In Tierversuchen wurde eine Beeinflussung der Leukozyten festgestellt. Es kam zu einem Abfall der Lymphozyten und einem Anstieg der Granulozyten durch elektrische Felder im Bereich von 1-100 kV/m. Des Weiteren konnte eine Veränderung der

natürlichen Aktivität von Killerzellen festgestellt werden. Eine verminderte Widerstandsfähigkeit und Aktivität von Leukozyten durch elektrische Felder konnte durch eine experimentelle Infektion von Meerschweinchen und Mäusen mit Mikroorganismen nachgewiesen werden. Elektromagnetische Felder können auch als psychische Stressfaktoren fungieren und somit das Immunsystem nachteilig beeinflussen (KATALYSE e.V., 1997).

Als erwiesen gilt weiterhin der Einfluss elektromagnetischer Felder auf den Kalziumstoffwechsel. Dessen Störung wird als mögliche Ursache für Veränderung der Immunabwehr, des Melatoninspiegels sowie der Krebspromotion angesehen. So konnte ein signifikant veränderter Kalziumausstrom aus Zellen bei Frequenzen um 50 Hz und 250 Hz beobachtet werden. Zudem scheint die Kalziumbindung an die Zellmembran beeinflusst zu werden. BLACKMAN (1990) beobachtete einen erhöhten Kalziumausstrom aus isolierten Hirnzellen, Hirnhälften von Küken und lebenden Katzenhirnen bei schwachen elektrischen Feldern und einer 16 Hz-Frequenz. Eine veränderte Aufnahme von Kalziumionen in Lymphozyten wurde von LIBURDY nachgewiesen (aus KATALYSE e.V., 1997). Zudem kommt es durch elektromagnetische Felder zu Veränderungen an der Zellmembran und somit zu Störungen der Signalübertragung, der Ionenbindung sowie der Zellkommunikation. Hieraus können Beeinträchtigungen des Hormonhaushaltes sowie ein beschleunigtes Zellwachstum resultieren.

In K 562-Tumorzellen konnten nach erfolgter Strahlenexposition (50 Hz) weder bei einem elektrischen Feld (0,2-20kV/m) noch einem magnetischen Feld (0,002-2G) oder einem kombinierten elektromagnetischen Feld in einem Zeitraum von bis zu 24 Stunden DNS-Läsionen festgestellt werden. Daher werden 50 Hz-elektrische, -magnetische oder -elektromagnetische Felder als nicht geno- und zytotoxisch in kultivierten Säugerzellen angesehen (FIORANI et al., 1992). Auch bei einer Langzeitexposition weiblicher Ratten in einem 50 Hz (30mT) magnetischen Feld konnte weder bei einer Bestrahlung von 7 Tagen noch bei 28 Tagen ein Einfluss in Form einer Erhöhung der Schwesterchromatid-Austausch (SCE)-Frequenz oder eine Zellproliferation der Lymphozyten nachgewiesen werden (ZWINGELBERG et al., 1993). Im Gegensatz hierzu werden bei einem gepulsten elektromagnetischen 50 Hz-Feld eine signifikante Suppression der mitotischen Aktivität und ein Anstieg chromosomaler Aberrationen nach einer kontinuierlichen Bestrahlung von 72 Stunden festgestellt. Nach drei Tagen wird auch ein Anstieg der SCE-Rate beobachtet (KHALIL UND QASSEM, 1991).

Die möglichen Auswirkungen elektrischer, magnetischer oder elektromagnetischer Felder (EMF) sind bereits häufig bei Tier und Mensch untersucht worden. So wurden in Schweden, in den USA und

Kanada verschiedene Versuche mit Rindern durchgeführt, die dem Einfluss von Hochspannungsleitungen ausgesetzt waren.

In Kanada wurden laktierende, tragende Kühe einem experimentellen EMF ausgesetzt. Das erzeugte EMF wies die gleichen Bedingungen auf, wie ein Feld unter einer 735 kV Hochspannung. Die Exposition erfolgte alle zwei Wochen im Wechsel. Es wurden Untersuchungen zu Futterraufnahme, Cortisol, Progesteron (P4), pH-Wert, Blutgase und Milchleistung sowie –zusammensetzung durchgeführt. Hierbei wurde ein Anstieg des Trockensubstanzaufnahme (DMI: kg/Tag), des Milchlattes und des Plasma-P4 während der Exposition festgestellt. Der korrigierte Fettgehalt (FCM) stieg von 4,06 % auf 4,43 %, der DMI um 5,5 % sowie der P4-Gehalt im Plasma von 5,6 ng/ml auf 6,2 ng/ml. Der Anstieg des Fettgehaltes während der Exposition korrespondiert mit dem Anstieg des DMI. Hypothetisch kann der DMI-Anstieg mit dem Abfall der Melatoninsekretion in Verbindung gebracht werden. Durch den Abfall des Melatoningehaltes wäre ein Prolaktinanstieg im Plasma denkbar, der wiederum einen DMI-Anstieg zur Folge hätte. Dieser Effekt wäre somit analog zu einer längeren Dauer des Lichttages. Der P4-Anstieg im Plasma trächtiger Kühe wird auch mit einer Senkung des Melatoningehaltes in Verbindung gebracht (BURCHARD et al., 1996).

ALGERS und HENNICH (1985) untersuchten in einer landesweiten Studie in Schweden die Fertilität von Kühen, die 15 Tage und mehr im Jahr unter 400 kV Hochspannungsleitungen grasten und künstlich besamt wurden. Aus einer früheren Untersuchung (ALGERS et al., 1981) waren zwei Betriebe im unmittelbaren Einflussgebiet einer Hochspannungsleitung bekannt, die über Fertilitätsstörungen klagten. Die Tiere dieser Bestände wurden während der Weideperiode nicht tragend. Erst nach Beendigung der Weideperiode wurden die Kühe im Stall trächtig. ALGERS und HENNICH (1985) konnten jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen exponierten Tieren und Kontrolltieren hinsichtlich ihrer Fruchtbarkeit feststellen. In einer anderen Studie, die an Tieren von Fleischrinderrassen durchgeführt wurden, konnten ebenfalls keine Einflüsse von Hochspannungsleitungen bezüglich der Konzeptionsrate, der Kalbung, der Wachstumsrate oder der Sterberate festgestellt werden (ANGELL et al., 1990). Auch AMSTUTZ und MILLER (1980) fanden bei einer zweijährigen Studie keinen negativen Einfluss durch Hochspannungsleitungen bei der Milch-, Mastleistung und der Fertilität. Verhaltensstörungen oder eine erhöhte Totgeburtenrate wurden nicht beobachtet.

Ein erhöhtes Fehlgeburtenrisiko hingegen wurde bei Physiotherapeutinnen festgestellt, die aus beruflichen Gründen einer Strahlung im Mikrowellenbereich ausgesetzt sind. Hiervon sind besonders

Frauen betroffen, die einer erhöhten Dosis 6 Monate vor der Schwangerschaft und während des ersten Drittels der Schwangerschaft ausgesetzt waren (QUELLETT-HELLSTROM UND STEWART, 1995).

Eine Zunahme psychovegetativer Beschwerden, v.a. in Form von Schlafbeschwerden durch hochfrequente Strahlung (Bsp.: Kurzwellensender Schwarzenburg, Schweiz) ist allgemein bekannt (KATALYSE e.V., 1996). Bei der experimentellen Erforschung der Beeinflussung des Schlafes durch HF-Strahlung wurde einerseits eine um 15 % verlängerte Schlafperiode im Bereich von 42,7 Hz und 27,12 MHz beobachtet, wohingegen eine schlafunterdrückende Wirkung bei Frequenzen und Intensitäten des Mobilfunkbereiches festgestellt wurden.

## **2.2 Nieder- und hochfrequente Strahlungswirkung auf das genetische Material**

NORDENSON et al. (1984) stellten bei in-vivo- und in-vitro-Untersuchungen eine signifikante Erhöhung (um das 5-fache) von Chromosomen- und Chromatidbrüchen bei Arbeitern fest, welche einem 400 kV EMF ausgesetzt waren. Sie fanden jedoch keine Chromosomenschäden bei humanen Lymphozyten, die einem 50 Hz-Feld ausgesetzt waren. NORDSTRÖM weist zudem auf eine erhöhte Missbildungsrate bei Kindern hin, deren Väter in 400 kV Rangierbahnhöfen arbeiten. Des weiteren scheinen letztere auch häufiger Fertilitätsprobleme aufzuweisen. Zudem verweisen die Autoren auf einen Bericht von SIKOV et al. (1983), der teratologische Effekte bei Miniaturschweinen nachgewiesen hat, nachdem die Sauen elektrischen Langzeitfeldern ausgesetzt waren.

Hingegen konnten BAUCHINGER et al. (1981) bei einer durchgeführten Langzeitexposition durch ein 380 kV-System und den daraus resultierenden elektrischen und magnetischen Feldern keine Chromosomenschädigungen z.B. in Form eines Anstieges von SCE's in humanen Lymphozyten nachweisen. LAI UND SINGH (1995) stellten eine Zunahme von DNS-Einzelstrang-Brüchen im Rattengehirn nach einer kontinuierlichen oder einer mit 500 Hz gepulsten Hochfrequenzstrahlung von 2,45 GHz fest. Laut LAI und SINGH fanden auch SARKAR et al. (1994) charakteristische Veränderungen der DNS im Gehirn und im Hoden von Mäusen, welche 120-200 Tage lang täglich für zwei Stunden einer 2,45 GHz-Strahlung ausgesetzt waren. Nach Ansicht von LAI UND SINGH (1995) sind aber keine definitiven Schlussfolgerungen aus den Beobachtungen zu ziehen: „Möglicherweise könne eine Zunahme von Einzelstrang-DNS-Brüchen die Reparaturmechanismen stimulieren und damit letztlich einen günstigen Effekt ausüben. Andererseits könnten Schäden an der DNS bei Fehlern der Reparaturmechanismen zur Initiierung von Krebs führen“. Die Autoren vermuten, dass HF-Strahlung nicht zu direkten DNS-Schäden führt, sondern das mutagene Wirkungen durch die Beeinträchtigung der natürlichen Reparaturmechanismen zustande kommen. So können elektrische und magnetische Felder

die Transkription stimulieren. Magnetische Felder benötigen nur 1/1000 der Energie, welche ein elektrisches Feld benötigt um eine Transkription zu induzieren (BLANK, 1995).

### **2.3 Wirkungsmechanismen hochfrequenter Strahlung**

Die hochfrequente Strahlung zeichnet sich durch thermische und nichtthermische Wirkungsmechanismen auf den Organismus aus.

#### *Thermische Wirkungen*

Die thermische Wirkung, die eine lokale Erwärmung des Körpers darstellt, beruht auf der Umwandlung von Strahlungsenergie in Bewegungsenergie. Diese wird durch hochfrequente Strahlung, welche im Körper hochfrequente Ströme induziert, von Orientierungsbewegungen von molekularen Dipolen sowie Rotationsbewegungen von Molekülen erzeugt. Die Aufnahme der Strahlungsenergie durch den Körper ist stark frequenzabhängig. Die Energieabsorption erreicht ein Maximum, wenn die Wellenlänge der Strahlung in der gleichen Größenordnung liegt wie die Körperabmessungen. Abhängig ist dieser Resonanzbereich von der Körpergröße und der Erdung des Körpers. Er liegt beim Menschen zwischen 50 und 200 MHz. Die Eindringtiefe der Strahlung weist eine starke Frequenzabhängigkeit auf, d.h. mit steigender Frequenz dringt die Strahlung immer weniger tief in den Körper ein. Der Wassergehalt des Gewebes spielt zudem eine wichtige Rolle. Mit steigendem Wassergehalt verringert sich die Eindringtiefe der Strahlung. Dies bedeutet, dass Knochen und Fettgewebe aufgrund ihres geringeren Wassergehaltes stärker durchdrungen werden als Muskelgewebe. Besonders gefährdet sind aufgrund einer geringeren Durchblutung Organe wie Hoden und Augen. So kann eine Mikrowellenbestrahlung der Hoden zur Sterilität führen, die jedoch im allgemeinen reversibel ist. An den Augen kann es zu Konjunktivitis, Iriditis, Veränderungen der Retina und zum Katarakt kommen, sofern sie einer hochfrequenten Strahlung ausgesetzt werden.

Laut STRAHLENSCHUTZKOMMISSION (SSK 1992 aus KATALYSE e.V., 1997) kann eine durch Strahlung verursachte Temperaturerhöhung von über 1°C bei Muttertieren zur Zunahme von Missbildungen und Keimletalität führen. Des weiteren können Veränderungen der Zellproliferation, der DNS-Synthese sowie Chromosomenveränderungen und mitotische Störungen durch HF-Strahlung auftreten. Hohe Feldstärken, wie z.B. eine gepulste Mikrowellenstrahlung mit einer Leistungsflussdichte von 18-22 mW/cm<sup>2</sup> führen zu Flucht- und Vermeidungsverhalten (BEEL, 1983 aus KATALYSE e.V., 1997). Unterschiedlichste Schädigungen können durch HF-Strahlen hervorgerufen werden. So kann es zu Schädigungen des Immun- und des Nervensystems, der Blutbestandteile, der Drüsenfunktion, des Stoffwechsels und zu Änderungen der Zellpermeabilität kommen. Die Art und Weise der Schädigung hängt auch von der Leistungsflussdichte ab. Bei irreversiblen Schädigungen, z.B. am Auge, sind relativ

hohe Werte erforderlich. Beim Einsatz leistungsstarker Mobiltelefone können sehr hohe Leistungsflussdichten auftreten, die zudem den „Hot-Spot-Effekt“ verstärken und zu irreversiblen Augenschädigungen führen können. Bei höheren Leistungsflussdichten werden embryonale Missbildungen, Katarakte, Zellwachstumsstörungen, innere Verbrennungen oder sogar Todesfälle durch Herzinfarkt beobachtet. Hingegen werden bei sehr hohen Leistungsflussdichten ( $> 50 \text{ mW/cm}^2$ ) nur unspezifische Symptome wie Kopfschmerzen, Übelkeit, Erbrechen, Angst, Müdigkeit usw. diagnostiziert (KATALYSE e.V., 1997).

### *Nichtthermische Wirkungen*

Nichtthermische Effekte treten bei Leistungsflussdichten unterhalb der thermischen Schwelle auf. Diese Effekte spielen sich auf Zellebene ab. Insbesondere handelt es sich dabei meistens um Permeabilitätsänderungen der Zellmembran. Inwieweit sie jedoch zu Schädigungen führen können, ist noch nicht geklärt, da der Organismus über Regelmechanismen verfügt, die diesen Effekten entgegenwirken können. Laut KATALYSE e.V., treten diese Effekte in der Regel nur bei modulierter Strahlung auf und zeigen ausgeprägte Frequenz- und Amplitudenfenster (z.B. D-Netz; einige Systeme mit 100 Hz oder 217 Hz gepulst).

Nichtthermische Effekte treten schon bei Strahlungsintensitäten weit unter der thermischen Schwelle und weit unter den Basisgrenzwerten (SAR-Werte unter  $0,01 \text{ W/kg}$ ) auf. Modulierte HF-Frequenzen beeinflussen das Gehirn insbesondere dann, wenn die Modulationsfrequenzen im Bereich der Gehirnwellenfrequenzen liegen. So stellte ADEY fest, daß bei einer 147 MHz-Strahlung und Modulationen zwischen 6 und 20 Hz Hühnerhirne einen um 20 % veränderten Kalziumausfluss zeigten. Je nach Leistungsflussdichte wurde eine signifikante Steigerung oder Senkung des Kalziumausstroms festgestellt. KATALYSE e.V., (1997) weist auf eine Untersuchung durch von KLITZING hin, der Probanden mit einer niederfrequent gepulsten HF-Strahlung, wie sie auch im D-Netz verwendet wird, im Kopfbereich bestrahlt hat. Der Autor fand eine reproduzierbare, starke Beeinflussung des EEG's der Testpersonen und, dass nur in bestimmten Energiebereichen eine Reaktion stattfindet (sog. Energiefenster).

Die Wissenschaft ist insbesondere an der Klärung der Frage interessiert, ob durch HF-Strahlung eine Krebsinitiation und -promotion erfolgen kann. Hierbei rückt v.a. die Vermutung, daß HF-Strahlung des nichtthermischen Bereiches Krebs verursachen kann, in den Vordergrund. Einige Berichte weisen auf diese Tatsache hin, so z.B. eine epidemiologische Studie von SZMGIELSKI (1988) an Beschäftigten im Militärdienst in Polen, die an Krebs gestorben sind und teilweise einer Strahlung im Bereich von 0,3 bis

300 MHz sowie 300MHz bis 300GHz ausgesetzt waren. Die Untersuchung zeigte, dass das Risiko einer klinisch beobachteten Krebserkrankung bei Menschen, welche gelegentlich einer HF-Strahlung ausgesetzt waren, ungefähr um das Dreifache erhöht war. Eine Korrelation der Krebssterblichkeitsrate und der Expositionsdauer wurde festgestellt. Zudem traten Krebsgeschwüre bei gelegentlich Exponierten ca. 10 Jahre früher auf. Rattenversuche zeigen eine erhöhte Tumorbildungsrate bei gepulster Mikrowellenstrahlung (2,45GHz) (KATALYSE e.V., 1997).

KÜHNE vermutet mutagene Effekte durch Leistungsflussdichten im nichtthermischen Bereich. EDWARDS (1983) und SWICORD UND DAVIS (1982) stellten eine Absorption der Strahlung durch die DNS fest, LIBOFF UND HOMER eine Steigerung der DNS-Synthese.

Als mögliche Wirkungsmechanismen stellten ADEY UND BYUS eine Beeinträchtigung des Immunsystems fest. Auch zeigte sich eine Aktivitätssenkung von Proteinkinasen menschlicher Lymphozyten. Des Weiteren konnte ADEY eine Steigerung der ODC (Ornithindecaboxylase), welche essentiell für die DNS-Synthese und das Zellwachstum ist, nachweisen. Dieses gilt als Anzeichen eines gesteigerten Krebswachstums. Zudem wurden in den Reifungsprozessen von Knochenmarkszellen abnorme Tag-Nacht-Rhythmen festgestellt, die das Immunsystem beeinflussen. Die Modulation biochemischer Prozesse kann fördernd bei der Krebsausbreitung wirken, z. B. über die Verstärkung der Wirkung krebspromovierender Phorbolster an der Zellmembran durch schwache Mikrowellen, wodurch eine Stimulierung der ODC erfolgt.

Die Wirkungsschwellen der Beeinflussung des Immunsystems in Form einer Stimulierung oder Hemmung werden von SZMIGIELSKI (aus KATALYSE e.V., 1997) wie folgt angegeben:

- ▶ Veränderung der Lymphozyten- und Granulozytenzahl in Zellversuchen ab  $1\text{mW/cm}^2$
- ▶ veränderte Antikörperlevel und Makrophagenaktivität in Tierversuchen zwischen  $1$  und  $5\text{mW/cm}^2$
- ▶ in Langzeitversuchen (ab 1-3 Mo) genügen schon  $0,5\text{mW/cm}^2$ , um Effekte beim Antikörperlevel und Granulozyten auszulösen

Es erfolgt eine zweiphasige Reaktion des Immunsystems auf HF-Strahlung. So kommt es nach einmaliger oder einer mehrtägigen Exposition zur Stimulation des hormonellen Immunsystems. Eine reversible Hemmung des Immunsystems erfolgt allmählich nach längerer Strahlenbelastung über Monate oder bei Steigerung der Strahlungsintensität. FREY stellte fest, dass Neuropeptide beeinflusst werden, welche wiederum neuroendokrine Effekte und Verhaltensänderungen verursachen. Letztendlich wird laut FREY das psychoimmunoendokrine Netzwerk, das einen engen Zusammenhang zwischen Verhalten, Zentralnervensystem, Immunsystem und neuroendokrinen Strukturen darstellt, als von HF-Strahlung beeinflussbar dargestellt.

Als Wirkungen nichtthermischer Effekte werden des weiteren Kopfschmerzen, Reizbarkeit, Ermüdungserscheinungen und Augenreizungen, meist bei besonders exponierten Berufsgruppen, festgestellt sowie bei chronischen Belastungen von Mensch und Tier eine Senkung des arteriellen Blutdruckes (KATALYSE e.V., 1997).

Eine signifikant erhöhte Missbildungsrate von Küken sowie eine gesteigerte embryonale Sterblichkeit wurde von VARGA (1989) bei bestrahlten Eiern festgestellt. Hier wird eine keimschädigende Wirkung auch beim Menschen bei Strahlungsdichten von über 1,5 mW/cm<sup>2</sup> angenommen und daher ein Grenzwert von 0,15 mW/cm<sup>2</sup> empfohlen. Letztendlich scheint eine Beeinträchtigung oder Schädigung des Organismus durch nichtthermische Effekte der HF-Strahlung zu erfolgen. Jedoch treten viele dieser Effekte nur in bestimmten Bereichen auf, so dass weitere Untersuchungen erforderlich sind.

### 3. Klinisch-genetische Parameter

#### 3.1 Mikronuklei

Mikronuklei (MN) entstehen infolge der Einwirkung klastogener Agenzien auf die Zelle während der Mitose oder durch Interferenz des Spindelapparates (ALMASSY et al., 1987; ICPEMC 1988). Es sind kleine Partikel, welche aus azentrischen Chromosomenfragmenten und/oder ganzen Chromosomen bestehen, die in der Anaphase der Zellteilung zurückbleiben. Nach der Telophase können diese Fragmente nicht mehr in die Kerne der Tochterzellen eingebaut werden und formen einzelne oder multiple Mikronuklei im Zytoplasma der Zelle (SCHMID 1975; ALMASSY et al., 1987; ICPEMC 1988). Nach HALL und WELLS (1988) können Mikronuklei auch durch komplexe chromosomale Umgruppierungen entstehen, die aufgrund ihrer Größe auf mechanische Schwierigkeiten während der Anaphase stoßen (WALKER, BOREHAM et al., 1996).

Nach der Anfärbung werden Mikronuklei als kleine Körperchen von rundlicher Gestalt in immaturren Erythrozyten neben dem Hauptkern sichtbar. Laut SCHMID (1975) und YAMAMOTO et al. (1980) treten auch halbmondförmige Mikronuklei auf (aus HART, HARTLEY-ASP 1983). In den matten Erythrozyten befinden sich Mikronuklei in der Peripherie der Zelle. Eine Mikronukleus-Bildung kann durch chemische oder physikalische Schädigungen erfolgen und in jeglichem Gewebe, dessen Zellen teilungsfähig sind, induziert werden. Folglich können Mikronuklei auch während der Meiose entstehen.

In der Hämatologie werden Mikronuklei auch als Howell-Jolly-Körperchen bezeichnet (SCHMID 1975; KNUUTILA 1979; ALMASSY et al., 1987). Als Charakteristikum werden sie bei der megaloblastischen Anämie gefunden (KNUUTILA 1979).

Mikronuklei sind ein Indiz für Chromosomenbrüche und Chromosomenaberrationen (ICPEMC 1988). Ein Anstieg der Mikronukleus-Frequenz ist ein Indikator für morphologische, d.h. klastogene oder numerische Chromosomenanomalien (HEDDLE et al., 1983; GANDIN, 1973, MITELMAN, 1983, BARRETT et al., 1981, PEDERSEN-BJERGAARD et al., 1983; aus ORMISTON et al., 1989).

Die durchschnittliche Größe eines Mikronukleus beträgt 1/20 bis 1/5 eines Erythrozyten (SCHMID, 1975). Beim Menschen weisen Mikronuklei eine durchschnittliche Größe von 1 µm in Erythrozyten auf. Mikronuklei, die größer als 1,5 µm sind, werden selten angetroffen (SÖDERSTRÖM und BERG, 1970). In menschlichen Fibroblasten können sie eine Größe von bis zu 3 µm erreichen (ROCHE LEXIKON MEDIZIN, 1991). Ihre Größe wird durch den Gehalt an DNS bestimmt. Dieser kann mit Hilfe der Durchflusszytometrie festgestellt werden, hierbei werden mit speziellen Methoden, wie beispielsweise der "Fluoreszenz-in-situ-Hybridisation" (FISH) der Centromergehalt in den Mikronuklei dargestellt. Hieraus ergibt sich die Möglichkeit der Klassifizierung der Mikronuklei in große und kleine Mikronuklei

bzw. eine Einteilung der Mikronuklei anhand ihres Gehaltes an ganzen Chromosomen oder Chromosomenfragmenten. Somit sind Rückschlüsse auf Induktionsmechanismen und deren auslösende Faktoren, z.B. Spindelgifte oder Karzinogene, möglich (YAMAMOTO und KIKUCHI 1980; GRAWÉ, 1993).

Im allgemeinen ist der DNS-Gehalt von Mikronukleus-enthaltenden polychromatischen Erythrozyten (MNPCE's) des peripheren Blutes geringer als der von MNPCE's im Knochenmark. Dies trifft vor allem für die durch Spindelgifte hervorgerufenen großen Mikronuklei zu. GRAWÉ (1993) vermutet die Existenz eines Eliminationsprozesses, welcher diese am Eintritt in den peripheren Kreislauf hindert. Hierdurch würde der unterschiedliche DNS-Gehalt von MNPCE's im Knochenmark und im peripheren Blut erklärbar.

Versuche an Mäusen zeigten, dass durch Röntgenstrahlung in Knochenmarkszellen induzierte Mikronuklei kleiner sind, als solche, die in Knochenmarksausstrichen unbestrahlter Tiere gefunden wurden. Mäuse, die einer Röntgenstrahlung ausgesetzt wurden, wiesen größere MN im peripheren Blut auf. Möglicherweise ist hierfür eine Übersättigung des vorgenannten Vorgangs verantwortlich (GRAWÉ, 1993).

Mit Hilfe der Immunfluoreszenz-Mikroskopie konnte festgestellt werden, dass der Bau eines durch Strahlung induzierten Mikronukleus dem Bau des Zellkerns entspricht (WALKER et al., 1996).

Des weiteren handelt es sich nach WILLINGALE-THEUNE (1996) bei den nuklearen Bausteinen um strukturelle Elemente der nuklearen Matrix im Kern, welche die innere Peripherie des Kerns umrunden. WALKER et al. (1996) konnten diese Bausteine in allen, außer einem Mikronukleus, als diffus gefärbte, überall im Kern vorhandene und auf diesen beschränkt bleibende Struktur nachweisen.

Mikronuklei können mehr als nur ein Chromosom oder ein Chromosomenfragment enthalten (THOMSON und PERRY, 1988). Die Herkunft der eingebauten Chromosomen bzw. der Chromosomenfragmente ist daher von besonderem Interesse.

WALKER et al. (1996) untersuchten in humanen Fibroblasten neben der Ultrastruktur der Mikronuklei auch deren Chromosomengehalt. Es wurde mit Hilfe der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisation (FISH) erforscht, inwieweit die im Mikronukleus befindliche DNS von den Chromosomen 2, 7, 11 und 16 stammt. Die Autoren untersuchten, ob aberrante Chromosomen der menschlichen DNS in Mikronuklei in einer Frequenz proportional zur Chromosomengröße gefunden werden. Sie postulierten, dass DNS-Aberrationen willkürlich erfolgen und in Relation zur Genomgröße stehen. Dabei stellten WALKER et al. (1996) fest, dass die kleineren Chromosomen 11 und 16 in einer von ihnen erwarteten Frequenz

auftreten. Während die größeren Chromosomen 2 und 7 wider Erwarten vermehrt in MN eingebaut werden. Eine unterschiedliche Anfälligkeit bzw. Sensibilität der Chromosomen für die MN-Bildung ist hierfür verantwortlich.

### **3.1.1 Mikronukleusbildung**

Die Mikronukleusbildung ist sehr stark von der Zellproliferation abhängig. Mikronuklei erscheinen frühestens am Ende der ersten mitotischen Teilung. Zusätzlich können auch in späteren Mitosen Mikronuklei geformt werden und sich im Zytoplasma für eine gewisse Zeit anhäufen (ALMASSY et al., 1987).

Die Mechanismen, die zur strahleninduzierten Mikronukleusbildung führen, sind noch nicht vollständig bekannt. Gewisse Rückschlüsse auf die einwirkenden Mechanismen können anhand der Mikronukleus-Größe, des Vorhandenseins eines Centromers und des DNS-Gehaltes gezogen werden.

Die mikronukleare DNS kann sowohl aus einem als auch mehreren Chromosomen stammen. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit eines allgemeinen Signals zur Zusammenfügung des Kernes und seiner assoziierten Ultrastrukturen.

Möglicherweise wird dieses Signal durch eine oder mehrere DNS-Sequenzen induziert. Neben einer bereits erwähnten größeren Sensibilität einiger Chromosomen für die Mikronukleus-Bildung durch ionisierende Strahlen ziehen WALKER et al. (1996) die Möglichkeit in Betracht, dass es sich bei der allgemein notwendigen Sequenz zur Initiierung der Mikronukleus-Bildung um telomerische DNS handelt, denn Telomere sind mit der Kernhülle verbunden (de LANGE, 1992; RAWLINS et al., 1991; WALKER et al., 1991; aus WALKER et al. 1996).

Blutungen, Splenektomie (CORAZZA et al., 1990) sowie Hämolyse, die durch Chemikalien (z.B. Phenhydrazin) oder durch Blutparasiten wie Babesien induziert werden, führen zum Anstieg von Mikronuklei im Knochenmark (KM) und Blut (ORMISTON et al., 1989).

Im Gegensatz zum Menschen kann ein konstanter Mikronukleus-Gehalt im KM und Blut von Mäusen nachgewiesen werden. Für diese Konstanzhaltung scheint ein spezieller Mechanismus verantwortlich zu sein. SIMPSON und KLING (1967) konnten an Erythroblasten anämischer Hunde nachweisen, dass dieser Mechanismus wahrscheinlich während der Nuklearexpulsion aktiv wird. Unter dieser Voraussetzung würde eine Stimulation der Erythropoese und die nachfolgende Erhöhung der Erythroblastendenuklearion, die vermutlich eine erhöhte Fehlerrate bei der Kernexpulsion zur Folge hat, zu einem gesteigerten Spiegel Mikronukleus enthaltender Erythrozyten in den hämatopoetischen Organen sowie im Blut führen (aus STEINHEIDER et al., 1985).

Die Stimulation des hämatopoetischen Systems durch Blutverlust (Entnahme von 0,5 ml aus dem Orbitalsinus der Maus) und chemisch induzierter Hämolyse führen zu einem ausgeprägten synchronen Anstieg MN-enhaltender Normozyten und Retikulozyten (MNRET). Die Kinetik der Mikronukleus-Bildung bei splenektomierten und normalen Mäusen ist gleich. Der anfängliche Anstieg der Mikronukleus-Frequenz bei splenektomierten Mäusen fällt auf das ursprüngliche Niveau zurück. Ein Einfluß auf die MN-Formation durch Milzschädigungen wird diskutiert. Bei splenektomierten Mäusen erfolgt ein signifikanter Anstieg an MN, der seinen Höhepunkt am 2.Tag post operationem aufweist. Am 8. Tag nach der Operation ist die MN-Frequenz wieder auf Basalniveau zurückgefallen. Splenektomierte und normale Mäuse weisen nach Verabreichung von Cyclophosphamid einen signifikanten Anstieg der MN-Frequenz auf, welche bei beiden Versuchsgruppen am 2.Tag den Höhepunkt erreicht. Hingegen benötigt die Entnahme MN-enhaltender Erythrozyten bei splenektomierten Tieren fast die doppelte Zeit (7 Tage, normale Tiere 4 Tage) nach der Applikation (STEINHEIDER et al., 1985).

Die Maus verfügt über einen weniger effizienten Reinigungsmechanismus für MN-enhaltende Erythrozyten als der Mensch. Das Erythropoesesystem ist jedoch aktiver, denn auch die Milz wirkt erythropoetisch. Folglich ist eine höhere Erythroblastendenukleation bei der Maus normal (aus STEINHEIDER et al., 1985).

Neben einer speziesspezifischen Fehlerrate kann auch eine speziesspezifisch unterschiedliche Reinigungskapazität für die unterschiedlichen Basalniveaus der MN verantwortlich sein (aus STEINHEIDER et al., 1985).

### **3.1.2 Strahlung und Mikronukleusbildung**

Bei verschiedenen Untersuchungen an Mäusen mit Anwendung von niedrigen Dosen einer  $\gamma$ -Strahlung und Röntgenstrahlung wurde festgestellt, dass es durch eine Bestrahlung im Zeitraum der letzten Erythroblastenteilung, zu einer erhöhten Mikronuklei-Bildung kommt (GRAWÉ, 1993). Eine Strahlungs-dosis von 3 mGy einer  $\gamma$ -Strahlung ist hierzu schon ausreichend. Die vermehrt stattfindende Mikronukleus-Bildung stellt sich sowohl in Form einer signifikant erhöhten Frequenz MN-enhaltender polychromatischer Erythrozyten (MNPCE) als auch MN-enhaltender normochromatischer Erythrozyten (MNNCE) dar.

Die letzte Mitose dauert laut COLE et al. (1979, 1981) ungefähr zehn Stunden und findet zirka zehn Stunden vor der Kernexpulsion statt. HART und HARTLEY-ASP (1983) konnten jedoch nachweisen, dass diese letzte Mitose fünf Stunden vor der Kernausschleusung stattfindet (Abb. 2.3).Schädigungen durch niedrige Dosen ionisierender Strahlung in frühen Stadien der Erythroblastenreifung manifestieren sich

nicht als Mikronuklei. Nur Strahlenschäden während der letzten Erythroblastenteilung beeinflussen die Mikronukleus-Frequenz in MNPCE's (GRAWÉ et al., 1993).

In verschiedenen Versuchen wurde eine Dosisabhängigkeit des Auftretens von MN festgestellt, die jedoch nicht immer bestätigt werden konnte. Des weiteren kann auch mit gleich hohen Dosen einer Substanz bei verschiedenen Mäusestämmen eine unterschiedlich hohe MN-Frequenz hervorgerufen werden. So fällt die MN-Induktion nach einmaliger Gabe einer Substanz (2,7-Diaminophenazin) bei BDF1-Mäusen stärker aus als bei CD1-Mäusen (WATANABE et al., 1993). Zudem kommt es bei oben erwähnter Substanz bei BDF1-Mäusen zu einem verspäteten Effekt, d.h. der MN-Peak erfolgt zwischen 48-72 Stunden. Die Substanz wirkt bei diesen Tieren zudem toxischer. Eine Dosis von 400 mg wirkt bei einigen Mäusen letal. Bei der wiederholten Gabe dieser Substanz wird ein sog. "repeat effect" (CSGMT 1990) bei CD1 Mäusen beobachtet, der sich durch eine höhere Frequenz der MN enthaltenden Retikulozyten (RET's) auszeichnet, als dies bei erstmaliger Gabe der Fall war. Ein sog. "split-effect" (CSGMT, 1990) wird bei zweimaliger Applikation der halben Dosis beobachtet. Dieser ist durch eine stärkere MNRET's Induktion als bei einmaliger Applikation der vollen Dosis gekennzeichnet (aus WATANABE et al., 1993).

### **3.1.3 Spezies-, Rassen- und geschlechtsspezifische Einflüsse auf die Mikronukleusinduktion**

Die o.g. Befunde zeigen, dass auch innerhalb einer Spezies eine unterschiedliche Sensitivität für eine MN-Induktion zwischen Rassen bzw. Stämmen besteht (CSGMT, 1988; ARMSTRONG und GALLOWAY 1993; ABRAMSSON-ZETTERBERG et al., 1997). Dieses muss bei der Auswertung von Ergebnissen, soweit dies möglich ist, berücksichtigt werden (ABRAMSSON-ZETTERBERG et al., 1997). Unterschiedliche Sensitivitäten einzelner Spezies wie Ratten, Mäuse und Hamster spielen eine große Rolle. Ratten reagieren sensitiver als Mäuse auf eine Aflatoxin-1 Behandlung. Sie weisen eine dosisabhängige Zunahme an Chromosomenaberrationen und Mikronuklei aus, die zehnmal höher liegt als bei der Maus. Mäuse sind sehr resistent gegenüber Aflatoxin-1 (ANWAR et al., 1994). Hamster reagieren nicht auf eine Aflatoxin-B1 Gabe (FRIEDMAN und STAUB, 1977).

Zudem gibt es eine individuelle Varianz bei der MN-Induktion innerhalb einer Spezies, die besonders bei Wildnagern sehr groß ist. Dies sollte bei der Durchführung von Feldversuchen durch eine große Anzahl Probanden kompensiert werden (ABRAMSSON-ZETTERBERG et al., 1997). Zu bedenken ist weiterhin, dass nicht jede Art zur Durchführung eines MN-Testes geeignet ist, wie die Untersuchung von ABRAMSSON-ZETTERBERG et al. (1997) an Wildnagern zeigt.

Des weiteren sind Geschlechtsunterschiede bei der Wirkung einiger Substanzen bekannt (CSGMT, 1986, 1988; ARMSTRONG und GALLOWAY 1993).

### **3.1.4 Bedeutung der Mikronuklei für den Organismus**

Die Bildung von Mikronuklei bedeutet den Verlust genetischer Information, der je nach Ausprägung sogar zum Zelltod führen kann.

Die Mikronukleusstruktur gleicht, wie bereits erwähnt, der des Hauptkernes und deshalb vermuten WALKER et al. (1996) eine funktionelle Gleichheit, welche zelluläre Prozesse wie die Genexpression betreffen kann. Laut THOMSON und PERRY (1988) können Mikronuklei DNS replizieren. Somit wäre der scheinbare Verlust der genetischen Information durch MN-Bildung nicht unbedingt nachteilig bzw. schädigend. Es besteht aber auch die Möglichkeit, dass MN ihre DNS verlieren (BRENNER et al., 1980) oder laut MÜLLER und STREFFER (1986) auch vollständig während des Zellzyklus verloren gehen (aus THOMSON und PERRY, 1988). Da Mikronuklei mehr als nur ein Chromosom oder ein Fragment dessen enthalten können, kann der Verlust an genetischem Material unterschiedlich groß ausfallen und somit verschiedenste Konsequenzen für die Zelle bzw. den gesamten Organismus haben.

### **3.1.5 Normalfrequenzen der Mikronuklei im Knochenmark und peripheren Blut**

Im allgemeinen sind genetische Alterationen seltene Ereignisse. So treten Punktmutationen nur  $10^{(-7)}$  -  $10^{(-8)}$  mal pro Zelle auf. Chromosomenaberrationen oder Mikronuklei findet man in vivo nur in  $10^{(-3)}$  Fällen (GRAWÉ, 1993).

Auftreten beim Rind

Die Mikronukleifrequenz beträgt nach BALODE (1996) 0,1 MN / 1000 Erythrozyten. ZUNIGA et al. (1996) geben hingegen eine Frequenz von 0,24 MN / 1000 Erythrozyten an.

Auftreten bei anderen Säugetieren

ZUNIGA et al. (1996) haben die spontane Mikronukleifrequenz bei 35 Säugetierarten untersucht. Einige Tierarten sind in Tabelle II.3.1 aufgeführt.

**Tabelle II.3.1:** Mikronuklei-Frequenzen bei Säugern (nach ZUNIGA, 1996)

<b>Spezies</b>	<b>X ± S /10<sup>4</sup> Erys</b>
<b>Primaten</b>	
Kapuzineraffe	25,0 ± 0,0
Rhesusaffe	2,6 ± 1,1
Gorilla	0,09 ± 0,1
Orang-Utan	0,5 ± 0,0
Klammeraffe	0,6 ± 0,4
<b>Ungulaten</b>	
Rind	2,4 ± 1,7
Schwein	6,9 ± 4,0
Ziege	0,8 ± 0,7
Schaf	0,8 ± 0,7
Weißwedelhirsch	2,3 ± 1,5
Pferd	1,4 ± 0,9
Pony	2,0 ± 0,0
Esel	1,7 ± 1,7
Maultier	1,7 ± 0,3
Zebra	1,2 ± 0,9
<b>Carnivoren</b>	
Hauskatze	8,4 ± 2,5
Siamkatze	11,0 ± 0,9
Hund	1,9 ± 1,1
Beagle	1,0 ± 1,1
<b>Rodentia</b>	
Maus	21,4 ± 6,5
Ratte	2,2 ± 0,7
Hamster	6,3 ± 1,0
<b>Lagomorpha</b>	
Wildkaninchen	1,4 ± 1,3

### 3.2 Schwesterchromatidaustausche (SCE)

1988 definierte der AIHC ( American Industrial Health Council) als Merkmal für Genotoxizität konkrete DNA-Beschädigung und als Ziel von Genotoxizitätstests, Agentien zu identifizieren, die auf das genetische Material von Zellen nachteilig einwirken. Die am häufigsten eingesetzten Tests sind Untersuchungen von Chromosomenaberrationen (CA) oder Schwesterchromatidaustauschen (SCE). In Bezug auf Zielzellen und genetische Schäden sind beide Tests unspezifisch. Im Detail sind SCE Austausch von Schwesterchromatidsegmenten in einem Chromosom, wahrscheinlich am gleichen Locus.

Erstmals wurde der Vorgang des Austausches von Schwesterchromatiden bei mitotischen Teilungen von TAYLOR (1957) beschrieben. Er ließ Zellen von *Vicia faba* und *Bellevalia romana* eine Zellteilung in Mineralsalzlösung mit H<sup>3</sup>-Thymidin durchlaufen, anschließend eine Teilung mit nicht markiertem Nucleotid. Auf diese Weise fand er nach zwei Zellteilungen jeweils eine markierte und eine unmarkierte Chromatide. Taylor beobachtete nun, dass die Markierung zwischen den Chromatiden wechseln konnte und benannte das Phänomen "Schwesterchromatidaustausch" (SCE).

Den Kenntnisstand der ausgehenden fünfziger Jahre bereicherte TAYLOR mit folgenden Feststellungen:

- ▶ SCE können spontan entstehen.
- ▶ Jede Chromatide besteht aus einer DNA-Doppelhelix.
- ▶ Die Wiedervereinigung von Untereinheiten der Chromatiden geschieht nicht zufällig, sondern ist streng an die Stellen mit gleicher Polarität gebunden.
- ▶ SCE ziehen einen Doppelstrang-Austausch nach sich.

Der genaue molekulare Mechanismus der Formierung von SCE ist nicht bekannt, aber es wird angenommen, dass SCE während der Replikationsphase durch einen Wechsel zwischen Eltern- und Tochter-DNA-Strängen formiert werden. SCE tauchen während der S-Phase des Zellzyklus auf, wahrscheinlich an den Replikationsgabeln oder an Stellen mit unvollständiger Replikation. Das SCE-Ereignis als solches beweist, dass vier DNA-Stränge gebrochen und wieder vereinigt wurden. Die Nachweismethoden für die SCE wandelten sich im Laufe der Jahre, nachdem von LATT (1974) beobachtet wurde, dass beim Einbau von halogeniertem Uridin anstelle von Thymidin bei der Replikation die Anfärbbarkeit der Chromosomen erlischt oder vermindert wird. In Kombination von Fluoreszenzfärbemethoden und der klassischen GIEMSA-Färbung gelang es dann PERRY und WOLF (1974), die noch heute angewandte Standardmethode zur SCE-Färbung zu etablieren. Die Frequenz der SCE ist auch von den gegebenen Kulturbedingungen der Zellen beeinflusst. BUdr- Konzentration und Belichtung haben großen Einfluss.

Endogene Faktoren, die die SCE-Frequenz beeinflussen, sind vor allem Genomgröße und Länge der Metaphasenchromosomen. So haben große Genome bei Säugetieren und lange Metaphasenchromosomen auch viele SCE. Die Normalwerte pro Zelle liegen zwischen 2,8 bei Hufeisennasen und 8,5 bei Wanderratte und Hausmaus. Die SCE zeigen, unabhängig davon ob die Reparatur fehlerfrei oder fehlerbehaftet ist, dass ein DNA-schädigender Einfluss vorhanden war. Letztendlich ist mit der Induktion von SCE ein Gesundheitsrisiko verbunden (WULF, 1990). SCE-Experimente sind relativ schnell mit vergleichsweise geringem Kostenaufwand durchzuführen. Sie sind gut reproduzierbar und leicht überprüfbar. Zudem ist die eigentliche Versuchsanstellung einfach, sie

misst die Induktion von SCE in einem zytologischen System und weist deutliche Parallelverteilung mit Chromosomenaberrationen auf. Nachdem die Induktion von SCE durch zahlreiche DNA-schädigende Agentien bewiesen wurde, gilt die Untersuchung von SCE als sensitivste Säugetierzelltechnik zum Nachweis von Mutagenen (Karzinogenen) (WULFF, 1979).

So sollten SCE-Studien weniger zum Nachweis von spezifischen genotoxischen Effekten bei Einzelindividuen als Methode eingesetzt werden, als zum Nachweis der genotoxischen Exposition von Populationen aus deren Umwelt. Problematisch sind hierbei natürlich die „Confounding-Faktoren“ (Störgrößen), die die Validierung solcher Studien erheblich erschweren. PARADA untersuchte 1993 vergleichend zytogenetische Parameter an Milchkühen aus industriell belasteten und eher ländlichen Regionen Polens (s. Tab. II.3.2) und kommt zu dem Schluss, dass die Parameter der zytogenetischen Untersuchung gut geeignet sind, um ein Umweltmonitoring durchzuführen. Im einzelnen findet er statistisch absicherbare Unterschiede in der Zahl der Chromosomenaberrationen und der SCE zwischen den Untersuchungsgruppen. Zusätzlich weisen die SCE-Frequenzen eine Altersabhängigkeit auf.

**Tab. II.3.2:** SCE-Frequenzen in Lymphozyten von Kühen (PARADA 1993)

Region	Alter	n	Zellzahl	SCE / Zelle	$\bar{x} \pm s$
industriell	3-6	23	690	4-14	6,79±1,78
	7-12	21	630	5-20	8,26±2,62
	3-12	44	1320	4-20	7,47±2,33
ländlich	3-6	12	360	4-11	6,22±1,37
	7-12	12	360	4-12	6,57±1,88
	3-12	24	720	4-12	6,38±1,64

Nach genotoxischen Effekten normalisieren sich die SCE-Frequenzen zwischen Tagen und Wochen. Als Störgrößen bei SCE-Studien am Menschen gelten Geschlecht, Alter, Rassen, genotypische Eigenheiten. So haben in den Studien weibliche Individuen durchweg höhere SCE-Frequenzen als männliche (WAKSVIKS, 1981), während Alter und menschliche Rassen mit den SCE-Frequenzen nicht generell korreliert werden können. Anders beim Muntjak (DAS, 1983), hier finden sich mit zunehmendem Alter steigende SCE-Frequenzen, die sich dann stabilisieren und keine geschlechtsspezifischen Unterschiede zeigen. SHARMA findet 1986 bei vergleichenden Untersuchungen an schwangeren und nicht schwangeren Frauen und trächtigen und nicht trächtigen Muntjakweibchen

absicherbar höhere SCE-Frequenzen bei Schwangeren. Bei den Untersuchungen von mono- und dizygoten Zwillingen und Familien hingegen werden statistisch absicherbare Unterschiede nicht gefunden.

Bestimmend für Unterschiede in den SCE-Frequenzen bei Menschen und Tieren sind jedoch exogene Faktoren, die nach WULF (1984) wie folgt bewertet werden können:

<b>SCE-Steigerung</b>	<b>Maßnahmen</b>
>100% vom Normalwert	Familienuntersuchung, genetischer Effekt
>50%	Allgemeinuntersuchung der Probanden, Untersuchung des Arbeitsplatzes
10-50%	Ursachenforschung, Vorbeuge gegen auslösendes Produkt oder gegen relevante Strahlung
-10%	andere Tests durchführen und bewerten.

Viruseffekte auf SCE in Zellkulturen sind wenig untersucht, so scheinen Adenoviren keine und SV-40 geringe Effekte hervorzurufen. Endogene sog. C-Viren im Genom werden bei der BUdR- Behandlung spontan induziert. Über die Effekte von RNA-Viren ist nichts bekannt (KATO, 1977).

In einer experimentellen Studie belegte ANTONOPOULOS (1997) humane Lymphozyten in Kultur mit gepulsten 380, 900 und 1800 MHz-Feldern und untersuchte die Effekte auf die SCE-Frequenzen, die im Mittel zwischen 4 und 5 SCE pro Zelle lagen. Statistisch absicherbare Unterschiede zwischen befelderten und nicht befelderten Zellen wurden nicht gefunden. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen EBERLE et al. (1997) bei einer ähnlichen Versuchsanstellung. Sie fanden keine Effekte auf die SCE-Frequenz und andere genotoxische Parameter in Humanlymphozyten. Die besondere Eignung von peripheren Lymphozyten für die Versuchsanstellung wird in beiden Studien hervorgehoben.

### **3.3 Metaphasenkinetik (MPK)**

Aus den von LEHMANN (1981) beschriebenen Wirkungen von Mutagenen kann geschlossen werden, dass diese auch einen Einfluss auf die Zellteilungsgeschwindigkeit haben. Hierbei ist eher von einer Hemmung oder Reduktion auszugehen, wobei zur Analyse der Proliferationskinetik die differentielle Schwesterchromatidfärbung hervorragend geeignet ist (ABEL, 1980).

Mit Hilfe der BUDR-Methode können Metaphasen, die der ersten, zweiten oder dritten Zellteilung nach BUDR-Zugabe entstammen, unterschieden werden. Bei Metaphasen nach der ersten S-Phase erfolgt keine Differenzierung, Metaphasen nach der zweiten S-Phase sind einheitlich differenziert. Metaphasen nach der dritten S-Phase weisen zum Teil Chromosomen auf, die völlig ungefärbt sind (doppelsträngig substituiert), ein Teil weist eine Färbung einer Chromatide auf (einzelsträngig substituiert), bei den restlichen sind durch Chromatidaustauschereignisse in der ersten und zweiten Zellteilung Chromatiden teilweise markiert. Ein relativer Vergleich der Zellteilungsgeschwindigkeit ist nun durch vergleichende Untersuchungen der M1, M2 und M3 bei den verschiedenen Probanden möglich.

Die Metaphasenkinetik in Kulturen von Humanlymphozyten unter HF-Befeldung untersuchten ANTANOPOULOS und OBE (1997). Sie weisen darauf hin, dass HF-Befeldung keine Effekte bewirkt, 50 Hz-Felder hingegen eine Beschleunigung der Zellzyklen hervorrufen, die möglicherweise wegen der damit verbundenen eingeschränkten Reparaturmöglichkeiten an der DNS als copromovierende Effekte bei der Kanzerogenese angesehen werden sollten.

EBERLE et al. (1997) finden bei 1800 MHz-Feldern Einflüsse auf die Metaphasenkinetik und zwar eine Erniedrigung der Zellteilungsgeschwindigkeit bei zwei von sechs Spendern. Es wird jedoch kein Feldeffekt gesehen, weil nicht alle Spender betroffen sind und bei 900 MHz sowohl Erhöhung als auch Erniedrigungen der Zellteilungsgeschwindigkeit stattfinden. Es wird betont, dass für eine Bewertung eine annähernd vollständige Prävalenz der Effekte in den Probandengruppen vonnöten ist.

ROTH (1983) verabreichte zur Untersuchung von Effekten der BVD-Infektion auf Lymphozyten- und Granulozytenfunktion bei Rindern einen modifizierten Lebendvakzinestamm mit und ohne gleichzeitige Gabe von ACTH. Zunächst bewirkte die Applikation einen Rückgang der Anzahl von Lymphozyten und Granulozyten im strömenden Blut. Im weiteren konnte in der Zellkultur ein erheblicher Rückgang der Proliferationskinetik von Lymphozyten und eine Reduktion verschiedener Granulozytenaktivitäten, darunter auch die der AK-abhängigen, zellgebundenen Cytotoxizität dokumentiert werden. Ähnliche Effekte auf die Lymphozytenblastogenese und auf die Granulozytenaktivitäten, wie Bakteriolyse, konnte ROTH (1986) bei persistent infizierten Rindern feststellen.

In der gleichen Arbeitsgruppe wurden von BROWN (1991) die Effekte von Cytokininen auf die reduzierten Funktionen von Lymphozyten und Granulozyten der persistent infizierten Tiere studiert. Unter der Zugabe von bovinem Interferon verbesserten sich die physiologischen Funktionen der Zellen erheblich. Nochmals konnten die Auswirkungen von BVD-Infektionen auf die Blastogenese der durch

Phythämagglutinin, Concanavalin oder Pokeweed Mitogen stimulierten Lymphozyten nachgewiesen werden.

#### 4. Missbildungen beim Rind

„Trotz 150 Jahre experimenteller Teratologie an Amphibien und Vögeln, trotz 25 Jahren Nachweis, dass Missbildungen bei Säugetieren experimentell hervorgerufen werden können, war die Erkenntnis, dass eine Droge, die harmlos beim Erwachsenen wirkt, ein ungeborenes Kind deformieren kann, eine Überraschung für die Öffentlichkeit. Der Wissenschaft der Teratologie war keine Aufmerksamkeit zu Teil geworden.“, so subsummiert WARKANY (1966) im Angesicht inzwischen profunder Kenntnisse über die Folgen der Thalidomid-Embryopathie der Jahre 1958 - 1963.

Auch die Pathogenitätsmechanismen der Röteln-Embryopathie der vierziger Jahre und Kenntnisse der teratogenen Wirkung von über 100 chemischen Verbindungen und der ionisierenden Strahlen auf das ungeborene Leben waren seinerzeit bereits gut bekannt.

Trotzdem werden 1984 die Ursachen embryonaler Entwicklungsstörungen beim **Menschen** wie folgt quantifiziert (RIECK, 1984):

Genetische Faktoren (Gen-Mutationen)	20%
Chromosomenanomalien (Chromosomenmutationen)	5%
Umweltfaktoren (Medikamente, Strahlen, Infektionen)	5-10%
Unbekannte Faktoren	65-70%

Die Verfasser sehen für das Rind etwa die gleichen Häufigkeitsrelationen, mit Ausnahme der Gruppe „Umweltfaktoren“, denen optimistisch, soweit sie Medikamente und Strahleneinwirkung betreffen, keine Wirkung in der „natürlichen“ Umwelt der großen Haustiere zuordnet. So werden beim Rind in mehr oder weniger stark variierender jährlicher Häufigkeit etwa 85 Missbildungsformen beobachtet, von denen nur etwa 25% als Einzelmissbildungen vorkommen. Alle anderen bilden Missbildungssyndrome.

Dabei stehen mit über 21% aller Missbildungsfälle die Entwicklungsstörungen des Zentralnervensystems deutlich an erster Stelle, gefolgt von den Anlage- und Funktionsanomalien der Gliedmaßen, den Doppelbildungen und den kongenitalen Systemstörungen, wie z.B. dem Anasarca, der Struma congenita und dem Nanismus (RIECK, 1973 und 1976) (s. hierzu Tabelle II.4.1).

**Tabelle II.4.1:** Kongenitale Anomalien beim Rind in Hessen 1961 – 1969

<b>Mißbildungsgruppen</b>	<b>Gesamtzahl</b>	<b>gesamt in %</b>
ZNS und Hüllen, inkl. Caudorectourogenitalsyndrom	495	21,6
Muskulatur, inkl. Muskeldysplasien und spastische Parese	315	13,7
Doppelbildungen und anomale Mehrlingsfrüchte	232	10,0
Kongenitale Systemstörungen (Hydrops, Aszites, Struma)	222	9,7
Störungen des Bauchwandschlusses (Hernien, Fissur, Schizosoma)	213	9,3
Gesichtsschädel (Spalten, Verkürzungen, Verbiegungen)	202	8,8
Gliedmaßenskelett und Gelenke, inkl. Stellungsanomalien	158	6,9
Digestionsapparat (Atresia ani et recti etc.)	98	4,3
Harn- und Geschlechtsapparat (inkl. Kryptorchismus)	97	4,3
Knorpel- und Knochenbildung (Akroteriasis, Chondrodysplasie)	65	2,8
Herz und Gefäßsystem (Ektopien, Septumdefekte)	62	2,7
Sinnesorgane	51	2,2
Haut und Hautanhangsgebilde	46	2,0
Sonstige Defekte	36	1,7

Im Bundesland Hessen wurde zwischen 1964 und 1986 ein effizientes Programm zur Erfassung kongenitaler Anomalien beim Rind durchgeführt. Der Hintergrund dieser Langzeitstudie war eigentlich die Überprüfung von Besamungsbullen und ihrer Nachkommen auf die Vererbungsfrequenz von Missbildungen. Mit der Einführung der künstlichen Besamung beim Rind waren seinerzeit Befürchtungen aufgetreten, dass durch den vielfachen Einsatz weniger Bullen diese Frequenz stark ansteigen würde (KOMOROWSKI, 1985). Schnell wurde dabei erkannt, dass die Analyse von Vererbungsmodi nach der Mendel'schen Segregationsregel keine greifbaren und umsetzbaren Ergebnisse bringen würde, da großteilig polyfaktorielle Vererbungsmodi vorlägen und zudem der Heterozygotiegrad der weiblichen Population für die entsprechenden Defektgene von gleicher Bedeutung sei.

Die Missbildungshäufigkeit bei den Nachkommen von Besamungsbullen entsprach seinerzeit der Anomaliefrequenz der Gesamtpopulation, denn jährlich wurden in Deutschland und Europa bei den verschiedenen Rassen etwa 0,2% pro Geburtsjahrgang ermittelt. Immerhin wurde im Tierzuchtgesetz des Bundeslandes Hessen bereits 1979 eine Meldepflicht für Erbfehler eingeführt.

In der Übersicht ergaben sich Missbildungsfrequenzen bei den Nachkommen der drei untersuchten Rassen Deutsche Schwarzbunte (DSB), Deutsche Rotbunte (DRB) und Deutsches Fleckvieh (DFV) von 0,128, 0,144 und 0,188%. Jeweils 68,2, 62,4 und 60,2% der untersuchten Besamungsbullen wiesen missgebildete Nachkommen auf, wobei klar wurde, dass mit steigender Nachkommenanzahl die relative Häufigkeit der Missbildungen abnahm. Insgesamt fanden sich Frequenzen zwischen 5,71% (DFV) und 0,026% (DRB).

In einer schweizerischen Studie wurde von KÖNIG (1980) beim Fleckvieh eine Missbildungsfrequenz von 0,8% festgestellt. Insgesamt fanden sich in etwa 20% aller Fälle Missbildungen des Gehirns und des Schädels, in 10% Herzmissbildungen, ferner noch Missbildungen des Auges (8,77%), Spaltbildungen (7,89%), Doppelbildungen (7,02%) und Missbildungen der Gliedmaßen und Gelenke (5,26%) in nennenswerter Anzahl. Eine Beeinflussung der Trächtigkeitsdauer durch Anomalien nach oben und unten wird festgestellt.

Zwanzig Jahre später sind die Einflüsse von reproduktionstechnischen Maßnahmen immer noch von Interesse. So findet man bei van WAGTENDONK-de LEEUW 1998 beim Vergleich von Missbildungsfrequenzen von Kälbern aus der in-vitro-Fertilisation (Embryotransfer, ET) und solcher aus der normalen künstlichen Besamung (KB) statistisch hoch absicherbare Unterschiede zu Ungunsten der durch in-vitro-Fertilisation erzeugten Kälber (3,2% ET und 0,7% KB).

Strahleneinwirkungen auf die embryonalen Gewebe sind nahezu ausschließlich von ionisierenden Strahlen untersucht, einige Wirkungsmodelle sind aber auch für nichtionisierende Strahlen vorstellbar. So die These, dass durch Strahleneinwirkung die dynamische Instabilität des biologischen Systems erhöht wird, so dass die Reaktion der bestrahlten Individuen als multipler stochastischer Prozess bezeichnet werden kann. (DERTINGER und JUNG, 1969)

Bestrahlungen von DNS-Komplexen führen zu einer Reihe von biochemischen Veränderungen, wie z.B. Desaminierung, Dehydroxylierung, Brüche der Basen-Zucker-Bindung usw., die letztendlich zur Veränderung der makromolekularen Struktur der DNS und zu Chromosomenanomalien führen. Verglichen mit dem embryologischen Entwicklungszeitplan des Menschen, der dem des Rindes in etwa entspricht, liegt nach entsprechender Exposition zwischen dem 20. und 40. Tag post conceptionem das Maximum der strahlenbedingten Missbildungen (TÖNDURY, 1966).

Wie für alle teratogenen Einflüsse gilt auch für die Strahlenwirkung der Satz, dass die Sensitivität der Blasteme mit zunehmender Differenzierung abnimmt (RIECK, 1984). In der Fetalperiode, in der es zum Größenwachstum der Organsysteme kommt, nimmt die Empfindlichkeit gegenüber Teratogenen rasch ab. Nur noch wenige Organe, wie das Kleinhirn, die Großhirnrinde und einige Abschnitte des Urogenitalsystems setzen ihre Differenzierung fort und bleiben wahrscheinlich bis in die spätere Trächtigkeit hin empfindlich (LANGMANN, 1980)

Ein pathologischer Effekt kann je nach Phasenempfindlichkeit und bei gleichzeitiger Störanfälligkeit mehrere Organe erfassen. In der Regel ist dies der Fall, wenn das embryotoxische Agens über eine längere Zeitspanne hin wirksam bleibt. Die Zufuhr exogener teratogener Faktoren erfolgt unter Feldbedingungen qualitativ und quantitativ nicht systematisch, sondern eher zufallsbedingt. Deshalb stehen in der Ätiologie vieler typischer Missbildungssyndrome genetische Faktoren im Vordergrund.

Ätiologisch und differentialdiagnostisch sind für das Rind nur wenige Teratogene aufgrund der Lebensumstände von Bedeutung, welche entweder systematisch oder zufällig über die Nahrung zugeführt werden. Dazu gehören Giftpflanzenalkaloide aus Lupinen (Anagyrin), die zu Arthrodysplasien und Gaumenspalten führen, Alkaloide aus verschiedenen Veratrum-Arten, die ebenfalls zu Mißbildungen der Gliedmaßen und des ZNS führen. Inzidenzen sind jedoch aus Deutschland nicht bekannt.

Von erheblich größerer Bedeutung hingegen sind teratogene Mykotoxine. Etwa 500 verschiedene Aspergillen-, Penicillium- und vor allem Fusarientoxine sind bekannt. Wegen ihrer geringen Molekulargewichte haben die Toxine nur geringe antigene Eigenschaften. Das Rind kann zahlreiche Mykotoxine unter Zuhilfenahme der Pansenmikroben spalten und unwirksam machen.

Besonders empfindlich sind Rinder gegenüber den Fumonisin, einer Untergruppe von Fusarientoxinen, die beim erwachsenen Tier zu Leberveränderungen (Anstieg Leberenzyme, Bilirubin und Cholesterin) und vor allem zu einer signifikanten Beeinträchtigung der Lymphozytenproliferation als Zeichen einer Immunsuppression führen (BAUER, 1999). Frühgeburten mit Hydropsie-Syndrom und Leberveränderungen konnte RIECK (1984) auf Mykotoxikosen zurückführen. Auch einige Antibiotika haben teratogene Wirkung, ihre Anwendung während der Frühträchtigkeit sollte, wie die von Cortisonen, Androgenen und Progesteron ausscheiden oder sich auf Vitalindikationen beschränken. Teratogene Wirkungen haben ebenfalls hohe Dosen der Spurenelemente Blei, Cadmium, Arsen, Indium und Selen.

Differenzierter muss das Element Kupfer betrachtet werden, teratogene Effekte werden durch Kupferdefizienzen in der Ernährung einerseits, embryotoxische Effekte auch durch Kupferüberschuss in der Nahrung andererseits hervorgerufen.

Die 50-75% der Fälle, in denen die per Definition sogenannten "unbekannten exogenen teratogenen Faktoren" zur Ausbildung von Defektkälbern führen, sind als Verlegenheitsdefinition zu betrachten, bei denen aus technischen oder methodischen Mängeln, aus Imponderabilien bei der Materialsammlung und Konservierung oder aus anamnestischen Unzulänglichkeiten eine exakte Diagnostik nicht machbar ist. Da jedoch die Populationsfrequenzen von kongenitalen Anomalien beim Rind regelmäßig 0,2 - 0,5% betragen, müssen auch die unbekannt exogenen teratogenen Faktoren nach RIECK (1984) bestimmten Gesetzmäßigkeiten unterliegen.

Von großer Bedeutung erscheinen im Rahmen der vorliegenden Studie Virusinfektionen, die Genmutationen, Chromosomenmutationen und Embryopathien hervorrufen können. Aus den Studien der Rubeola-Infektion des Menschen konnten die Pathogenitätsmechanismen abgeleitet werden. So kommt es entweder durch virusinduzierte somatische Mutationen zur Veränderung der embryonalen Strukturen oder durch zytopathische Effekte zum Absterben mehr oder weniger großer Strukturanteile mit Freisetzung von lysosomalen Enzymen. Art und Typ der Mißbildungen hängen vom Infektionszeitpunkt und von der embryonalen Entwicklungsphase ab. Es gilt der Grundsatz, dass die virusinduzierten Defekte der Embryonen umso schwerwiegender sind, je früher während der Gravidität die Infektion erfolgte.

Über die Cataracta congenita lentis, die beim Menschen eine typische Begleiterscheinung der Rubeolainfektion der im ersten Trimester Graviden ist, berichtet SCHADE (1974), dass diese seinerzeit etwa 52% der Missbildungen des Auges beim Rind ausmacht, die Anomalien des Auges aber nur zu etwa 1% an der Gesamtzahl der registrierten Anomalien beteiligt sind. Der Verfasser verweist in diesem Zusammenhang auf die drei Formen des genetisch bedingten Kataraktes, lässt allerdings andere ätiologische Faktoren trotz der bekannten Situation beim Menschen außen vor.

WEISS (1978) dokumentiert im Standardwerk der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere, dass bei Missbildungen des ZNS neben einigen echten Erbleiden vor allem Virusinfektionen zu bestimmten Gestationsphasen zur Fehlbildung führen. Der Autor hebt die Bovine Virusdiarrhoe-Mucosal Disease Infektion (BVD-MD) besonders hervor. Das BVD-MD-Virus wurde als Agens erkannt, das bei

Rinderembryonen und -feten in den 2. und 3. Trimestern der Trächtigkeit eine nicht letale Infektion verursacht. Infektionen während des 1. Trimesters kann embryonale Mortalität, Mumifikation, Abort oder Resorption zur Folge haben. Feten des 2. Trimesters, die die Infektion überleben, werden gewöhnlich nicht abortiert, können aber Dauerschäden davortragen. Die häufigsten Defekte sind Kleinhirnhypertrophie und Augendefekte. Nach experimenteller Infektion etwa am 100. Tag post conceptionem wurde eine partielle Atrichie eines Kalbes beobachtet. Die Empfänglichkeit der Embryonen bzw. Feten für das BVD-MD-Virus lässt mit zunehmendem Alter nach. Feten, die während des letzten Trimesters infiziert wurden, wiesen einzig serumneutralisierende Antikörper auf.

AXTHELM (1981) beobachtete in einer Herde von 80 Milchkühen 5 Fälle von Mikrohydranencephalie, die mit Blindheit, Tremor und Gliedmaßensteifigkeit (Arthrodysplasie) einhergingen. BVD-MD - Antigen konnte im Gewebe nachgewiesen werden. Auch in der kontrollierten Rinderzucht der Türkei konnte von ALKAN (1993) BVD-Infektionen als Ursache für Missbildungen des Zentralnervensystems, insbesondere Hydranencephalie und kongenitale Blindheit, nachgewiesen werden. In einer Mutter-Kalb-Studie wurden neben virus-positiven Müttern mit ebenfalls virus-positiven Kälbern auch negative Mütter mit positiven Kälbern und positive Mütter mit negativen Kälbern gefunden.

1995 untersuchte HEWICKER-TRAUTWEIN retrospektiv an 33 Kälbern und Jungrindern aus HF-Herden mit lang andauernder BVD-Problematik in der Anamnese die ZNS-Defekte. Gefunden wurden vor allem cerebellare Hypoplasie, Hydrocephalus internus und Mikroencephalie. In den hypoplastischen Kleinhirnen wurde histologisch eine Reduktion der Rindenzellen und degenerative Veränderungen in den Purkinjezellen gefunden.

In Kanada wurde 1997 von LECLERC bei Fleckviehherden das Auftreten des Arnold-Chiari Syndroms mit dem Auftreten der Kleinhirnhypoplasie bei missgebildeten Kälbern verglichen. Er kommt zu dem Schluss, dass das Arnold-Chiari Syndrom nur sporadisch und ohne wirtschaftliche Effekte ist, die Kleinhirnhypoplasie hingegen typisch für die Präsenz des BVD-Virus mit allen nachteiligen Folgen ist.

## **5. BVD (Bovine Virusdiarrhoe) als studienrelevante Infektionskrankheit**

Nach dem zweiten Weltkrieg nahm die Buiatrik in vielen Ländern der Welt einen enormen Aufschwung. Die staatlichen Tierseuchenbekämpfer nahmen den Kampf gegen die klassischen bakteriellen und viralen Erkrankungen der Rinder, wie Tuberkulose, Brucellose, Maul- und Klauenseuche, wieder auf, vielfach wurden die Probleme durch nachhaltige Tötungsmaßnahmen (Keulungen) zu lösen versucht.

In die fünfziger und sechziger Jahre des letzten Jahrhunderts fallen die Entdeckungen und Nachweise neuer Viruserkrankungen des Rindes, darunter BVD-MD, Parainfluenza und Infektiöse Bovine Rhinotracheitis (IBR) (ROSENBERGER 1978).

Inzwischen spielen die klassischen bakteriellen Erkrankungen im Seuchengeschehen in den Rinderbeständen keine bedeutsame Rolle mehr, was einerseits auf die staatlichen Bekämpfungsmaßnahmen, andererseits aber auf die geänderten Lebensumstände der meist intensiv gehaltenen Milchkühe zurückzuführen ist. Künstliche Besamung, Impfmaßnahmen und Haltung in kontrollierten Großbeständen zur extremen Steigerung der Milchleistung trugen zum Verschwinden der klassischen Erreger bei, ebneten dabei aber auch den neuen Viruserkrankungen der Rinder den Weg in die Bestände. Heute stehen Viruserkrankungen, die sich auf die allgemeine Resistenzlage und vor allem auf die Fruchtbarkeitssituation in den Leistungsherden auswirken, mit Recht im Vordergrund des Interesses der Bestandsbetreuung.

Von ganz herausragender Bedeutung ist dabei inzwischen die Bovine Virusdiarrhoe - Mucosal Disease, (BVD/MD), die 1998 in annähernd 90% aller von Rindergesundheitsdiensten betreuten Betrieben in Hessen und Rheinland-Pfalz verbreitet ist (BECKER, 2000). Von insgesamt 97 zwischen dem 17.04.2000 und 07.06.2000 der Bundesanstalt für Viruskrankheiten in Wusterhausen gemeldeten neuen BVD-MD-Fällen entfielen allein 69 (71%) auf das Bundesland Bayern (BfV, 2000). Betroffen waren auch Betriebe aus Orten der vorliegenden Studie. Insgesamt tragen je nach Land zwischen 36% und 88% der erwachsenen Rinder neutralisierende Antikörper gegen BVD-MD, wodurch erkennbar wird, dass der größte Teil der Infektionen symptomlos subklinisch und dadurch völlig unbemerkt verläuft.

Die Pathogenese der Erkrankung, besser beider Erkrankungsvarianten, ist komplex. Die BVD-Infektion erfolgt i.d.R. horizontal. Die Viren kommen von kranken, klinisch inapparent oder persistent infizierten Rindern, auch Schafen, von infiziertem Sperma, von Eizellen aus dem Embryotransfer (BAK, 1992), von kontaminiertem Injektionsgerät, blutsaugenden Insekten (v.a. Bremsen) oder kontaminierten Vakzinen (VERBERNE, 2000).

Nach dem Eindringen vermehren sich die Erreger zunächst im Bereich der Schleimhäute von Maul, Nase, Konjunktiven und Genitale, sowie in den Tonsillen und lokalen Lymphknoten. Nach 2-7 Tagen kommt es zur Virämie, bei der die sekundären Zielorgane Verdauungstrakt, Lymphknoten, oberer Respirationstrakt und vor allem der tragende Uterus befallen werden. Dabei kommt es zur Virusvermehrung (FRERKING, 1995).

Die Virämie dauert etwa 2 Wochen an. Während dieser Zeit kann Virus aus Blut, Speichel, Nasen- und Tränensekret, Urin, Kot, Sperma, Genitalschleim und Amnionflüssigkeit isoliert werden (de KRUIF, 1998). Die Sekrete sind in hohem Maße infektiös. 10-12 Wochen post infectionem erreicht der Serumspiegel der neutralisierenden Antikörper sein Maximum, er bleibt oft lebenslang erhalten und bietet Schutz vor Neuinfektion. ROSENBERGER (1978) beschreibt jedoch nur eine belastbare Immunität von 2-3 Jahren in den durchseuchten Beständen.

Die klinischen Erscheinungen während der Infektion sind vielgestaltig, abhängig vom Alter und Immunstatus der Tiere einerseits, von der Virulenz des Erregertyps, der während der Infektion auch mutieren kann, andererseits (HAMERS, 1998).

MARSCHANG (1979) konnte bei Felduntersuchungen in Baden-Württemberg dokumentieren, dass

- ▶ Viruseinschleppung in Betriebe auch ohne Zukäufe stattfindet,
- ▶ stille Durchseuchungen von Tieren aller Altersklassen ohne klinische Erkrankungen stattfinden,
- ▶ als Folge von stillen Durchseuchungen vermehrt Verkaltungen und Aborte auftreten,
- ▶ negative Einflüsse aus den Lebensumständen der Tiere (Haltung, Fütterung, Hygiene, bakterielle Infekte) das eigentliche BVD-Geschehen verschleiern.

GRAHN (1984) untersuchte die Effekte von intrauterinen BVD-Infektionen auf den Befruchtungserfolg nach Superovulation und Frühentwicklung von Rinderembryonen. Hierbei konnte festgestellt werden, dass hochsignifikante Unterschiede in der Zahl von befruchteten und sich entwickelnden Eiern bzw. Embryonen zwischen seronegativen, künstlich über den Uterus infizierten und seronegativen, nichtinfizierten Müttern bestehen. ROSS (1986) berichtet über ein acht Monate dauerndes Herdenproblem mit gehäuften Aborten und missgebildeten Kälbern, das mit einem transienten Fieber bei den betroffenen Mutterkühen einherging. Nach dem Nachweis von BVD-Antigen und einer entsprechenden Impfung der gesamten Herde mit einem Totimpfstoff erlosch das Krankheitsgeschehen. FREY (1992) findet beim Monitoring von 86 Kälbern einer Herde 26 persistent infizierte, von denen nur 4 klinische Symptome zeigen und unterstreicht damit die Gefährdung ganzer Herden, die von nicht erkannten Ausscheidern ausgeht.

In kroatischen Milchviehherden mit erheblichen Fruchtbarkeitsstörungen fand BIUK-RUDAN (1999) eine statistisch hoch absicherbare Konkordanz von IBR- und BVD-Titern mit Reproduktionsstörungen im Vergleich zu nicht erkrankten Tieren in den gleichen Herden.

Wegen der hohen Zahl von Antikörper- (AK-) positiven Kühen verlaufen reine BVD-Infektionen sowohl bei Neugeborenen nach Kolostrumaufnahme, bei Jungrindern, als auch bei erwachsenen Kühen eher unspezifisch und werden von anderen Infekten überlagert (ALKAN, 2000). Sehr virulente Stämme können auch ein letal ausgehendes hämorrhagisches Fieber (Thrombozytopenie) hervorrufen.

Bei AK-negativen Müttern kann die diaplazentare Infektion abhängig vom Virustyp und Trächtigkeitsstadium fatale Folgen haben (s. hierzu Tabelle II.5.1 aus de KRUIF, 1998).

**Tabelle II.5.1:** Effekte von diaplazentaren Infektionen mit BVD-Virus bei AK-negativen Müttern  
(aus: de KRUIF, 1998)

<b>Virusstamm</b>	<b>Trächtigkeitsdauer</b>	<b>Effekte</b>
nicht zytopathogen	bis 42 d	embryonaler Fruchttod
	43-120	Abort, Mumifikation, Geburt lebensschwacher Kälber
	121-180	Abort, Mißbildungen, Ataxie, Opisthotonus
	ab 181	unauffällige Kälber mit AK, evtl. Spätaborte
zytopathogen	bis 120	embryonaler Fruchttod, Abort
	ab 121	wie oben

Zweite Komponente im Infektionsgeschehen ist die Mucosal Disease (MD) mit geringer Morbidität und hoher Letalität. Hierbei kommt es bei AK-negativen Müttern zur transplazentaren Infektion des Fetus vor dem 120. Trächtigkeitstag, d.h. bevor der Fetus immunkompetent ist. Das Virus persistiert im Fetus. Nach der Geburt bleiben die Kälber Träger und Ausscheider. Sie sind oft in der Entwicklung zurückgeblieben. Ihre Lebenserwartung ist gering, sie werden selten über 2 Jahre alt (de KRUIF, 1998). Kommen die Tiere nochmals mit einem zytopathogenem Virusstamm in Kontakt, so entwickelt sich die klinische MD, die in der Regel letal verläuft.

Das akute Krankheitsbild ist durch hohes Fieber, Diarrhoe und Erosionen im gesamten Verdauungstrakt, am Nasenspiegel, Vulva und Zwischenklauenspalt gekennzeichnet. Die Tiere sterben meist innerhalb weniger Wochen. Die chronische Form der MD verläuft protrahiert und wird durch bakterielle Sekundärinfektionen, die sich durch die bestehende Immunsuppression leicht ausbreiten können, erschwert. Das Virus wird von FRERKING (1997) als besonders wandlungsfähig beschrieben,

das sich sogar im gleichen Tier vom nicht-zytopathogenen Typus in den zytopathogenen Typus verwandeln kann, und auch wieder zurück. TAUTZ konnte 1998 anhand von Sequenzuntersuchungen an cDNA feststellen, dass die die letal ausgehende MD hervorrufenden, cytopathogenen BVD-Stämme durch RNA-Rekombination aus nicht-cytopathogenen Stämmen hervorgehen.

Die Diagnostik und Validierung von BVD/MD in den Beständen wird über das Vorhandensein von Antikörpern und Antigen im Blut vorgenommen, um persistente Virämiker zu erkennen und den Verlauf und Status von BVD-Infektionen einschätzen zu können. Bei Aborten ist der Antigennachweis oft nicht durchführbar, weil der Abort erheblich später als das eigentliche Infektionsgeschehen stattfindet. Bei lebensschwachen oder missgebildeten Kälbern kann nur vor der Verabreichung der ersten Kolostralmilch eine aussagefähige serologische Untersuchung vorgenommen werden. Haben solche Kälber AK im Blut, waren sie bei der Infektion immunkompetent. So ist davon auszugehen, dass eine intrauterine Infektion stattgefunden hat und das Virus im Betrieb aktiv war oder noch ist.

Da die BVD/MD nur zu den meldepflichtigen, nicht zu den anzeigepflichtigen, Tierseuchen gehört, wird ihre Bekämpfung in den verschiedenen Bundesländern mit unterschiedlichem Engagement und auch unterschiedlichen Finanzierungskonzepten der Tierseuchenkassen durchgeführt.

Auch in der vorliegenden Studie gibt es sowohl bei den Landwirten als auch bei den Haustierärzten völlig unterschiedliche Auffassungen und vor allem völlig unterschiedliche Kenntnisstände zu BVD. Einige Betriebe hatten wegen Erkrankungen über eine gewisse Zeit geimpft, dann aber wieder aufgehört, so daß die Probleme bei nachlassender Immunität erneut auftreten können.

Hauptziel der BVD-Bekämpfung ist es, eine Infektion von Feten zu verhindern, die zur Entstehung von Virämikern führt. Wie oben beschrieben können diese Virämiker auch ohne eigene klinische oder subklinische Krankheitsanzeichen massiv Viren ausscheiden und die Herdengesundheit gefährden.

Wie oft in der Tierseuchenbekämpfung, so unterscheiden sich in der praktischen Bekämpfungsstrategie die Meinungen der Experten. Von der generellen Durchimpfung ganzer Bestände ohne Ansehen des Trächtigkeitsstatus mit Totimpfstoff als Erstmaßnahme bis zum stillen Durchseuchenlassen der Herden bei starken Antikörperspiegeln reichen die empfohlenen Maßnahmen (PAPE, 2000). Selbst in der Frage, ob virämische Mütter auch immer virämische Kälber gebären, gibt es unterschiedliche Auffassungen. Fest steht allerdings, dass nur die regelmäßige Impfung mit Lebendimpfstoffen dauerhaft belastbare Antikörperspiegel schafft. Besonders optimistisch gibt sich ROSSMANITH (1998), der nach der

Untersuchung von Tankmilchproben mittels ELISA in Niederösterreich eine Eradikation der BVD/MD ohne Impfung für möglich hält, weil der Verbreitungsgrad gering ist.

TIZARD (1996) beschreibt die Effekte von BVD als Verursacher von sekundärer Immunschwäche beim Rind. Hierbei kommt es zur Lymphopenie und Zerstörung von B- und T-Zellen in Lymphknoten, Milz, Thymus und Peyerschen Platten im Darm. Die überlebenden T-Zellen produzieren weniger Immunglobuline und lassen sich nur gering durch Mitogene stimulieren. Durch die Zerstörung der Peyerschen Platten wird bakteriellen Sekundärinfektionen der Weg bereitet. BVD verursacht zusätzlich auch eine generalisierte Immunsuppression, die sich auch durch eine herabgesetzte Bakteriolyse im Blut bemerkbar macht. Das ebenfalls immunsuppressive Bovine-Immundefizienz-Virus (BIV) verursacht ähnliche Effekte auf die Mitogenbeeinflussung von Lymphozyten, zeigt jedoch einen anderen Krankheitsverlauf.

## **6. Stallhygiene**

### **6.1 Luftkeime**

Wesentliche Voraussetzungen für die Gesundheit und die Leistungsfähigkeit der Tiere sind optimale Umweltbedingungen. In diesem Zusammenhang hat besonders der Keim- und Staubgehalt der Stallluft sowie des Futters und der Oberflächen Bedeutung (ACKERMANN, 1980).

Unter Luftkeimen versteht man in der Regel Bakterien und Pilze. Die meisten Bakterien, die in der Luft gefunden werden, gehören zu den harmlosen Spezies, wobei einige Arten als Allergen oder als Endotoxinbildner von Bedeutung sein können (HENSEL, 1998). Die biologische Bedeutung der Luftkeime ist sowohl von der absoluten Keimzahl, als auch von der Art der Keime abhängig, wie auch die Lebensfähigkeit der luftgetragenen Mikroorganismen von einer Vielzahl von Faktoren beeinflusst wird (DOSSOW v., 1992). Hohe Konzentrationen an Endotoxinen können bei der Entstehung respiratorischer Erkrankungen ausschlaggebend sein. Auch die Jahreszeit hat auf die Endotoxinkonzentration in der Außenluft einen Einfluss (HARTUNG, 1999).

In der Außenluft sind v.a. pigmentierte Kokken, coryneforme Bakterien, Bacillusarten, Schimmelpilze, Nocardia-Arten und Streptomyces-Arten zu finden. Je nach Abhängigkeit von den Witterungsverhältnissen, v.a. Sonnenschein, Luftgeschwindigkeit und Turbulenzen sowie der Höhe über dem Nährboden, werden mikrobielle Konzentrationen zwischen 10 und 10.000 kolonienbildender Einheiten (KBE)/m<sup>3</sup> gefunden. In Tierstallungen werden sogar Keimzahlen von über 100.000 KBE/m<sup>3</sup> nachgewiesen, die mit Hautschuppen oder als Teile von Haaren bzw. Federn, aufgewirbeltem Kot oder Einstreumaterial in die Luft gelangen (HILLIGER, 1990). Dabei ist der weitaus größte Teil der Mikroorganismen apathogen oder allenfalls fakultativ pathogen. Jedoch ist bei einem Teil der Pilze

bekannt, das sie Allergien hervorrufen können (HARTUNG, 1994). Die Ergebnisse der Befunde sind im hohen Maße sowohl von der Probenahme als auch von der Untersuchungstechnik abhängig. Dazu kommt noch die Schwierigkeit, dass luftgetragene Mikroorganismen in der Regel nicht solitär, sondern an Partikeln gebunden als sogenannte Aggregate vorkommen und diese Keimwolken sich nicht gleichmäßig ausbreiten. Auch verändert sich das mikrobielle Aerosol mit der Zeit nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ, da die Bakterien im luftgetragenen Zustand unterschiedlich schnell inaktiviert werden (BÖHM, 1996).

So findet man erhöhte Keimzahlen dann, wenn pflanzliches Material durch Wind oder menschliche bzw. tierische Aktivitäten aufgewirbelt wird (v.a. Schimmelpilze). Bei Aerosolen mit hohen Keimkonzentrationen werden hauptsächlich Flavobakterien, Pseudomonaden, Enterobakterien und Legionellen gefunden. Das Ergebnis der Luftkeimuntersuchung wird außerdem durch die Temperatur, die relative Feuchte, die Luftbewegung, die Luftgeschwindigkeit sowie durch die elektrische Raumladung beeinflusst. Bei der Probenentnahme sind insbesondere die Stallgröße, die Anzahl der Tiere, die Art und Weise der Belüftung sowie die Einstreu und Entmistung zu beachten.

Für die Konzentration der betrachteten luftfremden Stoffe (Gase, Stäube, Mikroorganismen) werden in der Stallluft im Mittel sehr niedrige und unbedenkliche Werte gemessen, obwohl im Tagesverlauf zum Teil erhebliche Schwankungen beobachtet werden können. Je nach Einstreurythmus können kurzfristig (zirka 1 Stunde) sehr hohe Konzentrationen auftreten (insbesondere Endotoxine) (HINZ, 1998).

Für die Interpretation der Keimzahlen gibt es, im Gegensatz zur Krankenhaushygiene, keine Richtwerte. Dort werden vorwiegend grampositive Mischflora (Staph. epidermidis, Corynebakterien, Mikrokokken, Bacillus spp. Streptomyces) und Pilze (Aspergillus spp., Scopulariopsis, Zygomyceten) nachgewiesen.

## **6.2 Wasser**

In der Tierhaltung setzt sich der Wasserverbrauch aus Tränk- und Brauchwasser zusammen (SOMMER, 1991). Aus diesem Grund muss das Trinkwasser frei von Krankheitserregern sein, darf keine gesundheitsschädigenden Eigenschaften haben und sollte appetitlich sein (klar, farblos, kühl, geruchlos und geschmacklich einwandfrei) (FIEDLER, 1995).

Bei der mikrobiologischen Trinkwasseruntersuchung wird die Kolonienzahl bestimmt. Das ist die Anzahl, der aus 1 ml einer Wasserprobe auf Nähragar und bei sechsfacher Lupenvergrößerung an zählbaren

Kolonien wachsender Bakterien. ( BREITIG, 1982). Vom hygienisch - epidemiologischen Standpunkt aus sind vor allem die Bakterien zu nennen, die als Indikatoren fäkaler Verunreinigungen des Wassers gelten und auf eine mögliche Übertragung von Infektionserregern hinweisen (DAUBNER, 1984).

## 7. Verhalten

In Literaturübersichten können ALGERS und HENNICH (1983), ANDERSON und PHILLIPS (1985) sowie BLACKWELL und SAUNDERS (1986) zwar Änderungen im Verhalten nach niederfrequenter Strahlenexposition aufzeigen, aber keinen kausalen Zusammenhang herstellen. Kaninchen zeigen Verhaltensstörungen; Ratten, Mäuse und Hamster meiden exponierte Bereiche (ALGERS und HENNICH, 1983). Es herrscht generelle Übereinstimmung, dass 60-Hz-Felder biologische Effekte verursachen können. Aber die Risikoabschätzung bleibt unklar, da die Effekte nicht durch pathologische Auffälligkeiten bestätigt werden. Das Tierverhalten ist eines der sensibelsten Parameter, um negative Veränderungen in einem biologischen System festzustellen. Tiere können ab einem Schwellenwert von 4 bis 10 kV/m mit veränderter Aktivität reagieren. Anderes Verhalten (z.B. Erkundungsverhalten, Raum-Zeit-Struktur-Verhalten) ist bis 100 kV/m unverändert. Effekte sind vor allem mit dem Nervensystem verknüpft (ANDERSON und PHILLIPS, 1985). BLACKWELL und SAUNDERS (1986) vermuten, dass eine Erhöhung der Körperkerntemperatur infolge Strahlenexposition das Tierverhalten beeinflussen kann. Nach De LORGE (1985a) nutzen einige Tierarten (zum Beispiel Tauben, Goldfische, Bienen) statische Magnetfelder zur Orientierung. In Experimenten zeigen sich mit zunehmender Exposition (> 50 mT) auch biologische Effekte (motorische Aktivität, Lernverhalten). Übereinstimmend können alle Autoren keine Mechanismen, die solche Effekte erklären, beschreiben.

Bisherige Studien über Rinder beziehen sich auf niederfrequente elektromagnetische Felder ausgehend von Hochspannungsleitungen, die vor allem im Feld durchgeführt wurden. AMSTUTZ und MILLER (1980) schließen nach zweijähriger Untersuchungszeit aus Gesundheitsreporten über den Tierbestand und Kontrollbesuchen in neun landwirtschaftlichen Betrieben, dass die Felder von Hochspannungsleitungen (765 kV) keine Auswirkung auf Gesundheit, Leistung und Verhalten der Tiere haben. ALGERS et al. (1981) können in zwei Herden mit zusammen 55 Kühen keinen Einfluss auf die Nutzung einer Weide unter einer 400 kV Überlandleitung feststellen. ALGERS und HULTGREN (1987) können in einem Bestand mit 58 Rindern keine Veränderung in Brunstzyklus, Plasmaprogesteronkonzentration, Zyklusintensität und Konzeptionsrate beobachten, wenn die Tiere 120 Tage 4 kV/m und 2  $\mu$ T (entspricht einer Überlandleitung mit 400 kV) ausgesetzt waren. ANGELL et al. (1990) vergleichen zwei Fleischrinderherden, die einem elektrischen Feld (5,6 kV/m) unter 500-kV-Hochspannungsleitungen ausgesetzt sind, mit zwei nicht exponierten Kontrollherden. Aufgrund der Ergebnisse werden keine

Änderungen in der Konzeptionsrate, bei Geburten, Wachstum und Überleben angenommen. BURCHARD et al. (1996) setzen mit der gleichen Zielsetzung 16 tragende Kühe einem elektromagnetischen Feld von 10 kV/m und 30  $\mu$ T (entspricht einer Überlandleitung mit 735 kV) aus und finden Zusammenhänge zwischen Exposition und Trockensubstanzaufnahme, fettkorrigierter Milchleistung, Milchfettgehalt und Plasmaprogesteongehalt.

ALGERS und HENNICH (1985) finden in einer Befragung schwedischer Landwirte keinen Zusammenhang bei Kühen zwischen dem Besamungsindex und der Exposition durch Überlandleitungen (400 kV) auf Weiden. Auch die Schlachtrate unterscheidet sich nicht zu Betrieben, die ihre Tiere nicht unter Hochspannungsleitungen weiden lassen müssen.

HARSCH (1995) vermutet, dass Mastbullen versuchen, eventuellen Einflüssen durch geopathische Störzonen auszuweichen. Die Anbindung lässt dieses nur bedingt zu und daher treten Technopathien auf.

BROUCEK et al. (1997) untersuchen das Verhalten und die Leistung von Rindern in einem künstlichen geopathogenen Feld. Die über 12 Wochen gemittelte Tagesmilchleistung ist bei Tieren im stärksten Feld am geringsten. Das Liegeverhalten unterscheidet sich in Dauer und Sequenz, so dass nach Ansicht der Autoren das Wohlbefinden der Tiere beeinflusst wird.

Im Labor konzentrieren sich die Verhaltensuntersuchungen auf kleinere Säugetiere und Affen. ZAHNER (1964) kann keinen Einfluss eines elektrischen Feldes auf das Verhalten des Goldhamsters nachweisen. Weder die Aktivität, Trinkfrequenz und -menge sowie Ionenkonzentration des Harns noch die Wahl des Nestplatzes drücken eine Aversion gegen das elektrische Feld aus. SPITKA et al. (1969) dagegen weisen einen Einfluss hochgespannter 50-Hz-Wechselfelder auf das operante Trinkverhalten von Ratten nach. HILMER und TEMBROCK (1970) können den Einfluss des gleichen Feldes auf die lokomotorische Aktivität von Ratten bestätigen. Außerdem wirkt sich die Exposition auch nach Abschalten des Feldes in veränderter Aktivität der Tiere aus. De LORGE (1985b) untersucht das Verhalten von Affen unter dem Einfluss verschiedener elektromagnetischer Felder (1 mT; 0,0001 bis 60 kV/m; 7 bis 75 Hz; 9 bis 500 Hz gepulst; 10 Sek. bis 24 Std.) und beobachtet nur in den ersten zwei Wochen Effekte (30 kV/m, 60 Hz). Anschließend können die Tiere adaptiert sein. Bei höheren Intensitäten (> 5 mT und 60 kV/m) sind andauernde Effekte zu erwarten. Bei Laborversuchen mit Ratten stellen BAYER et al. (1986) keine unterschiedlichen Aktivitätskurven und Schreckzeiten in elektrischen 50-Hz-Feldern fest. Dagegen bevorzugen die Tiere den feldfreien Käfig.

LÖSCHER und KÄS (1998) sowie WITTKOWSKI et al. (1999) berichten von auffälligen Verhaltensweisen, die in einem oberbayerischen Milchviehbetrieb (Betrieb Nr. 32 dieser Studie), der unter anderem hochfrequenten elektromagnetischen Feldern ausgesetzt ist, auftreten. Am deutlichsten tritt ein Verhalten bei mehreren Tieren auf, dass sich mit einem zur jeweils gleichen Seite gewendeten Kopf darstellt. Die Tiere drücken dabei ihre Stirn in den Brustbereich der Nachbarkuh. Bei einigen Tieren können die stereotypen und auffälligen Verhaltensweisen *Trippeln* und *Weben* beobachtet werden. Auf der Weide suchen die Tiere meist nur Bereiche auf, die offensichtlich nicht exponiert sind. LÖSCHER und KÄS (1998) beurteilen die Auffälligkeiten als Hinweis auf eine elektromagnetische Belastung. WITTKOWSKI et al. (1999) vermuten dagegen ungünstige Haltungseinflüsse als Ursache für die Verhaltensauffälligkeiten, können insgesamt aber Effekte durch elektromagnetische Felder nicht ausschließen.

BURCHARD et al. (1998) veröffentlichen weitere Ergebnisse über die Untersuchung von 16 Kühen in einem künstlichen 60-Hz-Feld (10 kV/m und 30  $\mu$ T). Die Plasmaprogesteronkonzentration während des Brunstzyklus unterscheidet sich nicht zwischen exponierten und nicht exponierten Phasen. Dagegen war der Brunstzyklus bei nicht exponierten Kühen kürzer. LÖSCHER und KÄS (1998) vermuten, dass elektromagnetische Felder ähnlich auf den Organismus wirken wie Stress. LÖSCHER (1999) postuliert des Weiteren aufgrund bisheriger Forschungsergebnisse einen Zusammenhang zwischen elektromagnetischen Feldern und Gesundheitsrisiken für Mensch und Tier. Aber der Wirkungsmechanismus bleibt unklar (SILNY, 1999).

Von verhaltenskundlichem Interesse sind des Weiteren Laborarbeiten mit Nagetieren. SIENKIEWICZ et al. (1998) zeigen in einem Lerntest, dass Mäuse in einem 50-Hz-Feld bei höheren Intensitäten (Schwelle zwischen 7,5 und 75  $\mu$ T) mehr Fehler machen als bei geringeren Intensitäten. Dagegen hat die Exposition keine nachhaltige Wirkung. STERN und LATIES (1998) untersuchen, ob die Stärke eines elektromagnetischen Feldes ein aversiver Stimulus für Tiere sein kann, so dass sie Meideverhalten zeigen würden. Dieselben Untersuchungen zeigen, dass auch weißglühendes Licht in einer Versuchsanordnung aversives Verhalten hervorruft und daher keine Aussage über den Einfluss der Feldstärke gemacht werden kann. ZHADIN et al. (1999) greifen das Phänomen auf, dass ein schwaches AC-Feld (Alternating Current = Wechselstrom) Veränderungen in der Kalziumkonzentration im Nervengewebe nur bei gleichzeitiger Anwesenheit eines DC Feldes (Direct Current = Gleichstrom) hervorrufen kann. Wenn die Felder mit der Kalzium-Zyklotronfrequenz angelegt werden, das heißt mit der Frequenz, mit der die Mobilität der Ionen beeinflusst wird, ist das Lokomotions- und Erkundungsverhalten von Ratten reduziert. Die Magnesium-Zyklotronfrequenz dagegen steigert dieses Verhalten.

## **8. Melatonin**

### **8.1 Biochemie**

Melatonin oder auch N-Acetyl-5-methoxytryptamin ist ein biogenes oder Indolamin, das in der Zirbeldrüse und in geringen Mengen auch im Gastrointestinaltrakt gebildet wird (HUETHER et al., 1992). Melatonin wird durch die für die Zirbeldrüse organspezifische Hydroxyindol-O-Methyl-transferase (HIOMT) aus Serotonin gebildet, dessen Vorläufer die Aminosäure Tryptophan ist. Als 6-Hydroxymelatonin oder nach Decarboxylierung und Desaminierung als 5-Methoxy-indolessigsäure wird Melatonin inaktiviert mit dem Urin und dem Speichel ausgeschieden (REITER, 1982; GARFINKEL et al., 1995). Die Konzentration von Melatonin im Speichel korreliert eng mit der Plasmamelatoninkonzentration (MILES et al., 1985a). Ca. 70 % des zirkulierenden Melatonins ist an Plasmaalbumin gebunden (CARDINALI et al., 1972). Die restliche ungebundene Fraktion (30 %) kann über die azinösen Zellen der Speicheldrüsen in den Speichel diffundieren (MILES et al., 1985A; NOWAK et al., 1987; RICE et al., 1995) oder renal als Sulfatoxymelatonin eliminiert werden (BROWN, 1994; GARFINKEL et al., 1995).

### **8.2 Hormonelle Regulation und Metabolisierung**

Die Melatoninsekretion der Zirbeldrüse wird über verschiedene Faktoren beeinflusst. Zu diesen gehören soziale Effekte, körperliche Aktivität, Nahrungsaufnahme, Licht. Diese steuern über den Nucleus suprachiasmaticus die körpereigene Rhythmusgenerierung. Der Rhythmus bestimmt die epiphysäre Melatoninsekretion. Das sezernierte Melatonin wirkt wiederum auf den Nucleus suprachiasmaticus und damit auf die Rhythmusgenerierung. Licht unterdrückt die Melatoninsekretion (STOLL UND MÜLLER, 1996). Die Wirkungen sozialer Faktoren, Nahrungsaufnahme und vor allem elektromagnetischer Felder auf die Melatoninsekretion sind bisher noch nicht ausreichend beschrieben worden

Die neurale Regulation der Zirbeldrüse erfolgt mittels sympathischer Nervenfasern über das Ganglion cervicale craniale (ILLERNOVA, 1991). Die Informationsübertragung wird hauptsächlich von Noradrenalin über  $\beta$ -adrenerge und zu einem geringen Anteil auch  $\alpha$ -adrenerge Rezeptoren reguliert, wobei die  $\beta$ -adrenergen Rezeptoren die Synthese der N-acetyl-transferase über einen cAMP-abhängigen Mechanismus kontrollieren. Die Regulation des sympathischen Inputs erfolgt über den Nucleus suprachiasmaticus der Zellen des Nucleus paraventricularis innerviert (YANOVSKI et al., 1987).

Der Nucleus suprachiasmaticus ist als der entscheidende Rhythmusgeber (Schrittmacher, Oszillator) im Gehirn identifiziert worden. Er erhält visuelle Informationen über den retino-hypothalamischen Trakt (CASSONE et al., 1988) und transformiert diese Informationen in hormonelle Signale (BROWN, 1994).

Das Pinealhormon Melatonin wird während der Dunkelheit von der Zirbeldrüse sezerniert. Die Dauer der Sekretion von Melatonin entspricht der Dauer der Dunkelheit sowohl bei saisonal wie asaisonal östrischen Tieren und beim Menschen (UTIGER, 1992). Tagsüber, d.h. unter dem Einfluss von Licht, sind die Melatoninspiegel niedrig, nachts bei Dunkelheit hoch. Dieser circadiane Rhythmus des Melatonins ist für viele Tierarten und den Menschen beschrieben worden.

Die Wirkungen von Melatonin auf den Organismus und seine Einbindung in physiologische Regelkreise sind vielfältig. Sie umfassen vorwiegend die Modulation der Körpertemperatur, die Regulation des Energiestoffwechsels, Einfluss auf das Fortpflanzungsverhalten, Vermittlung photoperiodischer Informationen an den Fetus sowie Einbindung in den Alterungsprozess, Immunstimulation und das Abfangen freier Radikale.

Als biologische Uhr wird eine endogene Rhythmik bezeichnet, die physiologische Vorgänge, Verhaltensweisen und Hormonprofile steuert. Die endogenen Impulse, die im Rahmen der biologischen Rhythmik wirken, werden durch natürliche (z.B. Tageszeit, Jahreszeit) sowie haltungs- und managementbedingte (z.B. Fütterung, Entsorgung, Kontrollgänge) Zeitgeber synchronisiert. Im Zusammenspiel von endogenen Impulsen und äußeren Zeitgebern entwickeln sich definierte Rhythmen, nach denen sich Funktionsabläufe bei Tieren organisieren. Für die beiden wichtigsten biologischen Rhythmen, die Tagesrhythmik und die Jahresrhythmik, basieren die primären Zeitgeber auf den periodischen Veränderungen der Beleuchtungsbedingungen. Der Zeitgeber für die Tagesrhythmik ist der Licht/Dunkel-Wechsel, der Zeitgeber für die Jahresperiodik die Veränderung von Lichtbeginn und Lichtende im Jahresverlauf (MEHLHORN, 1981).

### **8.3 Melatonin beim Rind**

Auch beim Rind ist eine tageszeitabhängige Melatoninrhythmik im Plasma von Kühen und Kälbern sowie in der Milch nachweisbar. Die nächtlichen Mittelwerte liegen bei Milchkühen bei 197,7 pg/ml Plasma und 18,7 pg/ml Milch. Die Mittelwerte am Tag liegen bei 14,7 pg/ml Plasma und 1,9 pg/ml Milch. Ähnlich wie beim Menschen, sind auch beim Rind erhebliche Streuungen zwischen den einzelnen Individuen bekannt (BIRKLE, 1999).

KALAYCI (1999) beschreibt eine Leistungssteigerung der Milchproduktion um 5-16% bei einer Beleuchtungsdauer von täglich 16-18 Stunden (zwischen 100-300 Lux) gegenüber einer Beleuchtungsdauer von nur 13,5 Stunden oder weniger am Tag. Begründet wird diese Leistungssteigerung mit einer Unterdrückung der Melatoninbildung, die mit einer Erhöhung der Ausschüttung des Wachstumsfaktors (IGF-1) aus der Leber einhergeht. Die vermehrte Bildung von IGF-1 stellt ein hormonelles Signal dar und erhöht dadurch die Milchleistung. Jedoch rät der Autor von einer Dauerbeleuchtung ab, da dies zu einem Verlust der Tagesrhythmik führen und die Tiere nicht mehr hormonell stimuliert werden würden.

#### **8.4 Wirkung elektromagnetischer Strahlung**

Die seit vielen Jahren kontrovers geführte Diskussion über den Einfluss elektromagnetischer Felder auf den menschlichen und tierischen Organismus mündete, nach dem die Frage der thermischen Wirkung geklärt war, in die Frage nach dem Zusammenhang zwischen EMF und nichtthermischen Effekten. In der Literatur werden verschiedene Einflüsse elektromagnetischer Felder auf neuroendokrine Parameter diskutiert. Einer dieser Parameter ist Melatonin, dessen biologischer Rhythmus vorwiegend sowohl durch die Tag-Nacht- bzw. Hell-Dunkel-Rhythmik aber auch vermutlich durch die Lichtqualität und Lichtintensität bestimmt wird. Die Frage, die sich im Zusammenhang mit elektromagnetischen Feldern stellt, ist, inwieweit diese die physiologische Tag-Nacht-Rhythmik von Melatonin beeinflussen und welche Konsequenzen dies für den Organismus darstellt. In bisherigen Studien zum Einfluss elektromagnetischer Felder auf die Konzentration von Melatonin im Plasma und Speichel bei Mensch und Tier konnten keine einheitlichen Untersuchungsergebnisse erzielt werden (MANN et al., 1998).

##### *Wirkung von Licht als zu berücksichtigender Umweltfaktor*

Bei den Untersuchungen zur Suppression der nächtlichen Melatoninausschüttungen durch EMF ist auch immer Licht als Umweltfaktor zu berücksichtigen, da dies nachweislich zu einer akuten Erniedrigung der nächtlichen Melatoninlevel führt (STEVENS und DAVIS, 1996). Sowohl beim Menschen als auch beim Tier wird zur Aktivierung des endokrinen und circadianen Systems mehr Licht benötigt als für das visuelle System. Unter natürlichen Bedingungen kann die Melatoninrhythmik schon ab 2500 Lux verschoben bzw. die Produktion unterdrückt werden. In kontrollierten Versuchen waren sogar schon 5-17 Lux monochromatisches grünes Licht oder 100 Lux Weißlicht ausreichend, um signifikante Reduktionen der Melatoninproduktion hervorzurufen (BRAINARD et al., 1997).

Die Melatoninwerte können durch starke nächtliche Beleuchtung des Probanden akut unterdrückt werden. Zu berücksichtigen sind generell bei EMF-Versuchen bekannte Effekte von Licht auf die nächtliche Melatoninkonzentration bzw. Funktion der Zirbeldrüse, die relevant für mögliche gesundheitliche Langzeiteffekte sind:

- ▶ bei einer genügend hohen nächtlichen Lichtstärke, kann die Melatoninproduktion vollständig unterdrückt werden
- ▶ einige Menschen reagieren sensitiver auf Licht in der Nacht als andere
- ▶ blau-grünes Licht (ca. 500 nm) unterdrückt die Melatoninproduktion am ausgeprägtesten
- ▶ je stärker das einfallende Licht, desto höher ist die nächtliche Reduktion des zirkulierenden Melatonins
- ▶ die Lichtqualität des Tages scheint die nächtliche Melatoninproduktion zu beeinflussen
- ▶ Frauen scheinen sensitiver bezüglich Licht in der Nacht zu sein als Männer (STEVENS, 2000)

#### *Die Melatoninhypothese*

Eine der wichtigsten Funktionen des Melatonins sind die Wirkung als Antioxidans, d.h. die Fähigkeit, aus dem Stoffwechsel freie Radikale abzufangen oder zu binden. Melatonin schützt Rezeptorunabhängig die DNA vor oxidativem Schaden und führt damit zu einer Reduktion von Mutationen und verhindert daher indirekt die Entstehung von Krebs. Weiterhin hat Melatonin einen erwiesenen onkostatischen Effekt. Über spezifische Membranrezeptoren führt Melatonin zu einer Wachstumshemmung bereits existierender Tumore (REITER, 2000).

1987 stellte STEVENS die Hypothese auf, dass elektrisch-magnetische Felder das Risiko, an Brustkrebs zu erkranken erhöhen. Diese Hypothese basiert auf zahlreichen Experimenten, die zeigten, dass Licht und Frequenzen von elektrischen Feldern von 50 oder 60 Hz suppressiv auf die Melatoninproduktion der Zirbeldrüse wirken. Generell hat Melatonin einen suppressiven Effekt auf andere endokrine Drüsen. Eine reduzierte zirkulierende Melatoninkonzentration kann zu einer zunehmenden Produktion von Östrogen und Prolaktin führen und damit zu einer erhöhten Zellteilungsrate von Stammzellen des Brustepithels und somit zu einem erhöhten Risiko für maligne Transformationen (STEVENS, 1987).

In zahlreichen Experimenten wird versucht, den Nachweis einer tatsächlichen nächtlichen Melatoninsuppression durch elektromagnetische Felder zu erbringen und damit einhergehend einem erhöhten Risiko der Tumorbildung.

In einer Studie von LEE et al. (1993). wurde untersucht, ob elektrische und magnetische Felder von Hochspannungsleitungen (500 kV, elektrisches Feld 6 kV/m, magnetisches Feld 40 mG) die Sekretion

von Melatonin bei weiblichen Lämmern und das Einsetzen der Pubertät beeinflussen. Es konnte kein Einfluss sowohl auf die Melatoninproduktion als auf das Einsetzen der Pubertät festgestellt werden. Das charakteristische Melatoninmuster blieb trotz einer chronischen Exposition von 60-Hz Feldern erhalten. In einer weiteren Studie bei Wiederkäuern wurde die Speichel-Melatonin-Konzentration bei Rindern, die sich in der Nähe eines Kurzwellensenders (3-30 MHz) aufhielten, untersucht. Getestet wurde die Hypothese, ob die EMF-Exposition zu einer Erniedrigung des Speichelmelatonins führen würde, und, ob ein Abschalten des Senders wieder eine Erhöhung des nächtlichen Melatoninlevels bewirkt. Bei dem Versuch waren 5 Tiere exponiert und 5 Tiere dienten als Kontrolltiere. In der Nacht wurden alle 2 Stunden Speichelproben genommen. Während der 10-tägigen Probenahme wurde 3 Tage lang der Kurzwellensender abgestellt. In den ersten Tagen zeigte sich kein Unterschied der nächtlichen Melatoninkonzentrationen von Kontrolltieren und exponierten Tieren. Während der sechsten Nacht d. h. der ersten Nacht nach Wiederinbetriebnahme des Senders konnte ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Profilen vor und nach Inbetriebnahme des Senders von +3.89 pg beobachtet werden. Dies deutet auf eine akute Erholung nach einer Suppression des Melatonins auf Grund des Abschaltens des Senders und damit dem Wegfall der EMF hin (STARK, 1997).

Sechzehn trächtige und laktierende Kühe wurden einem elektrischen Feld von 10 kV/m und einem magnetischen Feld von 30  $\mu$ T ausgesetzt. Jeweils 8 Tiere wurden über 28 Tage EMF ausgesetzt, anschließend 28 Tage ohne EMF gehalten gefolgt von erneut 28 Tagen EMF. Parallel dazu wurden weitere 8 Tiere im gegenläufigen Rhythmus gehalten. Es konnte kein Unterschied der Melatoninkonzentrationen oder der 'Area under curve' festgestellt werden. Beachtenswert sind die sehr großen individuellen Unterschiede der nächtlichen Melatoninkonzentrationen, welche unter Umständen den EMF-Effekt überschreiben (BURCHARD et al., 1998).

Da sich Vögel oft in der Nähe von Hochspannungsleitungen aufhalten und Melatonin auch bei Vögeln physiologische Prozesse und das Fortpflanzungsverhalten bzw. die saisonale Reproduktion beeinflusst, tauchte die Frage auf, ob bei adulten Turmfalken elektromagnetische Felder die Melatoninrhythmik beeinflussen. Bei in Gefangenschaft gehaltenen männlichen Turmfalken kam es nach EMF-Exposition zu einer Suppression des Plasmamelatonins bis zum 42. Expositionstag im Vergleich zu einer Kontrollgruppe und anschließend einem Anstieg bis zum 70. Expositionstag. Elektromagnetische Felder führen bei männlichen Turmfalken zu einer saisonalen Phasenverschiebung des Melatoninprofils (FERNIE et al., 1999). In einer weiteren Studie mit weiblichen Turmfalken in Gefangenschaft unter EMF von Hochspannungsleitungen wurde zwar ein verändertes Verhalten im Sinne einer erhöhten Aktivität und Wachsamkeit bei der Brutpflege im Vergleich zu einer Kontrollgruppe beobachtet, aber keine Änderungen des Melatoninprofils (FERNIE et al., 2000).

Ratten, die elektromagnetischen Feldern von 60 Hz und 39 kV/m für 3 Wochen ausgesetzt waren, hatten eine reduzierte Aktivität der N-acetyltransferase in der Zirbeldrüse und verminderte Melatoninkonzentrationen im Vergleich zu einer Kontrollgruppe (WILSON et al., 1986).

Zu ähnlichen Ergebnissen kommen LERCHL et al. (1990), die Ratten einem geomagnetischen Feld von 20 bis 30  $\mu\text{T}$  für 30-60 Minuten während der Dunkelheit ausgesetzt haben. Die Tiere zeigten eine reduzierte N-acetyltransferase Aktivität und abnehmende Melatoninkonzentrationen in ihrer Zirbeldrüse 45 Minuten nach der Exposition. Nach ROSEN et al. (1998) unterdrücken elektromagnetische Felder (0,5 G, 60 Hz) bei Ratten die Norepinephrin-induzierte Produktion von Melatonin in den Pinealocyten der Zirbeldrüse. Auch YELLON (1994) konnte eine Hemmung der nächtlichen Melatoninausschüttung bei einem 0,1- $\mu\text{T}$ , 60Hz magnetischen Feld bei Hamstern beobachten.

In einer Studie am Menschen von KARASEK et al. (1998), bei der 12 Männer mit einem sehr niederfrequenten magnetischen Feld (2,9 mT, 40 Hz) für 3 Wochen 30 min pro Tag bestrahlt wurden, zeigte sich eine signifikante Depression des nächtlichen Melatoninanstiegs. JUUTILAINEN (2000) konnte bei Urinmessungen über das Melatoninabbauprodukt 6-Hydroxymelatonin-Sulfat nachweisen, das Fabrikarbeiterinnen, die einer ständigen geringen elektromagnetischen Feldexposition ausgesetzt sind, am Freitag eine geringere 6-Hydroxymelatonin-Sulfat-Konzentration aufwiesen als am Montag.

Im Gegensatz dazu führt ein 50 Hz/1- $\mu\text{T}$  EMF zwar zu einer reduzierten Totalschlafzeit und verminderter Schlafeffizienz beim Menschen, hat aber keinen Einfluss auf das zirkulierende Melatonin (AKERSTEDT et al., 1999). Auch in einer Studie von MANN et al. (1998), in der der Einfluss gepulster hochfrequenter elektromagnetischer Felder (900 MHz EMF, gepulst mit 217 Hz) auf das neuroendokrine System des Menschen untersucht wurde, konnte zwar ein leichter Anstieg der Cortisolkonzentration im Serum gleich nach Beginn der Exposition gemessen werden, aber keine signifikanten Änderungen der nächtlichen Melatoninprofile. Auch GRAHAM (2000) kann in seiner Studie die gängige Melatoninhypothese in Verbindung mit elektromagnetischen Feldern nicht unterstützen, jedoch hält er einen kumulativen Effekt der elektromagnetischen Felder auf die individuellen Melatoninwerte für möglich.

Gegenstand zahlreicher Untersuchungen ist weiterhin die mögliche Assoziation zwischen Melatonin und Krebs. Melatonin hat im Rahmen des immunologischen Geschehens vor allem zwei Aufgaben: Melatonin fängt direkt freie Radikale ab und fungiert somit als Antioxidans und schützt nukleare DNA vor oxidativem Schaden. Damit reduziert Melatonin die Inzidenz von Mutationen und die Wahrscheinlichkeit der Krebsentstehung. Die Eigenschaft Melatonins, freie Radikale abzufangen, scheint rezeptorunabhängig zu sein. Die zweite Aufgabe von Melatonin ist die membranrezeptorvermittelte Verhinderung des Weiterwachstums verschiedener, schon bereits

existierender Tumore. Einige der Mechanismen mit denen Melatonin das Krebswachstum verhindert sind bereits erforscht, wie z.B. die Hemmung der Fettsäureaufnahme von Krebszellen, die zum Überleben und Wachstum diesen Wachstumsfaktor benötigen (REITER, 2000; BARTSCH et al., 2000).

In zahlreichen Versuchen u. a. von LÖSCHER und MEVISSEN. (LÖSCHER et al., 1993; LÖSCHER et al., 1994; BAUM et al., 1995; MEVISSEN et al., 1996; LÖSCHER AND MEVISSEN, 1997; MEVISSEN et al., 1998; LÖSCHER und LIBURDY, 1998) wurde der Zusammenhang zwischen dem Einfluss elektromagnetischer Felder und der Tumorentstehung, insbesondere Brustkrebs bei Frauen ('Melatoninhypothese'), am Rattenmodell geprüft, mit zum Teil widersprüchlichen bzw. nicht wiederholbaren Ergebnissen.

In einer großen Versuchsserie mit weiblichen Sprague-Dawley Ratten (LÖSCHER und MEVISSEN, 1997) wurde bei verlängerter Exposition in einem 50 Hz magnetischen Feldes im  $\mu\text{T}$ -Bereich die nächtlichen Melatoninlevel im Plasma vermindert und die Aktivität der Ornithin-Decarboxylase im Brustgewebe erhöht. Weiterhin konnte eine vermehrte Entwicklung und Wachstum von Mammatumoren als Antwort auf eine Behandlung mit dem chemischen Carcinogen 7,12-dimethylbenz[a]anthracen (DMBA) nachgewiesen werden. LÖSCHER und MEVISSEN (1998) fanden eine gesteigerte Mammatumorrates bei weiblichen Ratten, welche durch eine Veränderung der nächtlichen Melatoninausschüttung nach Einfluss eines elektromagnetischen Feldes (100  $\mu\text{T}$ , 50 Hz) hervorgerufen wurde.

In weiteren Versuchen führten 100- $\mu\text{T}$ , 50 Hz Magnetische Felder bei Ratten zu keiner signifikanten Änderung des Melatoninspiegels in der Zirbeldrüse oder im Serum, unabhängig davon ob sie mit DMBA oder nicht behandelt wurden. In einem Versuch wurde sechs Stunden nach Einsetzen der Dunkelheit nach zweiwöchiger EMF-Bestrahlung ein signifikanter Abfall von Melatonin gemessen. Diese Ergebnisse konnten aber in erneuten Versuchen nicht wiederholt werden (LÖSCHER, 1998).

In weiteren Versuchen wurde der Einfluss von 50-Hz elektromagnetischen Felder mit verschiedenen niedrigen Flussdichten (1-100 mT) auf die Wahrscheinlichkeit der Entwicklung oder des Wachstums von Mammatumoren bei weiblichen Ratten im DMBA-Modell (7,12-dimethylbenz[a]anthracen) untersucht. Dieses chemische Karcinogen induziert palpierbare Tumore bei 40-60% der Kontrolltiere innerhalb von 3 Monaten nach der Applikation. Für die Magnetfeldexperimente wurden insgesamt 660 Ratten (in Gruppen von 36-99 Ratten) über insgesamt 13 Wochen ohne Unterbrechung 50 Hz Magnetfeldern mit vier verschiedenen Flussdichten ausgesetzt. Bereits 8 Wochen nach DMBA-Applikation zeigten die MF-Ratten signifikant mehr palpierbare Tumore als die Kontrolltiere. Diese Befunde traten in den Gruppen auf, die Flussdichten von 50 mT und 100 mT ausgesetzt waren. Keine Zunahme von palpierbaren Tumoren zeigte sich bei den Tieren unter 0.3-1mT-Versuchsbedingungen. Diese Versuche zeigen eine hochsignifikante Korrelation zwischen der Flussdichte und der Anzahl der makroskopisch sichtbaren Tumore (LÖSCHER, 2000).

## 9. Cortisol

### 9.1 Biochemie

Cortisol zählt zu den Glucocorticoiden und wird in der Nebennierenrinde gebildet, indem es durch Hydroxylierung aus Progesteron entsteht. Cortisol ist im Blut überwiegend an spezifische Glykoproteine, Transcortin und Albumin, gebunden. 10-15% sind frei und damit die physiologisch wichtigere Fraktion, da nur die freien Moleküle in die Zelle eindringen können und dort nach der Bindung an Rezeptoren ihre spezifische Wirkung entfalten können. Transcortin ist jedoch wie ein Puffer in der Lage, rasche Veränderungen im Blutcortisolspiegel auszugleichen und bewahrt das im Blut zirkulierende Cortisol vor einer allzu raschen Inaktivierung in der Leber (THUN und SCHWARTZ-PORSCHKE, 1994). Die Glucocorticoidkonzentration im Plasma der Haustiere ist von Tierart, Geschlecht, Alter, Fortpflanzungsstadium, Fütterung, Haltung und Abnahmetechnik abhängig (BAMBERG, 1987). In 24 Stunden werden 10 - 20 mg Cortisol gebildet, davon sind 5 - 25 µg/100 ml im Blut nachweisbar (BUDECKE, 1994). Bei Mensch, Schwein und Hund ist Cortisol, bei Kaninchen, Maus und Ratte das Corticosteron das vorwiegende Glucosteroid. Beim Wiederkäuer kommen Cortisol und Corticosteron etwa in gleichen Mengen vor, beim neugeborenen Kalb ist Cortisol das Hauptsekretionsprodukt, während Corticosteron erst ab dem 10. Lebenstag auftritt (BAMBERG, 1987).

### 9.2 Hormonelle Regulation und Metabolisierung

Die Nebennierenrinde kann keine große Menge an Steroidhormonen speichern. Daher wird die Sezernation in einem Regelkreis gesteuert. Sowohl Biosynthese als auch Sekretion der Corticosteroide wird durch das *Adrenocorticotrope Hormon* (ACTH) stimuliert. Durch die Sekretion des im Hypothalamus gebildeten *Corticotropin-releasing Hormon* (CRH) wird die Ausschüttung von ACTH im Hypophysenvorderlappen gefördert. In der Art eines negativen Rückkopplungsmechanismus wirkt ein Anstieg der Glucocorticoidkonzentration im Blut hemmend auf die CRH-Sekretion, während ein Abfall hingegen stimulierend wirkt. Die Tagesrhythmik des ACTH wird durch die Glucocorticoidkonzentration widerspiegelt. Morgens um 6<sup>00</sup> Uhr hat die Cortisolkonzentration ihr Maximum erreicht und fällt bis etwa 24<sup>00</sup> Uhr ab (THUN und SCHWARTZ-PORSCHKE, 1994). Nach ACTH-Injektion zeigen Rinder einen signifikanten Anstieg des Serumcortisols (FOX et al., 1981). Die Dosis scheint die Dauer der Cortisolseznation zu beeinflussen. Nach acht Stunden ist das Cortisol signifikant gegenüber dem Ausgangswert gefallen, wenn 250 I.E. ACTH intravenös gegeben werden. Nach zehn Stunden sind Basalwerte erreicht (PAAPE et al., 1974). Eine Stunde nach intravenöser Injektion von 40 I.E. ACTH werden Maximalwerte erreicht, drei Stunden später Basalwerte (TERMEULEN et al., 1981; ROBIA, 1998). Es besteht aber kein Zusammenhang zwischen der Dosis und den absoluten Maximalwerten. Offensichtlich sind die maximalen Cortisolkonzentrationen dosisunabhängig. Nach Injektion von 0,25

mg ACTH (= 40 I.E.) stieg die Cortisolkonzentration auf 58,4 nmol/l, nach Gabe der vierfachen Dosis auf 65,7 nmol/l (ROBIA, 1998).

Die Halbwertszeit von Cortisol im Blut beträgt weniger als 2 Stunden, nach Passage der Leber wird es vor allem (75%) in konjugierter Form als Glucuronid und Sulfatester mit Harn sowie mit dem Kot ausgeschieden. Ein geringer Teil wird auch über die Haut ausgeschieden. Cortisol wird auch mit der Abgabe von Milch und Speichel ausgeschieden (BUDECKE, 1994).

### **9.3 Cortisol beim Rind**

Cortisol wird beim Rind in wechselnder und schneller Folge in Schüben unterschiedlicher Höhe sezerniert. Es unterliegt einer hohen intraspezifischen Variabilität und weist einen circadianen Rhythmus auf. Charakteristisch ist ein steiler frühmorgendlicher Cortisolanstieg, der eng mit dem Licht-Dunkel-Wechsel korreliert, wohingegen der periphere Konzentrationsabfall flach ist. Auch bleibt beim geschlechtsreifen weiblichen Rind der circadiane Rhythmus trotz gesteigerter Cortisolsekretion während der Brunst erhalten (THUN, 1987).

### **9.4 Cortisol als Stressparameter**

Um eine Belastung in Haltungssystemen anzuzeigen, sind physiologisch-biochemische Parameter geeignet. Anhand der Werte und ihrer zeitlichen Einordnung ist genau feststellbar, in welchem Zusammenhang die Tiere wie auf ihre Umgebung reagieren (UNSHELM, 1991). SELYE (1951) beschreibt in seinem „Allgemeinen Adaptationssyndrom“ die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse als das zentrale Regulativ zur Beantwortung der Belastung, die entweder kompensiert werden kann oder zur Erschöpfung führt. Immer wiederkehrende Belastungen können zur Resistenz führen, die eine situationsspezifische Kompensation ermöglicht.

Die Qualität, Einwirkungsdauer und Belastungsfrequenz von Stressoren beeinflussen die Sezernation von Cortisol (KAUFMANN und THUN, 1998). Angebundene und strohlos gehaltene Schweine zeigen wenige Stunden nach ACTH-Gabe gegenüber Schweinen in Gruppenhaltung auf Stroh eine erhöhte Nebennierenrinden-Reaktion. Von BORELL und LADEWIG (1986) meinen, dass die Nebenniere hypertrophiert sei und somit erhöht sezerniert. Bullen reagieren nach einem Monat Aufenthalt in Anbindehaltung auf Teilspaltenboden auf eine ACTH-Injektion mit einer geringeren Cortisolausschüttung als die Kontrolle, die im Laufstall auf Stroh gehalten wird. Das heißt, dass sich die Nebenniere aufgrund der dauernden Immobilisation angepasst hat und auf neue Stressoren weniger empfindlich anspricht (LADEWIG und SMIDT, 1989). REDBO (1992) kann keinen Zusammenhang zwischen Serumcortisolkonzentration nach ACTH-Gabe und Stereotypen herstellen.

### **9.5 ACTH-Stimulationstest**

Der ACTH-Stimulationstest dient zur Feststellung einer geänderten Nebennierenrindenaktivität bei chronischen Belastungen. Die Behandlung der Tiere mit einer Standarddosis ACTH gleicht dem Einwirken eines akuten Stressors. Der Verlauf der Cortisolsekretion nach Injektion kann Aufschluss über das Stressgeschehen im Organismus geben.

Bei chronischen Belastungen ist von einer erhöhten Aktivität der Nebennierenrinde auszugehen. Daher reagiert der Organismus auf einen exogenen Stressor, oder simuliert als ACTH-Gabe, mit einer höheren peripheren Cortisolkonzentration gegenüber der Vorinjektionskonzentration, die auch länger anhält (von BORELL und LADEWIG, 1986; Redbo, 1992; Robia, 1998).

### **9.6 Cortisol im Speichel**

Die Messung des Speichelcortisols ist unabhängig von der Speichelflussrate. Die Glucocorticoide sind im Speichel nicht an Proteine gebunden und korrelieren signifikant positiv mit dem nicht gebundenen Cortisolanteil im Plasma (SCHÖNREITER et al., 1996). Die Cortisolmessung im Speichel ist einfach durchzuführen, und durch die nicht-invasive Maßnahme entsteht kein zusätzlicher Stress für das Tier (LEBELT et al., 1996).

### **III. Planung und Ablauf der Untersuchungen**

#### **Auswahl der Betriebe**

In der Gießener Arbeitsgruppe begannen die Vorarbeiten zur sog. Rinderstudie im Frühjahr 1998. In Hessen und Bayern wurden 19 Betriebe als Untersuchungsbetriebe gewonnen, im Laufe des Jahres erhöhte sich die Zahl auf 40 Betriebe, von denen letztendlich 38 (30\*) bis zum Ende der Studie verblieben. Die Betriebe wurden zu annähernd gleichen Anteilen von den Betreiberfirmen der Basisstationen, vom Bayerischen Ministerium für Landesentwicklung und Umweltschutz und von Haustierärzten benannt. Einige Betriebsinhaber baten von sich aus um die Einbeziehung in die Erhebungen.

#### **1. ARBEITSGRUPPE GIESSEN**

Zur Frage der nötigen Stichprobengröße in den Betrieben wurde grundsätzlich davon ausgegangen, dass der wirklich sichere Beweis, dass eine Krankheit in einem Bestand nicht vorkommt, insbesondere, wenn nur wenige Tiere betroffen sind, nur dann angetreten werden kann, wenn alle Tiere eines Bestandes untersucht sind. Diese Untersuchungsvariante schied aus Zeit- und Mittelgründen aus. Insgesamt kann bei der Fragestellung der Studie davon ausgegangen werden, dass alle Tiere eines Bestandes, möglicherweise zwar in geringfügig unterschiedlicher Intensität, betroffen sind (EBERLE 1997). Die Prävalenz von Veränderungen in den untersuchten Parameter muss in diesem Falle weit über 50% liegen.

Der notwendige Stichprobenumfang zum Nachweis von Krankheiten mit 95% Sicherheit bei einer Prävalenz von nur 50% beträgt in Betrieben mit 10 bis 30 Tieren 4 Tiere, in Beständen 40 bis unendlich vielen Tieren 5 Tiere. Bei 99% Sicherheit sind bei einer angenommenen Prävalenz von 50% 6 bzw. 7 Tiere zur Untersuchung notwendig. Der gewählte Stichprobenumfang in den Betrieben lag zwischen 1 und 14 Tieren, in der Regel zwischen 3 und 5 und genügt damit auf jeden Fall den epidemiologischen Anforderungen (CANNON, 1982).

Die Auswahl der letztlich in den Betrieben beprobten Tiere richtete sich einzig danach, dass die Tiere mit hoher Wahrscheinlichkeit die Dauer der Studie überleben sollten, also nicht an einer der Krankheiten litten, die zu den häufigen vorzeitigen Abgängen bei Milchkühen führen. Ferner wurden auf Wunsch der Besitzer keine Tiere beprobt, deren Kalbung in nächster Zeit bevorstand.

---

\* Münchner Arbeitsgruppe

Geplant war, mindestens eine Blutprobenentnahme in den Betrieben durchzuführen, ggfs. sollten zweite oder mehrfache Entnahmen erfolgen. In der Kontinuität der Studie sollten die Parameter, die klastogene Effekte aufzeigen und die klinisch-chemischen sowie hämatologischen Parameter untersucht werden. Erst nach Abschluss der gesamten Probenahme sollten die serologischen Untersuchungen durchgeführt werden. So begannen die Probenentnahmen im Oktober 1998 und endeten Anfang April 2000.

### *Laborarbeiten*

Die Probenahmen wurden jeweils an einem bestimmten Wochentag, in der Regel am Donnerstag, durchgeführt. Wegen der stringenten Bedingungen im zeitlichen Ablauf der genetischen Untersuchungen über 75 Stunden waren die Arbeitspläne für die jeweilige Woche damit fixiert.

An einem Beispiel soll der Verlauf verdeutlicht werden :

- ▶ Do., 14.5.99: Abfahrt 5.00 h,
  - ab etwa 10.00 h Probenahme und Untersuchungen in drei Betrieben,
  - Rückkehr etwa 21.30 h, Strecke 1079 km,
- ▶ Fr., 15.5.99: 9.30 h Ansetzen von Zellkulturen und Aufarbeitung der Blutproben,
- ▶ Sa., 16.5.99: 9.30 h Zugabe von Reagentien zu den Zellkulturen,
- ▶ Mo., 18.5.99: - 10.30 h weitere Zugabe von Reagentien zu den Kulturen,
  - 12.30 h Präparation der Kulturen,
- ▶ Mi., 20.5.99: Färbeprozedur der aus den Zellkulturen erstellten Präparationen.

Der für die Laborarbeiten eigentlich vorgesehene Zeitplan, der einen Abschluss im Sommer 2000 vorsah, konnte bei weitem nicht eingehalten werden. Dafür waren im wesentlichen zwei Gründe verantwortlich:

1. eine nicht zu erwartende große Zahl von Milchkühen mit Blutbildveränderungen, die nur mit einem mehrfachen Zeitaufwand bei Präparation und Untersuchung zu lösen war.
2. der Störfaktor BVD machte zahlreiche Folgeuntersuchungen notwendig (z.B. Gegenproben in anderen Instituten).

## **2. ARBEITSGRUPPE MÜNCHEN**

Auf Grund der Gesamtmethodik und zur Standardisierung der Versuchsbedingungen wurden alle Betriebe mit Anbindehaltung untersucht (n=30) und Betriebe mit Laufstallhaltung nicht berücksichtigt.

Nach gründlicher Vorbereitung und Einarbeitung in die Thematik sowie Bereitstellung aller notwendigen Hilfsmittel (Videoanlagen, mobile Laboreinrichtung, Wohnmobil) konnte im April 1999 der erste Betrieb besucht werden (Nr. 27). Ein Jahr später fand der letzte Betriebsbesuch statt (Wasserprobenahme) (Tab. III.2.1).

Alle Betriebe wurden prinzipiell nach folgendem Schema besucht: Am ersten Tag wurde auf Betrieb A die Videokamera installiert, die über 48 Stunden das Verhalten der Tiere im Stall aufzeichnete. Parallel dazu wurden auf Betrieb B über die gleichen zwei Tage Speichelproben zur Melatoninbestimmung entnommen, der Stallbau und das Stallklima untersucht sowie der Tierhalter befragt. Nach Ablauf der zwei Tage wurde auf Betrieb B eine Kamera installiert und auf A die Vor-Ort-Untersuchungen durchgeführt. Auf diese Weise konnten innerhalb einer Woche zwei Betriebe vollständig untersucht oder in kurzen Wochen (Unterbrechung durch Feiertage) die Hälfte des Programms absolviert werden. In Bayern wurden zusätzlich 17 Betriebe wegen des ACTH-Stimulationstests sowie einer Futterprobe, zehn wegen einer Wasserprobe, neun wegen einer Luftkeimuntersuchung und acht wegen der Weidebeobachtung angefahren. Diese Probenahmen waren einerseits zu aufwändig (ACTH-Stimulationstest, Weidebeobachtung) oder das Probenmaterial verderblich, um in den Zweitagesbesuch integriert werden zu können. Daher wurden diese Untersuchungen einzeln, aber meistens in einem Block, durchgeführt.

Im Untersuchungszeitraum wurden insgesamt 25176 Kilometer zurückgelegt. Trotz des umfangreichen Pensums und der methodischen Vorgaben war ein sehr effizientes Arbeiten möglich, dass auch Terminvorgaben der Tierhalter berücksichtigen konnte und die Ressourcen (Personal, Fahrzeug, Equipment) sparsam einsetzte.

Im Institut für Tierhygiene, Verhaltenskunde und Tierschutz wurden parallel zur Felduntersuchung nach entsprechendem Probenaufkommen die umfangreichen Laboruntersuchungen eingeleitet. Dabei erwies sich die geblockte Entnahme der Luftkeim- und Wasserproben als vorteilhaft. Das Videomaterial konnte zum Teil bereits im Feld ausgewertet werden.

Die Datenerfassung war generell als Blindstudie angelegt. Die exakte Exposition und der Rangplatz nach WUSCHEK (1999) waren dem Untersucher nicht bekannt. Bei der Parameterauswahl wurde berücksichtigt, dass eine Auswertung nach Versuch und Kontrolle möglich wird und, dass Faktoren, die das Ergebnis beeinflussen, miterfasst werden. Damit entsprach die Versuchsanlage den Vorgaben von ANDERSON und PHILLIPS (1985).

**Tabelle III.2.1:** Datum der einzelnen Untersuchungen

Betrieb Nr.	Stallbau Stallklima	Melatoninproben	Stallbeobachtung	Weidebeobachtung	ACTH-Test	Luftkeim Unters.	Futterprobe	Wasserprobe
	HESSEN							
1	18.05.99	17.-19.5.99	25.-27.5.99			27.05.99	27.05.99	
2*	20.05.99	19.-21.5.99	17.-19.5.99			27.05.99	27.05.99	
3	26.05.99	25.-27.5.99	17.-19.5.99			27.05.99	27.05.99	
4	20.07.99	19.-21.7.99	18.-20.01.00					
8	10.12.99	8.-10.12.99	24.-26.01.00					
9	21.12.99	20.-22.12.99	15.-17.12.99					
10	16.12.99	15.-17.12.99	13.-15.12.99					
11	14.12.99	13.-15.12.99	15.-17.12.99					
14	27.01.00	26.-28.01.00	21.-23.01.00	14./15.10.99				
15*	18.01.00	17.-19.01.00	19.-21.01.00	5./6.10.99				
16	20.01.00	19.-21.01.00	21.-23.01.00	7./8.10.99				
17	25.01.00	24.-26.01.00	26.-28.01.00	12./13.10.99				
	BAYERN							
18	13.07.99	12.-14.7.99	19.-21.7.99		07.04.00		06.04.00	
19*	08.07.99	7.-9.7.99	19.-21.7.99					
22	19.10.99	18.-20.10.99	5.-7.4.00		05.04.00		06.04.00	
23	22.07.99	21.-23.7.99	30.3.-2.4.99		11.02.00		06.04.00	
24	01.06.99	31.5.-2.6.99	3.-5.5.99	16./17.9.99	09.11.99	27.10.99	22.03.00	12.04.00
25	10.06.99	9.-11.6.99	3.-5.5.99		10.11.99	27.10.99	22.03.00	12.04.00
26	20.04.99	19.-21.4.99	12.-14.4.00		18.02.00	27.10.99	22.02.00	12.04.00
27	07.04.99	6.-8.4.99	19.-21.4.99		16.03.00	07.04.99	08.04.99	12.04.00
27						29.10.99		
28	04.05.99	3.-5.5.99	19.-21.4.99		30.03.00	29.10.99	30.03.00	12.04.00
29	11.05.99	10.-12.5.99	3.-5.5.99		11.11.99		22.03.00	12.04.00
30	11.01.00	10.-12.1.00	12.-14.01.00	27.9./1.10.99	06.03.00		20.03.00	
31	15.07.99	14.-16.7.99	12.-14.7.99		13.03.00		06.04.00	
32	27.10.98	5.-7.5.99	10.-12.5.99	20./21.9.99	15.03.00	27.10.98	22.03.00	12.04.00
33	07.07.99	6.-8.7.99	12.-14.7.99		21.03.00		21.03.00	
34	06.05.99	5.-7.5.99	10.-12.5.99		08.11.00	29.10.99	22.03.00	12.04.00
35	08.06.99	7.-9.6.99	6.-8.4.99		02.03.00	27.10.99	27.10.99	12.04.00
36	22.04.99	21.-23.4.99	19.-21.4.99		22.02.00	29.10.99	22.02.00	12.04.00
37*	13.01.00	12.-14.01.00	10.-12.1.00	10./13.9.99	23.02.00		20.03.00	

\*Die Betriebe Nr. 2 und Nr. 19 halten seit dem 01.01.2000 keine Tiere mehr, und die Betriebe Nr. 15 und 37 haben am 31.03.2000 die Tierhaltung aufgegeben.

## **IV. Angewandte wissenschaftliche und technische Methoden**

### **1. ARBEITSGRUPPE GIESSEN**

#### **1.1 Betriebsspiegel**

An der Studie nahmen 38 Betriebe teil. Während des Verlaufs der Untersuchungen gab es nur eine minimale Fluktuation unter den Untersuchungsbetrieben. Zwei Betriebe von den ursprünglich 40 schieden auf Grund interner Probleme aus. Der eine wegen „Nichthandhabbarkeit“ der Tiere (Mutterkühe im Laufstall mit Tiefstreu, die nur mit komplizierter Fangtechnik und Zwangsmaßnahmen zu untersuchen gewesen wären), der andere Betrieb, ein moderner Laufstall mit 270 Kühen, wegen einer chronischen Intoxikation infolge verdorbener Futtermittel.

Im Rahmen einer Fragebogenaktion zu Beginn der Studie wurden Betriebskenndaten erhoben. Im Einzelnen sind die Daten im Anhang tabellarisch aufgeführt.

#### **1.2 Probanden**

Die 138 besonders untersuchten Tiere gehören den Rassen Deutsches Fleckvieh (DFV), Deutsche Rotbunte (DRB), Deutsche Schwarzbunte (DSB), Braunvieh (BV), Rotes Höhenvieh (RV), Jersey und Blonde d'Aquitaine an. Über die Rassenverteilung der Probanden gibt Tabelle IV.1.1 Auskunft.

**Tabelle IV.1.1:** Rassenverteilung der Probanden

<b>Rasse</b>	<b>n</b>	<b>%-Anteil</b>	<b>%-Anteil am Rinderbestand in Deutschland</b>
<b>Fleckvieh</b>	72	52	34
<b>Rotbunte</b>	34	25	10,5
<b>Schwarzbunte</b>	16	12	42
<b>Braunvieh</b>	12	8	10,5
<b>Diverse Rassen</b>	4	3	3

Das mittlere Alter der Probanden beträgt  $4,28 \pm 1,16$  Jahre.

**Tabelle IV.1.2:** Altersverteilung der Probanden

Lebensjahre	n	%
2	1	0,7
3	37	26,8
4	50	36,2
5	30	21,7
6	14	10,1
7 und älter	6	4,3

Innerhalb der Rassen findet sich die in Tabelle IV.1.3 ausgewiesene Altersverteilung.

**Tabelle IV.1.3:** Altersverteilung innerhalb der Rassen

Rasse	n	x	s	min	Max
Alle	138	4,28	1,16	2	8
Fleckvieh	72	4,5	1,16	3	7
Rotbunte	34	4,0	1,09	3	8
Schwarzbunte	16	3,68	1,14	2	6
Braunvieh	12	4,33	0,89	4	6
Diverse	4	5,25	1,26	4	7

In der Varianzanalyse sind die Altersunterschiede zwischen den Rassen signifikant ( $p=0.0237$ ), im Einzelvergleich der Gruppen Fleckvieh, Rotbunte, Schwarzbunte und Braunvieh nicht ( $p>0,05$ ). Von Interesse sind auch mögliche Einflüsse von Alter und Rasse auf die Parameter in den Gruppen. Weitere Information über Alter und Rassenverteilung in den Gruppen gibt Tabelle IV.1.4.

**Tabelle IV.1.4:** Alter und Rassen in den Gruppen

Gruppe	n	Alter	FV	RB	SB	BV	Div
A	40	4,25 ± 1,21	27	7	1	4	1
B	34	4,67 ± 1,17	22	0	3	8	1
C	14	4,43 ± 1,09	11	3	0	0	0
D	50	4,00 ± 1,07	12	24	12	0	2
total	138	4,28 ± 1,16	72	34	16	12	4

Unterschiede zwischen Mittelwerten der Alter der Gruppen bestehen nicht.

Entscheidendes Kriterium für die Aufnahme der jeweiligen Tiere in die Untersuchungen war, dass die Tiere voraussichtlich für die Dauer der Untersuchungen verfügbar waren, d.h. nicht an einer der Erkrankungen litten, die zu den häufigsten vorzeitigen Abgangsursachen der Milchkühe zählen. Dies sind rezidivierende Erkrankungen der Milchdrüse, der Klauen und Sterilitäten. Klassische Infektionskrankheiten spielen heute ebenso wie die natürlichen Ursachen (Alter, Leistung und Melkbarkeit) nur noch eine untergeordnete Rolle bei den Abgängen. Tatsächlich waren bis zum Ende der Untersuchungen etwa zehn Tiere durch Verkauf, Tod durch Erkrankung und Unfall ausgeschieden.

### **1.3 Klinische Untersuchungen**

Der Ablauf der Besuche zur Probengewinnung in den Betrieben erfolgte nach einem festgelegten Schema. Zunächst wurde der Kuhbestand insgesamt adspektorisch untersucht. Sensorium, Hautoberfläche, Geruch, Klauen, Gelenke und das Euter gaben Hinweise auf den allgemeinen Gesundheits-, Ernährungs- und Pflegezustand der Tiere in den Betrieben.

Hiernach erfolgte die eingehende spezielle Untersuchung der ausgewählten Probanden, deren Identität anhand von Ohrmarken und Stallnummern sowie Namen dokumentiert wurde. Die Untersuchung erstreckte sich auf die Auskultation von Herz, Lunge und Verdauungsapparat sowie Ermittlung der Rektaltemperatur. Dann wurde eine rektale Untersuchung des Reproduktionstraktes und der linken Niere durchgeführt. Schließlich wurde die Vaginalschleimhaut der Tiere auf Anzeichen insbesondere von Herpesinfektionen untersucht.

Dann wurden die Tiere für die umfängliche Blutentnahme zumeist am Freßgitter ausgebunden. Dies war notwendig, um eine sichere Fixation zu gewährleisten und somit eine Gefährdung des Entnehmenden, der sich in der Regel in die Trogrinne unter den Hals der Kuh begeben musste, weitgehend auszuschließen. An den Hals der Tiere wurde sodann die Blutstauzange nach Schecker angelegt.

Um eine bakterielle Kontamination vor allem der Blutproben für die genetischen Untersuchungen zu verhindern, wurde die Haut im Bereich der hervortretenden Vv.jugulares gereinigt und mit einem propanolhaltigen Desinfektionsmittel völlig benetzt. Hiernach erfolgte die Punktion der Vena jugularis mittels einer Flügelkanüle im Kaliber 2,0 x 60. Dabei wurde darauf geachtet, dass das Blut im freien Strahl aus der Vene hervortrat.

Das Blut wurde dann in festgelegter Reihenfolge in Heparin-Monovetten®, NaF-Monovetten®, K-EDTA-Monovetten® und Serum-Gel-Monovetten® aspiriert. Nach der Entnahme wurden die Blutproben gekennzeichnet und zum Weitertransport kühl gelagert. Die Weiterverarbeitung der Blutproben erfolgte am nächsten Tag im Labor.

#### **1.4 Laboruntersuchungen**

Die in Monovetten kühl aufbewahrten Blutproben wurden an dem der Probenahme folgenden Kalendertag weiterverarbeitet.

Im einzelnen wurden Serum und Plasma für klinisch-chemische, genetische und serologische Untersuchungen durch Zentrifugation gewonnen. Die klinisch-hämatologischen Parameter wurden aus EDTA-Vollblut erhoben. Blutausstriche wurden aus heparinisierten Vollblutproben hergestellt. Ebenso wurden die Blutzellkulturen mit heparinisiertem Vollblut angesetzt.

##### **1.4.1 Klinisch-chemische Untersuchungen**

Untersucht wurden die folgenden tabellarisch aufgeführten Enzyme, Substrate und Elemente. Die Tabelle IV.1.5 zeigt Parameter, Untersuchungsmethoden und klinische Relevanz der Messgrößen.

##### **1.4.2 Klinisch-hämatologische Untersuchungen**

Zur Erstellung des sog. "Großen Blutbildes" wurden die Erythrozytenzahl, der Hämatokrit, der Hämoglobingehalt und die Leukozytenzahl ermittelt, ferner wurde ein Differentialblutbild erstellt.

Die Parameter wurden in voll- bzw. halbautomatischen Zähl- und Messeinheiten bei der Firma LABOKLIN (Labor für klinische Diagnostik GmbH, Bad Kissingen) erhoben.

**Tabelle IV.1.5:** Untersuchte Enzyme, Substrate und Elemente

<b>Parameter</b>	<b>Untersuchungs- methode</b>	<b>Relevanz</b>
AP	Fotometrie	Knochenstoffwechsel
AST	"	Leberfunktion
GLDH	"	Lebererkrankungen
Bilirubin	"	Leberfunktion
Urea	"	Eiweißstoffwechsel, Proteinversorgung
Kreatinin	"	Nierenfunktion
Cholesterin	"	Steroidsynthese, Energieversorgung
Triglyceride	"	Lipidstoffwechsel, Energieversorgung
Glucose	"	Glucosestoffwechsel, Energieversorgung
β-Carotin	Colorimetrie	Fruchtbarkeit
Calcium	AAS	Calciumstoffwechsel
Phosphor	Fotometrie	Phosphorstoffwechsel
Magnesium	AAS	Tetanien, chronische Darmerkrankungen
Eisen	AAS	Blutbildung, Tumoren, Parasitosen, Avitaminosen
Kupfer	AAS	Fruchtbarkeit
Zink	AAS	Haut, Fruchtbarkeit
Selen	AAS	Muskelstoffwechsel
Eiweiß	Fotometrie	Entzündungen
Albumin	"	Flüssigkeitshaushalt, Hepatopathien
α-Globulin	Elektrophorese	körper eigene Abwehr
β-Globulin	"	Transportfunktionen

### 1.4.3 Untersuchungen an Chromosomen, Schwesterchromatidaustausche (SCE)

Zur Darstellung des SCE-Phänomens in Metaphasenchromosomen mußten zunächst aus den steril entnommenen Heparinblutproben Zellkulturen angelegt werden.

Dazu wurden am Tag nach der Blutprobenentnahme die Proben resuspendiert und 2 ml Vollblut weiter bearbeitet. Das Verfahren wurde bis zur Präparation unter Sterilbedingungen durchgeführt, um eine bakterielle Kontamination der Kulturen auszuschließen. Die Weiterbearbeitung erfolgte nach einem strengen Zeitplan, der für die Ausbeute an analysierbaren Metaphasen von entscheidender Bedeutung war.

Pro Tier wurden aus Sicherheitsgründen drei Zellkulturen angelegt. Die Kulturflüssigkeit besteht aus jeweils

- 8 ml RPMI-Medium
  - 1,5 ml fetalem Kälberserum
  - 100 µl Penicillin-Streptomycin-Lösung
  - 100 µl Pokeweed,
- der jeweils 2 ml Vollblut zugefügt werden.

Nach 24 Stunden wurden jeweils 200 µl BUDR-Lösung (100 mg/100 ml H<sub>2</sub>O) zugegeben, nach 72 Stunden erfolgte die Zugabe von 200µl Colcemid, nach 75 Stunden die Präparation der Zellkulturen. Dazu wurden die Inhalte der Kulturflaschen in Zentrifugengläser gegeben und bei etwa 100g 20 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde abgesaugt, die Blutzellen in hypotoner 0,075 m Kaliumchlorid-Lösung resuspendiert und bei 37°C 15 Minuten inkubiert. Nach erneuter Zentrifugation und Absaugen des Überstandes wurden die verbliebenen Zellen in einem eiskalten Eissessig-Methanol-Gemisch fixiert, mehrfach gewaschen und schließlich auf geeiste Objektträger aufgetropft.

Hiernach erfolgte eine mehrtägige Lufttrocknung.

Die Färbung der luftgetrockneten Präparate wurde mit dem Fluoreszenzfarbstoff 33258 (HOECHST Veterinär GmbH, Unterschleißheim) (10 mg/10 ml H<sub>2</sub>O, 5 Minuten) durchgeführt. Darauf wurden die Präparate in Leitungswasser 45 Minuten mit UV-Licht einer Wellenlänge von 360-380 nm bestrahlt. Anschließend folgte eine Behandlung in 2xSSC (Saline-Sodium-Citrat) bei 60 ° C über 50 Minuten. Schließlich wurden die Präparate in GIEMSA-Färbelösung (4 ml GIEMSA + 96 ml Sörensen-Phosphatpuffer, pH 6,8) 5 Minuten gefärbt, abgespült und getrocknet.

Nach der Trocknung erfolgte der Einschluss der Präparate in ein Einschlussharz, um Dauerpräparate zu erstellen.

Diese Präparate wurden unter dem Lichtmikroskop durchgemustert, etwa 100 Metaphasenplatten nach ihrem Zellteilungsstadium klassifiziert und etwa 30 Metaphasen der zweiten Zellteilung zur Auswertung der Schwesterchromatidaustausche fotografiert, wobei jede Diskontinuität der Färbung als SCE gezählt wurde. Später wurden zur Beschleunigung der Auswertung Digitalkamera und Scanner eingesetzt.

Ein Rind hat physiologisch zwischen 6.000 und 12.000 Leukozyten/ $\mu\text{l}$ . Davon sind mindestens 50% Lymphozyten (ca. 4500/ $\mu\text{l}$ ). Auf diese Zahlen und die dafür erforderliche Blutmenge sind die Methoden und Rezepturen der Zytogenetik ausgelegt. Darauf basieren auch die statistischen Vorgaben für die SCE-Auswertung, nämlich etwa 30 Metaphasen pro Probe zu fotografieren und die SCE dann pro Zelle auszuzählen und zu mitteln. Ähnliches gilt für die Metaphasen-Kinetik. Hier sollen etwa 100 MP pro Tier analysiert werden.

Erstaunlicherweise ergab sich bei den untersuchten Tieren das Problem, dass etwa die Hälfte von Ihnen die benötigte Zellzahl überhaupt nicht erreichten. Viele wiesen nur ein Drittel der Normalgehalte auf. Letztlich musste eine erheblich höhere Zahl von Zellkulturen, Präparationen und Ausstrichen angefertigt werden, um die gewünschte Anzahl von Daten zu erheben.

#### **1.4.4 Metaphasenkinetik**

Die Auswertung der Präparate für die Metaphasenkinetik ist mit der Auswertung der SCE's wie oben beschrieben verknüpft.

Etwa 100 Metaphasen wurden nach dem Stadium der Zellteilung klassifiziert und ausgezählt. Dabei sind die Metaphasen der ersten Zellteilung nach der BUDR-Zugabe völlig undifferenziert, die der zweiten Teilungsphase einheitlich differenziert und die der dritten Zellteilungsphase teilweise völlig ungefärbt oder nur eine Chromatide weist Färbung auf, oder die Chromatiden sind teilweise gefärbt.

#### **1.4.5 Mikronuklei in Erythrozyten**

Zur Durchführung des Mikronukleustestes mit peripheren Blut wurden Blutausstriche der jeweiligen Proben angefertigt. Nach mindestens eintägiger Lufttrocknung der Ausstriche erfolgte eine May-Grünwald-Giemsa-Färbung. Eine Untersuchung der Ausstriche wurde mit Hilfe eines halbautomatischen Bildanalyseverfahrens durchgeführt. Hierzu wurden die gefärbten Ausstriche mit Hilfe eines Lichtmikroskops bei 400facher Vergrößerung untersucht. Zuvor erfolgt eine Auswahl gut untersuchbarer Regionen des Präparates bei 100facher Vergrößerung. Danach wurde die ausgewählte Region des Ausstriches mäanderförmig abgefahren und fortlaufend 50 Objektfelder mit einer am Mikroskop installierten CCD-Kamera aufgenommen.

Der Stichprobenumfang betrug ca. 5000-8000 Erythrozyten pro Ausstrich bzw. Tier. Das unter dem Mikroskop sichtbare Bild wurde parallel auf einem Computerbildschirm des Bildanalyseystems mit Hilfe des SIS (Soft-Imaging-System) wiedergegeben. Das Bild wurde nach erfolgter Aufnahme, unter Angabe der Vergrößerung sowie des Tiercodes und der jeweiligen Bildzahl im Computer im TIF-Format gespeichert. Die Daten wurden durch das Brennen auf CD's gesichert. Die Auswertung der Aufnahmen erfolgte unter Verwendung eines Bildanalyseystems mit einem halbautomatischen Makro, welches eine Trennung und Detektion von Zellen sowie eine Ausgrenzung von Artefakten anhand festgelegter Parameter ermöglichte. Dieses System wählt die zu untersuchenden und statistisch erfassten Erythrozyten aus und kennzeichnet diese durch eine grüne Umrandung. Die gekennzeichneten Erythrozyten wurden dann durch den Untersuchenden auf das Vorhandensein von Mikronuklei kontrolliert.

#### **1.4.6 Serologische Untersuchungen**

Die serologischen Untersuchungen von Plasmen oder Seren der Milchkühe wurden von staatlichen Untersuchungseinrichtungen, insbesondere in der Veterinärabteilung des Staatlichen Medizinal-, Veterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamtes in Frankfurt/Main, und von Instituten der beteiligten Universitäten nach den dort üblichen Standardverfahren durchgeführt.

#### **1.4.7 Molekularbiologische Untersuchungen mittels Polymerasekettenreaktion (PCR)**

Zur Durchführung der molekularen Diagnostik wurden die im Institut für Veterinärpathologie, Fachgebiet Veterinärmedizinische Genetik und Zytogenetik der Uni Gießen routinemäßig eingesetzten Techniken durchgeführt.

Unter anderem kamen zur Blut- und Gewebeextraktion die NUCLEO SPIN VIRUS (No.740956.50) und C+T<sup>®</sup> (No.740952.50)-Kits (Firma Macherey und Nagel) zum Einsatz.

Die rt-PCR-Reaktion wurde mittels des Gene Amp Gold RNA PCR Core<sup>®</sup>-Kits (Firma PE-Biosystems) durchgeführt. Gegenproben wurden im Institut für Virologie der Universität bearbeitet.

#### **1.4.8 Statistik**

Die statistischen Auswertungen im Rahmen dieser Studie erfolgten auf PC mit Hilfe der Softwarepakete EXCEL (Office 2000), INSTAT, BMDPdynamic Ver.7 und SPSS für Windows Ver.10.00. Neben deskriptiven Standardprozeduren wie Berechnung von Mittelwerten, Standardabweichungen etc. wurden insbesondere lineare Modelle (Varianz- bzw. Kovarianzanalyse) eingesetzt. Das verwendete Modell lautete für die meisten abhängigen Größen:

$Y = C + BVD + \text{Rasse} + \text{Expositionsgruppe} + \text{Alter} + \text{Rest}$ , wobei Y die jeweilige Messgröße darstellt. Rasse, Expositionsgruppe und BVD wurden als fixe Faktoren, Alter als Covariate berücksichtigt. Die Messgrößen „Anzahl Mikronuklei“ und „Prozentualer Anteil M1-Metaphasen“ wurden logarithmisch transformiert (log<sub>10</sub>). Die Berücksichtigung der Exposition in Form der Gruppeneinteilung war durch das Ministerium vorgegeben. Die Autoren dieses Teils der Studie sind der Auffassung, daß eine Auswertung unter Einbeziehung der tatsächlich gemessenen Expositionswerte bzgl. GSM und UKW/TV anstelle der Gruppeneinteilung angemessener gewesen wäre.

Für die Auswertung binärer Zielvariablen wurde das logistische Regressionsmodell verwendet. Für den Test auf Anpassung an Normalverteilungen wurde der Kolmogorov-Smirnov Test eingesetzt. Das Signifikanzniveau beträgt (wenn nicht ausdrücklich anders erwähnt) 0.05. Für die Auswertungen wurden Tiere, die einer selten vertretenen Rasse angehören überall da, wo der Faktor Rasse berücksichtigt wurde ausgeschlossen.

## 2. ARBEITSGRUPPE MÜNCHEN

Die untersuchten Betriebe und die Tiere verteilen sich auf die Expositionsgruppen (WUSCHEK, 1999) entsprechend der Tabelle IV.2.1. An der Untersuchung Weidebeobachtung ist kein Betrieb der Gruppe C beteiligt. Der ACTH-Stimulationstest wird überwiegend auf Betrieben der Gruppen A und B durchgeführt.

**Tabelle IV.2.1:** Anzahl der Betriebe und Probanden pro Untersuchungsgruppe

		A*	B*	C*	D*	E+	K+	Ges. [n]
<b>Stall- beobachtung</b>	Betriebe	9	7	3	10	16	13	29
	Probanden	39	32	14	46	71	60	131
<b>Weide- beobachtung</b>	Betriebe	2	2	0	4	4	4	8
	Probanden	10	10	0	20	20	20	40
<b>ACTH- Test</b>	Betriebe	8	6	2	1	14	3	17
	Probanden	39	28	10	5	67	15	82

\* Vier-Gruppen-Einteilung + Zwei-Gruppen-Einteilung (nach WUSCHEK, 1999)

### 2.1 Betriebe allgemein, Stallklima, Stallbau

Auf allen Betrieben werden Daten zur Betriebscharakteristik und zum Stallklima sowie Stallbau mittels Checkliste (s. Abbildung IV.2.1-3) erhoben. Betriebsdaten werden vom Tierhalter direkt erfragt, das Stallklima wird jeweils um 11 Uhr gemessen, der Stallbau im Anschluss untersucht. Aufgrund der Daten wird eine Bewertung bezüglich der Mindestanforderungen pro Betrieb vorgenommen.

## Abb. IV.2.1: Checkliste allgemeine Bestandserfassung

Datum: \_\_\_\_\_ Autor: \_\_\_\_\_

Name des Besitzers:	Ort
Straße	Telefon
	Fax
Haustierarzt	
Vet.-amt	
	MLP#

Neubau / Altbau / umgebauter Altbau Hersteller Typbezeichnung  
 Betriebslegende (Alter d. Hofes, Familienbesitz, Umstrukturierung).....  
 .....  
 .....  
 .....

Impfstatus	
Antiparasitika	
Enthomung	
medikamentelles TS	
Klauenbehandl.	
andere Behandl.	
Entwesung	

**Aufstallung der Tiere > 2 Jahre.**<sup>\*</sup>

Stallhaltung	ganzjährig
Stalklima	Kalt / Warm
Anbindestall	Plätze
Boxenlaufstall	Liegeplätze
	Fressgitter / Fressliegeboxen - Anzahl
andere	
Tier:Frei&platz	

<sup>\*</sup> zutreffendes unterstreichen

**Sendeanlage(n):**

Anzahl	
äußere Beschreibung / Entfernung zum Betrieb	
weitere Änderungen in der Umgebung	

Fütterung	Leistung angepaßt/nicht angepaßt - ad lib/restruktiv
	automatisch - manuell
selbst	
Zukauf	
bewirtschaftete Fläche	Weide
	Acker
<b>Aufstallung der Tiere &lt; 2 Jahre</b>	

**Tiere:** Fehler! Textmarke nicht definiert.

Anzahl	weibl. > 2 Jahre	weibl. < 2 Jahre	weitere
Rassen			

**Besamung:** TA – Eigenbestandsb. – Techniker – Natursprung Bemerkung.....

**Brunstbeobachtung:**

wer \_\_\_\_\_

wie \_\_\_\_\_

**Jahresmilchleistung (gesamte Herde)<sup>\*\*\*</sup>:**

	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998
kg									
%Fett									
%Eiw.									

**allgemeines:** Fehler! Textmarke nicht definiert.

andere/zusätzliche Produktionsrichtungen \_\_\_\_\_

eigene Nachzucht/Zukauf	Haupterwerb/Nebenerwerb
andere Haus- und Hoftiere(exkl. Rinder) / Zweck	
Mitarbeiter	

<sup>\*\*\*</sup> Angaben gem. LKV

## Abb. IV.2.2: Checkliste problemorientierte Bestandserfassung

Betrieb:

Datum:

Autor:

### Problemorientierte Bestandserfassung:

#### Freie Beschreibung

---



---



---



---



---



---



---



---

#### Gesundheitsstatus:

		1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998
Tier- ver- luste	Totgeburten**									
	Aufzucht- verluste									
	Verluste während der Nutzungs- phase									
Frucht- barkeit	Kabungen <sup>1)</sup>									
	Geburts- störungen									
	Missbildungen									
	Frühgeburten									
	Zwilling/Mehring									
	ZKZ (Tage) <sup>2)</sup> Fehler! Textmarke nicht definiert.									
	Rastzeit (Tage) <sup>2)</sup> Fehler! Textmarke nicht definiert.									
	NRR (%) <sup>2)</sup> Fehler! Textmarke nicht definiert.									

#### Symptome:

Beginn d. Problematik	Anzahl betroffener Tiere	beobachtete Symptome / Verhaltensauffälligkeiten

**Abb. IV.2.3:** Checkliste stallbauliche Einrichtung/Anbindehaltung

<b>Standmaße und Begrenzungen:</b>	
Standbreite	cm
Liegelänge	cm
Seitenabtrennung:	
horizontale Begrenzung über Liegefläche	cm
vertikale Begrenzung vor Standende	cm
<b>Entmistung:</b>	
<b>Gitterrost:</b>	
Stabbreite	cm
Schlitzweite	cm
Kotstufe	
<b>Anbindung:</b>	
Art	
Horizontale Beweglichkeit in der Anbindung	
Unterer Fixationspunkt der Anbdg. versenkt	
<b>Abmessungen der Futterkrippe:</b>	
Trogsohle über Standniveau	cm
Krippenwandhöhe	cm
Krippenwand tiereseitig stabil/elastisch	
Freisplatzbreite	cm
Krippentiefe	cm
<b>Tränke:</b>	
Schale flach Durchmesser	cm
andere	
Durchfluß	l/min
Befestigungshöhe (Schalenrand)	cm
Ventile leicht zu betätigen	
Tierzahl/Tränke	
<b>Bodenmaterial/Liegefläche:</b>	
Einstreu - Gummimatte - planbefestigt	
Trittsicherheit (+, ++, +++)	
<b>Kuhtrainer:</b>	
individuell einstellbar	
Betrieb mit	

\* bezogen auf Untersuchungsbereich

## 2.2 Stallhygiene

### 2.2.1 Luftkeime

Die mikrobiologische Untersuchung der Stallluft (Luftkeimbestimmung) erfolgt an einem Messpunkt im Stall (Stallmitte) auf Kopfhöhe der Tiere. Mittels des RCS-Luftkeimsammlers (Biotest-Hycon, Firma Biotest AG, Frankfurt/Main) wird die Luft aus einer Entfernung von mindestens 40 cm angesaugt. Hierbei handelt es sich um eine zentrifugale Impaktion, wobei die Keime quantitativ und schonend abgeschieden werden.

Die Grundlage stellt die Trägheitsabscheidung aus einem Luftstrom dar. Dabei wird Luft mit Hilfe eines Lüfterflügels, der sich im Zentrum eines Metallzylinders befindet, in das Gerät eingesaugt und die Aerosolteilchen des Luftstromes durch die Zentrifugalkraft auf die Oberfläche eines an der Zylinderinnenwand befestigten Nährbodens aufgeschleudert. Die im Luftvolumen befindlichen Keime sammeln sich in den eingelegten Nährböden. Das Gerät arbeitet mit einer mittleren Umdrehungszahl von 4096 Umdrehungen pro Minute. Dabei beträgt das Abscheidevolumen 40 l/min. Um eine zu dichte Keimbesiedlung zu verhindern, werden unterschiedliche Sammelzeiten für die verschiedenen Keimstreifen festgelegt.

▶ `GK-A`

Ansaugzeit 7,5 sec = 5 l Luft zur Bestimmung der Gesamtkeimzahl aerober und fakultativ anaerober Bakterien und Pilze (Caso-Agar)

▶ `My`

Ansaugzeit 60 sec = 40 l Luft zur Bestimmung der Anzahl von Hefen und Schimmelpilzen (Beimischung von rosa Bengal und Streptomycin zur Wachstumshemmung von Bakterien)

▶ `C`

Ansaugzeit 60 sec = 40 l Luft zur Bestimmung der Anzahl coliformer Bakterien (Beimischung von Neutralrot, Kristallviolett, Laktose und Gallesalz zur Hemmung grampositiver Keime)

Nach der Entnahme werden die Proben bis zur Auswertung kühl gelagert. Innerhalb von 12 Stunden erfolgt im mikrobiologischen Labor die Bebrütung der Keimstreifen `GK-A` und `C` 48 Stunden bei 37°C und die der `My`- Streifen 72 Stunden bei 27°C.

## Bestimmung der Keimzahl auf den Ursprungstreifen

Die Berechnung der Keimzahl erfolgt in Abhängigkeit von der Ansaugzeit des Luftkeimsammlers nach folgender Formel:

► GKA

7,5 sec Ansaugzeit (0,125 min) = 5 l Luft

$\text{KBE (kolonienbildende Einheiten)/m}^3 = (\text{KBE} \times 25) / 0,125$

► My + C

60 sec Ansaugzeit (1 min) = 40 l Luft

$\text{KBE/m}^3 = (\text{KBE} \times 25) / 1$

## Keimidentifizierung und Keimdifferenzierung

Die auf den Ursprungstreifen angezüchteten Keime werden nach Anzahl bestimmt und die makroskopisch identischen Kolonien jeweils zusammengefasst. Zur Identifizierung werden die Keime auf Caso- / Blut-Agar (Firma Merck, Darmstadt) 24 Stunden bei 37°C bebrütet und im Anschluss daran nach Gram gefärbt und beurteilt. Mischkulturen werden erneut auf Selektivnährböden überimpft und angezüchtet.

### *Differenzierung grampositiver Kokken*

Mikroskopisch reine und Katalase positive Kulturen werden mit Hilfe des api-Staph-Testsystems (ID 32) (Firma Bio Mérieux) identifiziert. Nach diesem System werden Keime der Genera Staphylococcus, Micrococcus, Aerococcus und Stomatococcus über ihre enzymatischen Reaktionen bestimmt. Die Streifen wurden nach 24-stündiger Bebrütung bei 37°C abgelesen.

Bei Katalase negativen Stämmen kommt das System api 20-Strep (Firma Bio Mérieux) zur Differenzierung von Streptokokken zur Anwendung. Die Streifen werden jeweils nach 6-stündiger und 24-stündiger Bebrütung bei 37°C abgelesen.

### *Differenzierung der coryneformen Keime*

Corynebakterien wachsen bei 37°C auf Columbiaagar mit Hammelblutzusatz (Firma Bio Mérieux). Es werden die Katalase- und Hämolyseeigenschaften überprüft. Die grampositiven kokkoiden Stäbchen werden mit dem api-Corynesystem identifiziert. Die Inkubation erfolgte für 24 Stunden bei 37°C.

### *Differenzierung gramnegativer Stäbchen*

Gramnegativen Stäbchen werden auf Gassnerplatten (Firma Merck, Darmstadt) abgeimpft und 24 Stunden bei 37°C bebrütet. Die gewachsenen Kolonien werden auf ihre Oxidaseeigenschaft getestet.

Oxidase- negative Kolonien werden mit dem api-20 E (Firma Bio Mérieux) differenziert, Oxidase-positive Kolonien hingegen werden mittels api 20-NE (Firma Bio Mérieux ) bestimmt. Die Inkubationszeit beträgt jeweils 24 Stunden bei 37°C.

#### *Differenzierung der Sprosspilze*

Keime, die auf dem 'My'-Streifen gewachsen sind, werden auf Sabouraud-2% Glucose-1% Maltose-Agar (Firma Merck, Darmstadt) bei 30°C in 24 Stunden angezüchtet. Die mikroskopisch als Sprosspilze zuzuordnenden Keime werden mittels ATB 32-C (Firma Bio Mérieux) weiter differenziert. Inkubiert wird bei 30°C. Eine Erstablesung erfolgt nach 24 Stunden, kontrolliert wird nach 48 und 72 Stunden.

#### *Differenzierung der Schimmelpilze*

Schimmelpilze werden auf Sabouraud-Glucose 2% (Firma Merck, Darmstadt) verbracht und zwei Tage bei 27°C und anschließend acht Tage bei 20°C bebrütet. Die gewachsenen Schimmelpilze werden zunächst makroskopisch verglichen. Zur weiteren Identifikation werden von den Kolonien Tesafilmpreparate mit Laktophenolblau angefertigt und mikroskopisch beurteilt.

#### *Funktionsprinzip der api-Systeme*

Bei den verwandten Systemen handelt es sich um standardisierte biochemische Reaktionen, die eine Identifizierung der Keime ermöglichen. Die in dehydrierter Form vorliegenden Reagenzien werden durch die Zugabe der Bakteriensuspension rehydriert. Nach der vorgeschriebenen Inkubationszeit lassen sich anhand der Farbumschläge bzw. Trübungsreaktionen Positiv- und Negativreaktionen ablesen und zu einem Zahlencode zusammenfassen. Die Identifizierung und Festlegung der Identifizierungswahrscheinlichkeit erfolgt mit Hilfe eines Computerprogramms des Herstellers. Zur Interpretation der Ergebnisse werden die vom Hersteller vorgegebenen Profile herangezogen, wobei zwei Indizes von Bedeutung sind.

► '%id' (Prozentwert der Identifizierung):

Er zeigt die relative Wahrscheinlichkeit der Identifikation des Profils im Vergleich zu den Taxa der Datenbank an.

► 'Index T':

Er drückt den typischen Charakter des Stammes innerhalb eines Taxons aus. Dieser Wert liegt zwischen 0 und 1 und zeigt die Anzahl der atypischen Reaktionen auf:

**Tabelle IV.2.2:** Indizes zur Interpretation der api-Systeme (Firma Bio Mérieux)

Identifikation	%id	T
ausgezeichnet	≥ 99,9	≥ 0,75
sehr gut	≥ 99,0	≥ 0,50
gut	≥ 90,0	≥ 0,25
akzeptabel	≥ 80,0	≥ 0,00

## 2.3 Wasserproben

### Mikrobiologische Untersuchung

Auf 10 bayerischen Betrieben werden Proben des Tränkwassers entnommen. Dazu wird der Entnahmehahn zuerst desinfiziert (Bacillol®, Bode Chemie, Hamburg) und anschließend abgeflammt, um mögliche Verunreinigungen von außen zu vermeiden. Bei der Entnahme läuft zunächst das Wasser ca. 5–10 min ab. Währenddessen wird eine Probe zur organoleptischen Prüfung entnommen. (In 6 Fällen wurde wegen einer möglichen Infektionsgefahr auf die Geschmacksprüfung verzichtet.) Anschließend werden 500 ml Wasser in sterilen Gefäßen aufgefangen und zum Transport bis zur Verarbeitung in Kühltaschen gelagert und anschließend bis zur chemischen Analyse im Kühlschrank bei 4°C gekühlt. Die Proben werden am gleichen Tag mikrobiologisch und einen Tag später chemisch im Labor des Instituts für Tierhygiene, Verhaltenskunde und Tierschutz untersucht. Die mikrobiologische Untersuchung des Trinkwassers erfolgt in Anlehnung an die Trinkwasser-Verordnung nach dem Oberflächenverfahren, indem die Gesamtkeimzahl mit Hilfe des Plate-Count-Agars in verschiedenen Verdünnungsstufen (1 ml, 0,1 ml und 0,01 ml) und bei unterschiedlichen Temperaturbereichen (37°C und 20°C) bestimmt wird. Unter Gesamtkeimzahl versteht man die Anzahl an kolonienbildenden Einheiten insgesamt, die unter definierten Bedingungen in einer bestimmten Menge Untersuchungsmaterial ermittelt wird. In der DEV (Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung, DIN 38411) wird die Gesamtkeimzahl als Kolonienzahl bezeichnet. Die Kolonienzahl ist als die Zahl der mit 6- bis 8-facher Lupenvergrößerung sichtbaren Kolonien definiert, die sich aus den in 1 ml des zu untersuchenden Wassers befindlichen Bakterien entwickeln. Außerdem werden jeweils 0,1 ml der Proben direkt auf je einem MacConkey-, Kanamycin-Äsculin-Azid-Agar und Blut-Agar (jeweils Firma Merck, Darmstadt) ausgespatelt und bei 37°C für 24 Stunden bebrütet.

Zur Erfassung von Escherichia coli und coliformen Keimen wird 1 ml Wasser in Laktose- Bouillon (Firma Merck, Darmstadt), welche ein Durham-Röhrchen enthält, gegeben und bei 36 °C bis 48 Stunden bebrütet. Bei Gas- bzw. Säurebildung erfolgt eine Abimpfung auf MacConkey- Agar.

Für den Nachweis von Fäkalstreptokokken wird zur Anreicherung eine Glucose-Bouillon (Firma Merck) verwendet und bei 37°C für 48 Stunden bebrütet und anschließend auf einem Kanamycin-Äsculin-Azid-Agar (Firma Merck) abgeimpft.

Außerdem wird eine doppelt konzentrierte 2 x 10 ml Clostridien-Differential- Bouillon (DRCM-Bouillon) (Firma Merck, Darmstadt) mit jeweils 10 ml Probe zum Nachweis für sulfitreduzierende sporenbildende Anaerobier (Clostridien) angesetzt, mit Paraffin überschichtet und zur Abtötung der aeroben Begleitflora für 10 Minuten auf 80°C erhitzt und anschließend bei 36°C für 48 Stunden bebrütet. Bei Erkennen von Wachstum (Trübung) erfolgt eine Abimpfung auf 2 Blut-Glucose-Agar-Platten (Firma Merck, Darmstadt), wovon eine aerob und die andere anaerob bei 37°C für 48 Stunden bebrütet wird.

Keimidentifizierung und -differenzierung erfolgt nach dem gleichen Prinzip, wie es bei der Luftkeimuntersuchung bereits beschrieben wurde.

### Chemische Untersuchung

Die semiquantitative, chemische Analyse des Wassers ermöglicht es, über den Nachweis von Indikatoren Verunreinigungen im Wasser (Nitrat, Ammonium, Nitrit und Phosphat) festzustellen. Durch die zusätzliche Bestimmung der Wasserhärte und des ph-Wertes erhält man ein gutes Bild von der Qualität und den Eigenschaften des untersuchten Wassers (s. Tab IV.2.3).

Die Untersuchung wird bei Raumtemperatur mit dem Testkit Aquanal® - Ökotest (Riedel-de Haen® Laborchemikalien, Seelze) durchgeführt.

**Tabelle IV.2.3:** Richt- und Grenzwerte für Trinkwasser

	<b>Richtzahl (mg/l)</b>	<b>Höchstkonzentration (mg/l)</b>
<b>Nitrat</b>	25	50
<b>Nitrit</b>	0	0,1
<b>Ammonium</b>	0,05	0,5
<b>Phosphat</b>	0,4	5
<b>PH</b>	6,5-9,5	

## **2.4. Verhalten**

### **2.4.1 Stallbeobachtung**

Es werden in jedem Stall 3 ( $n = 2$ ), 4 ( $n = 10$ ) oder 5 ( $n = 17$ ) nebeneinander aufgestallte Kühe mittels Video beobachtet. Die unterschiedliche Tierzahl ergibt sich aufgrund baulicher Gegebenheiten, die den Kamerastandort einschränken. Auf Betrieb Nr. 33 beschädigt Blitzschlag die Anlage, so dass die Aufnahme nicht verwertbar ist. Insgesamt können 696 Stunden Filmmaterial ausgewertet werden. Beobachtungen bei Dunkelheit werden durch schwache Beleuchtung ermöglicht. In 26 Ställen werden vorhandene Leuchtkörper genutzt (~50 Lux), die nur den Bereich der Probanden erhellen. In den drei übrigen Ställen ist eine begrenzte Ausleuchtung so nicht möglich, daher wird eine Lichterkette unter der Decke installiert (~30 Lux). Auf Betrieb Nr. 25 muss die Kamera hinter den Tieren postiert werden. Daher kann das Futteraufnahmeverhalten nicht beobachtet werden. Außerdem ist dort die Beleuchtung nicht ausreichend, um Tiere, die im Schatten stehen, zu beobachten.

Die Videobänder werden folgendermaßen analysiert: Mit einem visuellen Abtasten der Kühe (Scan-sampling) wird das Verhalten gemäß dem in Tabelle IV.2.4 dargestellten Ethogramm erfasst. Als Aufnahmemethode wird für das Normalverhalten ein Zeitintervall von 10 Minuten gewählt (Instantaneous sampling) (MARTIN und BATESON, 1993). Damit werden die Verhaltenskategorien sechsmal pro Stunde und 144 mal pro 24 Stunden erfasst und als Frequenz wiedergegeben.

Auffälliges Verhalten wird durch kontinuierliche Beobachtung erfasst und jedes Auftreten notiert.

Tabelle IV.2.4: Ethogramm zur Stallbeobachtung

<b>NORMALVERHALTEN</b>	
<b>Liegeverhalten</b>	Das Tier befindet sich in Brustbauch- oder Seitenlage. Es wird sowohl das Liegen insgesamt als auch die liegende Körperseite erfasst.*
<b>Stehverhalten</b>	Das Tier befindet sich in stehender Körperposition.
<b>Futteraufnahmeverhalten</b>	Das Tier erfasst vorgelegtes Futter mit dem Maul, kaut und schluckt ab oder nimmt Wasser aus der Tränkeschale auf.
<b>Aktivität</b>	Steh- und Futteraufnahmeverhalten zusammengefasst
<b>AUFFÄLLIGES VERHALTEN</b>	
<b>Kopf-zur-Seite-gewendet</b>	Das stehende Tier hält Kopf und Hals nach der Seite gebeugt, so dass die Blickrichtung im rechten Winkel zur Körperachse verläuft. Die Hornbasis ist soweit abgesenkt, dass der Nasenrücken senkrecht verläuft, der wiederum dem Nachbartier sehr nahe ist. Vor der Seitwärtsbewegung kann das Tier einige Schritte zurücktreten, den Kopf absenken und die Ohren nach hinten legen. Während der Haltung kann der Kopf geringgradig bewegt werden. Ohrenspiel und Lidschlag sind zu beobachten.
<b>Nasenlehnen</b>	Das stehende Tier presst mehr als 10 Sekunden den Bereich der Oberlippe und Nase auf die Krippenwand.
<b>Futterwerfen</b>	Das Tier nimmt Futter in das Maul, auf den Nasenrücken oder auf ein Horn und schleudert es nach oben und hinten.
<b>Fußscharren</b>	Das Tier zieht ein Vorder- oder Hinterbein schleifend mehrfach wiederholend über den Boden.
<b>pferdeartiges Aufstehen</b>	Das Tier streckt die Vordergliedmaßen aus der Liegeposition nach vorn und erhebt sich in der Vorderhand. Anschließend stellt sich das Tier in der Hinterhand auf.
<b>Futteraufnahme im Karpalstütz; Drängen in die Anbindung</b>	Das Tier nimmt das Futter auf, indem es sich auf die Vorderfußwurzel stützt oder sich auf dem Standplatz maximal nach vorwärts stellt und Kopf und Hals streckt.

\* Sechs Stallbeobachtungen wurden ohne Differenzierung der Liegeseite ausgewertet.

### 2.4.2 Weidebeobachtung

Acht der 30 untersuchten Betriebe halten die Kühe von April/Mai bis Oktober/November tagsüber zwischen den Melkzeiten auf der Weide. Dort werden die Tiere im September oder Oktober an zwei Tagen beobachtet. Auf einem Betrieb (Nr. 32) soll durch eine weitere Beobachtung (2) abgeklärt werden, ob die Position der Wasserquelle auf der Weide die Weidenutzung beeinflusst. Die Durchschnittstemperatur während der Beobachtung beträgt im September 18,4°C und im Oktober 9,5°C. Die Gruppierung nach der Exposition der Tiere entspricht auf der Weide der Stalleinteilung. Die Weide ist bei vier Betrieben unmittelbar am Hof gelegen. Bei den übrigen sind über 1 km Wegstrecke

vom Stall zur Weide zurückzulegen. 6 Betriebe erweitern die Grasefläche täglich (Portionsweide). 2 Betriebe würden die Tiere auf eine neue Koppel treiben, wenn die alte nicht mehr genügend Futter böte (Umtriebsweide). Während der Beobachtung werden die Weiden nicht gewechselt (Tab. IV.2.5).

**Tabelle IV.2.5:** Untersuchte Betriebe

Betriebs-Nr.	Wetter	Expos.*	Rassen**	Austrieb (Uhr)	Abtrieb (Uhr)	Lage der Weide	Art der Weide
14	12°C bedeckt	37/K/D	DRB	9 <sup>30</sup>	nach 16	entfernt	Portion
15	8°C bedeckt	36/K/D	DSB/ DFV	9 <sup>30</sup>	nach 16	entfernt	Umtrieb
16	8°C Schauer	33/K/D	DSB/DRB	9 <sup>30</sup>	nach 16	entfernt	Portion
17	10°C sonnig	30/K/D	DRB	8	nach 16	entfernt	Portion
24	19°C bedeckt	2/E/A	DFV	7 <sup>30</sup>	nach 16	am Hof	Umtrieb
30	14,5°C wechselnd	1/E/A	Braun- vieh	8 <sup>30</sup>	nach 16	am Hof	Portion
32	19,5°C trocken	15/E/B	DFV	6	15 <sup>20</sup>	am Hof	Portion
32 (2)	Trocken Temp?	15/E/B	DFV	8 <sup>30</sup>	15 <sup>40</sup>	am Hof	Portion
37	20,5°C trocken	18/E/B	Braun- vieh	6 <sup>30</sup>	nach 16	am Hof	Portion

\* nach WUSCHEK (1999) \*\*DSB: Rotbunt DSB: Schwarzbunt DFV: Deutsches Fleckvieh

Wasser wird über je eine Tränke bereitgestellt. Die Weiden sind in vier Fällen (Betriebs-Nr. 16, 24, 32, 37) durch einige am Rand stehende Bäume und Büsche strukturiert. Keine der Weiden hat einen Unterstand. Die Weidegatter, Tränkeeinrichtungen und Salzlecksteine befinden sich in allen Fällen im hofnahen Bereich. Neu portioniert wird immer im hofnahen Bereich.

Auf Betrieb Nr. 32 wird die Tränkeeinrichtung für eine zweite Beobachtung in den hofnahen Bereich der Weide verlagert.

Insgesamt werden 132 Kühe beobachtet. Die vier Rassen entsprechen der in den Regionen vorherrschend gehaltenen Rinderrassen. Auf drei Betrieben werden die Tiere nach der Melkzeit auf die Weide gebracht, auf den übrigen erst später. Auf Betrieb Nr. 32 kann nicht bis 16 Uhr beobachtet werden, da die Tiere vorher in den Stall geholt werden (Tab. IV.2.5).

**Tabelle IV.2.6:** Ethogramm zur Weidebeobachtung

<b>Liegeverhalten</b>	<p><u>Grundstellung</u> Das Tier liegt im Brustbereich auf der Sternalregion. Die Vorderbeine sind im Karpalgelenk untergeschlagen. Bauch und Becken liegen auf einer Körperseite, die Hinterbeine sind etwas zur Seite gestreckt. Der Kopf wird aufrecht getragen oder nach hinten auf den Brustkorb gelegt.</p> <p><u>gestreckte Stellung</u> Das Tier liegt in Grundstellung. Nur die Vorderbeine sind einzeln oder beide nach vorn gestreckt.</p> <p><u>Seitenlage</u> Das Tier liegt flach auf einer Körperseite.</p>
<b>Stehverhalten</b>	Das Tier steht auf der Weide. Es wird kein Futter aufgenommen. Wiederkauen kann beobachtet werden.
<b>Lokomotionsverhalten</b>	Das Tier bewegt sich über die Weide.
<b>Futteraufnahmeverhalten</b>	Das Tier grasst in stehender Körperhaltung oder nimmt Wasser an der Tränke auf.
<b>Wiederkauverhalten</b>	Das Tier zeigt mahlende Bewegungen der Kiefer ohne unmittelbar vorher Futter aufzunehmen. Dabei steht oder liegt es. Das Ende der Liegeperiode kann mit dem Ende der Wiederkauphase übereinstimmen.

Die Tiere werden zwischen 10 und 16 Uhr gemäß dem in Tabelle IV.2.6 aufgeführten Ethogramm auf der Weide beobachtet. Der Beobachter befindet sich zum Teil außerhalb oder innerhalb der Weide. Zwischen 12 und 12.30 Uhr und 14 und 14.30 Uhr wird nicht beobachtet und die Weide verlassen. Kontakt zu den Tieren wird immer vermieden. Die Beobachtungen werden auf Formblättern protokolliert.

Zum einen wird das Verhalten aller Tiere mit den Kategorien Liegen, Stehen, Lokomotion und Futteraufnahme alle 15 Minuten erfasst und als Frequenz wiedergegeben (Scan-sampling / Instantaneous sampling). Zusätzlich wird alle 30 Minuten der Aufenthaltsort der Kühe auf der Weide protokolliert. Dabei wird gemäß einer Skizze zwischen dem Hof naheliegenden Bereichen und dem Hof fernen unterschieden (Tab. IV.2.5). Zum anderen werden 5 Tiere des Bestandes willkürlich ausgewählt, zur individuellen Unterscheidung vor Austrieb markiert und dann direkt beobachtet (Focal sampling). Die Verhaltensweisen der Tiere werden gemäß dem Ethogramm kontinuierlich mit Frequenz und Dauer erfasst (Continuous recording). Außerdem werden die Wechsel im Liegeverhalten, das heißt zum Beispiel der Übergang von gestreckter zu Grundstellung und umgekehrt oder in die völlige Seitenlage jeweils getrennt für die rechte und linke Seite als Sequenz erfasst (MARTIN und BATESON, 1993).

### **2.4.3 Statistik der verhaltenskundlichen Daten**

Scan-sampling in Verbindung mit dem Instantaneous sampling ermöglicht das Erfassen von Zustandsverhaltensweisen, die nach ihrem Auftreten länger andauern. Es ist sehr wahrscheinlich, dass die Verhaltensweisen im Zeitintervall jeweils nicht ändern. Daher kann der Anteil der beobachteten Verhaltensweisen an den Gesamtbeobachtungen als Häufigkeit/Zeiteinheit (Frequenz) angegeben werden (MARTIN und BATESON, 1993). Mit der Dauerbeobachtung auf der Weide kann zusätzlich die Dauer und Sequenz angegeben werden.

Die Einzelwerte der Variablen aus allen Beobachtungstagen werden jeweils pro Betrieb zusammengefasst und gemittelt, so dass pro Betrieb und Variable ein Wert zur Verfügung steht. Der Gruppengröße (n) zur statistischen Berechnung liegt somit die jeweilige Betriebsanzahl pro Expositionsgruppe zugrunde. Für die erste Analyse werden die Betriebe anhand ihrer Exposition in zwei Gruppen - Exposition (E) und Kontrolle (K) – eingeteilt und mit dem t-Test verglichen. Für die weitere Auswertung werden die Betriebe in vier Gruppen A-D eingeteilt und die Mittelwerte zwischen den Gruppen A und D sowie B und D mit dem t-Test verglichen. Die Gruppeneinteilung entspricht den Vorgaben von WUSCHEK (1999). Sofern der F-Test signifikant und damit die Gleichheit der Varianzen nicht gegeben ist, werden die Daten transformiert und der t-Test wiederholt. Im Fall kleiner Stichprobenumfänge wird auch der t-Test angewandt und signifikante Ergebnisse werden als explorativ gewertet (PETRIE und WATSON, 1999).

Außerdem werden alle Parameter mit der GSM\*-Exposition korreliert. Die Exposition ist nach WUSCHEK (1999) als Summenexpositionsfaktor E\* bezüglich der zur Zeit gültigen Grenzwerte in ‰ angegeben. Die Tests werden jeweils einseitig durchgeführt. Das Signifikanzniveau wird auf  $p \leq 0,05$  festgelegt. Hochsignifikant sind Unterschiede mit  $p \leq 0,01$ .

## **2.5. Melatonin**

### **2.5.1 Melatoninbestimmung im Speichel**

#### *Allgemeines*

Zur Bestimmung von Melatonin im Speichel werden jeweils 5 Tiere, die nach dem Zufallsprinzip ausgesucht werden, von insgesamt 30 Milchbetrieben, über zwei Tage beprobt. Die erste Probenentnahme wird um 12<sup>00</sup> Uhr mittags entnommen. Der weitere Entnahmerhythmus folgt um 18<sup>00</sup>, 20<sup>00</sup> und 22<sup>00</sup> Uhr und endet am dritten Tag um 6<sup>00</sup> Uhr in der Früh. Zur Zeit der Speichelprobenentnahme wird auch eine Lichtmessung mittels eines Luxmeters 106 mit externem Kugelkopfphotometer (Firma PRC Krohmann GmbH) durchgeführt. Die nächtlichen Proben werden nur

---

\* Group Special Mobile (Europäischer Standard)

mit Hilfe einer Taschenlampe entnommen, um Fehler in der Bestimmung der Melatoninrhythmik durch nächtliches Einschalten der Beleuchtung zu vermeiden.

#### *Probenentnahme*

Zur Speichelgewinnung werden Salivetten (Fa. Sarstedt) ohne Zusatzstoffe verwendet. Die Proben werden direkt vor Ort in einer Tischkühlzentrifuge (Hettich EBA 12 R) bei 5000g/min zentrifugiert und bis zur weiteren Verarbeitung bei -20°C tiefgefroren.

#### *Radioimmunoassay Melatonin*

Verwendet wird ein Radioimmunoassay (RIA) der Firma IBL. Hierbei handelt es sich um einen direkt-RIA (ohne Extraktion), der auf einen gegen Melatonin gerichteten spezifischen Antiserum beruht. Dem zu untersuchenden Speichel wird eine definierte Menge radioaktiv markiertes Melatonin (Antigen, mit Jod-125 markiert) und das spezifische Antiserum (Melatonin Antiserum vom Kaninchen) zugesetzt und 36 - 48 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Während dieser Inkubationszeit konkurrieren das unmarkierte Antigen der Probe mit dem radioaktiv markierten Antigen um die Bindungsstellen am Antikörper. Nach Zugabe eines präzipitierenden Antiserums (anti Kaninchen-IgG Antiserum von der Ziege) und nachfolgender Zentrifugation wird das gebundene Antigen ausgefällt und der Überstand abgesaugt. Die Aktivität des Sediments wird im  $\gamma$ -Counter (Multi-Crystal Counter LB 2104, Berthold) gemessen und die Melatoninkonzentration der Speichelproben wird an der Standardkurve abgelesen.

Die einzelnen Arbeitsschritte sind in dem folgenden Pipettierschema ersichtlich:

	Standard	Kontrollen	Proben	Aqua dest.	Assay-Puffer	Tracer	Anti-serum		Präzipit. Antiserum	
<b>Tracer</b>						50 $\mu$ l		<b>Mischen 1 min x 1000 x g zentrifugieren 36-48 h bei Rt inkubieren, mit Alufolie abdecken</b>		<b>Mischen 15 min bei RT inkubieren 15 min x 3000 x g zentrifugieren, absaugen, messen</b>
<b>NSB</b>				500 $\mu$ l	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l			500 $\mu$ l	
<b>A (Bo)</b>	500 $\mu$ l				50 $\mu$ l	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l		500 $\mu$ l	
<b>B</b>	500 $\mu$ l				50 $\mu$ l	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l		500 $\mu$ l	
<b>C</b>	500 $\mu$ l				50 $\mu$ l	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l		500 $\mu$ l	
<b>D</b>	500 $\mu$ l				50 $\mu$ l	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l		500 $\mu$ l	
<b>E</b>	500 $\mu$ l				50 $\mu$ l	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l		500 $\mu$ l	
<b>F</b>	500 $\mu$ l				50 $\mu$ l	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l		500 $\mu$ l	
<b>G</b>	500 $\mu$ l				50 $\mu$ l	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l		500 $\mu$ l	
<b>Kontr. 1</b>		500 $\mu$ l			50 $\mu$ l	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l		500 $\mu$ l	
<b>Kontr. 2</b>		500 $\mu$ l			50 $\mu$ l	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l	500 $\mu$ l		
<b>Probe</b>			500 $\mu$ l		50 $\mu$ l	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l	500 $\mu$ l		

Die Speichelproben werden bei Zimmertemperatur auf einem Taumelrollenmischer RM 5 (Hecht-Assistent- Laborgeräte) aufgetaut und ohne weitere Vorbereitung in dem Assay eingesetzt.

Bei den vom Hersteller mitgelieferten Kontrollen handelt es sich um Humanspeichel mit niedriger Melatoninkonzentration (Kontrolle 1), Referenzbereich von 2,9-5,0 pg/ml (4,8 pg/ml), und mit hoher Melatoninkonzentration (Kontrolle 2), Referenzbereich von 44-69 pg/ml (52 pg/ml).

#### Assay-Charakteristika

- Sensitivität:** Die untere Nachweisgrenze des Assays liegt bei 1 pg Melatonin/ml Speichel
- Messbereich:** Der Messbereich liegt zwischen 1 pg und 320 pg Melatonin/ml Speichel
- Spezifität:** Die Spezifität des Assay beträgt laut Angaben des Herstellers für Melatonin 100%, für N-Acetylserotonin 0,8%, für 5-Methoxytryptophol 0,7%, für 5-Methoxytryptamin 0,08% und für alle übrigen Abbau- und Zwischenprodukte < 0,01%.
- Präzision:** Die Intra-Assay-Varianz (s. Tab. IV.2.7) wurde in 2 unterschiedlichen Speichelpools durch jeweils 10-fache Wiederholung bestimmt.

**Tabelle IV.2.7:** Intra-Assay-Varianz für Speichel

Probe	Mittelwert (pg/ml)	Standardabweichung (pg/ml)	Variationskoeffizient %
Speichelpool A	126,7	4,12	3,25
Speichelpool B	82,2	5,5	6,7

Die Inter-Assay-Varianz (s. Tab. IV.2.8) wurde in einem Speichelpool durch 18-fache Wiederholung bestimmt.

**Tabelle IV.2.8:** Inter-Assay-Varianz für Speichel

Probe	Mittelwert (pg/ml)	Standardabweichung (pg/ml)	Variationskoeffizient %
Speichelpool C	219,94	42,91	19,51

**Wiederfindung:** Der Speichelpool B wurde mit einer Melatoninlösung in unterschiedlichen Konzentrationen versetzt (pro Konzentration 10-fache Messung), gemessen und die zu erwartenden Werte mit den Ist-Werten verglichen zur Berechnung der Wiederfindung in Prozent.

**Tabelle IV.2.9:** Wiederfindung (%) nach eigenen Messungen im hohen Bereich (Speichel)

zugesetzte Konzentration (pg/ml)	Sollwert (pg/ml)	Istwert (pg/ml)	Wiederfindung (%)
0	--	82,2	--
20	102,2	112,7	110,3
40	122,2	190,4	155,8
60	142,2	208,2	146,4
80	162,2	223,3	137,7
100	182,2	278,3	152,7

**Tabelle IV.2.10:** Wiederfindung (%) nach eigenen Messungen im niedrigen Bereich (Speichel)

zugesetzte Konzentration (pg/ml)	Sollwert (pg/ml)	Istwert (pg/ml)	Wiederfindung (%)
0	--	33,9	--
5	38,9	40,2	103,3
10	43,9	49,4	112,5
15	48,9	58,4	119,4
20	53,9	69,7	129,3

Verdünnungslinearität: Zur Bestimmung der Linearität der Verdünnungen wurde ein Speichelpool zu 75%, 50% und 25% mit Speichel-Standard-A (0-Standard) verdünnt (s. Tab. IV.2.11).

**Tabelle IV.2.11:** Verdünnungslinearität (Speichel)

Verdünnung	Sollwert (pg/ml)	Istwert (pg/ml)	Wiederfindung (%)
100%	23,5	--	--
75%	17,63	17,6	100
50%	11,75	9,9	84,3
25%	5,88	3,1	52,7

## 2.6 ACTH-Stimulationstest und Cortisolbestimmung

### 2.6.1 ACTH-Stimulationstest

Pro Betrieb werden je 5 Kühe willkürlich ausgewählt. Um 11<sup>00</sup> Uhr wird eine erste Speichelprobe entnommen (Nullwert). Eine halbe Stunde später (11<sup>30</sup> Uhr) werden jedem Probanden 40 I.E. (entsprechend 1,6 ml) Adrenocorticotropes Hormon (Synacthen<sup>®</sup>, Novartis Pharma GmbH, Nürnberg) intravenös injiziert. Anschließend werden nach 30, 60, 90, 120, 180 und 240 Minuten jeweils Speichelproben entnommen. Die Proben werden zentrifugiert und das Zentrifugat bis zur weiteren Verarbeitung eingefroren. Die Analyse des Speichels erfolgte mittels *Enzym-linked-Immunosorbent-Assay* (ELISA). Einen Überblick und eine Beschreibung zur Analyse geben SCHÖNREITER et al. (1996).

#### *Statistik*

Aus den fünf Speichelproben pro Probenahme werden Mittelwerte gebildet, so dass pro Betrieb sieben Cortisolwerte vorliegen. Die Werte der Betriebe einer Gruppe (Tab. IV.2.1) werden jeweils zusammengefasst und anschließend mittels t-Test Gruppenmittelwerte verglichen. Für die Expositions- und Kontrollgruppe wird ein Reaktionsprofil über den Entnahmezeitraum erstellt. Von diesen Reaktionsprofilen werden die Area-Under-Curve (AUC) Werte berechnet und die Indices als quantitatives Maß für die Reaktionsfähigkeit der Nebennierenrinde verwendet (von BORELL und LADEWIG, 1986; REDBO, 1992; ROBIA, 1998). Der AUC-Wert wird folgendermaßen berechnet: Die Fläche

unter der Kurve wird in Trapeze unterteilt, deren Eckpunkte jeweils durch die Cortisolkonzentrationen auf der Kurve (y) sowie die Messpunkte auf der Abszisse gebildet werden. Die Summe der einzelnen Trapezflächen ist die Area-Under-Curve.

Formel:

$$\text{AUC} = 30 * (Y_0/2 + Y_{30} + Y_{60} + Y_{90} + Y_{120}/2) + 60 * (Y_{120}/2 + Y_{180} + Y_{240}/2)$$

### **Synacthen®**

Zur Substanzklasse der synthetischen Polypeptide mit ACTH-Wirkung gehört `Synacthen®` der Firma Novartis Pharma GmbH. Synacthen (ACTH<sub>1-24</sub>) ist ein in der Humanmedizin vorwiegend für den diagnostischen Bereich zugelassenes Präparat. Die Halbwertszeit bei i.m. Applikation beträgt beim Menschen 7 Minuten, die  $\beta$ -Phase 37 Minuten, die Elimination ist innerhalb von 24 Stunden abgeschlossen. In der Tiermedizin wird `Synacthen®` diagnostisch ebenfalls eingesetzt. Auf Grund der geringen Halbwertszeit und da bei Applikation im physiologischen Bereich nicht mit Nebenwirkungen oder einer Erhöhung anderer Steroidhormone und somit mit Wartezeiten oder Rückständen zu rechnen ist, eignet sich `Synacthen®` in besonderer Weise für den ACTH-Stimulationstest.

Da es sich um ein humanmedizinisches Präparat handelt, wurde bei der Regierung von Oberbayern ein Antrag auf Erteilung einer Ausnahmegenehmigung für die Anwendung eines humanmedizinischen Präparates zu diagnostischen Zwecken bei Tieren, die der Gewinnung von Lebensmitteln dienen, gestellt (Anzeigepflicht nach § 67 Abs. 1 i.V.m. § 59 des Arzneimittelgesetzes) und am 11.05.1999 genehmigt (Az. 211-212-2671.5).

## **2.6.2 Cortisolbestimmung**

### *Probenvorbereitung*

Um die Milch zu entfetten, werden die Milchproben nach dem Auftauen 20 Minuten bei 4°C und 4000 U/min zentrifugiert (ROTO SILENTA R, Fa. Hettich, Tuttlingen/D). Die oben schwimmende Fettschicht wird mit Hilfe einer Kanüle durchstoßen und die fettfreie Milch vorsichtig abpipettiert, zu jeweils 2 ml in Eppendorfgefäße portioniert und bei -26°C bis zur weiteren Verarbeitung eingefroren.

### *Enzymimmunoassay*

Die quantitative Cortisolbestimmung sowohl im Speichel als auch in der Milch erfolgte in einem Enzymimmunoassay bei DRG Instruments, Marburg.

Dabei handelt es sich um einen kompetitiven Immunoassay, bei dem ein monoklonaler Antikörper von der Maus gegen Cortisol an der Röhrchenwand fixiert ist. Das enzymmarkierte Antigen, hier ein

Meerrettich-Peroxidase markiertes Cortisol (HRP-Cortisol) und das vorhandene Cortisol der Probe konkurrieren um die limitierte Menge trägergebundener korrespondierender Antikörper. Nach Beendigung der Immunreaktion werden alle ungebundenen Substanzen des Probenansatzes verworfen. In der anschließenden Substratreaktion wird die Aktivität des gebundenen Enzyms nach Zugabe einer Chromogen (TMB) / Substratlösung ( $H_2O_2$ ) (TMB= 3,3`- 5,5`Tetramethylbenzidine;  $H_2O_2$ = Wasserstoffperoxid) gemessen. Nach einer 15 minütigen Inkubationszeit wird die Enzymreaktion mit Hilfe einer Stop-Lösung (Schwefelsäure 0,5 M) abgebrochen. Die photometrische Messung erfolgt bei 450 nm. Die Konzentration der Lösung ist umgekehrt proportional zu der Konzentration in der Probe. Je höher die Cortisolkonzentration in der Probe ist, desto weniger Enzymmarkiertes Antigen wird gebunden. Die Kalkulation des Cortisolgehalts erfolgt über eine Kalibrationskurve, deren Konzentration aus der folgenden Tabelle zu entnehmen ist:

**Tabelle IV.2.12:** Cortisolkonzentration der Standardkurve

Nullstandard	
2 ng/ml	5,52 nmol/l
5 ng/ml	13,8 nmol/l
10 ng/ml	27,6 nmol/l
20 ng/ml	55,2 nmol/l
40 ng/ml	110,4 nmol/l
80 ng/ml	220,8 nmol/l

**Tabelle IV.2.13:** Pipettierschema

	Probe (µl)	HRP (µl)	Inkubation	Chromogen/ Substrat µl)	Inkubation	Stop-Lsg (µl)
<b>Blank</b>			<b>60 Minuten bei Raum- temperatur, anschließend 3x Waschen</b>	100	<b>15 Minuten bei Raum- temperatur</b>	100
<b>Nullstandard</b>	50	250		100		100
<b>Std. 2 ng/ml</b>	50	250		100		100
<b>Std. 5 ng/ml</b>	50	250		100		100
<b>Std. 10 ng/ml</b>	50	250		100		100
<b>Std. 20 ng/ml</b>	50	250		100		100
<b>Std. 40 ng/ml</b>	50	250		100		100
<b>Std. 80 ng/ml</b>	50	250		100		100

## V. Ergebnisse

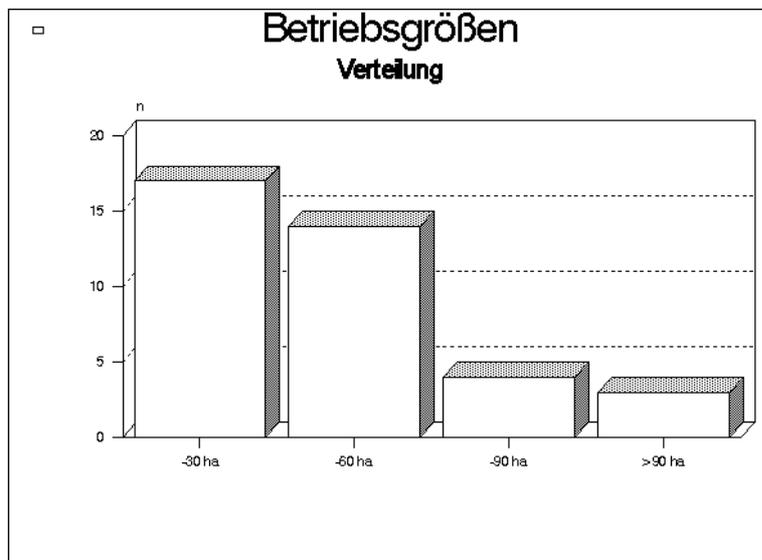
### 1. Betriebsdaten nach Fragebogen

Die im folgenden dargestellten Resultate ergeben sich aus dem von der Gießener Arbeitsgruppe erarbeiteten und zu Beginn der Studie an die Betriebe (n=38) versandten Fragebögen.

#### 1.1 Allgemeine Betriebsdaten

Die Betriebe liegen zwischen 60 und 1000 m Höhe, im Mittel bei  $510 \pm 197$  m über NN.

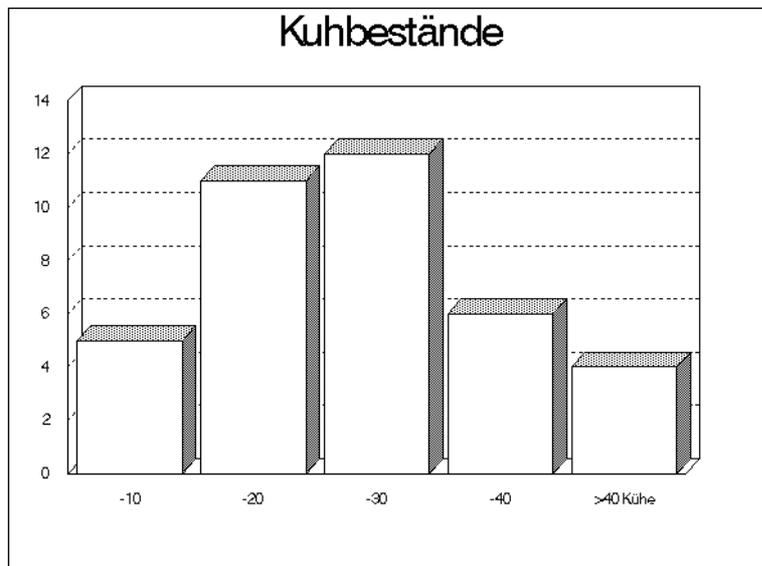
Über die Bodenzahlen konnten die Landwirte nur vereinzelt Angaben machen. Die Größe der Betriebe schwankt zwischen 7 und 212 ha landwirtschaftlicher Nutzfläche, im Mittel sind es  $41,7 \pm 37,02$  ha. Die Verteilung der Betriebsgrößen ist aus Abbildung V.1.1 zu ersehen.



**Abbildung V.1.1:** Verteilung der Betriebsgrößen

Weidegang, auch Sonnengänge um die Stallgebäude herum auf Standweiden, bieten 16 der 38 Betriebe ihren Milchkühen an, in 22 der Betriebe wird ganzjährige Stallhaltung durchgeführt. In 30 der Betriebe finden sich Anbindehaltungen, der Rest sind Laufställe (8) auf Vollspaltenböden (5) oder Vollbeton (3) mit Boxen oder Ständern. Stand- und Liegeplätze sind mit Gummimatten und Rosten, mit Stroheinstreu, Sägemehl oder Wärmebeton ausgestattet. Insgesamt leben während der Studie etwa 1000 Milchkühe in den Betrieben. Die Bestandsgröße liegt im Mittel bei  $26 \pm 17$  Milchkühen und

schwankt zwischen 1 und 80 Tieren. Damit liegt die Bestandsgröße der Versuchsbetriebe nahe beim Mittelwert aller deutschen Milchviehbetriebe (28 Tiere) und leicht über den Mittelwerten der Kuhzahlen hessischer und bayerischer Betriebe, die in Deutschland die geringsten mittleren Bestandsgrößen (19 Tiere) aufweisen. Die Verteilung der Bestandsgrößen zeigt Abbildung V.1.2.



**Abb. V.1.2:** Kuhzahlen in den Betrieben

Die Anzahl der Rinder (weibliche Nachzucht) in den Betrieben liegt zwischen 1 und 110 Tieren, im Mittel  $36 \pm 27$  Tiere. Die zu untersuchenden Tiere gehören folgenden Rinderrassen an: Deutsche Schwarzbunte, Deutsche Rotbunte, Deutsches Fleckvieh, Braunvieh (Brown Swiss), Rotes Höhenvieh, Blonde d'Aquitaine, Jersey sowie Gebrauchskreuzungen der Rassen. In manchen Betrieben werden Tiere mehrerer Rassen nebeneinander gehalten. Einige Betriebsinhaber kreuzen die Rassen Rotbunt mit Schwarzbunt oder umgekehrt. Beim Fleckvieh ist zudem der Blutanteil von Holstein Friesian-Rotbunt in den letzten Jahren wegen der höheren Milchleistung stark gesteigert worden. Letztlich ist also die Rassenübersicht in der Studie, auch die einiger Probanden, mit Vorbehalt zu betrachten. Auch werden in einigen Betrieben jüngere Bullen aus eigener Nachzucht als Hilfsbesamer für Kühe mit mangelhaft ausgeprägten Brunstsymptomen eingesetzt.

Insgesamt finden sich 19 Betriebe mit Fleckvieh, 8 Betriebe mit Rotbunt, 3 Betriebe mit Braunvieh, 2 Betriebe mit Schwarzbunt und 6 Betriebe mit verschiedenen Rassen. Hierbei finden sich Betriebe mit Rotbunten und Schwarzbunten ausschließlich in Hessen, Braunvieh ausschließlich in Bayern. Fleckvieh ist sowohl in Hessen als auch in Bayern vertreten. In den Expositionsguppen verteilen sich die Rassen

ersichtlich nicht gleich. So dominiert in den Gruppen A-C die Rasse Fleckvieh, in der Kontrollgruppe D sind Rotbunte hauptsächlich vertreten.

Andere Nutztiere werden auf den Betrieben nur in geringen Umfang gehalten, so finden sich in 7 Betrieben noch einige Schweine ( 2 - 60 Tiere), in einem Betrieb finden sich 1500 Legehennen.

Das Stallklima wird von fast allen Betriebsinhabern als trocken und angenehm bezeichnet, dies war zumindest im Sommerhalbjahr in den meisten besuchten Betrieben zu bestätigen, im Winterhalbjahr war jedoch in nahezu allen Anbindehaltungen ein feuchtes bis nasses und warmes Stallklima zu finden. Die Laufställe waren trocken, kalt und bisweilen zugig. Alle Betriebe setzen als Grundfutter Gras- und/oder Maissilage ein. Zusätzlich werden Heu, Klee gras, Grummet, Rüben und als lokale Besonderheit im Umfeld der Sauerkrautfabriken in Nordhessen Weißkohlblätter beigefüttert.

Als Kraftfutter werden ausschließlich hofeigene Getreideschrote in 32% (12) der Betriebe eingesetzt, nur handelsübliche Milchviehfutter verwenden 24% (9), 36% (14) nutzen beides und 8% (3) der Betriebe setzen überhaupt kein Kraftfutter ein. Treber und Trester werden nur in 5 Betrieben in geringem Umfang als Einzelfuttermittel eingesetzt. Allerdings enthalten industriell hergestellte Milchleistungsfutter wechselnde Anteile von Trestern, z.B. als Reste von Zitrusfrüchten (Schalen und Gerüstsubstanzen), Bananen (Schalen) und Apfeltrester. Schlempen werden in keinem Betrieb verfüttert. Mineralfutter werden in allen Betrieben in verschiedenen handelsüblichen Zubereitungen verabfolgt, zusätzlich auch als Lecksteine oder Leckschüsselzubereitung.

Die Wasserversorgung der Milchkühe (Bedarf 50 - 200 l pro Tier/Tag abhängig von Milchleistung und Trockensubstanzgehalt der Futtermittel) erfolgt in 34 Betrieben durch die öffentliche Trinkwasserversorgung der Gemeinden, 4 Betriebe haben einen eigenen Brunnen mit Wasser in Trinkwasserqualität.

## **1.2 Milchleistung und Eutergesundheit**

Die jährlichen durchschnittlichen Milchleistungen der Herden liegen rasse- und versorgungsbezogen zwischen 3500 und 9500 l pro Kuh, im Mittel bei  $5900 \pm 1431$  l p.a.. Innerhalb der Rassen finden sich interessante Unterschiede, so gibt es einen Fleckviehbetrieb mit 3500, einen anderen mit über 9000 Litern Jahresleistung. Einzeltiere mit Spitzenleistungen finden sich in 39% der Betriebe, 61% haben ausgeglichene Leistungen. Tiere mit hohen Lebensleistungen, d.h. langen Nutzungsdauern (hier mit mehr als 6 Kälbern), finden sich bei 47% der Betriebe.

Die Fettgehalte der Anlieferungsmilch liegen zwischen 3,8 und 5,17%, im Mittel bei  $4,23 \pm 0,26\%$ . Die Eiweißgehalte bewegen sich zwischen 3,17 und 3,8%, im Mittel finden sich  $3,4 \pm 0,15\%$ . Die Zellzahlen

in der Anlieferungsmilch sind derzeit der entscheidende Parameter für Eutergesundheit und Hygiene in den Herden. So stehen Zellgehalte bis 100.000/ml für eine sehr gute Eutergesundheit, 100.000 - 200.000 Zellen für eine gute bis befriedigende Eutergesundheit und Zellgehalte über 200.000 Zellen für eine gefährdete Eutergesundheit. Bei Zellgehalten über 400.000 droht den Betrieben eine Liefersperre. Die hohen Zellgehalte sind Ausdruck von krankhaften Prozessen in den Eutern. In den Untersuchungsbetrieben finden sich Zellzahlen in der Anlieferungsmilch zwischen 30 und 314 x 10<sup>3</sup>/ml, im Mittel 141 ± 61 x 10<sup>3</sup>/ml.

Die Kühe werden zwischen 5 und 16, im Mittel 7 Wochen ante partum trocken gestellt. Hierzu verwenden 48% der Betriebe prophylaktisch antibiotische Trockensteller, in 25% der Betriebe werden diese Maßnahmen nicht durchgeführt und in 27% der Betriebe werden Trockensteller nur bei Kühen angewendet, die in der vorhergehenden Laktation eine Eutererkrankung hatten. Mastitiden kommen in nahezu 50% der Betriebe "manchmal bis oft" vor, in der anderen Hälfte der Untersuchungsbetriebe wird die Frequenz von Euterentzündungen mit "nie bis selten" charakterisiert. Über das Spektrum der Mastitiserreger konnten nur in Ausnahmefällen Informationen erhalten werden.

Die Melkanlagen in den Betrieben sind zwischen 1971 und 1996 gebaut, im Mittel sind sie 13 Jahre alt. In 2 der Betriebe wird in Eimer gemolken, 6 Betriebe haben einen Melkstand und 30 Betriebe gewinnen die Milch über Rohmelkanlagen.

### **1.3 Reproduktionsgeschehen**

Im Bereich der Daten um das Reproduktionsgeschehen in den Betrieben offenbaren sich erhebliche Managementmängel. Viele Daten, die die Fruchtbarkeitssituation charakterisieren, konnten hier insbesondere in den Betrieben, die nicht an der Leistungsprüfung teilnehmen, nicht eruiert werden. Die Tragezeiten werden in den Betrieben mit Werten zwischen 270 und 290 Tagen angenommen, im Mittel werden 282 ± 5 Tage gefunden.

Das Erstbesamungsalter (EBA) liegt abhängig von der Rasse der Milchkühe und Gewohnheit der Landwirte zwischen 15 und 26 Monate, im Mittel bei 20 ± 2,6 Monaten. Die von den Zuchtverbänden geforderte Erstbesamung nach dem Stand der körperlichen Entwicklung wird nur in wenigen Betrieben durchgeführt. Nahezu alle Betriebe remontieren aus eigenem Bestand.

Stillbrünstigkeit, d.h. von den Landwirten äußerlich kaum oder gar nicht erkennbare Brunstsymptome, ist ein Problem in 68% der Betriebe vor allem in den Wintermonaten. Stillbrünstigkeit kommt kaum in

den Betrieben mit Weidegang während der Sommermonate vor. Als Ursachen für die Stillbrünstigkeit gelten Haltungs- und Fütterungsmängel, chronische Krankheiten, hormonelle Imbalancen und genetische Disposition. Umrindern, d.h. erneute Brünstigkeit nach nicht erfolgreicher Besamung, kommt in 60% der Betriebe mit unterschiedlicher Frequenz vor. In 10% gibt es nach Angaben der Besitzer kein nennenswertes Umrindern. 30% machten keine auswertbaren Angaben. Die daraus resultierenden Besamungsindices, d.h. die Anzahl der zur Trächtigkeit führenden notwendigen Besamungen, liegen zwischen 1,2 und 3,3, im Mittel bei  $1,6 \pm 0,6$  Besamungen pro Trächtigkeit. Hierbei liegen die Probandengruppen A, B und C mit Besamungsindices von 1,4, 1,3 und 1,6 leicht besser als die Kontrollgruppe D mit 1,7.

Die Rastzeit (Zeit von der Kalbung bis zur Erstbesamung) liegt zwischen 42 und 120 Tagen, im Mittel bei  $64 \pm 17$  Tagen, entsprechend finden sich Zwischentragezeiten (Zeit von der Kalbung bis zur folgenden Konzeption) von 70 bis zu 120 Tagen (Mittel  $93 \pm 13$  Tage).

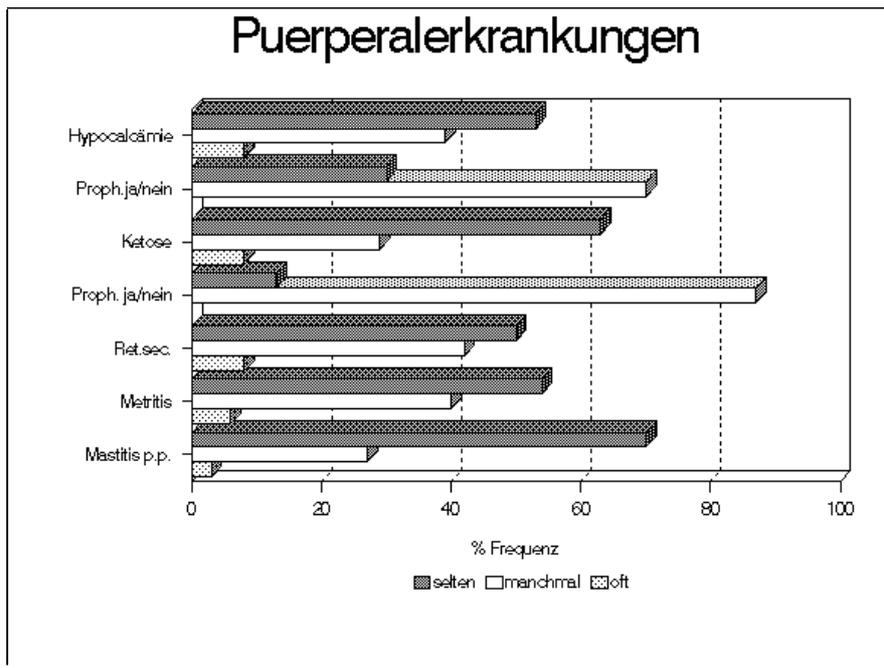
## **1.4 Krankheiten der Milchkühe**

### **1.4.1 Puerperalerkrankungen**

Puerperalerkrankungen sind Stoffwechsel- oder Organerkrankungen in der sensiblen Phase post partum, wenn der Organismus durch Geburt und vor allem durch die einsetzende Laktation belastet wird. So tritt in 53% der Betriebe die Hypocalcaemische Gebärparese (Kalbfieber, Milchfieber) als klinische Erkrankung selten auf, in 39% häufiger und in 8% oft. Trotzdem betreiben nur 30% der Betriebe regelmäßig eine Prophylaxe ante partum. Die Acetonämie (Ketose, "Zucker") tritt als klinisch apparente Erkrankung in 63% der Betriebe selten auf, in 29% manchmal und in 8% oft. Noch geringer als bei der Vorbeugung der Hypocalcämie ist die Bereitschaft der Landwirte prophylaktisch gegen die Ketose vorzugehen. Nur 13% der Betriebe ergreifen Maßnahmen, wie die Verabreichung von Natriumpropionat, Propylenglycol oder speziellen glukoplastischen Futtermitteln.

Die Retentio secundinarum (Nachgeburtsverhaltung) kommt in 50% der Betriebe selten vor, in 42% häufiger, in 8% oft. Metritiden (Gebärmutterentzündungen) treten bei 54% der Betriebe selten auf, bei 40% häufiger und bei 6% oft. Ähnlich sind die Frequenzen bei den oft mit schweren Allgemeinstörungen einhergehenden Mastitiden (Euterentzündungen) im Anschluss an die Geburt. Hier ist bei 70% der Betriebe das Krankheitsbild eher selten, bei 27% häufiger und bei 3% oft zu sehen.

Eine graphische Übersicht über die Verteilung der Inzidenzen der Puerperalerkrankungen gibt die Abbildung V.1.3.



**Abb. V.1.3 :** Auftreten von Puerperalerkrankungen in den Betrieben

#### 1.4.2 Haltungbedingte Erkrankungen und Haltungsmängel

Erkrankungen der Klauen, wie Panaritien, Koronarphlegmonen, Sohlengeschwüre und Gallen kommen in 68% der Betriebe nur selten vor, in 24% häufiger und in 8% oft. Ähnlich ist die Frequenz der Gelenkerkrankungen mit 68%, 27% und 5% Auftreten in den verschiedenen Häufigkeiten. Zitzenverletzungen kommen in 58% der Betriebe nur selten vor, bei 42% der Betriebe treten Zitzenverletzungen manchmal auf.

#### 1.4.3 Innere Krankheiten der Milchkühe

Innere Krankheiten der Milchkühe scheinen nach Ansicht der Besitzer im Untersuchungsgut nur eine untergeordnete Rolle zu spielen. So sind Fremdkörpererkrankungen und Labmagenverlagerungen in 95 bzw 97% der Betriebe noch nie oder sehr selten vorgekommen. Gravierende Indigestionen wie Azidosen und Alkalosen kommen nur in 18% der Betriebe manchmal vor, in den restlichen 82% sind sie unbekannt. Durchfälle der Milchkühe werden in 81% auf fütterungsbedingte Mängel, 16% auf infektiöse Ursachen und in 3% auf unbekannte Ursachen zurückgeführt.

Virusinfektionen wie Infektiöse Bovine Rhinotracheitis (IBR), Bösartiges Katarrhalfieber (BKF) oder Bovine Virusdiarrhoe/Mucosal Disease (BVD/MD) treten nur in 12% der Betriebe manchmal auf, in 82%

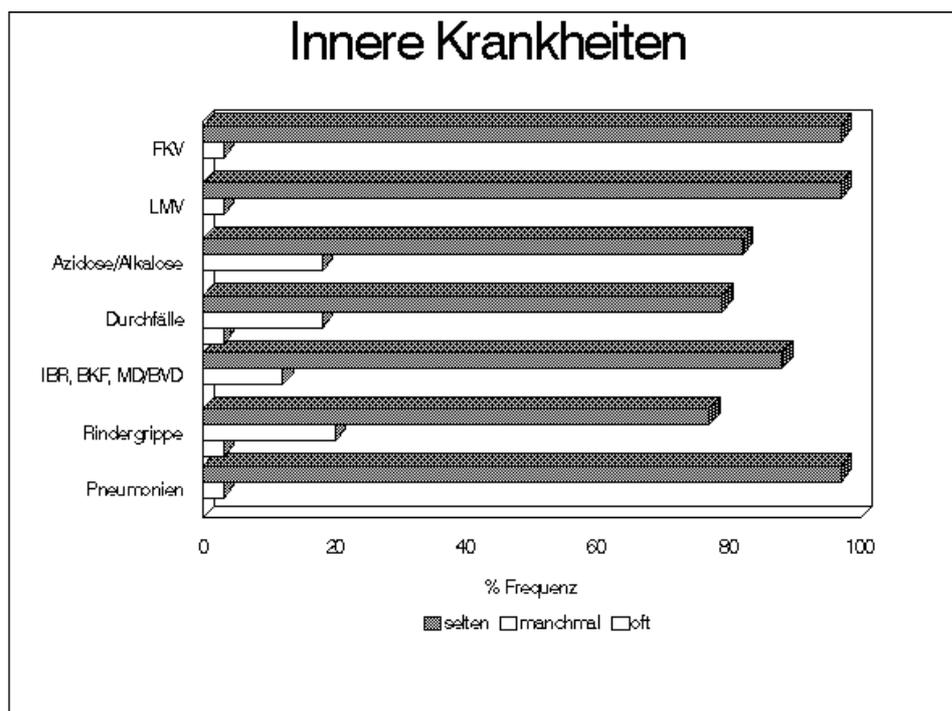
sind sie unbekannt. Die Rinderrippe kommt in 23% der Betriebe "oft bis manchmal" vor, in 77% spielt sie keine Rolle. Ebenso sind massive Pneumonien bei den Milchkühen in 96% der Betriebe unbekannt und nur bei 4% manchmal auftretend, dann allerdings auch mit letalem Ausgang.

Eine Übersicht über die Frequenz des Auftretens der Inneren Krankheiten gibt Abb.V.1.4 .

#### 1.4.4 Kälberkrankheiten

Die für den Infektionsschutz des neugeborenen Kalbes wichtige frühzeitige Verabreichung der Biestmilch (Kolostrum) erfolgt in 72% der Betriebe "so früh wie möglich" nach der Geburt, in 16% innerhalb der ersten 6 Lebensstunden und bei 12% der Betriebe wird der frühzeitigen Verabreichung des Kolostrums keine besondere Aufmerksamkeit geschenkt.

92% der neugeborenen Kälber werden aus dem Nuckeleimer getränkt, 5% haben einen Tränkeautomaten und 3% dürfen zunächst am Euter ihrer Mutter saugen.



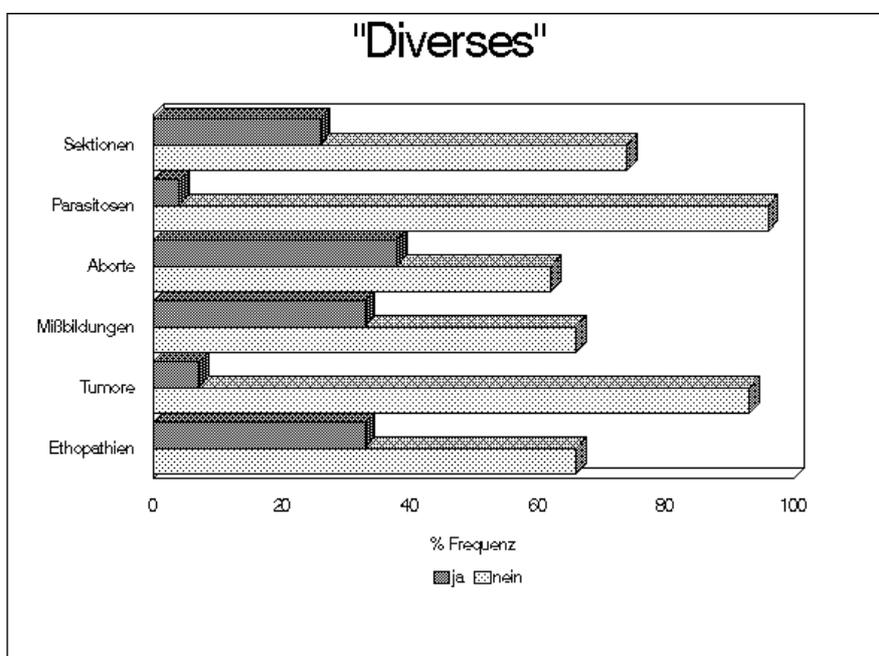
**Abb. V.1.4:** Auftreten von Inneren Krankheiten in den Untersuchungsbetrieben

Bei 74% der neugeborenen Kälber wird eine Nabeldesinfektion mit unterschiedlichen Wirkstoffen durchgeführt, 17% erhalten keine Nabeldesinfektion und bei 9% der Neugeborenen wird die Nabeldesinfektion nicht konsequent durchgeführt. Nabelentzündungen finden sich nach Auskunft der

Landwirte in 62% der Betriebe überhaupt nicht und nur bei 38% der Höfe gibt es manchmal Erkrankungen.

Schutzimpfungen der Kälber, bzw. Vakzinierungen der hochträchtigen Kühe, werden nur in 32% der Betriebe durchgeführt. So treten bei 19% der Kälber oft Durchfälle auf, bei 46% manchmal und nur bei 35% der Betriebe sind Kälberdurchfälle eher selten. Andere Schutzimpfungen gegen Infektionskrankheiten werden in 35% der Betriebe durchgeführt, diese oft aber nicht regelmäßig. Bronchopneumonien der Kälber finden sich in 18% der Betriebe "oft oder manchmal", in 82% der Betriebe kommen sie eher selten vor.

Rinder-, Euter- oder andere Tiergesundheitsdienste werden von 28% der Betriebe in Anspruch genommen, wobei auffällig ist, dass in den bayerischen Betrieben häufig sogar die Routine-Trächtigkeitsuntersuchung vom Gesundheitsdienst vorgenommen wird. Sektionen von verendeten Tieren wurden in den letzten Jahren bei 26% der Betriebe durchgeführt. Qualitative Futteruntersuchungen wurden ebenfalls in 26% der Betriebe durchgeführt, mikrobiologische Untersuchungen nur in einem Betrieb.



**Abb. V.1.5 :** Auftreten von Aborten, Mißbildungen, Ethopathien ect.

Parasitäre Erkrankungen treten in nur 2 Betrieben auf, und sind daher zu vernachlässigen. Erkennbare Aborte gab es bei 4% der Betriebe in den letzten zwei Jahren "oft", bei 36% "manchmal" und bei 60% "selten oder gar nicht".

Missgebildete Kälber wurden bei 34% der Betriebe in den letzten Jahren geboren. Tumorerkrankungen unbekannter Genese gibt es nur in einem der Betriebe. Papillome hingegen treten in 15% der Bestände auf. Ethopathien wie Weben oder Zungenspielen treten mit ähnlicher Frequenz wie Missbildungen auf. In 69% der Betriebe sind sie unbekannt. Von militärischen Übungen mit häufigen Tiefflügen oder anderen Ereignissen sind etwa ein Viertel der Betriebe betroffen.

## **2. Vor Ort erhobene Betriebsdaten**

Die im folgenden dargestellten Ergebnisse ergeben sich aus den durch die Münchner Arbeitsgruppe vor Ort (n=30) erhobenen Betriebsdaten.

### **2.1 Betriebe allgemein**

Die untersuchten Betriebe stellen sich insgesamt als mittelbäuerlich strukturierte Milchbetriebe an Grünlandstandorten dar. 29 Betriebe sind Familienbetriebe, ein Betrieb (Nr. 14) wird gemeinschaftlich geführt. Zwei Betriebe produzieren nach ökologischen Richtlinien und sind an ein Ökolabel angeschlossen (Nr. 14 und 29). 9 Betriebe wirtschaften im Nebenerwerb. 28 Betriebe haben als Hauptprodukt Milch, davon nehmen 9 nicht an der Milchleistungsprüfung teil. Zwei Betriebe haben ihre Kühe gemolken, aber die Milch nicht mehr an die Molkerei geliefert, sondern im eigenen Bestand verfüttert. Deren Produkt sind Zucht- (Nr. 2) und Masttiere (Nr. 35). Ansonsten erzeugen sechs Betriebe auch Rindfleisch und einer noch zusätzlich zur Milch Zuchtrinder. 22 Betriebe haben eine oder mehrere weitere Produktionsrichtungen auf ihrem Hof etabliert. Im Vordergrund steht die Waldwirtschaft (14 Betriebe), gefolgt von Mastschweinehaltung (10), Ackerbau (4), Fremdenverkehr (2) und Schnapsherstellung (1).

Durchschnittlich werden 23,9 Milchkühe pro Betrieb gehalten. Die Tierzahl ist in den Gruppen A bis C nahezu gleich, die Betriebe aus Gruppe D dagegen haben einen größeren Bestand. 7 Betriebe stocken ihren Bestand bei Bedarf durch Zukauf auf, ansonsten stammen die Kühe der eigenen Nachzucht ab. Alle Betriebe haben eigene Grünlandwirtschaft, vier stellen auch das Kraffutter selbst her. 8 Betriebe füttern die Tiere nicht individuell ihrem Leistungsstand entsprechend. Auf 20 Betrieben werden weitere Hoftiere gehalten (Tab. V.2.10).

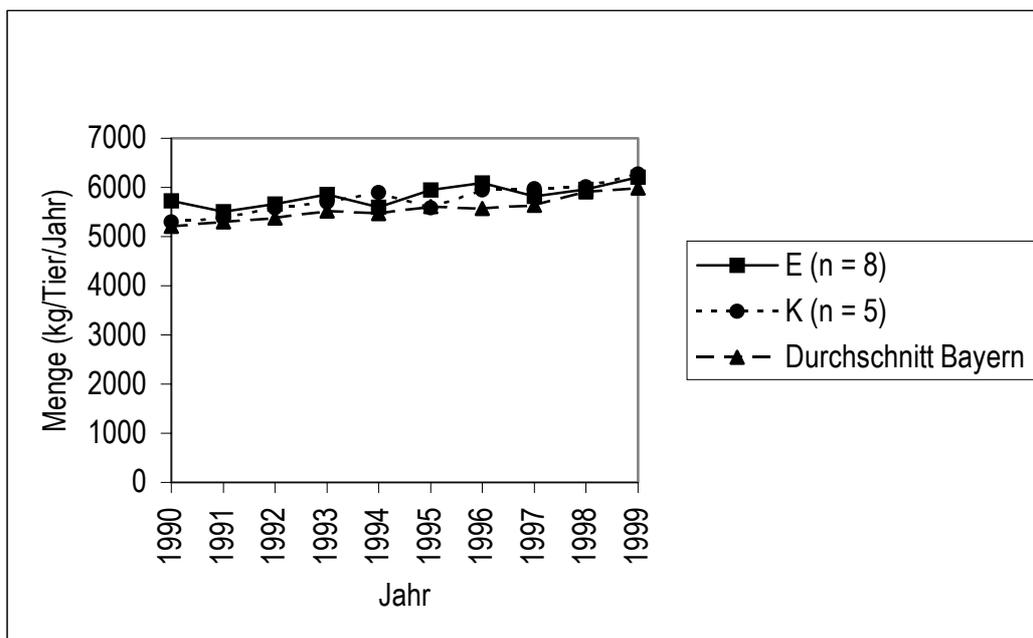
### **2.2 Daten aus der Milchleistungsprüfung**

Auf 13 Betrieben können Daten aus der Milchleistungsprüfung von 1990 bis 1999 erhoben werden (Tab. V.2.1). Die Zusammenfassung der Daten aus dem Ergebnis der Milchjahresleistung ergibt für die Betriebe der Gruppen E und K eine durchschnittlich höhere Milchmenge pro Kuh und Jahr als der Durchschnitt aller durch das Landeskuratorium der Erzeugerringe für tierische Veredelung in Bayern (LKV) erfassten Betriebe (Abb. V.2.1). Der Anteil der Zwischenkalbezeiten, die länger als 420 Tage dauern, schwankt uneinheitlich zwischen 15 und 30 % in den Gruppen E und K. Der bayerische Durchschnitt verläuft leicht ansteigend und nahezu linear zwischen 20 und 25 % (Abb. V.2.2). Tote und verendete Tiere treten bei allen Geburten zwischen 2 und 10 % in den Gruppen E und K auf. Der bayerische Durchschnitt steigt im Beobachtungszeitraum von 4 auf 6 % (Abb. V.2.3).

**Tabelle V.2.1:** Ausgewertete jährliche Betriebsvergleiche des Landeskuratoriums der Erzeugerringe für tierische Veredelung in Bayern (LKV):

Zeitraum und Gruppierung

Betrieb Nr.	LKV von - bis	Exposition (E)/ Kontrolle (K)	Gruppen A - D
18	90-99	E	A
19	92-99	E	A
24	90-92, 94, 96-99	E	A
36	90-99	E	A
25	90-99	E	B
32	90-99	E	B
37	95-99	E	B
14	90-93, 95-99	K	C
28	94-99	K	C
34	90-99	K	C
2	91-98	K	D
27	90-99	K	D



**Abbildung V.2.1:** Milchjahresleistung nach LKV

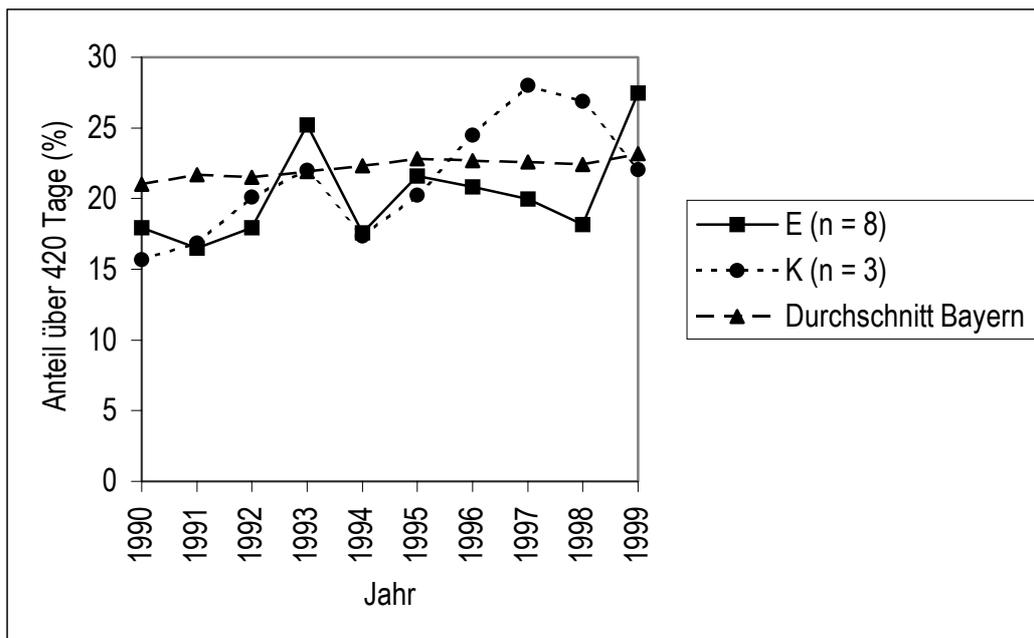


Abbildung V.2.2 : Zwischenkalbezeit nach LKV

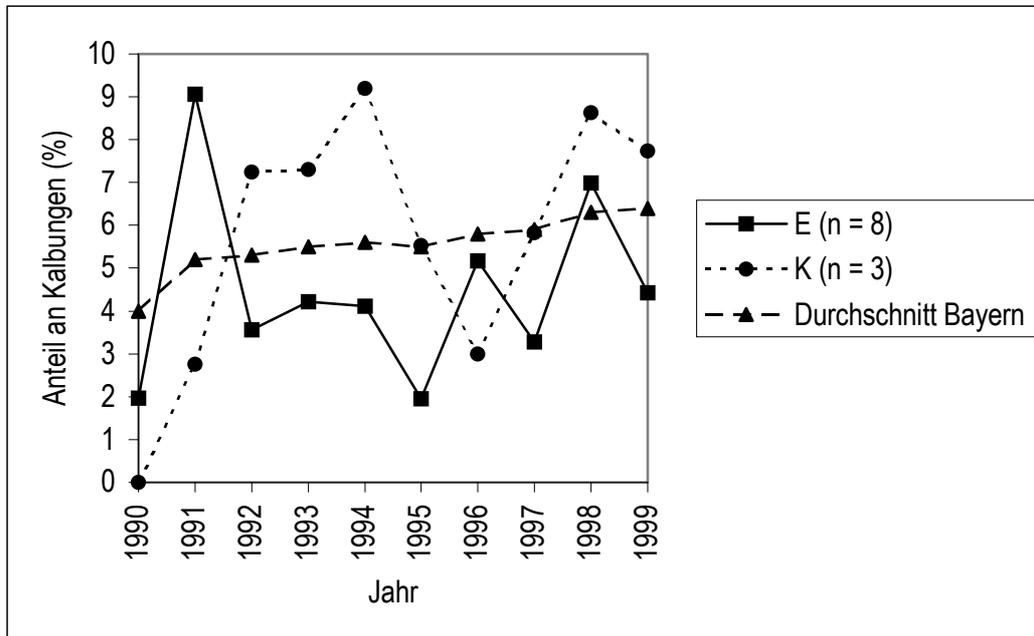


Abbildung V.2.3: Totgeburten und Verendete nach LKV

## 2.3 Stallhygiene

### 2.3.1 Stallklima

Die Untersuchung der klimatischen Umgebung der Kühe ergibt einheitlich für alle Gruppen die typischen Verhältnisse in sogenannten Warmställen (Tab. V.2.11), die auf allen Betrieben vorzufinden sind (Tab. V.2.10). Das heißt, das Gebäude sollte so gedämmt sein, dass das Außenklima keinen Einfluss auf das Stallklima hat. Insgesamt werden die Mindestanforderungen eingehalten (Tab. V.2.2). Aufgrund der unterschiedlichen jahreszeitlichen Besuchszeitpunkte der Betriebe ergibt sich eine erhebliche Schwankung in der Außentemperatur (-3 bis 23,7°C). Die Stallinnentemperatur beträgt zum gleichen Zeitpunkt durchschnittlich 16 °C (Min.: 8°C; Max.: 24,3°C), die durchschnittliche Luftfeuchte 69 % (Min.: 50 %; Max.: 80 %). Kondenswasser- und Eisbildung als Zeichen schlechter Regulation der Luftfeuchte kann in zwei beziehungsweise einem Betrieb beobachtet werden. Die Schadgase Kohlendioxid (CO<sub>2</sub>), Ammoniak (NH<sub>3</sub>) und Schwefelwasserstoff (H<sub>2</sub>S) treten in allen Ställen unterhalb der Grenzwerte auf. Erheblicher Geruch kann auf keinem Betrieb festgestellt werden, dagegen sind sieben Betriebe stark verschmutzt. Drei Betriebe belüften die Ställe zwangsweise mit Ventilatoren, acht weitere kombinieren Fenster- mit Zwangslüftung. Ein Betrieb entlüftet den Stall über den First (Trauf-First-Lüftung). Zum Messzeitpunkt kann eine durchschnittliche Tageslichtmenge von 182 Lux (Min.: 3 Lux; Max.: 800 Lux) bestimmt werden.

**Tabelle V.2.2:** Klimatische Mindestanforderungen bei Stallhaltung (MILLER, 1991)

<i>Lufttemperatur</i>	<i>Luftfeuchte</i>	<i>Lichtstärke</i>
0 – 20 °C	60 - 80 %	80 Lux*

### 2.3.2 Luftkeime

Insgesamt wurden in 11 Betrieben die Gesamtkeimzahl, die Anzahl von Hefen und Schimmelpilzen erfasst, wobei in den Betrieben Nr.25, 27 und 36 Doppelbestimmungen an verschiedenen Stellen des Stalles durchgeführt wurden. In Tabelle V.2.3 sind die Ergebnisse zusammengestellt.

Die Keimflora im Stall setzt sich überwiegend aus grampositiven Kokken, Pilzen, Sporenbildnern und einer geringen Anzahl an Enterobakterien zusammen (HARTUNG, 1994), ein Ergebnis, welches sich bei unserer Stichprobe bestätigen lässt (Tabelle V.2.4).

Alle Betriebe weisen eine durchweg in der Norm liegende Gesamtkeimzahl bei Anbindehaltung mit Einstreu auf. Bei den differenzierten Keimen, inklusive der Hefen und Schimmelpilzen handelt es sich vorwiegend um apathogene, ubiquitär vorkommende Keimarten. Insbesondere bei Einstreu und Heufütterung ist der Anteil an Spross- und Schimmelpilzen üblich. Lediglich bei immunsupprimierten

\* nach Kälberhaltungsverordnung

Individuen können einige Keime als fakultativ pathogene Keime unter Umständen zu einer Erkrankung führen.

Es muss jedoch angemerkt werden, dass die Luftkeimuntersuchung nur eine Momentaufnahme darstellt und wiederholte Untersuchungen wahrscheinlich zu anderen Ergebnissen führen würden, die mehr als den Faktor 1000 variieren können (BÖHM,1998). Außerdem wird bei der Sammlung durch den Sammelstress die Menge und Art der nachgewiesenen Keime selektiv beeinflusst (BÖHM, 1998).

Tab. V.2.3: Luftkeimuntersuchungen

Betrieb-Nr.	Datum	Ansaugmenge	Streifenart	Keime pro m <sup>3</sup>	Differenzierung	Anteil in % an der GKZ
1	29.05.1999	7,5 sec	GK-A (Gesamtkeimzahl)	19.400	Staphylococcus xylosus Staphylococcus gallinarum Coryneforme Bakterien Staphylococcus chromogenes aerobe Sporenbildner Pantoea spp.	36,1 24,7 23,7 12,4 2,1 1,0
		60 sec	My (Hefen und Schimmelpilze)	1.225	Sprosspilze Penicillium spp. Schimmelpilze	42,9 34,7 22,4
		60 sec	C (coliforme Bakterien)	900	Flavimonas oryzihabitans aerobe Sporenbildner Rhanella aquatilis Pantoea spp.	44,4 27,8 22,2 5,6
2	29.05.1999	7,5 sec	GK-A (Gesamtkeimzahl)	36.000	Staphylococcus xylosus Staphylococcus sciuri Candida hellenica aerobe Sporenbildner	51,7 27,8 16,1 4,4
		60 sec	My (Hefen und Schimmelpilze)	3.750	Candida pelliculosa Schimmelpilze	54,7 45,3
		60 sec	C (coliforme Bakterien)	500	Flavimonas oryzihabitans Serratia spp. (pigmentlos) Aerococcus viridans	60,0 35,0 5,0
3	29.05.1999	7,5 sec	GK-A (Gesamtkeimzahl)	64.000	Staphylococcus sciuri Aerococcus viridans Candida hellenica Schimmelpilze aerobe Sporenbildner	68,1 13,1 8,4 7,2 3,1
		60 sec	My (Hefen und Schimmelpilze)	1.700	Candida famata Schimmelpilze	55,9 44,1
		60 sec	C (coliforme Bakterien)	125	Rhanella aquatilis Pantoea spp.	60,0 40,0

Betrieb-Nr.	Datum	Ansaugmenge	Streifenart	Keime pro m <sup>3</sup>	Differenzierung	Anteil in % an der GKZ
27	07.04.1999 (Futtermittel)	7,5 sec	GK-A (Gesamtkeimzahl)	33.400	Staphylococcus sciuri Staphylococcus equorum Corynebact. propinquum Corynebact. accolens aerobe Sporenbildner Sproßpilze	32,9 26,9 18,0 10,2 7,8 4,2
		7,5 sec	My (Hefen und Schimmelpilze)	2.400	Aspergillus spez. Sproßpilze (V.a. Trichosporum cutaneum) Candida curvata	41,7 33,3 25,0
	07.04.1999 (Stall links)	7,5 sec	GK-A (Gesamtkeimzahl)	24.400	Staphylococcus warneri Staphylococcus sciuri Aerococcus viridans Corynebact. propinquum Corynebact. accolens Sproßpilze aerobe Sporenbildner Aspergillus spez.	34,4 24,6 13,9 12,3 6,6 4,1 3,3 0,8
		7,5 sec	My (Hefen und Schimmelpilze)	13.600	Aspergillus spez. Sproßpilze (V.a. Trichosporum cutaneum) Candida curvata Schimmelpilze	63,2 22,1 13,2 1,5
	29.10.1999	7,5 sec	GK-A (Gesamtkeimzahl)	Streifen A 65.800	Corynebact. accolens Aerococcus viridans Staphylococcus chromogenes Pantoea spp.	98,7 7,9 2,1 0,3
				Streifen B 9.575	Corynebact. accolens Aerococcus viridans Staphylococcus chromogenes	48,7 48,7 2,6
		60 sec	C (coliforme Bakterien)	Streifen A 9.575	Aerococcus viridans Micrococcus luteus Flavimonas oryzyhabitans Escherichia coli	94,5 3,1 1,3 1,1
				Streifen B 6.175	Aerococcus viridans Micrococcus luteus Flavimonas oryzyhabitans Escherichia coli	97,2 0,4 2,0 0,4
		60 sec	My (Hefen und Schimmelpilze)	Streifen A 1.150	Schimmelpilze Sprosspilze Candida famata	56,5 37,0 6,5

Betrieb-Nr.	Datum	Ansaugmenge	Streifenart	Keime pro m <sup>3</sup>	Differenzierung	Anteil in % an der GKZ
			My (Hefen und Schimmelpilze)	<i>Streifen B</i> 1.575	Schimmelpilze Sprosspilze Candida famata	55,6 30,2 14,2
35	27.10.1999	7,5 sec	GK-A (Gesamtkeimzahl)	100.800	Staphylococcus equorum Aerococcus viridans aerobe Sporenbildner Kokuria rosea	73,9 15,6 5,6 4,9
		60 sec	C (coliforme Bakterien)	2.025	Aerococcus viridans Pantoea spp. Escherichia coli	95,1 3,7 1,2
		60 sec	My (Hefen und Schimmelpilze)	6.000	Candida famata Schimmelpilze	95,8 4,2
26	27.10.1999	7,5 sec	GK-A (Gesamtkeimzahl)	84.800	Staphylococcus kloosii Kokuria rosea Staphylococcus equorum aerobe Sporenbildner	51,9 33,0 14,6 0,5
		60 sec	C (coliforme Bakterien)	14.325	Aerococcus viridans Pantoea spp.	99,7 0,3
26	27.10.1999	60 sec	My (Hefen und Schimmelpilze)	450	Schimmelpilze Candida curvata	83,3 16,7
24	27.10.1999	7,5 sec	GK-A (Gesamtkeimzahl)	Streifen A 50.000	Staphylococcus simulans aerobe Sporenbildner Staphylococcus chromogenes Schimmelpilze (V.a. Aspergillus spez.) Sproßpilze	86,8 4,4 4,4 2,8 1,6
				Streifen B 38.600	Staphylococcus simulans aerobe Sporenbildner Schimmelpilze (V.a. Aspergillus spez.) Sproßpilze	75,1 11,9 6,7 6,3
		60 sec	C (coliforme Bakterien)	Streifen A 6475	Aerococcus viridans Schimmelpilze (V.a. Aspergillus spez.)	90,7 9,3

Betrieb-Nr.	Datum	Ansaugmenge	Streifenart	Keime pro m <sup>3</sup>	Differenzierung	Anteil in % an der GKZ		
		60 sec	My (Hefen und Schimmelpilze)	Streifen B 3.600	Aerococcus viridans Schimmelpilze (V.a. Aspergillus spez.)	99,3 0,7		
				Streifen A nicht zählbar!	Schimmelpilze (V.a Aspergillus spez.)			
				Streifen B 850	Schimmelpilze (V.a Aspergillus spez.)	100		
25	27.10.1999	7,5 sec	GK-A (Gesamtkeimzahl)	Streifen A 125.200	Staphylococcus capitis Schimmelpilze Aerococcus viridans Staphylococcus sciuri Pantoea spp. aerobe Sporenbildner	94,5 1,8 1,6 0,8 1,1 0,2		
				Streifen B 110.200	Staphylococcus capitis Schimmelpilze Aerococcus viridans	59,5 1,5 39,0		
				60 sec	C (coliforme Bakterien)	Streifen A 13775	Aerococcus viridans Pantoea spp. Escherichia coli	99,4 0,4 0,2
						Streifen B 10.750	Aerococcus viridans Corynebact. propinquum	98,8 1,2
		60 sec	My (Hefen und Schimmelpilze)	Streifen A 2.825	Schimmelpilze Candida famata Candida catenulata	75,2 16,0 8,8		
				Streifen B 925	Schimmelpilze Candida famata	97,3 2,7		
		28	29.10.1999	7,5 sec	GK-A (Gesamtkeimzahl)	42.400	Sprosspilze Staphylococcus xylosus Staphylococcus equorum	87,3 9,9 2,8
				60 sec	C (coliforme Bakterien)	7325	Aerococcus viridans Staphylococcus sciuri Pseudomonas fluorescens Pantoea spp.	89,7 6,5 2,4 1,4

Betrieb-Nr.	Datum	Ansaugmenge	Streifenart	Keime pro m <sup>3</sup>	Differenzierung	Anteil in % an der GKZ		
		60 sec	My (Hefen und Schimmelpilze)	1.250	Schimmelpilze Candida famata Candida catenulata	90,0 8,0 2,0		
36	29.10.1999	7,5 sec	GK-A (Gesamtkeimzahl)	Streifen A 8.400	Staphylococcus kloosii Staphylococcus equorum Staphylococcus xylosus Candida famata	76,2 11,9 9,5 2,4		
				Streifen B 5.400	Staphylococcus kloosii Staphylococcus equorum aerobe Sporenbildner	74,1 18,5 7,4		
		60 sec	C (coliforme Bakterien)	Streifen A 875	Aerococcus viridans Pseudomonas fluorescens Candida famata	85,7 11,4 2,9		
				Streifen B 625	Aerococcus viridans Pseudomonas fluorescens	92,0 8,0		
		60 sec	My (Hefen und Schimmelpilze)	Streifen A 250	Candida famata Schimmelpilze	80,0 20,0		
				Streifen B 700	Candida famata Schimmelpilze Saccharomyces kluyverii	17,9 71,4 10,7		
		34	29.10.1999	7,5 sec	GK-A (Gesamtkeimzahl)	Streifen A 78.200	Aerococcus viridans Schimmelpilze (V.a. Penicillium) aerobe Sporenbildner Staphylococcus arlettae Kokuria rosea	87,8 6,6 4,6 0,5 0,5
						Streifen B 59.800	Aerococcus viridans Schimmelpilze (V.a. Penicillium) aerobe Sporenbildner Staphylococcus arlettae Kokuria rosea	88,3 9,4 1,3 0,7 0,3
60 sec	C (coliforme Bakterien)			Streifen A 7.125	Aerococcus viridans Schimmelpilze (V.a. Penicillium) Escherichia coli	94,4 5,3 0,3		

Betrieb-Nr.	Datum	Ansaugmenge	Streifenart	Keime pro m <sup>3</sup>	Differenzierung	Anteil in % an der GKZ
				Streifen B 3.725	Aerococcus viridans Schimmelpilze (V.a. Penicillium)	98,0 2,0
		60 sec	My (Hefen und Schimmelpilze)	Streifen A 6.975	Schimmelpilze Sprosspilze Candida krusei	87,8 8,3 3,9
				Streifen B 3.850	Schimmelpilze Sprosspilze Candida krusei	80,6 8,4 11,0

**Tab. V.2.4:** Nachweismenge pro Liter der verschiedenen Keime in den einzelnen Betrieben

Betrieb-Nr.:	poKo	Coryne.	neg. Stäbe	Candida	Sproßpilze	Schimmelpilze	aer. Spo.bild.
2	144		19	168		79	8
3	260		5	45		38	10
1	71	23	27		21	28	2
27 a	161	72		12	24	49	30
35	562		4	222		18	29
26	993		2	3		15	2
24	463				4	66	11
25 a	1155		10	28		96	1
25 b	968	5		1		44	
28	309		11	5	185	45	
36 a	71		4	10		2	
36 b	48		2	8		20	2
27 2a	407	295	10	3	17	26	
27 2b	557	300	6	9	19	35	
34 a	616		1	11	22	286	18
34 b	413			17	13	153	4
<b>MW</b>	<b>449,9</b>	<b>139,0</b>	<b>8,4</b>	<b>38,7</b>	<b>38,1</b>	<b>62,5</b>	<b>10,6</b>

**Tab. V.2.5:** Auflistung und Zuordnung der Gesamtkeime

	<b>Keim</b>	<b>Summe (KBE)</b>
<b>Positive Kokken</b>	Aerococcus viridans	4628
	Micrococcus luteus	13
	Staph. arlettae	5
	Staph. capitis	920
	Staph. chromogenes	39
	Staph. equorum	458
	Staph. gallinarum	24
	Staph. kloosii	272
	Staph. sciuri	351
	Staph. simulans	217
	Staph. warneri	42
	Staph. xylosus	160
	<b>Corynebakterien</b>	Coryne.spp.
Coryne. accolens		626
Coryne. propinquum		43
Kocuria rosea		168
<b>aerobeSporenbildner</b>	aer. Spo.bild.	127
<b>Negative Stäbe</b>	E. coli	8
	Flavimonas oryzihabitans	38
	Pantoea spp.	24
	Ps. fluorescens	13
	Rhanella aquatilis	11
	Serratia spez.(pigmentlos!)	7
<b>Candida</b>	Candida catenulata	14
	Candida curvata	12
	Cand. famata	290
	Cand. hellenica	56
	Candida krusei	28
	Cand. pelliculosa	139
	Saccharomyces kluyverii	3
<b>Sproßpilze</b>	Sproßpilze spp.	286
<b>Schimmelpilze</b>	Schimmelpilze spp.	385
	Aspergillus	115
	Cladosporen	45
	Penicillium spez.	485
	Trichosporum cutaneum	19

### 2.3.3 Wasserproben

Insgesamt wurden in 10 Betrieben eine mikrobiologische und chemische Wasseruntersuchung durchgeführt. Außerdem wurde bei der Probenentnahme direkt vor Ort Geruch, Trübung, Färbung und teilweise der Geschmack beurteilt.

Ein gutes Trinkwasser sollte farblos und klar sein, da Färbung und Trübung den Eindruck von Verunreinigungen erwecken, und keinen Beigeschmack besitzen (BORNEFF, 1991).

In Tabelle V.2.5 und Tabelle V.2.6 sind die Ergebnisse zusammengestellt.

Zur Beurteilung der mikrobiologischen Befunde wurde nach der Trinkwasserverordnung vorgegangen, wobei nach § 1 (1) in 100 ml Trinkwasser keine coliformen Keime enthalten sein dürfen und nach §1 (2) sollte in Trinkwasser die Kolonienzahl von kommunalen Versorgungsleitungen den Richtwert von 100 je ml bei einer Bebrütungstemperatur von 20 °C und bei einer Bebrütungstemperatur von 36 °C nicht überschreiten. Der Keim *Escherichia coli* ist ein physiologischer Darmkeim, der bei Warmblütern in großen Mengen mit dem Stuhl ausgeschieden wird. Er ist ein Indikator für eine Verunreinigung des Wassers mit menschlichen oder tierischen Ausscheidungen und darf im Trinkwasser nicht nachweisbar sein, da im Falle eines Nachweises davon auszugehen ist, das mit den Ausscheidungen auch Krankheitserreger in das Wasser gelangt sein könnten. Das gleiche gilt für coliforme Keime.

Bei der chemischen Analyse ist laut Trinkwasserverordnung § 2 (1) der Grenzwert für Nitrat bei 50 mg/l und für Nitrit 0,1 mg/l.

**Tab. V.2.6:** Vorortanalyse

Betrieb-Nr:	Geruch	Trübung	Färbung	Geschmack
32	1	klar	1	entfällt
36	1	klar	1	1
28	1	klar	1	entfällt
25	1	klar	1	1
27	1	klar	1	entfällt
24	1	klar	1	1
26	1	klar	1	entfällt
34	1	klar	1	entfällt
29	1	klar	1	1
35	1	klar	1	entfällt (Coli?)

Legende: 1= nein, entfällt = nicht probiert, Infektionsgefahr, Coli? = Verdacht auf *Escherichia coli*

**Tab. V.2.7:** Chemische Analyse

Betrieb	Art des eingesandten Wassers	Aquanal					
		Ammonium Mg / l	Phosphat mg / l	Nitrat mg / l	Nitrit mg / l	Härte	pH-Wert
32	kommunale Versorgung	<0,05	0	10	<0,02	15	8,0
36	kommunale Versorgung	<0,05	0	< 10	<0,02	9	8,0
28	Wasserbeschaffungs- verband	<0,05	0	< 10	<0,02	19	8,0
25	Brunnen	<0,05	0	< 10	<0,02	16	7,5
27	kommunale Versorgung	<0,05	0	< 10	<0,02	12	8,0
24	kommunale Versorgung	<0,05	0	< 10	<0,02	20	7,5
26	Brunnen	<0,05	0	< 10	<0,02	18	8,0
34	kommunale Versorgung	<0,05	0	10	<0,02	16	8,0
29	Wasserbeschaffungs- verband	<0,05	0	< 10	<0,02	9	8,0
35	Brunnen	<0,05	0	< 10	<0,02	17	7,5

Bei der chemischen Analyse der Betriebe lassen sich keine Besonderheiten feststellen. Sowohl die Nitrat-, als auch die Nitritwerte liegen bei allen untersuchten Betrieben im erlaubten Bereich (Tab. V.2.7).

*Mikrobiologische Untersuchung des Wassers (Tab. V.2.8)*

Bei den nachgewiesenen Keimen handelt es sich um ubiquitär vorkommende Bakterien, die zwar als Umweltkeime bekannt sind, aber keine pathogene Wirkung haben. Ausnahme dabei bilden *Pseudomonas fluorescens* und *Citrobacter freundii*, die zu den fakultativ pathogenen Keimen gezählt werden. Da abweichend von der Trinkwasserverordnung bereits ein Direktansatz des Probenmaterials auf Nährböden erfolgte, konnten Keime nachgewiesen werden, die in der Anreicherung nicht gewachsen sind und dementsprechend bei einer herkömmlichen Trinkwasseruntersuchung nicht beachtet werden, dies trifft v.a. für die Betriebe Nr. 24, 27, 28 und 34 zu. Die teilweise recht hohe Kolonienzahl lässt sich mit der Probennahme im Stall erklären, da der Keimdruck im Stall recht hoch, und die Möglichkeit im Stall unter sterilen Kautelen eine Probenentnahme durchzuführen, gering ist. Zum Beispiel ließ sich bereits bei den Betrieben 25 und 27 bereits bei der Bestimmung des Luftkeimgehaltes ein hoher Keimgehalt feststellen und auch die Vielzahl der Arten sprechen für eine aerogene Verunreinigung der Wasserproben bei der Entnahme.

Bei den Betrieben 25, 26 und 35 handelt es sich um Brunnenversorgung. Der Keimgehalt ist hier auch von der Brunnenart abhängig und ist dementsprechend nur bedingt als Trinkwasser zu verwenden.

Generell sind Schachtbrunnen für die öffentliche Wasserversorgung aus bakteriologischen Gründen nicht geeignet (BORNEFF, 1991).

**Tab. V.2.8:** Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung

Betrieb	Art des eingesandten Wassers	Mikrobiologische Untersuchung			
		GKZ / ml 38°C/20°C	Gram. neg. Stäbe	gram. pos. Kokken	Sonstige
32	kommunale Versorgung	negativ			
36	kommunale Versorgung	negativ			
28	Wasserbeschaffungsverband	2		Leuconostoc spp.	Schimmelpilze
25	Brunnen	98	Serratia liquefaciens 62% Aeromonas hydrophila 36%		aerobe Sporenbildner 2%
27	kommunale Versorgung	192	Pseudomonas fluorescens		
24	kommunale Versorgung	2		Arthrobacter spp.	
26	Brunnen	10	Flavimonas oryzihabitans 78%		aerobe Sporenbildner 22%
34	kommunale Versorgung	168		Arthrobacter spp.	
29	Wasserbeschaffungsverband	113	Psychrobacter Phenylpyruvicus 98% Pseudomonas aeruginosa 2%		
35	Brunnen	38	Rhanella aquatilis 69%		aerobe Sporenbildner 4%
			Citrobacter freundii 27%		

### **2.3.4 Stallbau**

Ein Drittel der Ställe sind Neubauten aus den vergangenen drei Jahrzehnten, 17 sind älter und drei sind umgebaute Altbauten (Tab. V.2.10). 27 Betriebe haben Kurz- oder Mittellangstände, die übrigen Langstände. Die Maße der Tierplätze entsprechen auf allen Betrieben insgesamt nicht den Anforderungen (MILLER, 1991) (Tab. V.2.12).

Die Standplätze sind durchschnittlich 99 cm breit (Minimum: 120 cm). Die Länge beträgt bei Kurz- und Mittellangständen 158 cm (Richtwert: 160 - 180 cm), bei Langständen 220 cm (Soll: 240, ZEEB, 1985). In 25 Ställen ist eine Abtrennung zwischen den Liegeflächen vorhanden, deren unterste horizontale Begrenzung 85 cm über dem Boden (Maximum: 50 cm) und hinterste vertikale Begrenzung 98 cm vor dem Standende (Minimum: 100 cm) angebracht ist. 16 Betriebe entmisten im Schwemmmistverfahren. Die dazu gehörigen Gitterroste am Ende der Standplätze, die den Güllekanal abdecken, haben eine Stabbreite von 2,5 cm (Minimum: 2 cm) und eine Schlitzweite von 3,8 cm (Maximum: 3,5 cm). Sieben verschiedene Anbindungen werden vorgefunden. Zehn Betriebe haben die Grabner-Anbindung installiert, je sieben den Gelenkhalsrahmen oder die Kuhkette. Sechs Betriebe haben zusätzlich ein Fressgitter eingebaut, das nur restriktives Füttern zulässt. Die Trogsohle befindet sich 8 cm über dem Standplatzniveau (Minimum: 12 cm), die Krippenwand ist durchschnittlich 29 cm hoch (Maximum: 30 cm) und in der Mehrzahl stabil. In Gruppe A sind die Trogsohle und die Krippenwand höher als in den übrigen Gruppen. Die handelsüblichen Tränkeschalen sind mit 21 cm zu klein (Minimum: 28 cm) und in 58 cm Höhe zu niedrig (Minimum: 60 cm) angebracht. Der Boden der Standplätze, also gleichzeitig die Liegefläche, ist überwiegend aus Beton und entweder mit Sägespäne oder Stroh eingestreut (13 Betriebe), mit einer Gummimatte ausgelegt (10 Betriebe) oder mit beidem bedeckt (6 Betriebe). In einem Fall fehlt jegliche Bedeckung. Die Trittsicherheit ist in  $\frac{2}{3}$  der Ställe gut bis sehr gut. Vier Betriebe benutzen einen Kuhtrainer, um die Verschmutzung der Standplätze zu reduzieren.

### **2.3.5 Technopathien**

Technopathien sind Schäden am Tierkörper, die als Folge ungeeigneter Tierplätze an Integument und Gelenken auftreten können. Im Rahmen der stallbaulichen Untersuchung werden die Tiere auf Technopathien untersucht. Dabei zeigt sich, dass auf 14 Betrieben Tiere mit entsprechenden Schäden festgestellt werden können (Tab. V.2.9).

**Tabelle V.2.9:** Technopathien

	<b>Befund</b>	<b>Betriebsnummern</b>
1	Nacken haarlos und borkig	1, 4, 8, 9, 26, 27, 32
2	Tarsalgelenke aufgescheuert und geschwollen	1, 3, 26, 28, 24
3	Karpalgelenke geschwollen	19, 27, 33
4	Anbindekette in Nackenhaut eingewachsen	35
5	mangelhafte Klauenpflege	1
6	deformierte Hörner	14
7	Schulter haarlos und borkig	24

Die Befunde 1, 4 und 7 treten infolge der Anbindevorrichtung auf. Eine eingewachsene Halskette stellt auch ein Versäumnis des Tierhalters dar. Nummer 2 entsteht beim Liegen des Tieres aufgrund der Reibung der Gelenke auf der Unterlage, Nummer 3 infolge des Aufstehvorganges, bei dem sich die Tiere auf die Vorderfußwurzel stützen müssen. Stallklauen (Nr. 5) sind Managementmängel. Da die Tiere das Klauenhorn nicht durch Bewegung abnutzen, müssen die Klauen regelmäßig gepflegt werden. Deformierte Hörner können eine Folge ständigen Reibens an der Stalleinrichtung sein, dessen Ursache unklar ist. SAMBRAUS (1993) nimmt Bewegungsmangel an.

### 2.3.6 Bewertung der Betriebe

Die stallbaulichen und -klimatischen Daten werden einer Bewertung unterzogen, um den Einfluss auf das Verhalten berücksichtigen zu können (Tab. V.2.13). Dabei wird ein Maluspunktsystem angewandt, das entsprechend des Einflusses der Parameter auf das Verhalten gewichtet wird (modifiziert nach MILLER, 1991). Parameter mit starkem Einfluss wie Standbreite und Liegelänge, Stabbreite und Schlitzweite des Kotrostes, Trogsohlen- und Krippenwandhöhe, Temperatur, Luftfeuchte und Lichtmenge werden bei Einhaltung der Mindestanforderung mit 0 Punkten, bei Abweichung bis 10 % mit 2 Punkten und bei Abweichung > 10 % mit 4 Punkten bewertet. Die horizontale und vertikale Begrenzung der Standplätze hat weniger starken Einfluss und wird entsprechend mit 0, 1 und 2 Punkten bewertet. Die Abmessungen der Tränkeschale sowie deren Befestigungshöhe haben geringen Einfluss und werden mit 0, 0,5 und 1 Punkt bewertet. Zusätzlich wird das Auftreten von Technopathien und/oder auffälligen Verhaltensweisen (*pferdeartiges Aufstehen, Futteraufnahme im Karpalstütz/ Drängen in die Anbindung*) mit 4 Punkten bestraft. Das Ergebnis wird als Division aus Punktsumme/ Anzahl der bewerteten Parameter dargestellt.

**Tabelle V.2.10: Betriebscharakteristik**

Betrieb Nr.	Expos.	Struktur	Produkt	MLP	Erwerb	Tierzahl > 2 J.	Stall	Klima	Futter	Zucht	weitere Hoftiere	andere Produkte
10	A	1	12	1	1	23	1	1	13	1	13	235
18	A	1	12	2	1	27	3	1	13	1	1	2
19	A	1	1	1	2	8	1	1	14	1	3	
22	A	1	1	2	1	20	1	1	24	1	123	25
23	A	1	1	2	2	8	1	1	14	12	1	
24	A	1	1	1	1	36	2	1	13	1	123	25
29	A	1	1	1	1	19	2	1	13	1	1	2
30	A	1	1	1	1	9	1	1	13	12	13	125
33	A	1	12	2	1	31	2	1	14	1	23	25
36	A	1	1	1	1	40	1	1	13	1	1	2
<b>Mittelwert</b>						<b>22</b>						
8	B	1	13	1	1	40	2	1	13	12	123	3
25	B	1	1	1	1	8	1	1	14	1	12	24
26	B	1	1	2	1	18	1	1	24	1	1346	1
31	B	1	1	2	1	23	2	1	13	1	16	2
32	B	1	1	1	2	25	1	1	13	1	125	2
35	B	1	2	2	2	14	1	1	24	12	1	
37	B	1	1	1	1	22	2	1	14	12	123	2
<b>Mittelwert</b>						<b>21</b>						
9	C	1	1	1	1	23	1	1	13	1	13	5
28	C	1	1	1	2	12	1	1	13	12	1	
34	C	1	1	1	1	30	1	1	13	1	12	2
<b>Mittelwert</b>						<b>22</b>						
1	D	1	12	1	1	27	2	1	13	1	1	
2	D	1	3	1	2	5	2	1	13	12	1	
3	D	1	1	1	2	13	1	1	13	1	13	
4	D	1	1	1	1	62	2	1	13	1	1	3
11	D	1	1	2	1	20	3	1	13	1	123	5
14	D	2	12	1	1	50	2	1	13	1	123	
15	D	1	1	2	2	15	3	1	13	1	136	5
16	D	1	12	2	1	15	1	1	13	1	13	5
17	D	1	1	2	2	40	1	1	23	1	13	25
27	D	1	1	1	1	34	1	1	13	1	12	13
<b>Mittelwert</b>						<b>28</b>						

Legende:

Struktur: 1 Familie 2 Gemeinschaft

Produkt: 1 Milch 2 Fleisch 3 Zucht

Milchleistungsprüfung (MLP): 1 ja 2 nein

Erwerb: 1 Haupt- 2 Neben-

Stall: 1 Altbau 2 Neubau 3 Umbau

Klima: 1 warm 2 kalt

Futter: 1 Grundfutter selbst/KF Zukauf 2 alles selbst 3 Leistung angepaßt 4 Leistung nicht angepaßt

Zucht: 1 eigene Nachzucht 2 Zukauf

andere Tiere: 1 Ktz,Hd 2 Geflügel 3 andere landw. Tiere (außer Schwein) 4 Fische 5 Bienen 6 weitere

andere Produkte: 1 Fremdenverkehr 2 Holz 3 Ackerbau 4 Schnaps 5 Schweinemast

**Tabelle V.2.11:** Stallhygiene

Betrieb Nr.	Expos.	Temp innen °C	Temp auß. °C	rF %	Kondenswasserbildung	Eisbildung	CO 2 %	NH 3 ppm	H2S ppm	Geruch	Ver- schmutz- ung	Lüft- ung	Licht Lux
10	A	14	0		2	2	0,2	<10	0,0	+	+	12	230
18	A	21	22	76	2	2	0,1	0,0	0,0	++	++	1	420
19	A	19,5	17	66	2	2	0,1	0,0	0,0	++	+++	1	400
22	A	14,8	8,7	62	2	2	0,1	<10	0,0	+	+++	1	150
23	A	22,4	20,4	62	2	2	<0,1	0,0	0,0	-	-	1	105
24	A	22,4	23	65	2	2	<1	0,0	0,0	+	++	12	135
29	A	17	15	65	2	2	0,0	0,0	0,0	+	++	1	120
30	A	17	2	74	2	2	0,3-0,4	<10	0,0	++	++	2	100
33	A	19	17,5	72	2	2	0,1	0,0	0,0	+	++	12	190
36	A	13	11	63	2	2	0,0	0,0	0,0	++	++	12	190
<b>Mittelwert</b>		<b>18</b>	<b>14</b>	<b>67,2</b>									<b>204</b>
8	B	17	5	58	2	2	0,1	0,0	0,0	+-	+-	12	70
25	B	20,4	22	68	2	2	0,0	0,0	0,0	+	++	1	100
26	B	15	10	54	2	2	0,0	0,0	0,0	+	+	1	70
31	B	23	19	74	2	2	0,1	0,0	0,0	+	-	1	250
32	B	12	7	60	2	2	1-2	2,0	0,0	-	+	1	
35	B	14,7	14	77	2	2	0,0	0,0	0,0	+	++	1	3
37	B	14	3	70	2	2	0,2	<10	0,0	+	-	2	550
<b>Mittelwert</b>		<b>16,6</b>	<b>11,4</b>	<b>65,9</b>									<b>174</b>
9	C	10	2	70	2	2	0,3	0,0	<3	++	+++	1	64
28	C	17,5	15	80	2	2	1,0	<5	0,0	+	++	1	30
34	C	12	10	80	2	2	0,0	0,0	0,0	-	++	1	40
<b>Mittelwert</b>		<b>13,2</b>	<b>9</b>	<b>76,7</b>									<b>45</b>
1	D	18,5	18	50	2	2	0,0	0,0	0,0	+/-	+++	1	230
2	D	15,8	15	69	2	2	0,0	0,0	0,0	+++	+++	1	500
3	D	19,1	18,8	60	2	2	0,0	0,0	0,0	-	+	12	110
4	D	24,3	23,7	71	2	2	0,1	0,0	0,0	++	+++	1	160
11	D	16	2	65	2	2	0,2	<10	0,0	++	+++	2	20
14	D	8	-1	56	2	2	<0,2	0,0	0,0	-	-	3	800
15	D	9	5	74	2	2	0,1-0,2	0,0	0,0	-	+	1	40
16	D	13	0	69	1	2					++	1	20
17	D	15	-3	74	1	1	<0,4	0,0	0,0	+	+	12	140
27	D	18	11	77	2	2	0,0	<10	0,0	+ -	+ -	12	40
<b>Mittelwert</b>		<b>15,7</b>	<b>9</b>	<b>66,5</b>									<b>206</b>

Legende:  
 1 = ja 2 = nein MW = Mittelwert  
 Lüftung: 1 Fenster 2 Ventilator 3 Trauf-First  
 Befund: +, ++, +++; +- unklar - obB

**Tabelle V.2.12:** Stallbau (Maße in cm)

Betrieb Nr.	Expos.	Standbreite	Liege-länge	hor. Begr.	vert. Begr.	Entmist.	Stabbreite	Schlitzweite	Anbind.	Trogsohle
10	A	90	170	80	85	2			5	5
18	A	102,5	155	87	95	2			14	8
19	A	105	190			2			7	23
22	A	95	240	100	160	2			1	21
23	A	95	210			2			3	10
24	A	105	165	85	110	1	2,25	4	2	19
29	A	105	177,5	82	135	2			5	14,5
30	A	100	220			2			3	20
33	A	110	140	83	66	1	2	3,5	1	15
36	A	100	140	80	90	1	2	3,5	4	23
<b>Mittelwert</b>		<b>100,8</b>	<b>162,5*</b>	<b>82,8*</b>	<b>96,8*</b>		<b>2,1</b>	<b>3,7</b>		<b>15,9</b>
8	B	102,5	200	80	120	2			5	23
25	B	110	170	80	130	1	3	3,5	6	5
26	B	95	175	85	117	1	2	4	2	4
31	B	90	122,5	87	80	1	2,5	4	4	
32	B	92	153	86	66	1	3	4,5	1	14
35	B	100	220			2			3	7
37	B	100	175	87	130	1	4	3,5	24	8
<b>Mittelwert</b>		<b>98,5</b>	<b>165,9*</b>	<b>84,2</b>	<b>107,2</b>		<b>4</b>	<b>3,9</b>		<b>10,2</b>
9	C	100	160	80	90	2			4	5
28	C	100	160	80	120	1	2	4	2	15
34	C	100	210			2			3	4
<b>Mittelwert</b>		<b>100</b>	<b>160*</b>	<b>80</b>	<b>105</b>					<b>8</b>
1	D	90	160	86	90	1	2	4	4	10
2	D	97,5	155	85	80	1	2,5	4	4	8
3	D	90	160	80	120	2			24	0
4	D	97,5	170	88	82	2			1	7
11	D	97,5	145	90	65	1	2,5	4	4	8
14	D	110	165	85	95	2			2	15
15	D	100	140	85	60	1	2,75	4	4	10
16	D	100	150	90	80	1	2	3,5	1	6
17	D	92,5	160	82,5	90	1	2,25	4	2	10
27	D	92,5	140	90	85	1	3,5	2,5	12	12,5
<b>Mittelwert</b>		<b>96,8</b>	<b>154,5</b>	<b>86,2</b>	<b>84,7</b>		<b>2,5</b>	<b>3,7</b>		<b>8,7</b>

\* ohne Langstände

**Tabelle V.2.12:** Stallbau (Fortsetzung)

Betrieb Nr.	Expos.	Krippenwandhöhe	elast./stabil	Tränkeschale Durchm.	Befestigungshöhe	Boden	Tritt	Kuh-trainer
10	A	21	2	19	46	1	++	2
18	A	28	2	21	50	1	+	2
19	A	40	2	22	68	1	+	2
22	A	40	2	21	66	1	+	2
23	A	38	2	20	30	1	+	2
24	A	49	1	22	56	12	++	1
29	A	32	2	22	68	12	+++	2
30	A	56	2	21	37	1	++	2
33	A	30	2	20	56	2	++	2
36	A	36	2	19	60	2	++	2
<b>Mittelwert</b>		<b>37</b>		<b>20,7</b>	<b>53,7</b>			
8	B		1	22	50	1	++	1
25	B	28	2	23,5	50	2	+	1
26	B	34	2	18	60	2	++	2
31	B	34	2	20	56	3	+	2
32	B	36	2	19	59	12	+++	2
35	B	44	2	20	25	1	+	2
37	B	29	2	21	58	2	++	1
<b>Mittelwert</b>		<b>34,2</b>		<b>20,5</b>	<b>51,1</b>			
9	C	19	2	20	60	1	++	2
28	C	35	2	21	60	12	+++	2
34	C	35	2	20	55	1	-	2
<b>Mittelwert</b>		<b>29,7</b>		<b>20,3</b>	<b>58,3</b>			
1	D	30	2	20	60	1	++	2
2	D	32	2	20	55	2	+	2
3	D	28	2	20	60	1	++	2
4	D	23	2	20	47	1	+	2
11	D	24	2	22	60	2	++	2
14	D	30	2	29	58	12	++	2
15	D	32	2	20	63	2	++	2
16	D	22	2	20	58	2	++	2
17	D	38	2	20	62	2	++	2
27	D	28,5	2	19	48	12	+++	2
<b>Mittelwert</b>		<b>28,8</b>		<b>21</b>	<b>57,1</b>			

Legende:

1 ja 2 nein

Entmistung 1 Gitterrost/Schwemm 2 Kotstufe/Festmist

Anbindung 1 Kuhkette (2 Fixpunkte hor) 2 Gelenkhalsrahmen 3 Kette mit Holzfreßgitter 4 Grabner

5 freie Anbindung (1 Fixpunkt) 6 Kette mit Vorratsfreßgitter 7 Kette mit Metallklappfreßgitter

Krippenwand 1 elastisch 2 stabil

Boden 1 Einstreu 2 Gummimatte 3 planbefestigt

- schlecht; + mäßig; ++ gut; +++ sehr gut

**Tabelle V.2.13:** *Bewertung der Betriebe*

Betrieb Nr.	Expos.	Standbreite	Liege-länge	hor. Begr.	vert. Begr.	Stabbreite	Schlitzweite	Trogsohle	Krippenwandhöhe
10	A	4	0	2	2			4	0
18	A	4	2	2	1			4	0
19	A	4	0					0	4
22	A	4	0					0	4
23	A	4	4					4	4
24	A	4	0	2	0	0	4	0	4
29	A	4	0	2	0			0	2
30	A	4	2					0	4
33	A	2	4	2	2	0	0	0	0
36	A	4	4	2	1	0	0	0	4
8	B	4	0	2	0			0	
25	B	2	0	2	0	0	0	4	0
26	B	4	0	2	0	0	4	4	4
31	B	4	0	2	2	0	4		4
32	B	4	2	2	2	0	4	0	4
35	B	4	2					4	4
37	B	4	0	2	0	0	0	4	0
9	C	4	0	2	1			4	0
28	C	4	0	2	0	0	4	0	4
34	C	4	4					4	4
1	D	4	0	2	1	0	4	4	0
2	D	4	2	2	2	0	4	4	2
3	D	4	0	2	0			4	0
4	D	4	0	2	2			4	0
11	D	4	4	2	2	0	4	4	0
14	D	2	0	2	1			0	0
15	D	4	4	2	2	0	4	4	2
16	D	4	2	2	2	0	0	4	0
17	D	4	0	2	1	0	4	4	4
27	D	4	4	2	2	0	0	0	0

**Tabelle V.2.13:** Bewertung der Betriebe (Forts.)

Tränkeschale Durchmesser	Befestigungs- höhe	Temp	rF	Licht	Technopathie/ auffälliges Verh.	Pkt.- summe	Wert*
1	1	0	0	0	0	14	1,17
1	1	2	0	0	4	21	1,75
1	0	0	0	0	4	13	1,3
1	0	0	0	0	0	9	0,9
1	1	4	0	0	4	26	2,6
1	0,5	4	0	0	4	23,5	1,68
1	0	0	0	0	4	13	1,08
1	1	0	0	0	4	16	1,6
1	0,5	0	0	0	4	15,5	1,11
1	0	0	0	0	0	16	1,14

Mittelwert

**1,43**

1	1	0	0	4	4	16	1,45
1	1	2	0	0	0	12	0,86
1	0	0	0	4	4	27	1,93
1	0,5	4	0	0	4	25,5	1,96
1	0,5	0	0		4	23,5	1,81
1	1	0	0	4	4	24	2,4
1	0,5	0	0	0	0	11,5	0,82

Mittelwert

**1,60**

1	0	0	0	4	4	20	1,67
1	0	0	0	4	4	23	1,64
1	0,5	0	0	4	4	25,5	2,55

Mittelwert

**1,95**

1	0	0	0	0	4	20	1,43
1	0,5	0	0	0	0	21,5	1,54
1	0	0	0	0	4	15	1,25
1	1	4	0	0	4	22	1,83
1	0	0	0	4	0	25	1,79
0	0,5	0	0	0	4	9,5	0,79
1	0	0	0	4	0	27	1,93
1	0,5	0	0	4	0	19,5	1,39
1	0	0	0	0	0	20	1,43
1	1	0	0	4	4	22	1,57

Mittelwert

**1,49**

\*Wert = Punktsumme/Anzahl der bewerteten Parameter

### **2.3.7 Ergebnis der Bewertung**

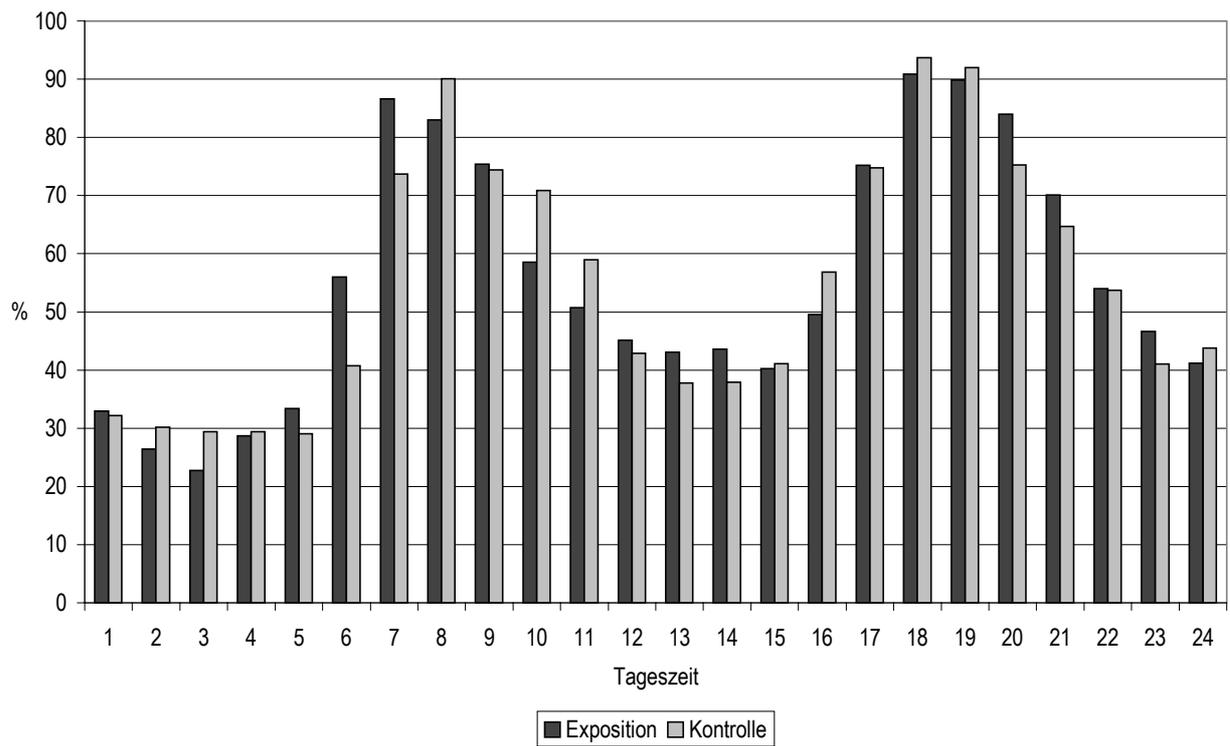
Alle Betriebe erfüllen nicht die baulichen Mindestanforderungen. Dagegen entsprechen die vorgefundenen klimatischen Bedingungen im Mittel den Mindestanforderungen. Auf  $\frac{2}{3}$  der Betriebe werden Technopathien und/oder auffällige Verhaltensweisen festgestellt. Insgesamt können aus tierärztlicher Sicht die Haltungsbedingungen als mäßig bezeichnet werden. Es zeigt sich, dass die Gruppen A und D nahezu gleich bewertet werden können. Die Betriebe der Gruppen B und C dagegen werden schlechter beurteilt. Die errechnete Wertzahl stellt eine mathematische Möglichkeit zum Betriebsvergleich dar. Ein Betrieb ohne Beanstandung hätte den Wert 0. Eine qualitative Aussage ist aber nicht möglich, da die Maluspunktvergabe nicht ausgeglichen werden kann.

## **3 Verhalten**

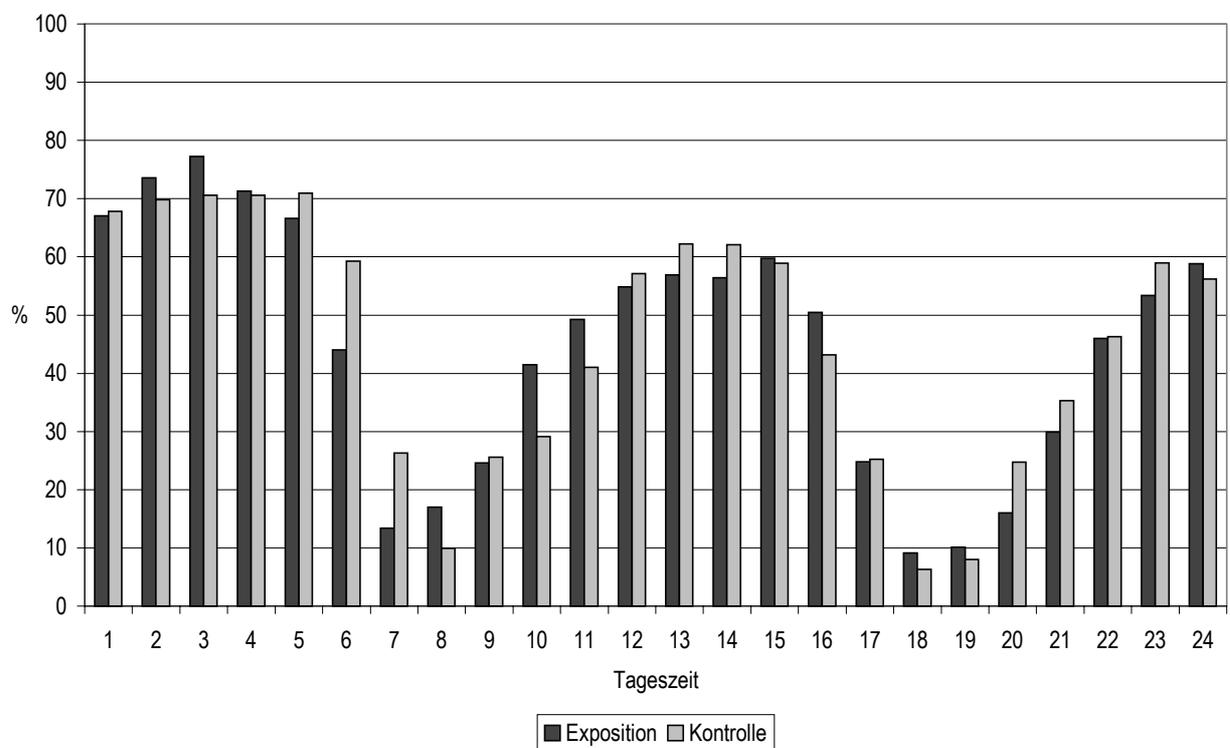
### **3.1 Stallbeobachtung**

#### *Normalverhalten*

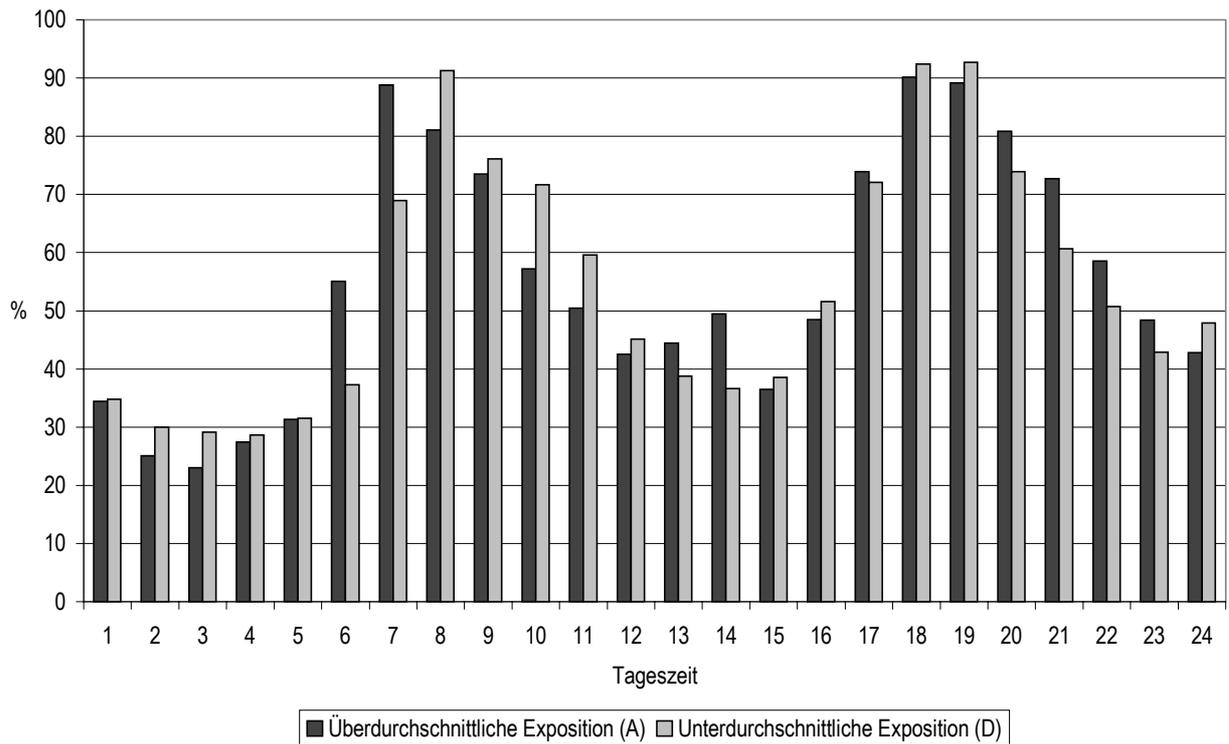
In allen Gruppen kann ein typisches Tagesprofil für Kühe in Anbindung beobachtet werden, bestehend aus zwei Liegephasen mit mehr als 50 % liegender Tiere zwischen 11 Uhr und 15 Uhr sowie 23 Uhr und 5 Uhr. Der Aktivitätsverlauf ist biphasisch mit Höhepunkten morgens und nachmittags während der Stallarbeit (SAMBRAUS, 1978; SÜSS und ANDREAE, 1984) (Abb. V.3.1-V.3.4). Das Liegeverhalten wird zwischen Mitternacht und 4 Uhr sowie zwischen 12 Uhr und 16 Uhr anhand der Liegelänge analysiert. Es wird zwischen kurzen (< 10 Minuten), mittellangen (10-60 Minuten), langen (60-90 Minuten) und sehr langen (> 90 Minuten) Liegephasen unterschieden. Dabei zeigt sich, dass die Kühe der Gruppe A zwischen 0 Uhr und 4 Uhr tendenziell weniger mittellang liegen als die der Gruppe D ( $p = 0,06$ ) (Abb. V.3.5 und V.3.6). Dieser Befund wird durch die signifikant negative Korrelation der Liegephasenanzahl mit der GSM-Exposition unterstützt (Korrelation nach Pearson;  $r = -0,428$ ;  $p \leq 0,05$ ;  $n = 19$ ) (Abb. V.3.7). KROHN und MUNKSGAARD (1993) finden den höchsten Anteil liegender Tiere in der mittellangen Phase. Dies scheint eine typische Verteilung der Liegephasen bei Kühen in Anbindung zu sein. Süss und ANDREAE (1984) nennen 69 Minuten als mittlere Dauer einer Liegeperiode für Kühe in Anbindung mit Gitterrost. Der auffallende Befund aus Gruppe A zwischen Mitternacht und 4 Uhr zeigt daher, dass die Kühe das Aufstehen und Niederlegen scheuen. Sie bleiben entweder länger liegen oder legen sich gar nicht erst hin. Diese Strategie zeigen Färsen beim Vergleich zwischen Anbinde- und Laufstallhaltung, die als Bewältigung der mangelnden Haltungsform betrachtet wird (MÜLLER et al., 1989). Da sich tagsüber die Verteilung nicht unterscheidet, können haltungsbedingte Einflüsse wie Standlänge und -breite ausgeschlossen werden.



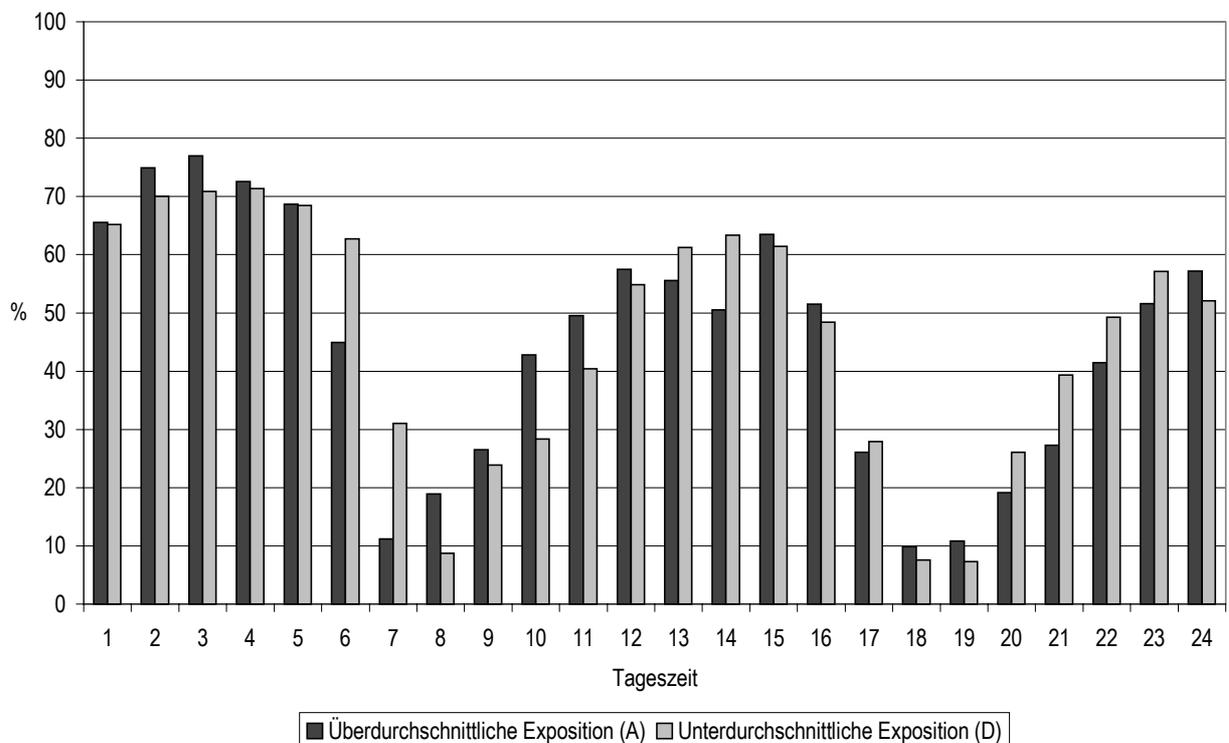
**Abbildung V.3.1:** Tagesprofil Aktivitätsverhalten (Futteraufnahme und Stehen) im Stall der Gruppen E und K



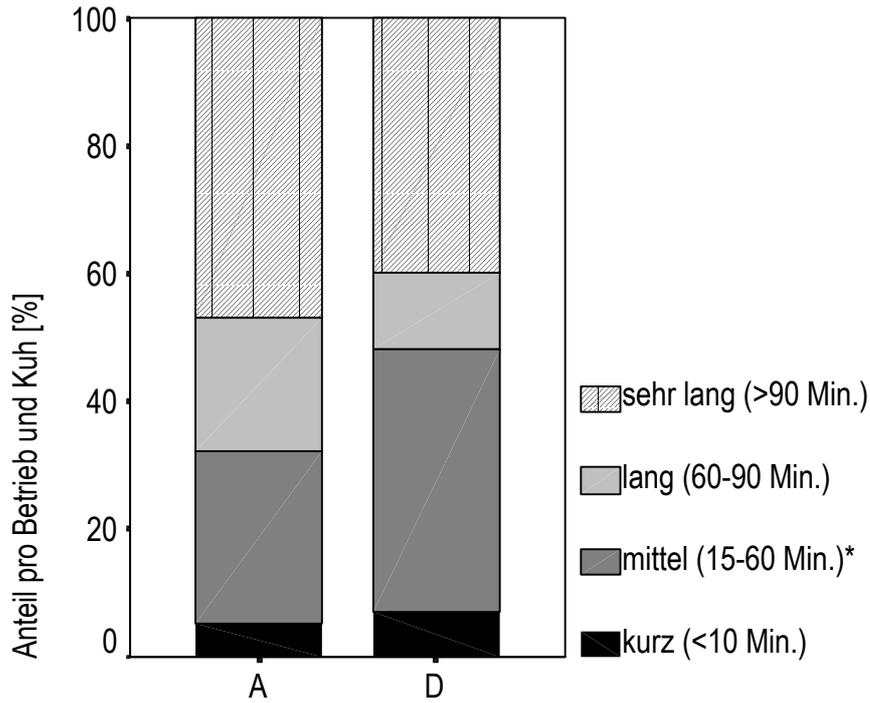
**Abbildung V.3.2:** Tagesprofil Liegeverhalten im Stall der Gruppen E und K



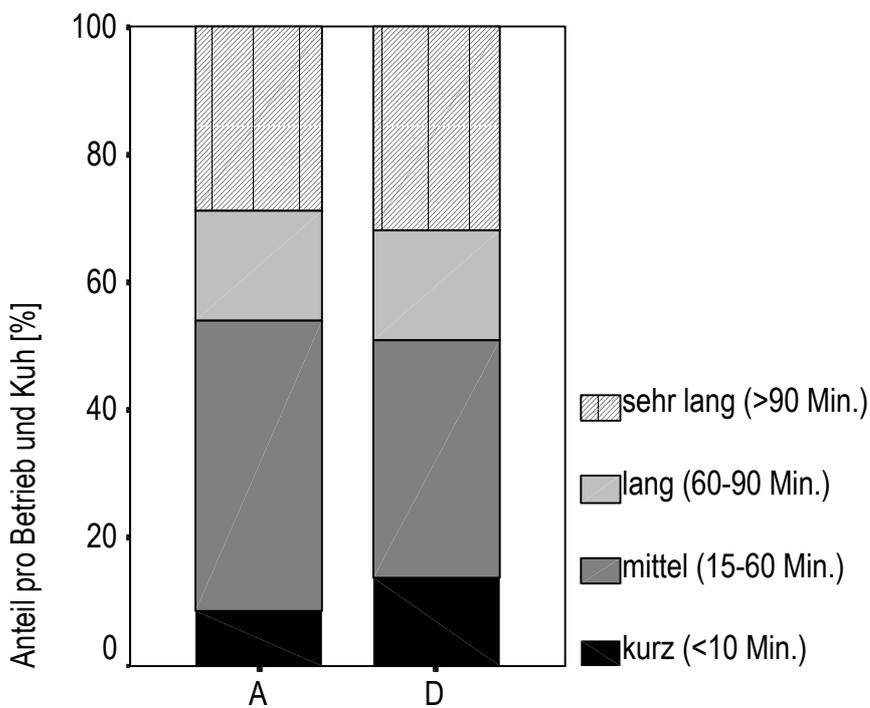
**Abbildung V.3.3:** Tagesprofil Aktivitätsverhalten (Futteraufnahme und Stehen) der Gruppen A und D im Stall



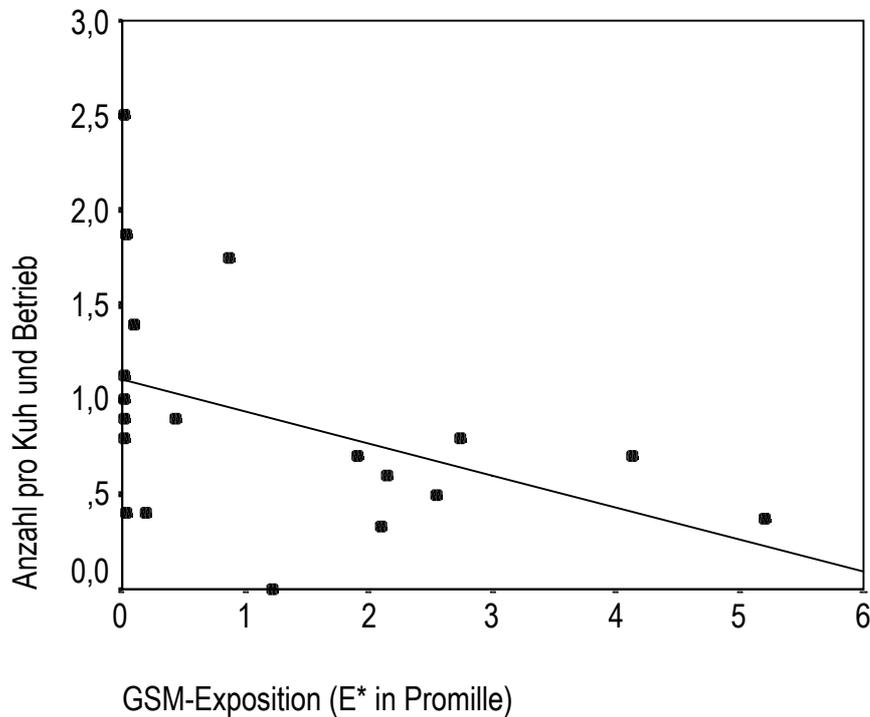
**Abbildung V.3.4:** Tagesprofil Liegeverhalten der Gruppen A und D im Stall



**Abbildung V.3.5:** Durchschnittliche Verteilung der Liegephasen zwischen 0 und 4 Uhr pro Kuh und Betrieb (\* $p=0,06$ )



**Abbildung V.3.6:** Durchschnittliche Verteilung der Liegephasen zwischen 12 und 16 Uhr pro Kuh und Betrieb



**Abbildung V.3.7:** Korrelation der durchschnittlichen Anzahl mittellanger Liegephasen pro Kuh und Betrieb mit der Exposition durch GSM zwischen 0 und 4 Uhr ( $p \leq 0,05$ )

Rinder unterbrechen das Liegen regelmäßig, um die Liegeseite zu wechseln (PORZIG, 1969). Obwohl die Liegeseite von zahlreichen Faktoren abhängt, wie zum Beispiel dem Trächtigkeitszustand, der Pansenfüllung sowie der Beschaffenheit und Neigung der Liegefläche, liegen Rinder im allgemeinen nahezu gleich oft auf der linken und rechten Körperseite (SAMBRAUS, 1978). Tragende und gesättigte Rinder scheinen die linke Körperhälfte zu bevorzugen (ALBRIGHT und ARAVE, 1997). Unsere Untersuchung zeigt eine Tendenz der Rinder der Gruppe A häufiger auf der linken Seite zu liegen (Tab. V.3.1). BROUCEK et al. (1997) finden signifikante Unterschiede zwischen Rindergruppen, die unterschiedlich starken geopathogenen Zonen ausgesetzt waren. Die linke Körperseite wird häufiger bei stärkster Exposition gewählt, die rechte bei schwächerer.

Ein Einfluss der nächtlichen Beleuchtung auf das Tierverhalten kann nicht ausgeschlossen werden. Da aber auf allen Betrieben gleiche Lichtverhältnisse vorhanden sind, sind die Daten innerhalb der Gruppen vergleichbar. Aufgrund der Bewertung der einzelnen Betriebe zeigt sich, dass die Auswirkungen der Haltungsbedingungen auf das Tierverhalten vergleichbar sind. Auch die Daten aus der Milchleistungsprüfung stützen diesen Befund. Daher kann gefolgert werden, dass die

Gruppenunterschiede nicht durch bauliche, klimatische oder Managementeinflüsse bedingt sind. Es ist zwar denkbar, dass die Haltungsbedingungen Verhaltensänderungen und vor allem das Auftreten auffälliger Verhaltensweisen begünstigen, aber daraus kann kein Gruppenunterschied resultieren. Des weiteren sind die Gruppengrößen ausreichend und gleichmäßig, so dass ein Einfluss auf die statistischen Tests nicht zu erwarten ist.

**Tabelle V.3.1:** Häufigkeit der untersuchten Verhaltensparameter pro Kuh und Betrieb der Gruppen A und D im Stall (Mittelwert  $\pm$  s)

		n	Mittelwert	s	p
Liegen	A	9	45,01	3,52	n.s.
	D	10	42,22	13,41	
Links Liegen	A	6	23,75	3,22	0,07
	D	8	20,96	3,51	
Rechts Liegen	A	6	21,12	2,49	n.s.
	D	8	23,38	5,73	
Stehen	A	9	30,59	3,85	n.s.
	D	10	28,85	6,88	
Futteraufnahme	A	9	24,39	3,86	n.s.
	D	10	25,28	5,56	

#### *Auffälliges Verhalten*

Die im Ethogramm beschriebenen auffälligen Verhaltensweisen können auf 22 Betrieben beobachtet werden. Das *Kopf-zur-Seite-gewendet* Verhalten wird auf einem Betrieb (Nr. 32) bei einer Kuh eindeutig beobachtet. Auf einem weiteren (Nr. 22) kann das Verhalten von zwei benachbarten Kühen ähnlich gedeutet werden. Die Kameraposition ist nicht günstig, um es eindeutig festzustellen. Auf beiden Betrieben wird das Verhalten jeweils vor und während der Fütterungs- und Melkzeiten, also am frühen Morgen und am Nachmittag beobachtet. Es wird von einer Kraffuttergabe auf Betrieb Nr. 32 und durch Öffnen des Fressgitters auf Betrieb Nr. 22 beendet und tritt erst wieder zur darauffolgenden Futterzeit auf. Auf Betrieb Nr. 32 wird Grundfutter ad libitum und Kraffutter zur Melkzeit vorgelegt. Auf Betrieb Nr. 22 wird rationiert gefüttert. Am Ende einer Fütterungszeit wird die erste Portion der nächsten Fütterung bereits vorgelegt und das Fressgitter geschlossen. Das *Kopf-zur-Seite-gewendet* Verhalten kann in einem Zeitrahmen mehrfach auftreten, jeweils unterbrochen durch Stehverhalten, währenddessen Trippeln und Kopfbewegungen gezeigt werden, und dauert unterschiedlich lang an, von wenigen Sekunden bis zu mehreren Minuten. Vom ersten bis zum letzten Auftreten vergehen zirka 30 bis 40 Minuten. Auf Betrieb Nr. 22 wenden sich zwei benachbarte Tiere den Kopf so zu, dass die Blickrichtung entgegengesetzt und parallel verläuft. Die Nachbartiere auf Betrieb Nr. 32, denen der Kopf zugewandt

ist, stehen in jedem Fall. Es findet keine sichtbare Interaktion zwischen den Tieren während der Kopf gewendet wird statt. Alle drei Tiere wenden den Kopf immer in die gleiche Richtung. Auf Betrieb Nr. 22 wird das Verhalten bei einer der Kühe immer in Verbindung mit einer vorausgehenden stereotypen, dem Weben ähnlichen Bewegung gesehen. Auf Betrieb Nr. 32 zeigt die auffällige Kuh das Nasenlehnen.

Es wird angenommen, dass das *Kopf-zur-Seite-gewendet* Verhalten dem Erregungsabbau und der Bewältigung einer unbefriedigenden Situation dient. In den Fütterungs- und Melkzeiten werden die Tiere durch vielfältige Reize erregt und ihre Motivation allgemein gesteigert. Es können generell vermehrte Unruhezeichen wie Trippeln, Weben oder Kopfbewegungen beobachtet werden, und es treten am häufigsten soziale Interaktionen auf. Die Kraffuttergabe auf Betrieb Nr. 32 und das Öffnen des Fressgitters auf Nr. 22 führen offensichtlich zur Triebbefriedigung, da das Verhalten bis zur nächsten Fütterung nicht mehr gezeigt wird. LÖSCHER und KÄS (1998) sowie WITTKOWSKI et al. (1998) stimmen mit den Beobachtungen überein. Dagegen sprechen der beschriebene Zeitpunkt und das Auftreten des Verhaltens nicht für einen direkten Einfluss des elektromagnetischen Feldes. NIELSEN et al. (1997) können bei Färsen in Laufstallhaltung vermehrtes frontales Anlehnen des Kopfes an Herdengenossen beobachten, wenn das Flächenangebot auf der eingestreuten Liegefläche pro Kuh am geringsten ist. Es wird als ein Abweichen vom normalen Verhalten beurteilt und vermutet, dass die Tiere die Überbelegung des Stalles nicht kompensieren können. Da die Haltung des Kopfes zum Partnertier - Nasenrücken senkrecht zum Tierkörper des Partners - identisch mit dem *Kopf-zur-Seite-gewendet* Verhalten ist, wird angenommen, dass die Verhaltensweisen identisch sind, sich aber im Ablauf aufgrund der Haltungsform unterscheiden. Angebundene Rinder können dieses Verhalten nur mit zur Seite gewendetem Kopf zeigen. LÖSCHER und KÄS (1998) sowie WITTKOWSKI et al. (1998) können auch das direkte Anlehnen im Betrieb Nr. 32 beobachten. REDBO (1993) beobachtet gehäuft Stereotypen bei Milchkühen in Anbindehaltung, nachdem die Weidesaison beendet ist und, übereinstimmend mit den Beobachtungen von Betrieb Nr. 22, wenn den Tieren Futter vorgelegt ist, das sie aber nicht erreichen können. Solange die reizauslösende Situation anhält und sich der Trieb nicht befriedigen lässt, lernen die Tiere, die Situation auf andere Weise zu bewältigen.

*Nasenlehnen* kann auf neun Betrieben bei jeweils einem der Tiere mehrfach beobachtet werden (Nr. 1, 10, 11, 15, 24, 26, 28, 32, 36). Es stellt eine häufig vorkommende Verhaltensstörung dar. Auslauf und damit die Möglichkeit zur Begegnung mit reizvolleren Situationen würde das Verhalten reduzieren (KROHN, 1994). Bestandsweise kann in vier Ställen *Futterwerfen* (Nr. 3, 25, 28, 35) und in zwei *Fußscharren* (Nr. 31, 35) registriert werden.

Die oben genannten auffälligen Verhaltensweisen stellen Verhaltensstörungen infolge erhöhter Erregungszustände dar, die nicht adäquat kompensiert werden können (SAMBRAUS, 1993). Je fünf Betriebe sind den Gruppen A und B zu zurechnen, ein Betrieb der Gruppe C und 3 Betriebe der Gruppe

D. Dieser Befund könnte die Hypothese stützen, dass bei stärkerer Strahlenbelastung vermehrt auffälliges Verhalten auftreten kann und ohnehin stärker belastete Tiere empfindlicher reagieren (HARSCH, 1995).

*Pferdeartiges Aufstehen* (Nr. 4, 18, 23, 28, 29, 30, 31, 33, 34, 35) und *Futterraufnahme im Karpalstütz/Drängen in die Anbindung* (Nr. 8, 26) stellen ein baulich bedingtes auffälliges Verhalten dar, das vor allem durch falsche Abmessungen des Futtertrogs und der Krippenwand auftreten. Hier verteilen sich die Betriebe wie folgt: A/5, B/4, C/2, D/1. Da für diese Verhaltensweisen vorwiegend der Stallbau verantwortlich gemacht werden kann, ist der Einfluss durch Strahlung zu vernachlässigen. Interessanterweise treten trotz gleicher Bewertung der Gruppen in D weniger baulich bedingtes auffälliges Verhalten auf. Die Technopathien können dagegen damit nicht in einen Zusammenhang gebracht werden, da diese gleichmäßig verteilt sind (A/3, B/4, C/2, D/5).

### 3.2 Weidebeobachtung

Das Tagesprofil der Verhaltenskategorien Liegen, Stehen, Futterraufnahme und Lokomotion unterscheidet sich zwischen der Expositions- (E) und Kontrollgruppe (K) (Abb. V.3.8 und V.3.9). Die Futterraufnahme unterscheidet sich zwischen 10.30 Uhr und 12 Uhr sowie zwischen 14.30 Uhr und 16 Uhr. Die meisten Kühe der Kontrollgruppe beginnen nach Weideaustrieb Futter aufzunehmen, die meisten Tiere der Expositionsgruppe nehmen am Nachmittag Futter auf. Der Anteil liegender Tiere erreicht um 12.30 Uhr in der Kontrollgruppe fast 80 %. Anschließend fällt der Wert bis 16 Uhr auf 20 %. Der Anteil der liegenden exponierten Tiere ist immer unter 50 %. Die selben Kühe können häufiger stehend und in Bewegung beobachtet werden.

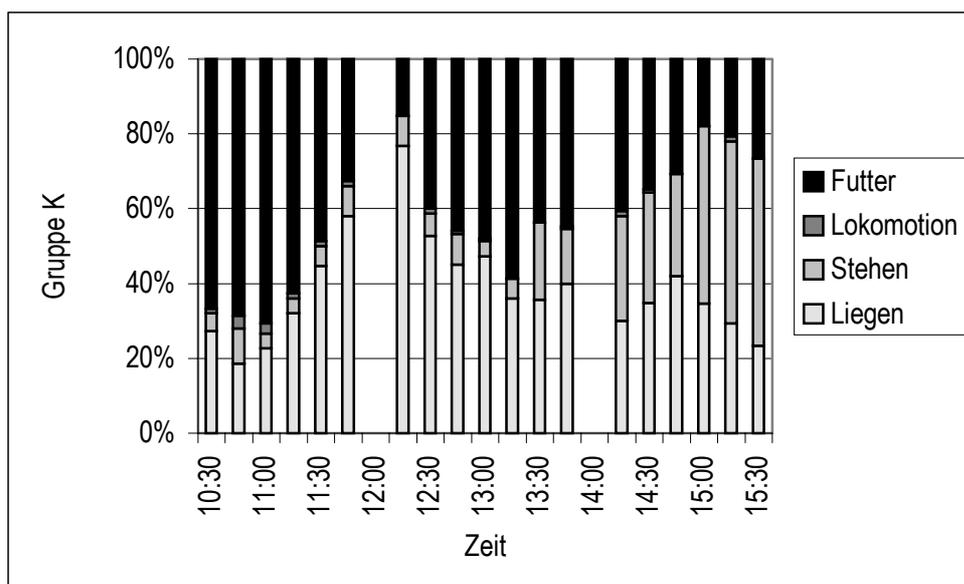
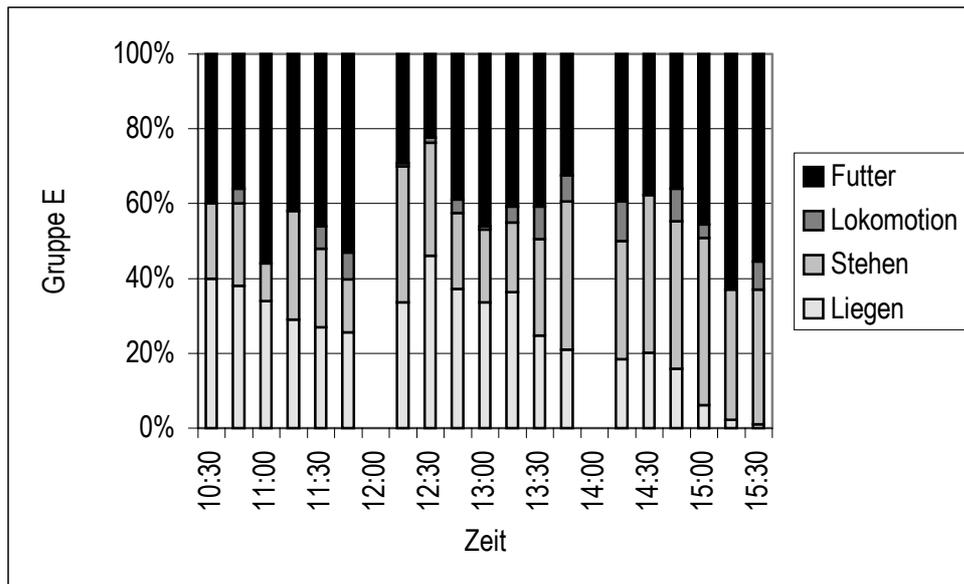


Abbildung V.3.8: Tagesprofil der Gruppe E auf der Weide



**Abbildung V.3.9:** Tagesprofil der Gruppe K auf der Weide

Exponierte Kühe halten sich überwiegend im hofnahen Bereich auf. 40 bis 60 % der Kontrollen sind bis zum frühen Nachmittag im hoffernen Bereich zu sehen. Nach dem Austrieb auf die Weide am Morgen ist eine ausgedehnte Graseperiode zu erwarten, im Anschluss eine Liegephase, dann wieder eine kürzere Graseperiode und abschließend erneut ein kurzes Hinlegen oder das Aufstellen am Ausgang der Weide (PORZIG, 1969). Die Befunde in der exponierten Gruppe sprechen für ein deutlich abweichendes Verhalten. Da ausschließlich im fernen Bereich nachportioniert wird und damit frisches Gras zu erwarten ist, überrascht es außerdem, dass die exponierten Kühe häufiger hofnah zu sehen sind (Abb. V.3.10 und V.3.11). Obwohl deren Weiden am Hof liegen und die der Kontrollen außerhalb der Dörfer, scheinen die einzelnen Bereiche der Weide gleich attraktiv. Ob die exponierten Kühe den fernen Bereich meiden, weil diese Bereiche möglicherweise stärker exponiert sind, lässt sich aufgrund der vorliegenden technischen Messergebnisse nicht schließen. Die zusätzliche Beobachtung auf Betrieb Nr. 32 spricht eher für das Gegenteil. Nachdem die Wasserquelle in den hoffernen Bereich verlegt ist, halten sich bis Mittag immer 40 bis 50 % der Herde hoffern auf (Abb. V.3.12 und V.3.13). Die unterschiedlichen Austriebszeitpunkte sollten lediglich zu einer Verzögerung im Auftreten der ersten Liegephase führen, aber nicht das Tagesprofil beeinflussen. Temperaturen zwischen 8°C (Betriebe Nr. 15 und 16) und 20,5°C (Betrieb Nr. 37) stellen keine Extreme für Rinder dar, die zu deutlichen Verhaltensänderungen führen würden (SÜSS und ANDREAE, 1984).

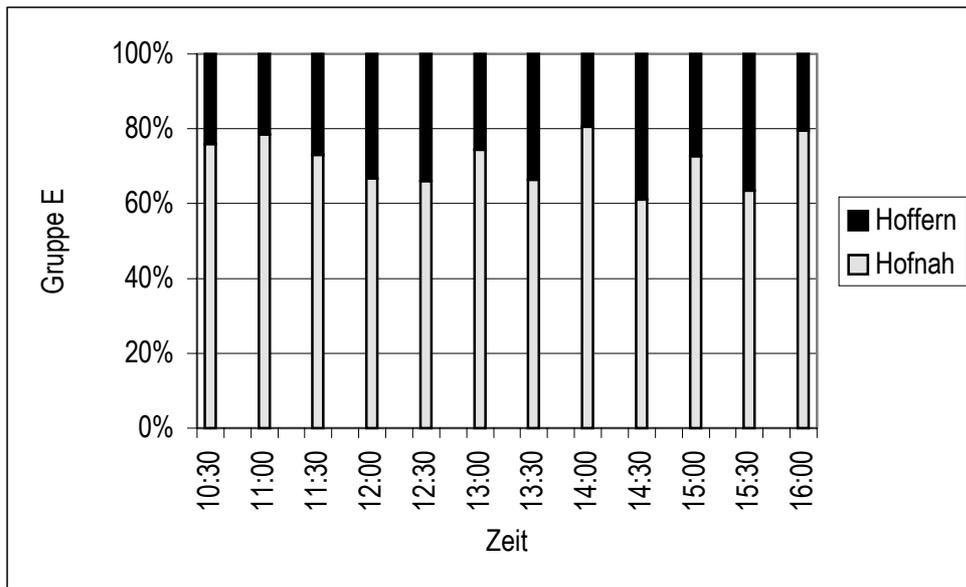


Abbildung V.3.10: Weidenutzung der Gruppe E

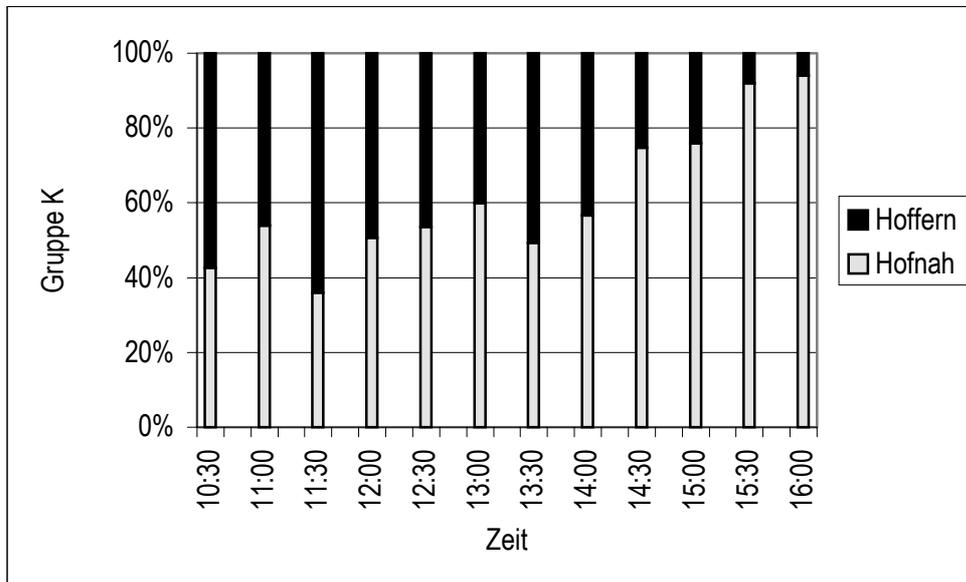
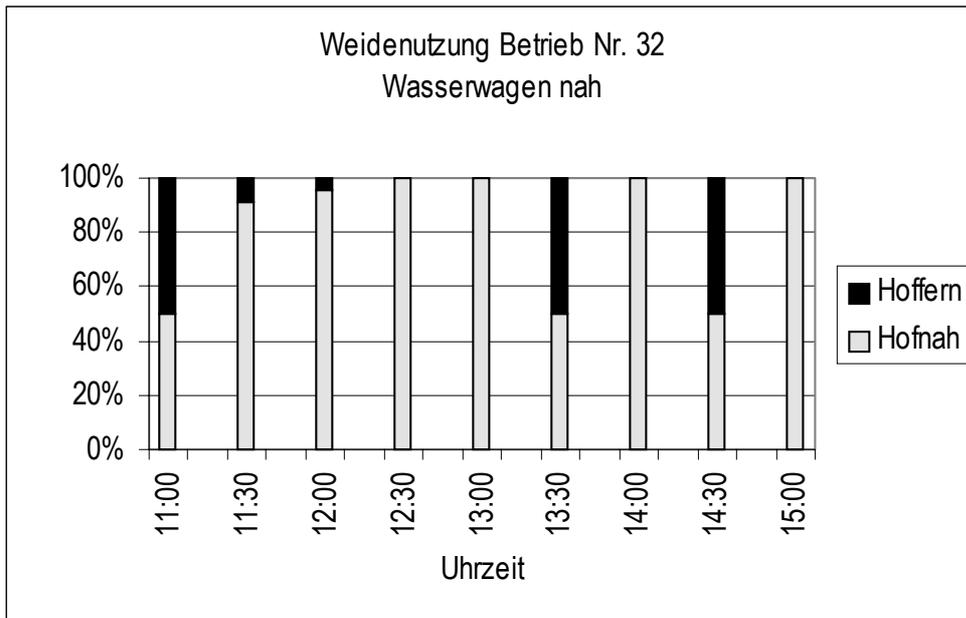
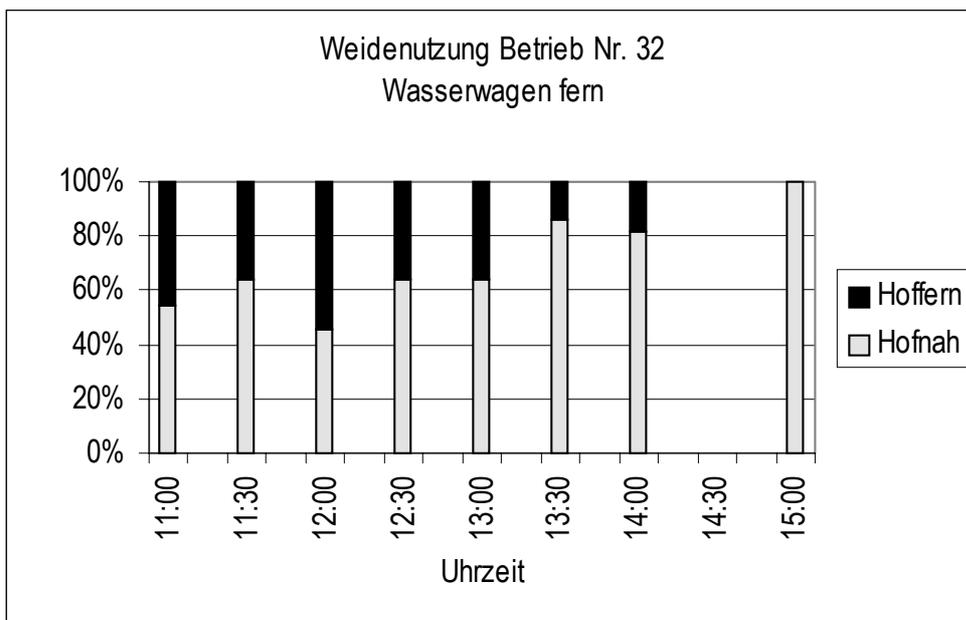


Abbildung V.3.11: Weidenutzung der Gruppe K



**Abbildung V.3.12:** Wasserwagentest nah – Weidenutzung



**Abbildung V.3.13:** Wasserwagentest fern – Weidenutzung

Im einzelnen zeigen sich folgende Differenzen zwischen der Expositions- (n=4) und Kontrollgruppe (n=4): Die Wiederkaufrequenzen ( $t = -4,445$ ; Freiheitsgrad 6;  $p \leq 0,01$ ) (Abb. V.3.14) und die Wiederkaudauer ( $t = -3,437$ ; Freiheitsgrad 6;  $p \leq 0,01$ ) (Abb. V.3.15) unterscheiden sich jeweils hochsignifikant.

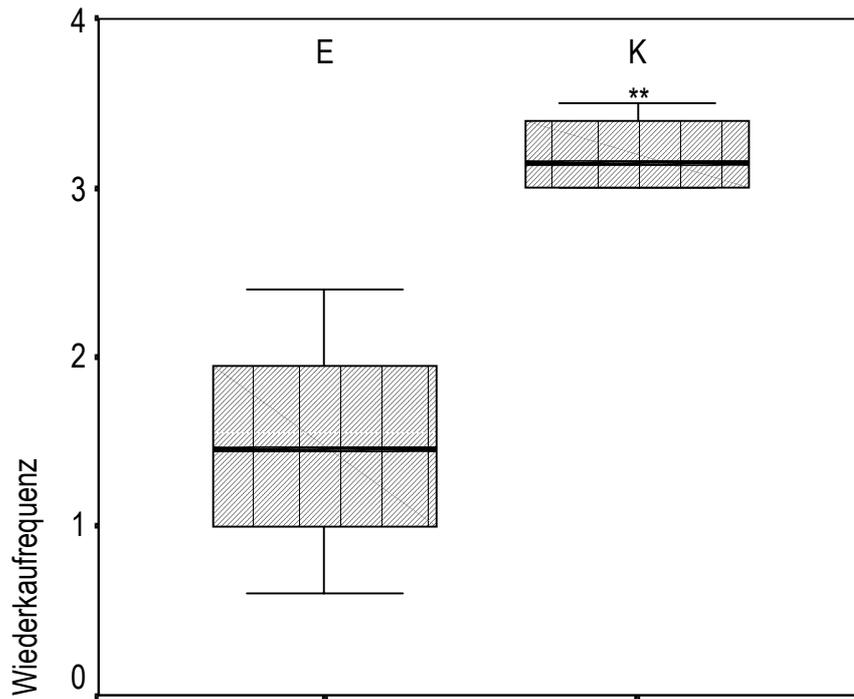


Abbildung V.3.14: Wiederkaufrequenz in den Gruppen E und K (\*\* $p \leq 0,01$ )

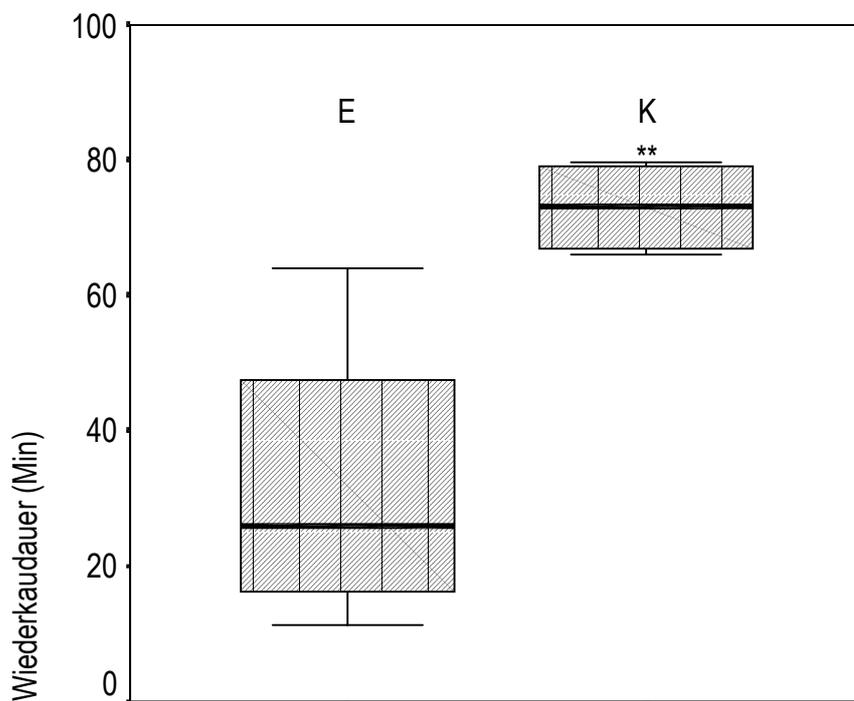
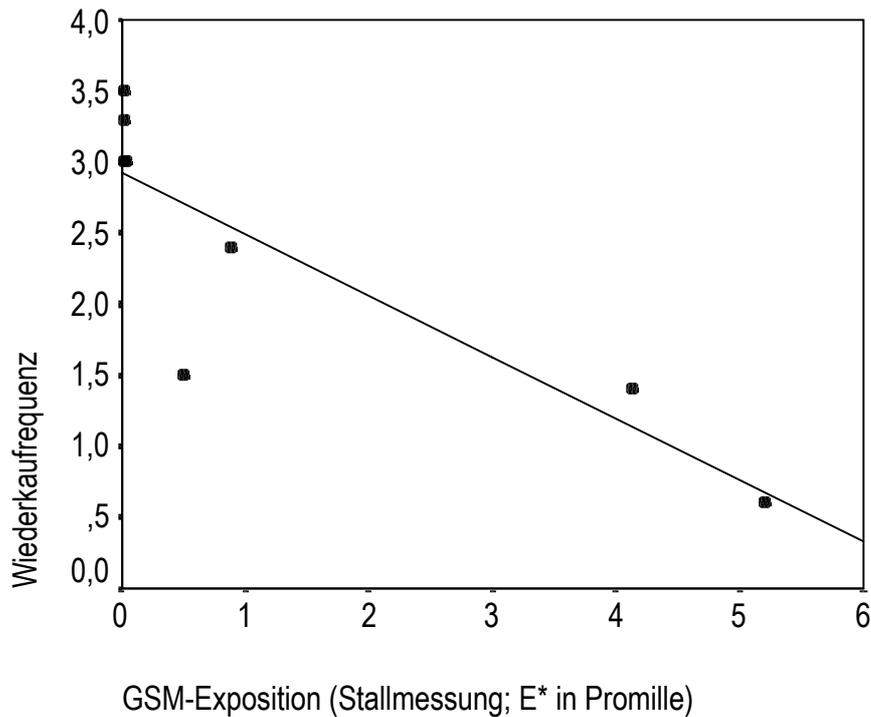
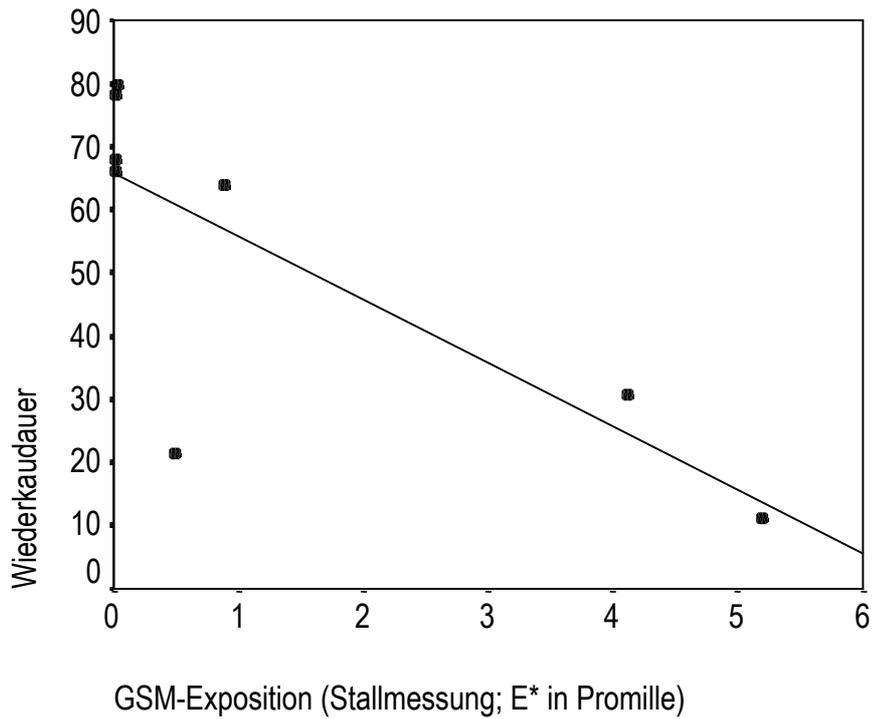


Abbildung V.3.15: Wiederkaudauer in den Gruppen E und K (\*\* $p \leq 0,01$ )

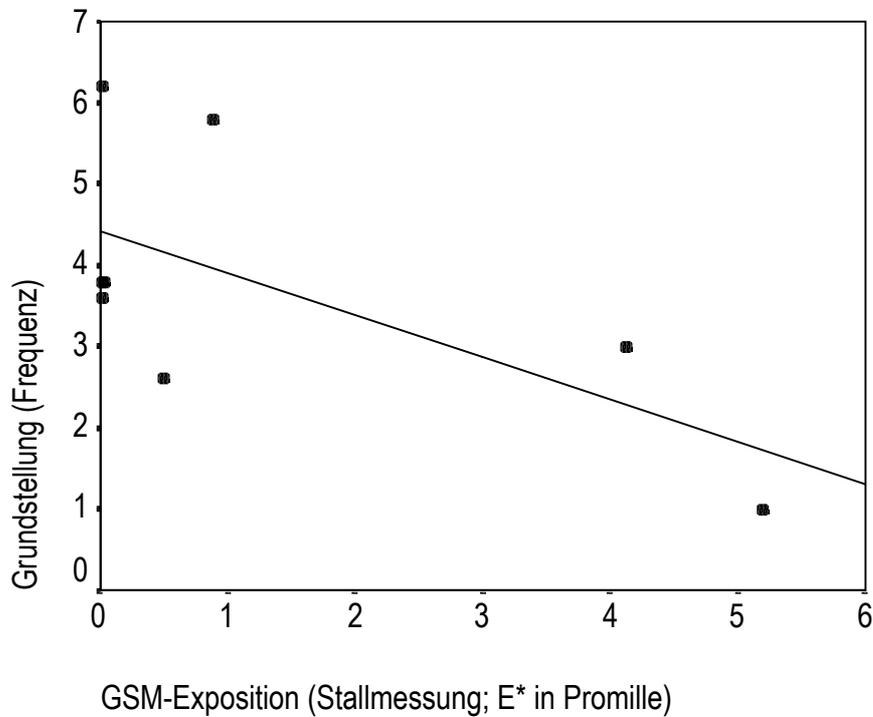
Außerdem korrelieren beide Parameter sowie die Liegehäufigkeit in Grundstellung (Frequenz Grundstellung gesamt) signifikant negativ mit der im jeweiligen Stall gemessenen GSM-Exposition (Korrelationen nach Pearson: Wiederkaufrequenz:  $r = -0,857$ ;  $p \leq 0,01$  (Abb. V.3.16); Wiederkaudauer:  $r = -0,654$ ;  $p \leq 0,05$  (Abb. V.3.17); Grundstellung:  $r = -0,646$ ;  $p \leq 0,05$  (Abb. V.3.18)).



**Abbildung V.3.16:** Korrelation der durchschnittlichen Wiederkaufrequenz auf der Weide mit der Exposition durch GSM ( $p \leq 0,01$ )



**Abbildung V.3.17:** Korrelation der durchschnittlichen Wiederkaudauer auf der Weide mit der Exposition durch GSM ( $p \leq 0,05$ )



**Abbildung V.3.18:** Korrelation der Grundstellungsfrequenz auf der Weide mit der Exposition durch GSM ( $p \leq 0,05$ )

Bei einer Einteilung in vier Expositionsguppen unterscheiden sich die Gruppen A und D signifikant in folgenden Verhaltensweisen: Grundstellungsfrequenz rechts ( $t = 3,375$ ; Freiheitsgrad 4;  $p \leq 0,01$ ), Wiederkaufrequenz ( $t = 5,259$ ; Freiheitsgrad 1,193;  $p \leq 0,05$ ), Liegeverhaltenssequenz rechts ( $t = 2,252$ ; Freiheitsgrad 4;  $p \leq 0,05$ ) und Wiederkaudauer ( $t = 4,993$ ; Freiheitsgrad 1,266;  $p \leq 0,05$ ). Bei den Parametern Wiederkaufrequenz und -dauer ist eine Korrektur der Varianzen vorgenommen worden (Tab. V.3.2). Die Gruppen B und D unterscheiden sich in: gestreckte Liegestellung rechts ( $t = 2,439$ ; Freiheitsgrad 4;  $p \leq 0,05$ ), Sequenz Liegen rechts ( $t = 2,537$ ; Freiheitsgrad 4;  $p \leq 0,05$ ), Dauer rechte gestreckte Stellung ( $t = 3,090$ ; Freiheitsgrad 4;  $p \leq 0,05$ ) und Dauer Seitenlage ( $t = 5,094$ ; Freiheitsgrad 4;  $p \leq 0,05$ ) (Tab. V.3.2).

Rinder liegen gewöhnlich in der Grundstellung. Im Normalverhalten findet man auch die völlige Seitenlage, die meistens nur auf der Weide möglich ist. Sie wird zudem selten eingenommen, da der Ruktus ausbleibt und nicht wiedergekaut werden kann (PORZIG, 1969). Außerdem kann man Rinder häufig mit einer nach vorn gestreckten Vordergliedmaße beobachten (SÜSS und ANDREAE, 1984). Interessanterweise ist bei allen Vergleichen im Liegeverhalten nur die rechte Körperseite betroffen, aber es scheint schwierig, eine Begründung dafür zu finden. Konsequenterweise sind bei einer Frequenzänderung auch Änderungen in Sequenz und Dauer zu erwarten.

Die Ergebnisse zum Wiederkauverhalten sind dagegen eindeutig interpretierbar und schwerwiegender, denn das Wiederkauen stellt einen essentiellen Verdauungsvorgang dar, dessen Häufigkeit und Dauer zur physiologischen Bewertung herangezogen werden kann. Vermindertes Wiederkauen, wie in den Gruppen E und A zu beobachten, ist Ausdruck eingeschränkter Wohlbefindens, dessen Ursache die Exposition mit elektromagnetischen Feldern ausgehend von Mobilfunksendeanlagen sein kann.

Die Ergebnisse könnten aufgrund der geringen Gruppengröße nicht durch andere endo- und exogene Faktoren bedingt sein, die das Wiederkauen beeinflussen (PORZIG und SAMBRAUS, 1991). Im Rahmen dieser Untersuchung spielen die Dauer des Weideaufenthalts und die Umgebungstemperatur eine Rolle. Rinder kauen bei niedrigeren Temperaturen länger und häufiger. Da aber die Gruppe B den Unterschied zwischen A und D nicht bestätigt und sogar bei höheren Umgebungstemperaturen beobachtet wird, hat die Temperatur offensichtlich keinen Einfluss. Die gleiche Begründung gilt für die Länge des Weideaufenthalts. Gruppe B ist insgesamt länger auf der Weide, trotzdem wurde kein Unterschied zwischen B und D ermittelt. Der Zustand der Weide wird nicht untersucht. Es kann davon ausgegangen werden, dass dieser Faktor auf allen Weiden aufgrund der Art der Weide gleich zu bewerten ist. Die Tiere der Gruppen A, B und D gehören jeweils zwei verschiedenen Rassen mit jeweils gleicher Betonung an. Die Schwarzbunten und das Braunvieh sind milchbetonte Zweinutzungsrasen, die Rotbunten und das Fleckvieh Zweinutzungsrasen mit gleicher Betonung von Milch und Fleisch.

Differenzen im Wiederkauverhalten hängen von der Grasenszeit und der Verzehrmenge ab, die wiederum voneinander (Menge/Zeiteinheit) und weiteren Faktoren (synchrones Verhalten) abhängen. Aufgrund dieses komplexen Gefüges und der gleichartigen Verteilung der Rassen pro Gruppe ist ein rassespezifisches Wiederkauen eher unwahrscheinlich (PORZIG und SAMBRAUS, 1991). Die Annahme, dass das elektromagnetische Feld das Wiederkauen beeinflusst, kann durch die negativen Korrelationen unterstützt werden. Es muss berücksichtigt werden, dass die Anzahl der Werte ( $n = 8$ ) gering ist und jeweils 2 Ausreißer zu beobachten sind, die den  $r$ -Wert verzerren (PETRIE und WATSON, 1999).

**Tabelle V.3.2:** Frequenz, Sequenz und Dauer der untersuchten Verhaltensweisen der Gruppen A und D sowie B und D pro Tier und Betrieb in der Beobachtungszeit auf der Weide (10 bis 16 Uhr) ( $\bar{x} \pm s_x$ )

		n	$\bar{x}$	$s_x$	p		n	$\bar{x}$	$s_x$	p
<b>FREQUENZ</b>										
Grundstellung links	A	2	1,15	0,92	n.s.	B	2	1,55	1,48	n.s.
	D	4	2,38	0,96			D	4	2,38	
Grundstellung rechts	A	2	0,85	0,50	0,01	B	2	2,65	0,78	n.s.
	D	4	1,98	0,34			D	4	1,98	
gestreckte Stellung links	A	2	0,40	0,57	n.s.	B	2	0,90	0,85	n.s.
	D	4	1,15	0,52			D	4	1,15	
gestreckte Stellung rechts	A	2	0,30	0,14	n.s.	B	2	1,65	0,78	0,05
	D	4	0,68	0,29			D	4	0,68	
Seitenlage	A	2	0	0	n.s.	B	2	0,60	0,14	n.s.
	D	4	0,23	0,26			D	4	0,23	
Wiederkauen	A	2	1,00	0,57	0,05	B	2	1,95	0,64	n.s.
	D	4	3,20	0,24			D	4	3,20	
<b>SEQUENZ</b>										
Liegeverhalten links	A	2	1,40	1,41	n.s.	B	2	2,05	1,77	n.s.
	D	4	3,03	1,24			D	4	3,03	
Liegeverhalten rechts	A	2	1,05	0,21	0,05	B	2	4,50	1,70	0,05
	D	4	2,23	0,69			D	4	2,23	
<b>DAUER (Min.)</b>										
Grundstellung links	A	2	20,20	9,19	n.s.	B	2	17,65	16,05	n.s.
	D	4	37,68	19,35			D	4	37,68	
Grundstellung rechts	A	2	17,85	11,67	n.s.	B	2	32,70	10,61	n.s.
	D	4	33,50	13,28			D	4	33,50	
gestreckte Stellung links	A	2	6,30	8,34	n.s.	B	2	5,10	3,54	n.s.
	D	4	11,93	5,60			D	4	11,93	
gestreckte Stellung rechts	A	2	2,05	1,91	n.s.	B	2	14,45	4,45	0,05
	D	4	5,75	2,73			D	4	5,75	
Seitenlage	A	2	0	0	n.s.	B	2	2,10	0,14	0,01
	D	4	0,33	0,46			D	4	0,33	
Wiederkauen	A	2	21,00	13,86	0,05	B	2	42,65	30,19	n.s.
	D	4	72,98	7,02			D	4	72,98	

### 3.3 Zusammenfassende Diskussion

Das Verhalten ist ein sensibler Parameter zur Feststellung der Reaktion der Rinder auf ihre Haltungsumwelt, auch in Form elektromagnetischer Felder (ANDERSON und PHILLIPS, 1985). Es zeigt bereits vor organischen Veränderungen eine Anpassung des Organismus (UNSHELM, 1991). Daher zeigen die Mittelwertunterschiede zwischen den Betrieben mit einer über Ensemblemittelwert liegenden GSM-Exposition (A) und einer unter Ensemblemittelwert liegenden GSM-Exposition (D) sowie die Korrelationen einen Zusammenhang zwischen den untersuchten Parametern und dem elektromagnetischen Feld, der in weiterer Folge pathologische Effekte erwarten lassen kann.

Verhaltenskundliche Effekte können beim Rind unter kontrollierten Bedingungen aufgrund einer Exposition in niederfrequenten elektromagnetischen Feldern nachgewiesen werden (BROUCEK et al., 1997, BURCHARD et al., 1996, 1998), dagegen wird in Feldstudien kein Zusammenhang beobachtet (AMSTUTZ und MILLER, 1980, ALGERS et al., 1981, ALGERS und HENNICH, 1985, ALGERS und HULTGREN, 1987, ANGELL et al., 1990). Möglicherweise sind geringe Gruppengrößen, nicht standardisierte Beobachtungsmethodik und geringe Expositionen verantwortlich. ANDERSON und PHILLIPS (1985) sowie DE LORGE (1985a und b) geben Hinweise, dass Effekte mit der Stärke der Exposition verknüpft sein können. Nicht einheitliche Ergebnisse werden auch bei Versuchen mit Labortieren gefunden, trotzdem werden Einflüsse auf das Verhalten vermutet (ZAHNER, 1964, SPITKA et al., 1969, HILMER et al., 1970).

Die Resultate deuten auf eine Beunruhigung der Tiere hin. Möglicherweise verschlechtert die Exposition mit hochfrequenten elektromagnetischen Feldern die Lebensbedingungen der Rinder, die mit Verhaltensabweichungen antworten. Bisher ist für hochfrequente elektromagnetische Felder nur ein thermischer Effekt nachgewiesen, andere, so genannte athermische Effekte auf Organismen, sind nicht zweifelsfrei bewiesen (SILNY, 1999).

Die Wirkung der elektromagnetischen Felder im Organismus ist ebenfalls nicht geklärt. LÖSCHER und KÄS (1998) berichten, dass die Auswirkungen durch Strahlenexposition einer chronischen Stressbelastung ähneln. Möglicherweise führt ein hochfrequentes elektromagnetisches Feld zur Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden- sowie Sympathikus-Nebennierenmark-Achse und weiterer endogener Systeme. Die Ergebnisse lassen auf einen indirekten Einfluss des elektromagnetischen Feldes schließen, das heißt, das dauernd einwirkende Feld verursacht die Effekte. Vermutungen, die Rinder würden direkt der Strahlung ausweichen, sind durch die Befunde über die Weidenutzung und das *Kopf-zur-Seite-gewendet* Verhalten nicht unterstützt worden (HARSCH, 1995,

LÖSCHER und KÄS, 1998, WITTKOWSKI et al., 1998). Die Intensität des Feldes und die Dauer der Exposition führen aber auch nicht zu einer Gewöhnung (De LORGE, 1985b).

## 4. Melatonin

### 4.1 Ergebnisse

Bei der Betrachtung der einzelnen Melatoninwerte über 2 Tage und im Vergleich der Tiere untereinander, ist die große Streuung der Daten auffallend (s. Tabelle V.4.1 und Abb. V.4.1). Insbesondere bestätigt sich die auch aus der Literatur bekannte hohe Streuung zwischen den Individuen mit einer guten individuellen Wiederholbarkeit der Messwerte.

**Tabelle V.4.1:** Deskriptive Statistik der Melatoninwerte (Mittelwerte aus 2 Tagen, N=Tiere)

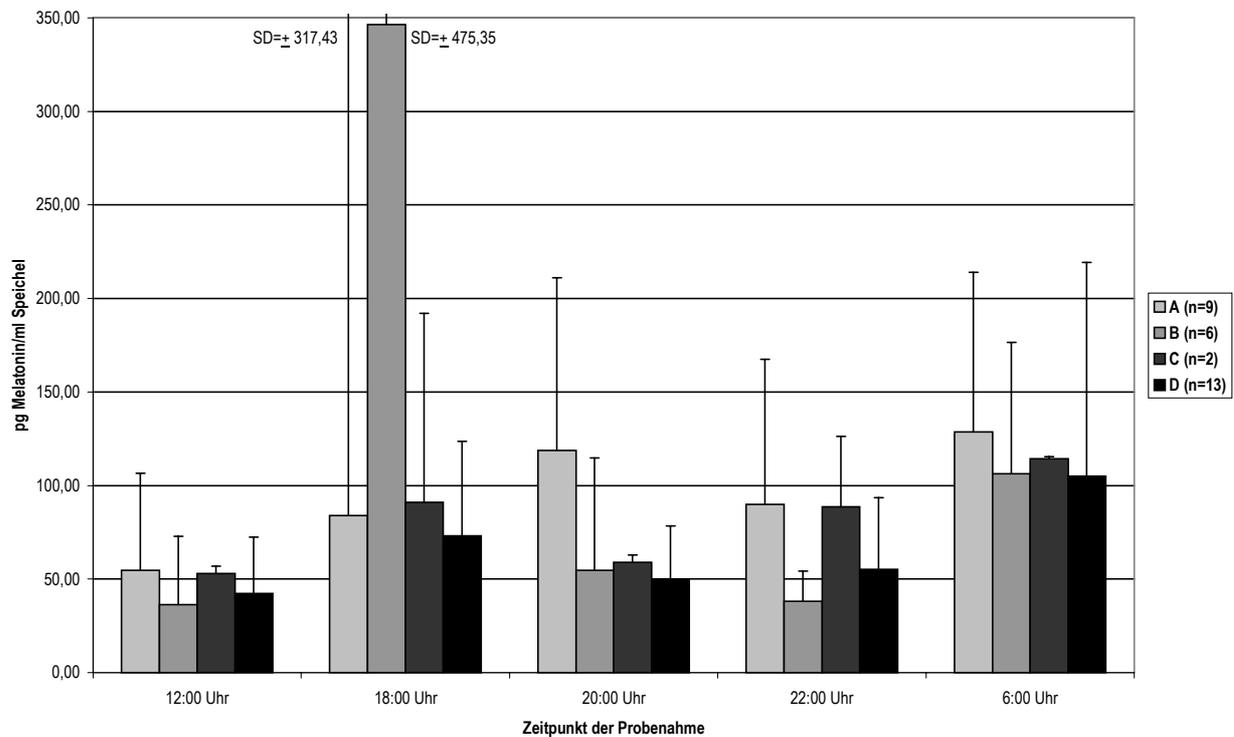
	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert		Minimum	Maximum	
					Untergrenze	Obergrenze			
Melatonin 12 Uhr	Gruppe A	45	54,76	78,75	11,74	31,10	78,42	5,00	382,40
	Gruppe B	30	36,30	49,29	9,00	17,90	54,71	5,55	202,70
	Gruppe C	10	53,00	34,43	10,89	28,36	77,63	11,70	140,40
	Gruppe D	65	42,41	54,01	6,70	29,02	55,79	6,00	266,05
	Gesamt	150	45,60	60,66	4,95	35,81	55,39	5,00	382,40
Melatonin 18 Uhr	Gruppe A	44	82,75	99,49	15,00	52,50	113,00	6,95	576,40
	Gruppe B	30	346,49	524,02	95,67	150,82	542,16	6,15	1969,00
	Gruppe C	10	91,07	99,80	31,56	19,68	162,47	5,15	329,65
	Gruppe D	65	73,17	94,00	11,66	49,88	96,46	4,70	583,20
	Gesamt	149	132,23	269,79	22,10	88,56	175,91	4,70	1969,00
Melatonin 20 Uhr	Gruppe A	45	118,66	184,40	27,49	63,26	174,06	6,25	1106,25
	Gruppe B	30	54,77	110,50	20,17	13,51	96,03	4,70	597,70
	Gruppe C	10	58,98	30,89	9,77	36,89	81,08	20,75	113,75
	Gruppe D	65	50,08	44,14	5,47	39,14	61,01	4,15	186,90
	Gesamt	150	72,18	119,37	9,75	52,92	91,44	4,15	1106,25
Melatonin 22 Uhr	Gruppe A	45	89,98	115,37	17,20	55,32	124,64	8,45	549,50
	Gruppe B	30	38,10	25,25	4,61	28,67	47,53	9,30	93,50
	Gruppe C	10	88,51	78,26	24,75	32,52	144,49	34,25	283,15
	Gruppe D	65	55,08	76,11	9,44	36,22	73,94	7,10	410,50
	Gesamt	150	64,39	85,60	6,99	50,58	78,19	7,10	549,50
Melatonin 6 Uhr	Gruppe A	44	125,83	129,11	19,46	86,58	165,09	8,40	600,20
	Gruppe B	30	106,27	121,83	22,24	60,78	151,77	9,90	548,80
	Gruppe C	10	114,32	48,31	15,28	79,76	148,88	43,15	170,10
	Gruppe D	64	99,80	151,17	18,90	62,03	137,56	10,80	864,55
	Gesamt	148	109,83	133,66	10,99	88,12	131,54	8,40	864,55

Unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit, sind die 18:00 Uhr-Werte vorwiegend als Ausreisser oder Extremwerte zu betrachten, wobei in Gruppe B die 18:00 Uhr Werte signifikant höher sind als in den anderen Gruppen ( $p < 0,05$ ), (s. Tab. V.4.2, Abb. V.4.1 und Abb. V.4.2). In mehreren Testreihen konnte im Labor ein eindeutiger Fütterungseinfluß auf die 18:00 Uhr-Werte nachgewiesen werden, wobei es durch Futterreste im Speichel im Radio-Immuno-Assay vermutlich zu Kreuzreaktionen der Antikörper

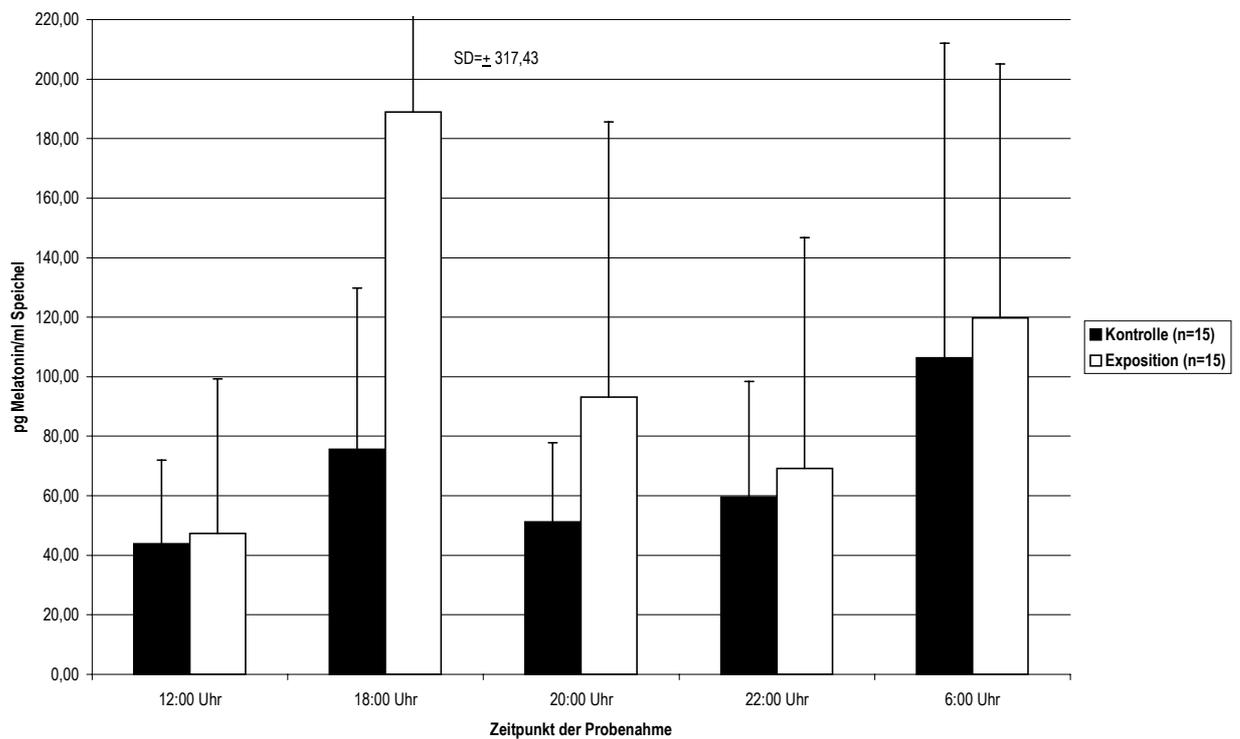
mit Abbauprodukten kommt. Es wurden Werte weit über 350 pg/ml Speichel (oberes Messniveau des Radio-Immuno-Assays) gemessen, die eindeutig als Ausreisser zu betrachten sind.

**Tab. V.4.2:** Deskriptive Statistik 18:00 Uhr-Werte

	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert		Minimum	Maximum	
					Untergrenze	Obergrenze			
Melat. 18 Uhr Tag 1	Gruppe A	43	101,237	168,168	25,645	49,483	152,992	7,4	933,3
	Gruppe B	30	415,587	669,145	122,169	165,724	665,450	1,7	2528,8
	Gruppe C	10	91,210	87,433	27,649	28,664	153,756	3,3	258,4
	Gruppe D	64	73,780	105,780	13,222	47,357	100,203	2,9	583,2
	Gesamt	147	152,754	346,904	28,612	96,206	209,301	1,7	2528,8
Melat. 18 Uhr Tag 2	Gruppe A	44	62,741	75,865	11,437	39,676	85,806	4,0	400,0
	Gruppe B	29	219,062	309,706	57,511	101,256	336,868	4,4	1140,3
	Gruppe C	10	90,940	138,915	43,929	-8,434	190,314	7,0	468,5
	Gruppe D	64	65,666	96,202	12,025	41,635	89,696	1,8	511,5
	Gesamt	147	96,771	170,351	14,050	69,003	124,540	1,8	1140,3



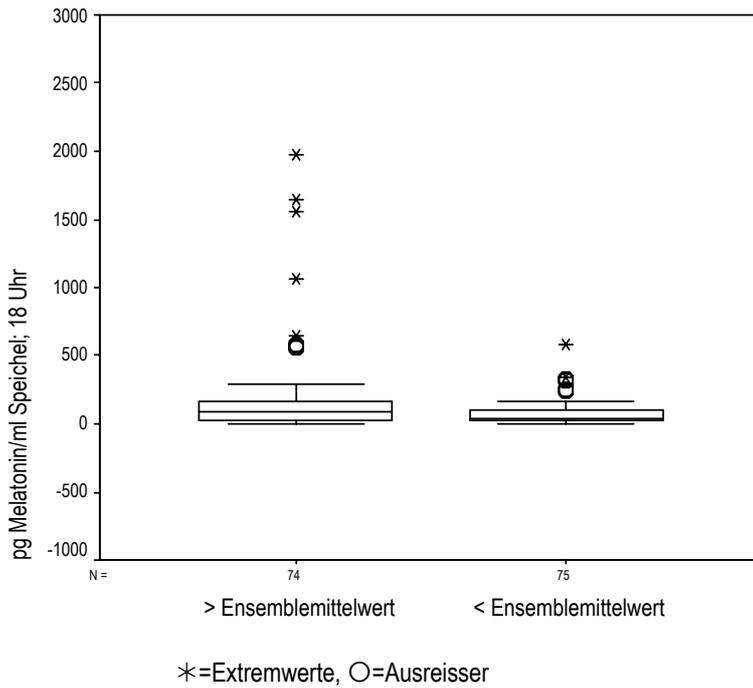
**Abbildung V.4.1:** Vergleich der Mittelwerte in Abhängigkeit von der Summenbelastung



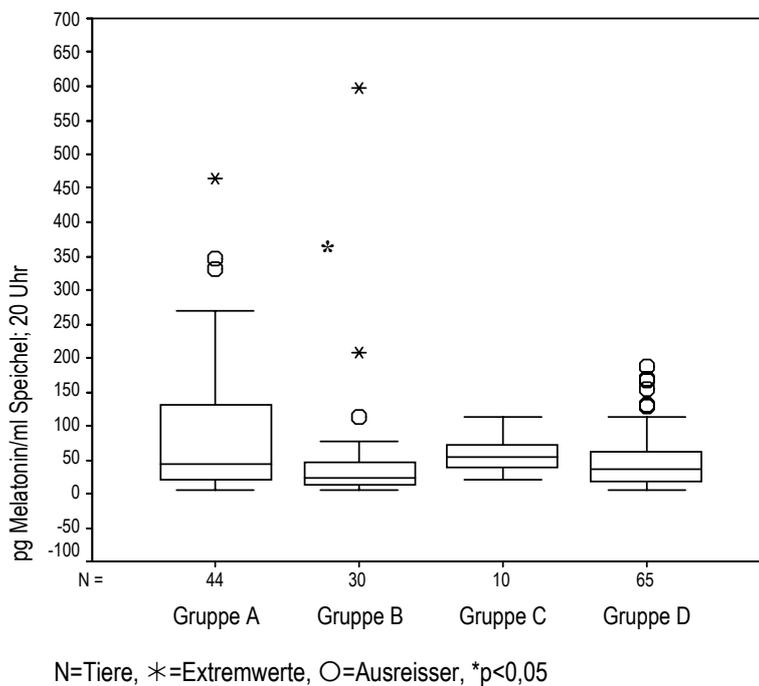
**Abb. V.4.2:** Vergleich der Mittelwerte in Abhängigkeit von der GSM-Belastung (Exposition n=15, Kontrolle n=15)

In der Boxplot-Darstellung der exponierten Gruppe vs. Kontrollgruppe, wird der hohe Anteil an Extremwerten und Ausreißern deutlich (s. Abb. V.4.3).

Hingegen unterliegen die 20:00 Uhr-Werte nicht einem Fütterungseinfluß. Im Gruppenvergleich sind diese bei der Gruppe A signifikant höher ( $p < 0,05$ ) als bei den übrigen Gruppen (s. Abb V.4.3). Diese Signifikanz bleibt auch nach Ausschluß des Faktors Licht (Test der Innersubjekteffekte) bestehen. Nicht signifikant hingegen sind die 20:00 Uhr-Werte im Vergleich der Gruppen 'Exponiert-Kontrolle'.



**Abbildung V.4.3:** 18:00 Uhr Melatoninwerte in Abhängigkeit von der GSM-Belastung



**Abbildung V.4.4:** 20:00 Uhr Melatoninwerte in Abhängigkeit von der Summenbelastung

Parallel zu den Probenahmen wurde die Lichtintensität am jeweiligen Standort des Tieres zum Zeitpunkt der Probenahme gemessen. Aus Tabelle V.4.3 sind die Mittelwerte über 2 Tage zum jeweiligen Zeitpunkt in Abhängigkeit von der Gruppenzugehörigkeit aufgeführt. Auffallend sind die sehr hohen Differenzen zwischen den Minimal- und Maximal-Werten.

Zusätzlich wird der Einfluß des Lichtes als Stör- bzw. regulierende Größe auf die Konzentration von Melatonin zum jeweiligen Zeitpunkt der Probenahme unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit der Tiere zu A, B, C oder D sowie zur Expositions- und Kontrollgruppe untersucht. Errechnet wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson<sup>1</sup>. Wie aus Tabelle V.4.4 ersichtlich, sind keine Korrelationen zwischen dem Lichteinfluß und der Melatoninkonzentration bei den untersuchten Tieren (n=150) zu erkennen.

**Tab. V.4.3:** Deskriptive Statistik der Lux-Werte (MW=Mittelwert aus 3 (12:Uhr) bzw. 2 Messungen)

	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert		Minimum	Maximum	
					Untergrenze	Obergrenze			
MW Lux 12 Uhr (n=3)	Gruppe A	45	457,44	724,00	107,93	239,93	674,96	18	4000
	Gruppe B	30	301,02	426,95	77,95	141,59	460,44	4	2000
	Gruppe C	10	199,95	233,04	73,69	33,24	366,66	10	630
	Gruppe D	65	674,48	1486,72	184,41	306,09	1042,87	8	8000
	Gesamt	150	503,04	1082,03	88,35	328,46	677,62	4	8000
MW Lux 18 Uhr (n=2)	Gruppe A	45	224,08	465,28	69,36	84,29	363,86	13	2033
	Gruppe B	30	137,37	239,46	43,72	47,95	226,78	8	940
	Gruppe C	10	170,25	132,41	41,87	75,53	264,97	23	400
	Gruppe D	65	155,16	422,63	52,42	50,44	259,88	4	2650
	Gesamt	150	173,28	392,49	32,05	109,96	236,61	4	2650
MW Lux 20 Uhr (n=2)	Gruppe A	45	36,05	51,61	7,69	20,55	51,56	0	220
	Gruppe B	30	64,23	169,50	30,95	,94	127,52	0	798
	Gruppe C	10	26,24	33,36	10,55	2,37	50,11	1	86
	Gruppe D	64	64,77	223,46	27,93	8,96	120,59	0	1600
	Gesamt	149	53,40	167,23	13,70	26,33	80,48	0	1600
MW Lux 22 Uhr (n=2)	Gruppe A	44	,00	,00	,00	,00	,00	0	0
	Gruppe B	30	,00	,00	,00	,00	,00	0	0
	Gruppe C	10	,00	,00	,00	,00	,00	0	0
	Gruppe D	65	6,92E-03	5,58E-02	6,92E-03	-6,91E-03	2,08E-02	0	0
	Gesamt	149	3,02E-03	3,69E-02	3,02E-03	-2,95E-03	8,99E-03	0	0
MW Lux 6 Uhr (n=2)	Gruppe A	45	24,41	32,79	4,89	14,56	34,26	0	153
	Gruppe B	30	18,23	26,44	4,83	8,36	28,11	0	135
	Gruppe C	10	61,44	93,55	29,58	-5,49	128,36	4	275
	Gruppe D	65	64,18	316,68	39,28	-14,29	142,65	0	2550
	Gesamt	150	42,88	210,96	17,22	8,84	76,91	0	2550

---

<sup>1</sup> Korrelationskoeffizient nach Pearson: 
$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}) \cdot (y_i - \bar{y})}{(n-1) \cdot s_x \cdot s_y}$$

**Tab. V.4.4:** Korrelationen der Melatoninkonzentrationen mit dem Faktor Licht

LUX	MELATONIN	12 Uhr	18 Uhr	20 Uhr	22 Uhr	6 Uhr
12 Uhr	Korrelation nach Pearson*	-.107				
	Signifikanz (2-seitig)	.192				
	N	150				
18 Uhr	Korrelation nach Pearson*		-.073			
	Signifikanz (2-seitig)		.376			
	N		149			
20 Uhr	Korrelation nach Pearson*			.023		
	Signifikanz (2-seitig)			.779		
	N			149		
22 Uhr	Korrelation nach Pearson*				-.047	
	Signifikanz (2-seitig)				.569	
	N				149	
6 Uhr	Korrelation nach Pearson*					.044
	Signifikanz (2-seitig)					.593
	N					148

\* Werte ergeben sich aus Mittelwerten von zwei Messwerten (2 Tage)

Es wurden die Melatonin-Werte aus den 12:00 Uhr und aus den 6:00 Uhr Messungen gemittelt und als Melatonin-Tag-Konzentration und die Werte von 20:00 Uhr und 22:00 Uhr als Melatonin-Nacht-Konzentration ausgegeben. Aus oben erwähnten Gründen wurden die 18:00 Uhr-Werte nicht berücksichtigt. Unter Ausschluß des Faktor Lichtes (Test auf Innersubjekteffekte) ergaben sich keine Korrelationen sowohl mit der Zugehörigkeit zu E oder K sowie zur Gruppe A, B, C oder D.

Zusammenfassend sind folgende Ergebnisse festzuhalten:

- ▶ eine sehr hohe Streuung der Daten zwischen den Individuen, mit einer guten individuellen Wiederholbarkeit
- ▶ ein eindeutiger Fütterungseinfluss bei einzelnen Tieren auf die Melatoninkonzentrationen insbesondere bei den 18:00 Uhr-Werten
- ▶ keine statistisch nachweisbare Korrelationen zwischen der Melatoninkonzentration zu einer bestimmten Uhrzeit und der Lichtintensität zur gleichen Zeit als regulierende Größe
- ▶ die 20:00 Uhr-Werte der Gruppe A sind im Vergleich zu Gruppe B, C, und D signifikant höher ( $p < 0,05$ )

## 4.2 Diskussion

Die gemessenen Melatoninkonzentrationen zeigen, entsprechend den Untersuchungsergebnissen von BURCHARD et al. (1996), STÄRK et al. (1997) und BIRKLE (1999), eine ausgeprägte Streuung zwischen den einzelnen Individuen mit einer guten individuellen Reproduzierbarkeit. Diese hohe Streuung kann zum einen durch die pulsatile Freisetzung von Melatonin bedingt sein. Dabei kann während der Dunkelphase beim Rind ein Melatoninpeak 32,3 Minuten dauern mit einer durchschnittlichen Frequenz von 0,56 Peaks pro Stunde (BERTHELOT et al., 1990). Daneben unterliegt die physiologische Melatoninrhythmik aber dem Umweltfaktor Licht sowie auch sozialen Faktoren wie der Nahrungsaufnahme, dem Alter, evtl. der Rasse, der individuellen Stresstoleranz und der Stoffwechsellage.

Insbesondere Licht hat einen entscheidenden Einfluss auf die Melatoninrhythmik. Dabei ist die individuelle Beleuchtung am Standplatz im Stall sowie die Licht- und Wetterverhältnisse (Jahreszeit und Bewölkung) entscheidend. So kann bei genügend hoher nächtlicher Lichtstärke die Melatoninproduktion vollständig unterdrückt werden, wie es z.B. für Lämmer nachgewiesen wurde (MATTHEWS et al., 1993). Dies konnte in den eigenen Untersuchungen ausgeschlossen werden, da nur bei einer Lichtstärke von maximal 8 Lux die nächtlichen Proben genommen wurden. Weiterhin beeinflusst die Lichtqualität des Tages vermutlich die Melatoninrhythmik der Nacht, wobei keine genauen Kenntnisse darüber vorliegen. Sicher ist, dass je stärker das einfallende Licht am Tag ist, desto höher die nächtliche Reduktion des zirkulierenden Melatonins in der Nacht.. Beim Schwein konnte nachgewiesen werden, dass bei einer Beleuchtungsstärke von 50 Lux kaum Differenzen zwischen den Melatonin-tages- und -nachtwerten im Serum zu messen sind, während sich bei einer täglichen Beleuchtungsstärke von 1300 Lux eine deutliche Tag-Nacht-Rhythmik ergibt (MACK und UNSHELM, 1997). Welche Mindestlichtstärke jedoch insbesondere beim Rind erforderlich ist, um für den Organismus als Tag erkennbar zu sein, ist noch unzureichend untersucht.

Zum Messzeitpunkt bei den stallhygienischen Untersuchungen kann eine durchschnittliche Tageslichtmenge von 182 Lux (Min.: 3 Lux; Max.: 800 Lux) bestimmt werden. Zum Zeitpunkt der Probenahmen wurde ebenfalls die Lichtintensität gemessen. Die hohen Abweichungen zwischen den Gruppen wie in Tabelle V.4.3 angeführt zeigen, welchen unterschiedlichsten Lichteinflüssen die Einzeltiere zu den jeweiligen Probenahmen ausgesetzt waren. Diese nicht standardisierbaren Lichteinflüsse könnten einen möglichen Effekt der elektromagnetischer Felder durchaus überschreiben (BURCHARD et al., 1998). Statistisch konnte keine negative Korrelation zwischen den entsprechenden Lichtintensitäten zum Zeitpunkt der Probenahme und den einzelnen Melatoninkonzentrationen

errechnet werden, wobei dies auf Grund der sehr hohen individuellen Abweichungen sowohl der Melatoninwerte (s. Tabelle V.4.3) als auch der Luxwerte erklärbar ist.

Inwieweit individuelle Sensitivitäten bezüglich des Lichteinflusses eine Rolle spielen, bleibt ungeklärt.

Der Einfluss der Fütterung wird am Beispiel der 18:00 Uhr-Werte deutlich. Bei der Auswertung der Proben ergaben sich Einzelwerte von bis zu 2600 pg Melatonin/ml Speichel. Diese Werte kamen auch bei wiederholter Verdünnung und Nachmessungen nicht in den Messbereich des verwendeten Radio-Immuno-Assays (1-320 pg/ml) und liegen weit über dem durchschnittlichen Melatoninniveau des Rindes. Hier führen Futterreste im Maul der Tiere zu einer Verunreinigung des Speichels und damit vermutlich zu Kreuzreaktionen im Assay.

Entgegen der Angaben in der Literatur sind die nächtlichen Melatoninmittelwerte der exponierten Gruppe (GSM-Belastung > Ensemblemittelwert; n Tiere=150) *höher* als die der Kontrollgruppe (n Tiere=150). Die durchschnittlichen 20:00 Uhr-Werte betragen für die 'Exponierte Gruppe' 93,10 pg/ml Speichel ( $\pm 92,47$ pg/ml) und für die 22:00 Uhr-Werte 69,23 pg/ml Speichel ( $\pm 77,54$ pg/ml). Die Kontrollgruppe weist um 20:00 Uhr einen Mittelwert von 51,26 pg/ml Speichel ( $\pm 26,51$ pg/ml) und um 22:00 Uhr einen Mittelwert von 59,54 pg/ml Speichel ( $\pm 38,85$  pg/ml) auf.

Im Gruppenvergleich der Summenbelastung fallen einzig die 20:00 Uhr-Werte der Gruppe A signifikant ( $p < 0,05$ ) höher als die der übrigen Gruppen aus. Auch dies bestätigt nicht die in der Literatur vorherrschende Hypothese der Suppression des nächtlichen zirkulierenden Melatonins durch elektromagnetische Felder. Die vorliegenden Ergebnisse entsprechen weitestgehend den Befunden von BURCHARD et al. (1996) und STÄRK et al. (1997), die ebenfalls keine chronisch verminderten nächtlichen Melatoninkonzentrationen bei ihren Untersuchungen feststellen konnten.

Insgesamt lässt sich feststellen, dass die Messung der Melatoninkonzentration kein geeigneter Parameter im Rahmen eines Feldversuches zur Überprüfung des Einflusses elektromagnetischer Felder ist. Insbesondere die extrem unterschiedlichen Beleuchtungsbedingungen in den verschiedenen Ställen, die naturgemäß nicht standardisierbar waren, sowie der nicht zu vermeidende Fütterungseinfluss bewirken die doch sehr hohen Streuungen der Werte zwischen den Individuen.

Ziel einer Felduntersuchung ist zwar, einerseits den Bereich dieser Individualstreuungen zu ermitteln, andererseits aber Aussagen treffen zu können, die für Bestand, Stall, Herde oder Gruppe gültig sind. Bei der großen Individualstreuung müssen solche Aussagen aus Mittelwerten entsprechend großer Messwertkollektive abgeleitet werden. Dieses Messwertkollektiv ist in den hier vorliegenden Untersuchungen im Vergleich zu bisherigen Untersuchungen an Rindern sehr groß (insgesamt 150

Tiere). Insgesamt sprechen die Ergebnisse nicht für einen Einfluss elektromagnetischer Felder im Sinne einer Suppression der nächtlichen Melatoninwerte. Es wird empfohlen in weitergehenden Untersuchungen die Umgebungsbedingungen und da insbesondere die Lichtqualitäten und Lichtintensitäten zu standardisieren, um einen möglichen Effekt elektromagnetischer Felder auf die Melatoninkonzentration von Rindern zu erkennen.

## 5. Cortisol

Da aus Gruppe D nur ein Betrieb (Nr. 27) untersucht werden konnte, können die Daten nicht verglichen werden. Die Werte dieses Betriebs unterscheiden sich deutlich von denen der anderen Gruppen und können als Ausreißer betrachtet werden (Tab.V.5.1).

Die Cortisolkonzentration ist in den Gruppen A ( $t = -10,124$ ; Freiheitsgrad 7;  $p \leq 0,01$ ) und B ( $t = -7,205$ ; Freiheitsgrad 5;  $p \leq 0,01$ ) 30 Minuten nach Gabe von ACTH hochsignifikant erhöht. In der Gruppe C ist der Anstieg vom Nullwert bis 30 Minuten nach der Injektion signifikant ( $t = -12,036$ ; Freiheitsgrad 1;  $p \leq 0,05$ ). Diese Ergebnisse zeigen die deutliche Stimulation der Nebennierenrinde (Fox et al., 1981). Die Cortisolwerte in den Gruppen A und B bleiben bis zur letzten Probennahme (vier Stunden nach der Injektion) gegenüber dem Nullwert erhöht; in der Gruppe A hochsignifikant ( $t = -4,939$ ; Freiheitsgrad 7;  $p \leq 0,01$ ) und in B signifikant ( $t = -3,095$ ; Freiheitsgrad 5;  $p \leq 0,01$ ). In der Gruppe C ist der Cortisolspiegel nach 240 Minuten auf Höhe des Vorinjektionswerts gefallen (Tab. V.5.1).

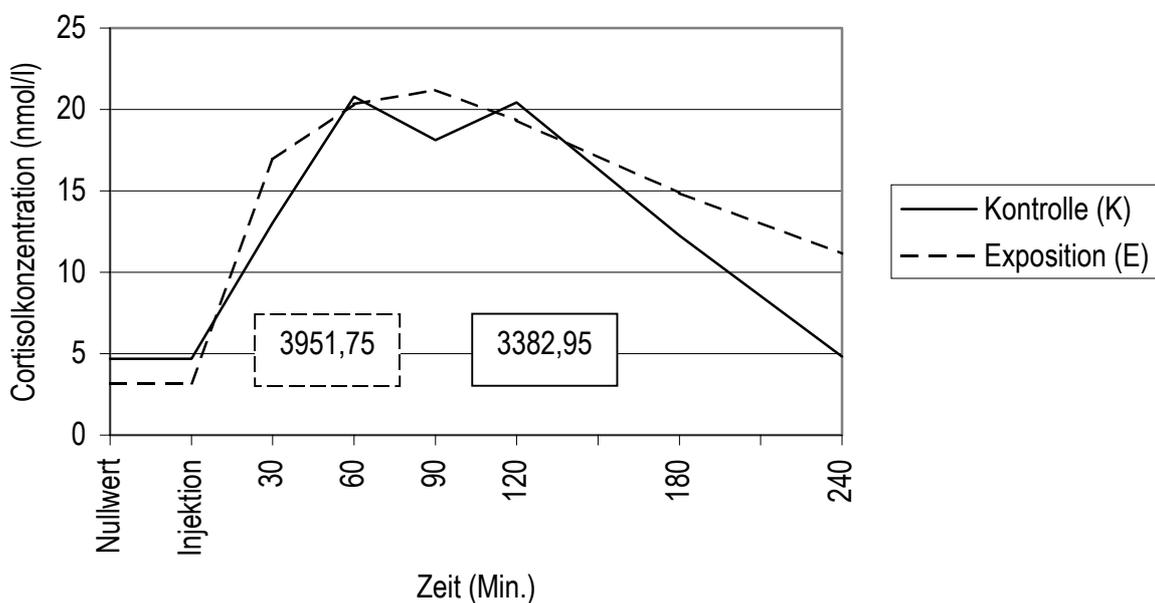
**Tabelle V.5.1:** Speichelcortisolkonzentration (nmol/l) der Gruppen A bis D 30 Min. vor (Nullwert) und jeweils 30, 60, 90, 120, 180 und 240 Minuten nach intramuskulärer ACTH-Applikation (Mittelwert  $\pm$  s)

	n	Nullwert	+30	+60	+90	+120	+180	+240
A	8	2,57 $\pm$ 2,31	15,47 <sup>a</sup> $\pm$ 5,38	18,51 $\pm$ 7,28	19,46 $\pm$ 5,3	18,95 $\pm$ 2,35	12,79 $\pm$ 4,09	10,11 <sup>a</sup> $\pm$ 4,98
B	6	3,99 $\pm$ 3,98	18,85 <sup>a</sup> $\pm$ 8,58	22,75 $\pm$ 9,05	23,51 $\pm$ 9,75	19,83 $\pm$ 9,06	17,62 $\pm$ 12,15	12,49 <sup>b</sup> $\pm$ 10,53
C	2	4,68 $\pm$ 2,05	13,05 <sup>b</sup> $\pm$ 3,03	20,79 $\pm$ 6,46	18,12 $\pm$ 3,44	20,43 $\pm$ 10,3	12,27 $\pm$ 9,43	4,32 $\pm$ 4,57
D	1	16,64	46,06	56,81	48,47	53,01	35,59	15,46

<sup>a</sup>  $p \leq 0,01$  <sup>b</sup>  $p \leq 0,05$  jeweils zeilenweise zwischen Nullwert und +30 sowie Nullwert und +240

Obwohl die Resultate der Gruppe C aufgrund der Gruppengröße (2 Betriebe) nur als hinweisend bewertet werden können, spricht die Rückkehr zu Basalwerten vier Stunden nach Einwirken des Stressors (=ACTH-Injektion) für eine sehr zügige Kompensation (TERMEULEN et al., 1981).

Dieser Befund wird durch den Vergleich der Reaktionsprofile der Expositions- und Kontrollgruppe unterstützt (Abb. V.5.1). Die Fläche unter der Kurve der Gruppe E (AUC-Wert: 3951,75) ist größer als die der Gruppe K (AUC-Wert: 3382,95). Das heißt, die Stimulation der Nebennierenrinde erfolgt in der Expositionsgruppe deutlicher und länger. Daraus kann mit gewisser Vorsicht und trotz der unterschiedlichen Gruppengrößen in E und K gefolgert werden, dass die höhere Speichelcortisolkonzentration für eine chronische Belastung spricht (von BORELL und LADEWIG, 1986).



**Abb. V.5.1:** Verlauf der Speichelcortisolkonzentration 30 Min. vor (Nullwert) bis 240 Min. nach ACTH-Injektion in den Gruppen E und K (nmol/l) mit Angabe des jeweiligen Area Under Curve (AUC) -Werts

## 6. Zytogenetische Untersuchungen

### 6.1 Mikrokernfrequenz, Mikronuklei (MN)

Für die Untersuchung der MN-Frequenz in Erythrozyten wurden Blutproben von 101 Tieren aus 26 Betrieben in Bayern und Hessen untersucht. Insgesamt wurden bei den untersuchten Tieren zwischen 4205 und 9072, im Mittel  $6579 \pm 938$  Erythrozyten auf das Vorhandensein von Mikronuklei (MN) untersucht. Dabei wurden zwischen 0 und 31 Mikronuklei (im Mittel  $6,72 \pm 5,43$ ) gefunden. Die mittlere Mikronukleusfrequenz betrug somit  $1,036 \pm 0,82$  MN/1000 Erythrozyten. Insgesamt weisen die Mikronukleifrequenzen im Vergleich zu anderen genotoxischen Parametern in der Studie sehr hohe Variationskoeffizienten innerhalb der Betriebe (teilweise >80%) auf. Dies ist ein Nachteil, der nur durch einen erheblich größeren Stichprobenumfang (Anzahl der untersuchten Erythrozyten pro Tier) zu kompensieren wäre, dabei ist darauf zu verweisen daß die Stichprobengröße dieser Studie bereits erheblich höher liegt als in einer anderen vergleichbaren Untersuchung (BALODE 1996).

Im einzelnen ergaben sich die in den Tabellen V.6.1 a-c gefundenen Werte für einzelne Gruppen.

**Tabelle V.6.1.a:** Mikronukleifrequenzen in Erythrozyten (MN/1000 Erys)

Gruppe	n	x	s	min	max
Insgesamt	101	1,036	0,824	0	4,48
A	31	1,24	0,98	0,17	3,38
B	21	1,36	1,12	0,16	4,48
C	7	0,79	0,26	0,38	1,10
D	42	0,77	0,406	0	1,68

**Tabelle V.6.1 b:** Mikronukleifrequenzen der Rassen (MN/1000 Erys)

Rasse	n	x	s	min	max
Fleckvieh	50	1,21	1,03	0	4,48
Rotbunte	25	0,88	0,63	0	3,19
Schwarzbunte	16	0,936	0,322	0,25	1,68
Braunvieh	8	0,68	0,38	0,16	1,45

Im Vergleich der Mikronukleifrequenzen zwischen den Rassen liegt das Fleckvieh über dem Mittelwert und das Braunvieh deutlich unter dem Mittelwert. In der einfaktoriellen Varianzanalyse sind die Unterschiede zwischen den Rassen nicht signifikant ( $p=0,1831$ ).

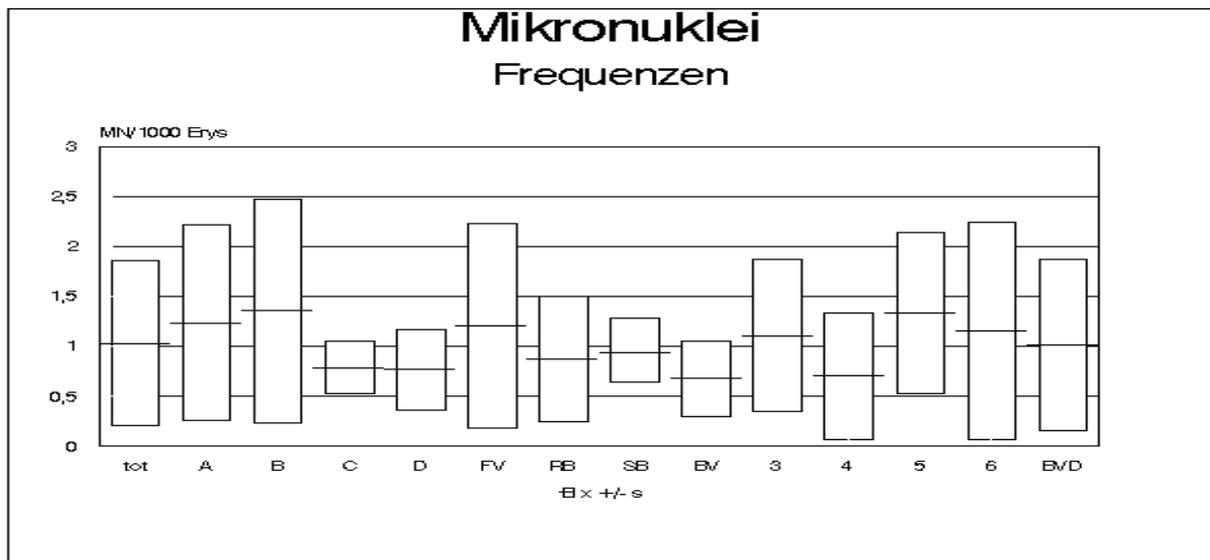
**Tabelle V.6.1.c:** Mikronukleifrequenzen in den Altersklassen

Alter	n	x	s	min	max
3 Jahre	29	1,11	0,76	0,17	3,20
4 Jahre	32	0,705	0,63	0	2,75
5 Jahre	21	1,34	0,81	0,34	3,65
6 Jahre u. älter	14	1,16	1,09	0,23	4,48

Im Vergleich der Alterklassen finden sich in der Varianzanalyse signifikante Unterschiede ( $p=0,0276$ ), die jedoch im Einzelvergleich nur vom Unterschied zwischen den 4 und 5 jährigen Tieren getragen werden. Ein Anstieg der Frequenzen mit zunehmendem Alter besteht nicht.

Wichtig ist weiterhin, ob die BVD-Situation in den Betrieben von Einfluß auf die Mikronukleifrequenz ist. Der Vergleich von Tieren aus Betrieben mit und ohne präsen- ter BVD-Problematik ergibt keine absicherbaren Unterschiede in der Mikronukleifrequenz.

Eine Übersicht über die Frequenzen in den verschiedenen Gruppen gibt Abbildung V.6.1.a.



**Abb.V.6.1a:** Übersicht Mikronukleifrequenzen (A, B, C und D = Expositionsgruppen; FV, RB, SB und BV = Rassen; 3, 4, 5, 6 = Altersklassen; BVD = Tiere aus BVD-Betrieben)

Die statistische Analyse der Daten nach logarithmischer Transformation wegen der linksschiefen Verteilung der MN-Werte gibt keine Hinweise auf signifikante Unterschiede zwischen den Expositionsgruppen ( $p=0,1$ ), den Rassen ( $p=0,361$ ), den BVD-Betrieben und den Nicht-BVD-Betrieben ( $p=0,184$ ). Einzig im Vergleich der Altersklassen finden sich tendenzielle Hinweise auf Effekte ( $p=0,044$ ) durch zunehmendes Alter.

Damit ist festzustellen, daß im vorliegenden Datenmaterial keine Hinweise auf relevante signifikante Einflüsse der Expositionsgruppen und damit des GSM-Feldes auf die Mikronukleifrequenz vorliegen.

## **6.2 Schwesterchromatidaustausche(SCE)**

Für die Untersuchung der SCE wurden Blutproben von 110 Tieren kultiviert, zusätzlich wurden von einigen Tieren Mehrfachansätze für Verlaufsuntersuchungen durchgeführt. Ausfälle bei den Zellkulturen gab es in einigen wenigen Fällen durch bakterielle Kontamination, in einem Betrieb war ein Teil der Wiederholungsproben ebenfalls kontaminiert ( Pilzbefall der Kulturen ).

In der Mehrzahl der Fälle war jedoch die geringe Ausgangslymphozytenzahl der Blutproben, die eine Auswertung mit vertretbarem Aufwand verhinderte, für den Ausfall der Kulturen verantwortlich.

Die unterschiedlichen Zahlenangaben von Tieren und Metaphasen in den Kapiteln 6.2 und 6.3 ergeben sich aus der Qualität der untersuchten Präparationen, so ist beispielsweise die Zuordnung einer Metaphase in die Klassen M1, M2 oder M3 bei einer schlechteren Präparationsqualität auch dann durchaus noch möglich, wenn eine Analyse von SCE bereits aussichtslos ist. Andererseits ist eine repräsentative SCE-Auswertung auch bei Präparationen möglich, bei denen wegen geringer Zellzahlen eine Berechnung der Metaphasenkinetik unterbleiben mußte.

Insgesamt wurden von 110 Tieren aus den Kulturen der mononukleären Blutzellen 1446 Metaphasen der Phase 2 analysiert. Diese wiesen im Mittel  $7,70 \pm 2,77$  Schwesterchromatidaustausche auf. In allen 1446 Metaphasenfiguren fanden sich im Mittel  $6,29 \pm 1,87$  Chromosomen mit einem SCE pro Chromosom, in 654 Metaphasen fanden sich im Mittel  $1,36 \pm 0,615$  Chromosomen mit zwei SCE pro Chromosom, in 35 Metaphasen fand sich je ein Chromosom mit 3 SCE, und in 4 Metaphasen fand sich je ein Chromosom mit 4 SCE (Tab. 6.2 a).

**Tabelle V.6.2a:** Häufigkeit der Chromosom mit 1, 2, 3 oder 4 SCE

n	SCE	x	s
1446	1	6,39	1,87
654	2	1,36	0,615
35	3	1	-
4	4	1	-

Die ermittelten Mittelwerte und Streuungen der SCE-Frequenzen decken sich annähernd mit den von PARADA (1993) erhobenen Werten für Milchkühe der Altersklasse 3-6 Jahre in industriell geprägten Regionen Polens ( $6,79 \pm 1,78$  SCE/Zelle), dies unterstreicht ebenso wie die weiter unten erwähnten geringen Varianzen innerhalb der Betriebe die Wertigkeit der SCE-Untersuchung auch im Vergleich von Kühen in anderen Lebensumständen. In der polnischen Studie steigen mit zunehmendem Alter die SCE-Frequenzen leicht an. Diese Tendenz gilt natürlich für nahezu alle Parameter, die Noxeneffekte nachweisen, wenn die Probanden mit steigendem Alter auch längere Zeit der schädigenden Einwirkung ausgesetzt sind (RUBES, 1992). Zudem läßt die Effizienz von zellulären Reparaturmechanismen mit steigendem Alter nach. In der vorliegenden Studie sind alle untersuchten Milchkühe Nachzucht aus dem jeweils eigenen Bestand. Zudem ist die Altersverteilung in den Gruppen wie beschrieben vergleichbar. Altersbedingte Effekte zwischen den Probandengruppen sind daher nicht zu erwarten.

Effekte der Rassenzugehörigkeit der Milchkühe auf die SCE-Frequenzen sind zu beachten, weil die Probandengruppen A,B und C einen höheren Fleckviehanteil haben. Die SCE-Frequenzen der Rassen Fleckvieh, Rotbunte und Schwarzbunte unterscheiden sich jedoch in der Studie bei der Durchführung der einfaktoriellen Varianzanalyse statistisch nicht, einzig die 12 Braunviehkühe weisen eine erhöhte SCE-Frequenz von  $8,99 \pm 1,94$  SCE/Zelle auf, die jedoch als Folge von BVD gesehen werden muß, da alle 12 Tiere aus betroffenen Betrieben stammen.

Bei der Betrachtung der SCE-Frequenzen in den verschiedenen Expositionsgruppen A (Überdurchschnittliche GSM-Exposition, die auch mehr als 50% der Gesamtexposition ausmacht.), B (Überdurchschnittliche GSM-Exposition, die weniger als 50% der Gesamtexposition ausmacht.), C (Unterdurchschnittliche GSM-Exposition, überdurchschnittliche UKW/TV-Exposition), D (Kontrollbetriebe ohne nennenswerte Feldbeaufschlagung) ergaben sich die im weiteren aufgeführten SCE-Frequenzen (s.hierzu Tab.V.6.2 b).

**Tabelle V.6.2b:** SCE-Frequenzen in Metaphasenchromosomen aus verschiedenen Expositionsgruppen

<b>Gruppe</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>n Tiere</b>	35	28	10	37
<b>n Metaphasen</b>	411	362	112	526
<b>SCE/Metaphase</b>	8,74 ± 2,06	6,81 ± 1,56	7,13 ± 0,89	7,61 ± 1,32

Die SCE-Frequenzen bewegen sich, von wenigen Ausnahmen abgesehen, innerhalb der Betriebe in einem bemerkenswert engen Variationsbereich ( $VK 28,2 \pm 4,8 \%$ ) bewegen, dies unterstreicht die Wertigkeit der Untersuchungsmethode und die Relevanz der Ergebnisse.

Tiere mit hohen SCE-Frequenzen (teilweise  $>10$  SCE/MP) finden sich vor allem in der Gruppe A, einige weitere Tiere auch in den Gruppen B und D.

In Anlehnung an die von WULF (1984) vorgeschlagenen Bewertungsmaßstäbe des Größenumfanges der SCE-Frequenzsteigerungen beim Menschen, in diesem Falle 10-50%, sind hier "Ursachenforschung und Vorbeuge gegen das auslösende Produkt oder gegen relevante Strahlung" zu fordern.

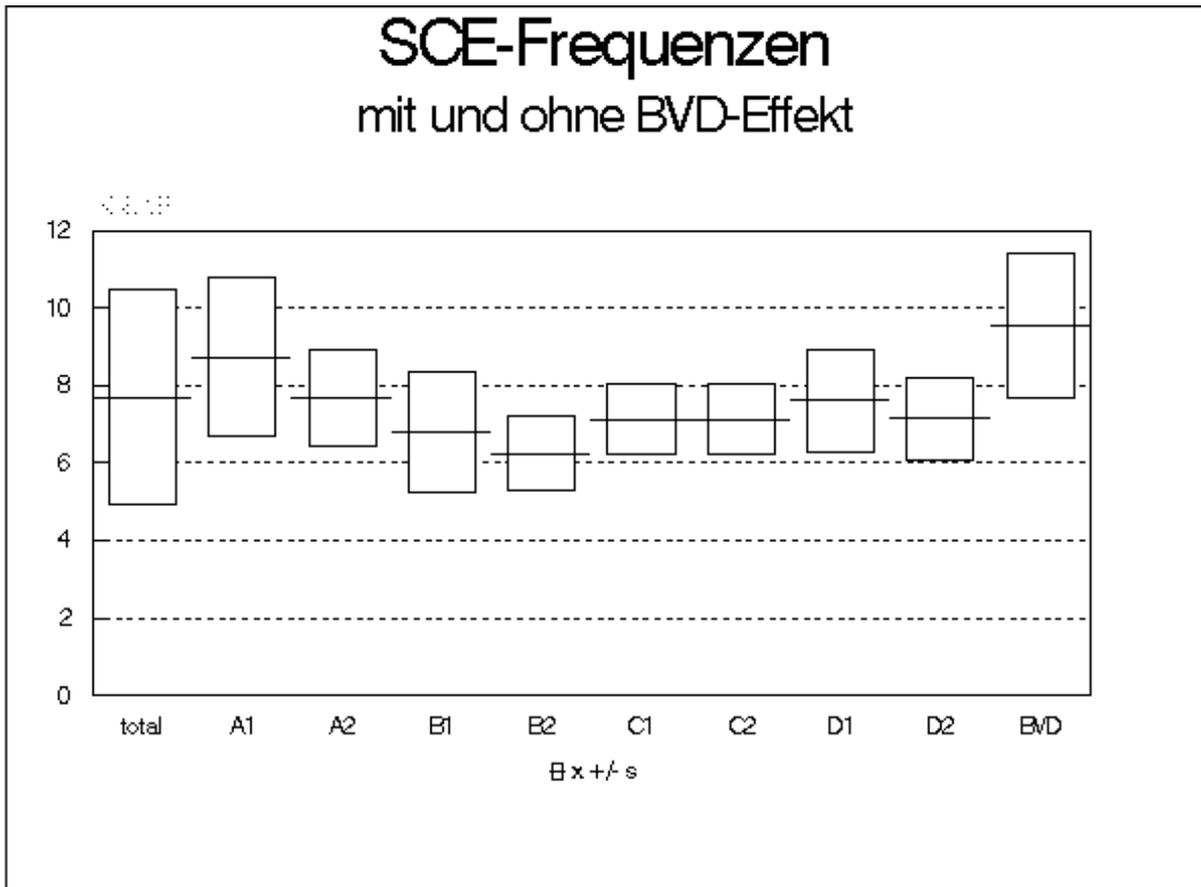
In der vorliegenden Studie wiesen Betriebe, aus denen Tiere mit vergleichsweise sehr hohen SCE-Werten stammen, eine präsenste BVD-Situation auf, die durch klinische Erhebungen und/oder entsprechende Labordiagnostik belegt werden konnte. Nach Elimination der von BVD betroffenen Betriebe ergibt sich folgende Übersicht über die SCE Frequenzen in den Gruppen (s.hierzu Tabelle V.6.2 c und Abb.V.6.2 a)

**Tabelle V.6.2 c:** SCE-Frequenzen nach Elimination von BVD-Betrieben

<b>Gruppe</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>Tiere</b>	24	20	10	29
<b>MP</b>	250	248	112	439
<b>SCE/MP</b>	7,67 ± 1,24	6,24 ± 0,96	7,13 ± 0,89	7,15 ± 1,06

In allen Expositionsgruppen mit Ausnahme der Gruppe C (dort gibt es keine Betriebe mit BVD-Problematik) sinken die Mittelwerte der SCE-Frequenzen nach Elimination der BVD-Betriebe deutlich ab.

Dies läßt einen genotoxischen Effekt von BVD-Infektionen zumindest auf Rinderlymphozyten in Kultur erkennen.



**Abb. V.6.2 a:** Übersicht SCE-Frequenzen

(Betriebe mit (A1, B1, C1, D1) und ohne (A2, B2, C2, D2) BVD-Problematik)

Insgesamt weisen die Tiere aus den BVD-Betrieben folgende erheblich höhere ( $p < 0,001$ ) SCE-Frequenzen auf (s.hierzu Tab.V.6.2 d):

**Tabelle V.6.2 d:** SCE-Frequenzen in Betrieben mit und ohne BVD-Problematik

Betriebe	mit BVD-Problematik	ohne BVD-Problematik
n Tiere	27	83
n MP	384	1049
SCE/MP	$9,55 \pm 1,85$	$7,07 \pm 1,20$

In der statistischen Analyse ergeben sich für den BVD-Effekt auf die SCE-Frequenzen hochsignifikante Einflüsse ( $p < 0,001$ ), ebenfalls für den Faktor Expositionsgruppe ( $p < 0,001$ ).

Die Gruppe A unterscheidet sich signifikant ( $p < 0,001$ ) von B und D ( $p = 0,049$ ). Da jedoch der Mittelwert der Gruppe B der geringste unter den vier Gruppenmittelwerten ist, die Gruppe aber als GSM-Expositionsgruppe gelten muß, läßt sich kein systematischer GSM-Einfluß im Sinne einer SCE-Frequenzsteigerung ableiten.

Führt man eine Datenreduktion durch und betrachtet nur Tiere aus Betrieben ohne BVD-Problematik, so zeigt sich, daß die GSM-Feldbeaufschlagung keinen Einfluß auf die SCE-Frequenz hat.

Bei der Betrachtung der SCE-Frequenzen der BVD-Betriebe ohne Berücksichtigung der Gruppeneinteilung finden sich zwei deutlich voneinander getrennte Untergruppen, eine mit geringer Feldbeaufschlagung ( $< 1\%$ ) und eine mit hoher Feldbeaufschlagung ( $> 3,75\%$ ), hierbei finden sich SCE-Frequenzen von  $8,63 \pm 1,44$  bei den 18 Tieren mit niedriger Feldbeaufschlagung,  $11,08 \pm 1,41$  SCE/Metaphase bei 11 Tieren mit hoher Feldbeaufschlagung. Dies bedeutet, daß Tiere aus BVD-Betrieben mit hoher Feldbeaufschlagung signifikant höhere SCE-Frequenzen aufweisen, als solche mit niedriger Feldbeaufschlagung ( $p = 0,0056$ ). Deswegen kann nicht ausgeschlossen werden, daß es unter GSM-Einfluß zu einer Verstärkung der primär von BVD verursachten Steigerung der SCE-Frequenz kommt.

### 6.3 Metaphasenkinetik (MPK)

Im Rahmen der Untersuchung der Metaphasenkinetik in den Zellkulturen wurden Blutproben von 115 Tieren ausgewertet. Insgesamt wurden 11048 Metaphasen von Blutlymphozyten untersucht und nach ihrem Status in die Klassen M1, M2 und M3 (1.;2 und dritter Zellteilungszyklus) eingeteilt. Pro Tier wurden zwischen 46 und 154 Metaphasen ausgewertet.

Insgesamt ergaben sich die in Tabelle V.6.3 a aufgeführten Werte:

**Tabelle V.6.3 a:** Metaphasenkinetik in der Übersicht

Metaphase	M1	M2	M3
<b>n Tiere</b>	115	115	115
<b>n Metaphasen</b>	11048	11048	11048
<b>x (%)</b>	33,11	49,1	17,87
<b>s (%)</b>	12,47	8,88	8,32
<b>min (%)</b>	11	12	4
<b>max (%)</b>	73	67	45

Erwartet wurde nach dem zeitlichen Ablauf der Versuchsanstellung im Labor ein Verhältnis der Metaphasen von etwa 25:50:25 (M1:M2:M3).

Zahlreiche Probanden wiesen einen relativ hohen Anteil an M1 auf, was auf eine erheblich reduzierte Fähigkeit zur Zellteilung hinwies. Diese Tiere fanden sich bevorzugt in den Gruppen A,B und C (s.hierzu Tabelle V.6.3 b)

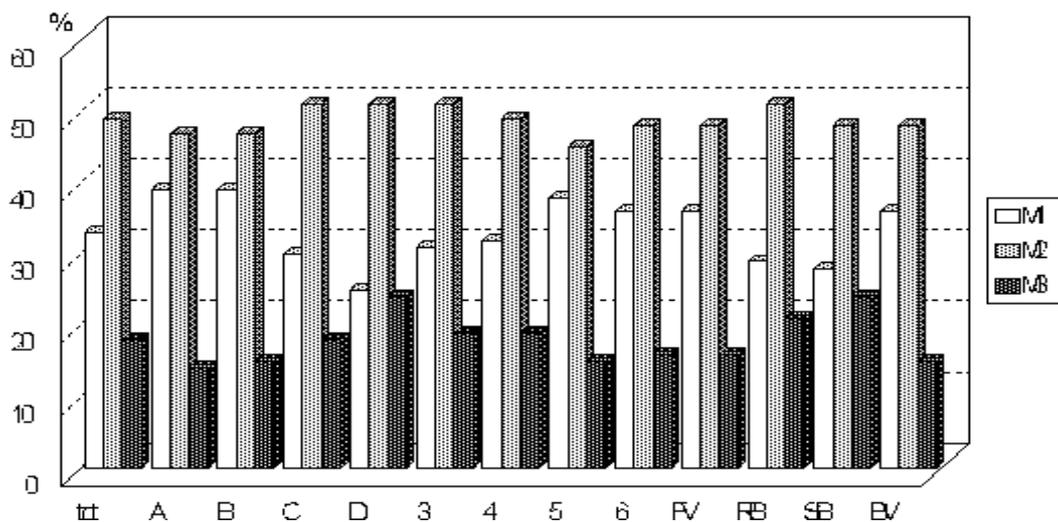
**Tabelle V.6.3 b:** Metaphasenkinetik in den Expositionsgruppen

Gruppe	A	B	C	D
n Tiere	33	29	11	35
n Metaphasen	2936	2900	1108	3469
M1 (x±s; %)	39,43 ± 12,56	38,55 ± 13,94	30,54 ± 8,46	25,48 ± 6,38
M2 (x±s; %)	46,80 ± 8,64	47,10 ± 11,32	51,45 ± 8,97	50,88 ± 6,29
M3 (x±s; %)	13,77 ± 7,21	14,59 ± 6,46	18,06 ± 5,53	23,6 ± 8,45

In den Gruppen A und B besteht im Vergleich zur Gruppe D eine Erhöhung des Anteils an M1, während in der Gruppe C diese Steigerung erheblich geringer ausfällt. Die Unterschiede sind statistisch absicherbar (A:D p<0,001; B:D p<0,001; C:D p=0,042), d.h. zunächst, daß in den Expositionsgruppen eine herabgesetzte Teilungsfähigkeit der Blutlymphozyten zu verzeichnen ist. Eine Übersicht über die Metaphasenkinetik in einzelnen Gruppen gibt Abb.V.6.3 a.

## Metaphasenkinetik

### M1, M2 und M3 in den Gruppen



**Abb. V.6.3.a:** Metaphasenkinetik in einzelnen Gruppen

Auch bei den MPK-Daten wurde der BVD-Einfluss auf die Zellteilung überprüft. Bei Reduzierung der Datenauf die BVD-unproblematischen Betriebe ergeben sich die in Tabelle V.6.3 c aufgeführten Werte.

**Tabelle V.6.3 c** : Metaphasenkinetik in den Expositionsgruppen ohne BVD-Betriebe

Gruppe	A	B	C	D
n Tiere	22	19	11	27
n Metaphasen	1936	1913	1108	2669
M1 ( $\bar{x} \pm s$ , %)	36,00 $\pm$ 13,02	38,10 $\pm$ 10,77	30,54 $\pm$ 8,46	24,85 $\pm$ 6,28
M2 ( $\bar{x} \pm s$ ; %)	47,32 $\pm$ 9,28	48,84 $\pm$ 9,21	51,42 $\pm$ 8,97	49,18 $\pm$ 5,68
M3 ( $\bar{x} \pm s$ , %)	16,68 $\pm$ 6,94	13,26 $\pm$ 4,68	18,00 $\pm$ 5,53	26,00 $\pm$ 7,89

Der Einfluß des BVD-Status auf die Metaphasenkinetik ist geringer als auf die SCE-Frequenzen. Die statistische Analyse ergibt einen zum Signifikanzniveau von  $p=0,003$  absicherbaren BVD-Effekt auf die Metaphasenkinetik. Ferner ist die Gruppenzugehörigkeit ( $p<0,001$ ) von Bedeutung.

Von Bedeutung sind natürlich wegen der differenten Rassenverteilungen in den Gruppen etwaige Effekte des Rasseneinflusses auf die Metaphasenkinetik, Bei der Betrachtung der M1 finden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Rassen ( $p=0,157$ ), somit sind Rasseneinflüsse auf die Metaphasenkinetik nicht nachweisbar.

Aus den erhobenen Daten kann geschlossen werden, daß die Lymphozyten von Tieren aus den Expositionsgruppen A, B und C ein geringeres Teilungsvermögen aufweisen. Eine Trennung des BVD-Effektes von einem möglichen Einfluß durch die Exposition insbesondere von GSM ist nicht möglich, da sich die Gruppe C ebenfalls signifikant von D unterscheidet, die Gruppen A und B jedoch nicht von C (A:C  $p=0,22$ ; B:C  $p=0,20$ ).

Eine Verminderung der Stimulation der Lymphozyten durch Mitogene kann auch durch das Bovine Immunodeficiency Virus (BIV) hervorgerufen werden. Eine Überprüfung der Rinder auf AK-Titer gegen diese neue Erkrankung konnte im Rahmen der Studie nicht durchgeführt werden.

Die Metaphasenkinetik von menschlichen Lymphozyten in Kultur wird unter Hochfrequenzbefeldung nicht beeinflusst (ANTONOPOULOS 1997). EBERLE (1997) findet bei 1800MHz-Befeldung zwar gleiche Einflüsse auf die Metaphasenkinetik wie in dieser Studie, nämlich eine Erniedrigung der Zellteilungsgeschwindigkeit allerdings nur bei 2 von 6 Probanden, zudem findet er bei 900 MHz Erhöhung und Erniedrigung der Zellteilungsgeschwindigkeit und schließt unter der Bedingung, daß bei seiner Versuchsanordnung eine vollständige Prävalenz der Befunde zu erwarten ist, Feldeffekte auf die Metaphasenkinetik aus.

Insgesamt ergibt sich bei der Untersuchung der genotoxischen Parameter, daß es keine Anzeichen für klastogene Effekte auf die Mikronukleifrequenz gibt, auf der SCE-Ebene und bei der Metaphasenkinetik lassen sich Effekte der GSM-Befeldung nicht eindeutig zeigen, aber zur Zeit auch nicht eindeutig ausschließen.

## 7. Klinische und immunologische Parameter

Die klinisch-hämatologischen, klinisch-chemischen und klinisch-immunologischen Untersuchungen ergaben die in Tabelle V.7.1 a-d und Abbildung V.7.1 a-d dargestellten Ergebnisse.

**Tabelle V.7.1 a:** Enzyme und Substrate im Blutserum von Milchkühen (Normalwerte nach RICHTER 1992, KNICKEL 1996, SCHMIDL 1984, DOHERTY 1992, ASSMUS 1995)

Parameter (Einheit)	n	x	s	min	max	Normalwerte
AP(U/l)	137	74,79	66,25	20	420	- 200
AST (U/l)	137	35,22	7,33	19,4	55	10 – 50
GLDH (U/l)	137	9,53	6,80	1,8	50,4	- 7
Urea (mmol/l)	136	4,80	1,85	1,5	12,3	1,7 – 6,7
Bilirubin (µmol/l)	103	2,60	2,64	0,1	16,3	- 8,5
Creatinin (µmol/l)	136	91,41	17,15	57,5	146,7	88 – 176
Cholesterin (mmol/l)	137	4,27	1,27	1,6	7,9	2,07 – 3,88
Triglyceride (mmol/l)	137	0,287	0,129	0,07	0,91	0,17 – 0,51
Glucose (mmol/l)	137	2,88	0,60	0,9	4,2	1,94 - 3,05
β-Carotin (µg/l)	123	2581,3	274,4	2500	3500	>3500

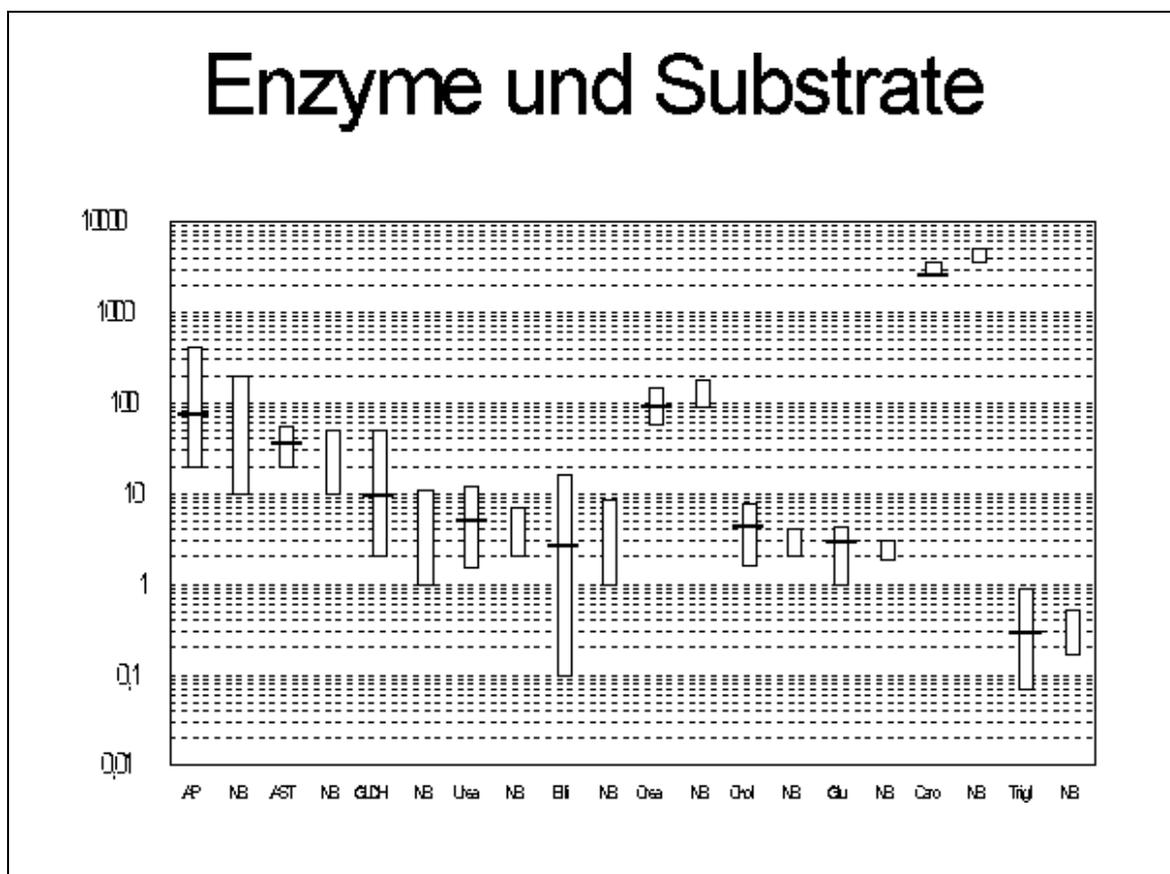
Die routinemäßige Überprüfung von klinisch-chemischen Parametern hat in Milchviehbeständen erst seit der zunehmenden Einrichtung von Großbeständen und deren integrativer Betreuung mit dem Ziel der Vorbeugung der kostenintensiven Einzeltierbehandlung insbesondere im peripartalen Zeitraum an Bedeutung gewonnen. Die Tabelle zeigt, daß sich die gefundenen Werte der Enzyme AP (Alkalische Phosphatase) und AST (Aspartataminotransferase) durchweg im Normalbereich bewegen. Die GLDH (Glutamatdehydrogenase), ein stark leberspezifisches mitochondriales Enzym zeigt deutliche Abweichungen über den Normalwert hinaus. Zahlreiche Erhebungen anderer Autoren weisen bei leistungsbezogen gefütterten Milchkühen auf ebenfalls erhöhte GLDH-Werte hin, sodaß Grenzwerte bis hinzu 12 U/l diskutiert werden (RICHTER 1992, DOHERTY 1992).

Die erhöhten GLDH-Werte sind als Ausdruck der hohen Stoffwechselbelastung der Leber von Milchkühen abhängig von Leistung und Laktationsphase anzusehen.

Harnstoff, Bilirubin, Creatinin, Triglyceride und Glucose als weitere Weiser für Lebererkrankungen, Eiweiß-, Fett- und Kohlehydratstoffwechsel befinden sich im Normalbereich.

Einen hohen Mittelwert weist der Cholesteringehalt des Serums auf, dies könnte ein Hinweis für eine allgegenwärtige Toxinbelastung durch Mykotoxine im Futter angesehen werden (RIECK, 1984).

Die Beta-Carotingehalte im Serum sind niedrig. Dies ist als Ausdruck einer Mangelsituation zu werten, die sich auf das Reproduktionsgeschehen negativ auswirkt.



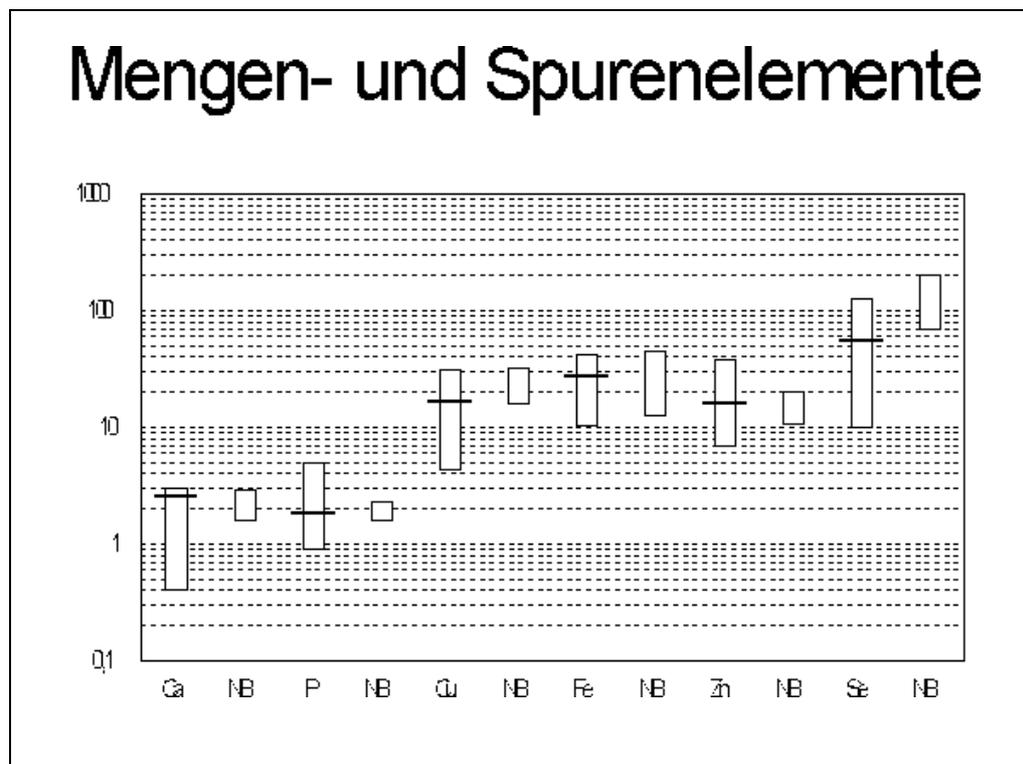
**Abb. V.7.1 a:** Enzyme und Substrate im Blutserum von Milchkühen der Studie

(Dargestellt sind für die Parameter Mittelwert, min, max, für die jeweiligen Normalwerte der Normalbereich (NB), Einheiten sind für AP, AST und GLDH U/l, für Urea, Cholesterin und Glucose mmol/l, für Bilirubin und Creatinin µmol/l und für β-Carotin µg/l.)

**Tabelle V.7.1 b:** Mengen- und Spurenelemente im Blutserum von Milchkühen

Parameter (Einheit)	n	x	s	min	max	Normalwerte
Ca (mmol/l)	137	2,50	0,36	0,4	3	2,5 – 2,87
P (mmol/l)	137	1,81	0,53	0,9	5	1,6 – 2,26
Cu (µmol/l)	137	16,26	6,07	4,4	30,6	16 – 32
Fe (µmol/l)	127	27,37	6,64	10,4	41,7	12,5 – 45
Zn (µmol/l)	137	16,07	4,59	6,8	37,8	10,7 – 19,9
Se (µg/l)	128	54,81	25,52	10	126	70 – 200

Die Mittelwerte der Mengenelemente Calcium und Phosphor bewegen sich im unteren Normalbereich und sind Ausdruck einer unzureichenden Versorgung mit diesen Elementen. Insbesondere im peripartalen Zeitraum, in dem die Milchkuh erhebliche Calciummengen (pro kg Milch etwa 1g Calcium) mobilisieren muß, sind hier in vielen der untersuchten Betriebe Engpässe an der Tagesordnung. Über diese Befunde wurden die Betriebsinhaber während der laufenden Studie informiert, Maßnahmen wurden besprochen, in einem zweiten Probendurchgang wurden die Werte nochmals überprüft. So gelang es, in Problembetrieben die Serumcalciumgehalte vom Bereich 0,4 - 3 mmol/l auf 2,1 - 3mmol/l anzuheben, ebenfalls wurden die Serumphosphorgehalte angeglichen.



**Abb.V.7.1 b:** Mengen- und Spurenelementgehalt im Blutserum der untersuchten Milchkühe (Dargestellt sind Mittelwert, min, max für die Parameter und für die jeweiligen Normalwerte der Normalbereich (NB), die Einheiten sind für Ca und P mmol/l, für Cu, Fe und Zn µmol/l und für Se µg/l)

Auch der Mittelwert der Serumkupfergehalte liegt an der unteren Grenze des Normalbereichs, weil in vielen Betrieben der Kupferversorgung nicht ausreichend war. Einflüsse auf die Fruchtbarkeit sind wahrscheinlich, empfohlene Meliorationsmaßnahmen wurden nicht umgesetzt oder waren erfolglos. Die Serumkupfergehalte in den betroffenen Betrieben konnten im Laufe der Studie nicht angehoben werden. Die Eisengehalte im Serum liegen im Normalbereich, eine primäre Eisenunterversorgung ist bei Pflanzenfressern im nord- und mitteleuropäischen Lebensraum inzwischen ebenso wie eine Manganunterversorgung nahezu ausgeschlossen. Als Nebeneffekt der sauren Einträge in die Umwelt werden erhebliche Mengen von Eisen und Mangan im Boden ionisiert und somit der pflanzlichen Aufnahme zugänglich gemacht. Diese stehen damit auch den Wiederkäuer im Grundfutter zur Verfügung (HEGEMANN 1990).

Die Zinkgehalte im Serum liegen bei allen Tieren im Normalbereich von 10 - 20  $\mu\text{mol/l}$ .

Für die Selengehalte gilt das gleiche wie für Kupfer, auch hier waren Verbesserungen im zweiten Probendurchgang nicht zu erkennen. Trotzdem sind offensichtlich mangelbedingte Krankheitsbilder in den Betrieben nahezu unbekannt.

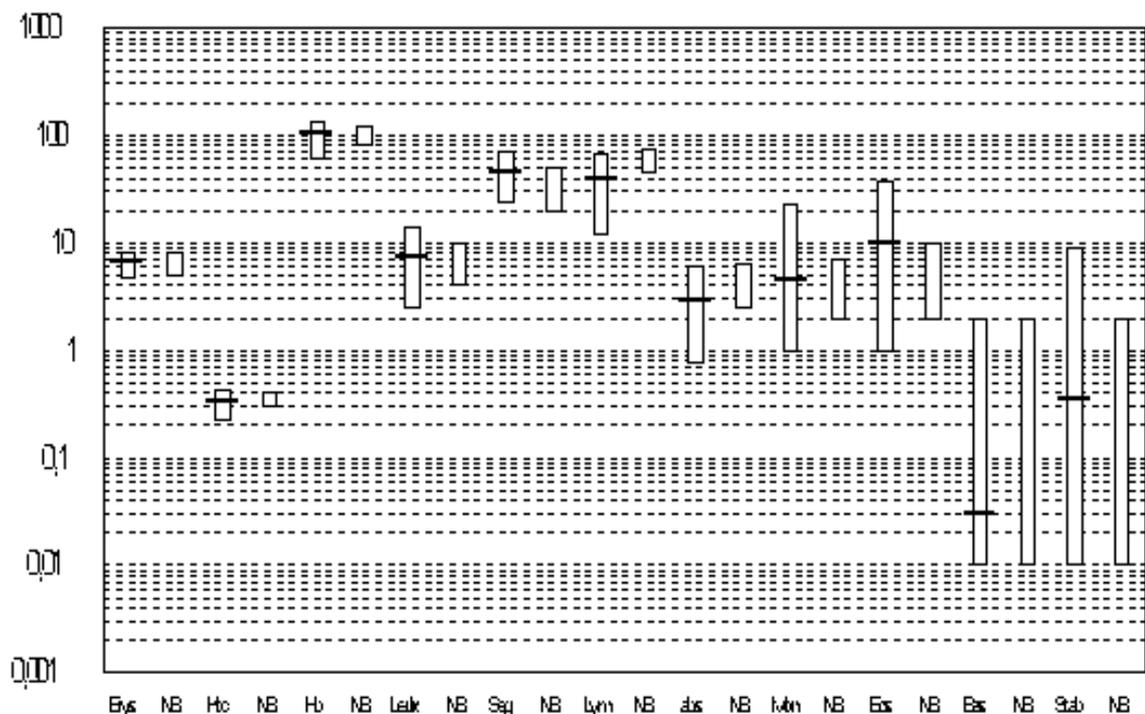
**Tabelle V.7.1 c:** Hämatologische Parameter von Milchkühen

Parameter (Einheit)	n	x	s	min	max	Normalwerte
Erythrozyte n ( $10^{12}/\text{l}$ )	138	6,73	0,72	4,8	8,3	5 - 8
Hämatokrit (l/l)	138	0,338	0,03	0,23	0,42	0,3 - 0,4
Hämoglobin (g/l)	138	106,8	11,05	61	135	80 - 120
Leukozyten ( $10^9/\text{l}$ )	138	7,32	1,82	2,5	13,7	4 - 10
Segmentkern-nige (%)	138	45,45	10,76	24	72	20 - 50
Lymphozyten (%)	138	39,84	11,99	12	66	45 - 75
abs. Lymphos ( $10^3/\mu\text{l}$ )	138	2,89	1,09	0,768	6,156	2,5 - 6,5
Monozyten (%)	138	4,43	3,93	0	23	2 - 7
Eosinophile (%)	138	9,76	9,76	0	37	2 - 10
Basophile (%)	138	0,03	0,24	0	2	0 - 2
Stabkernige (%)	138	0,35	1,04	0	9	0 - 2

Das rote Blutbild der untersuchten Milchkühe bewegt sich im Normalbereich, Erythrozytenzahl, Hämatokrit und Hämoglobingehalte weisen ebenso, wie die Gesamtzahl der Leukozyten keine Auffälligkeiten auf.

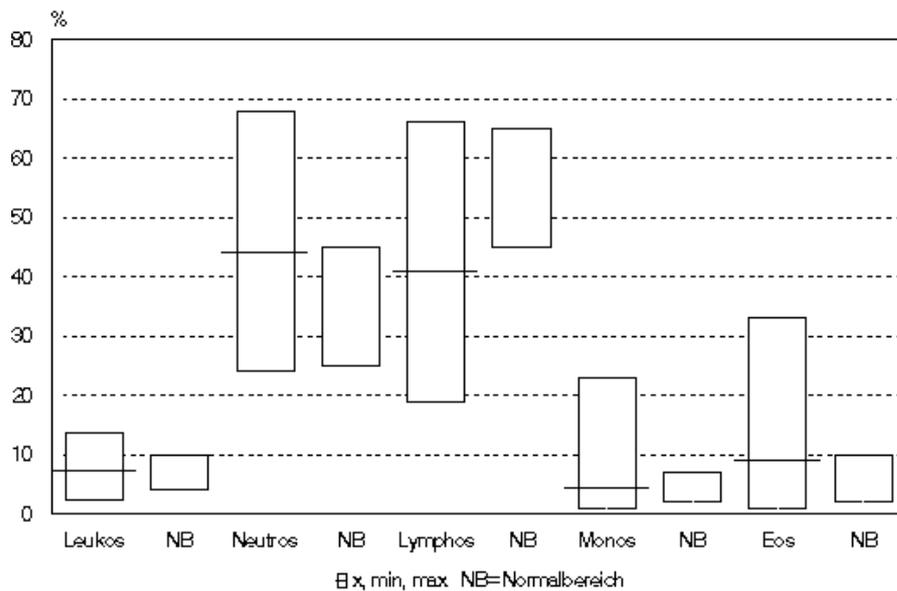
Anders das Differentialblutbild, das beim Rind eigentlich einen Lymphozytenanteil von deutlich über 50% haben sollte. Neuere Autoren geben sogar 70 - 80 % Lymphozytenanteil an der Leukozytenpopulation als Normalwert an. In der vorliegenden Studie findet sich ein Mittelwert von knapp 40%, der als deutliche Lymphozytopenie zu werten ist. Auch die absoluten Lymphozytenzahlen bewegen sich im unteren Bereich. Der Neutrophilenanteil liegt an der oberen Normalwertgrenze, ohne daß die Gesamtzahl der Leukozyten ansteigt, wie dies etwa im Falle einer Neutrophilie im Verlauf von bakteriellen Infektionen stattfindet. Die Monozytenzahl bewegt sich im Normalbereich, ebenfalls am oberen Rande der Normalwerte bewegen sich die eosinophilen Granulozyten. Basophile und stabkernige Neutrophile als Jugendformen und Ausdruck einer verstärkten proliferativen Tätigkeit der Stammzellen befinden sich im Normalbereich. Blutbilder mit ausgeprägter Anisozytose oder Poikilozytose wurden nicht gefunden.

# Hämatologie



**Abb.V.7.1 c:** Hämatologische Parameter der Milchkühe (Die verschiedenen Einheiten für die Parameter sind aus Tabelle V.7.1 c ersichtlich)

## Differentialblutbild



n=139

Abb. V.7.1.d: Differentialblutbild der untersuchten Milchkühe

Tabelle V.7.1 d: Serumproteine bei Milchkühen

Parameter (Einheit)	n	x	s	min	max	Normalwerte
Protein (g/l)	137	76,93	6,04	55,4	92,4	60 - 80
A/G	137	1,017	0,21	0,46	1,48	0,7 - 1,2
Albumin (%)	137	49,76	5,72	31,23	59,7	45 - 55
Albumin (g/l)	137	38,28	4,56	24,97	47,2	28 - 44
$\alpha$ -Globuline (%)	137	11,46	2,82	6,6	22,2	10 - 20
$\alpha$ -Globuline (g/l)	137	8,78	2,14	5,27	18,36	7,5 - 16
$\beta$ -Globuline (%)	137	12,24	3,71	7	27,3	5 - 20
$\beta$ -Globuline (g/l)	137	9,56	3,28	4,94	26,6	8 - 11,2
$\gamma$ -Globuline (%)	137	26,31	4,90	13,8	38,3	20 - 45
$\gamma$ -Globuline (g/l)	137	20,45	4,74	9,64	36,2	12 - 35

Der Gesamtproteingehalt des Blutes liegt ebenso wie das Albumin/Globulin - Verhältnis im Normalbereich. Die Albumine weisen sowohl prozentual als auch absolut normale Werte im Serum auf. Anders dagegen die Alpha-Globuline, relativ und absolut finden sich Werte im unteren physiologischen Bereich. Eingeschränkt gilt dies auch für die Gamma-Globuline, die sich ebenfalls im unteren Bereich der Normalwerte bewegen.

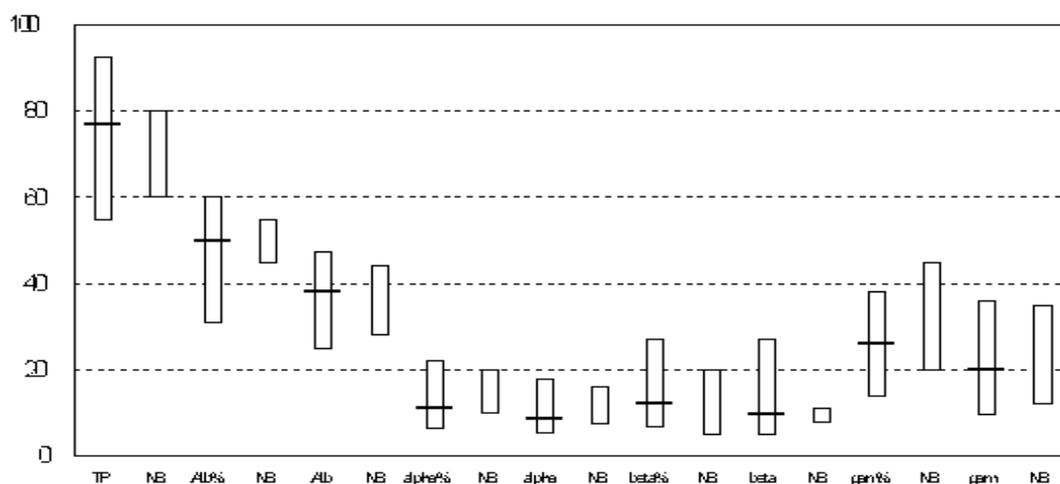
Die Alpha-Globulinfraction des Plasmas besteht aus einer Vielzahl von Proteinen mit Transportfunktionen für Hormone, Spurenelemente und wichtigen Bestandteilen der unspezifischen Abwehrfunktionen des Organismus.

Beide Befunde könnten Ausdruck einer Immunschwäche sein, die eher die allgemeine unspezifische Abwehrfunktion ( $\alpha$ -Globuline), als die spezifische Immunglobulinfraction betrifft.

Die Gehalte der Beta-Globuline befinden sich im Normalbereich.

Weitere Untersuchungen zur Klärung der Frage, ob die gesamte  $\alpha$ -Globulinfraction von der Depression betroffen ist, oder ob es sich um bestimmte Einzelbestandteile handelt, erscheinen sinnvoll.

## Serumproteine



**Abb. V.7.1 e:** Serumproteinfraktionen der untersuchten Milchkühe

(Die Einheiten entsprechen der Tabelle 7.1 d, die Werte sind als x, min, max angegeben. Normalwerte sind als Normalbereich (NB) angegeben.)

Zur weiteren Aufschlüsselung und Klärung, welche Tiere besonders von den beschriebenen für die Ausgangsfragestellung relevanten Veränderungen im Differentialblutbild und der Globulinfraction betroffen sind, wurden die Daten zunächst in den Probandengruppen A, B, C und in der Kontrollgruppe D verglichen (Tabelle V.7.1 e).

Hierbei ergab sich zunächst, daß die Unterschiede zwischen den Gruppen bei den alpha-Globulinen der statistischen Überprüfung standhalten.

**Tabelle V.7.1 e:** Lymphozyten und Globuline in den Gruppen A,B,C und D

Parameter/ Gruppe	A (n=40, bzw. 39)	B (n=34, bzw 33)	C (n=14)	D (n=50)	total (n=137, bzw 138)
Leukozyten (10 <sup>3</sup> /µl)	6,73 ± 1,74	6,95 ± 1,71	7,84 ± 1,71	7,91 ± 1,81	7,32 ± 1,82
Lymphozyten (%)	41,55 ± 10,96	38,35 ± 13,57	37,64 ± 14,50	40,12 ± 11,01	39,84 ± 11,99
Lymphozyten (10 <sup>3</sup> )	2,76 ± 0,98	2,68 ± 1,21	2,88 ± 1,12	3,15 ± 1,06	2,89 ± 1,09
α-Globuline (%)	10,45 ± 2,06	10,80 ± 3,02	9,99 ± 1,50	13,11 ± 2,75	11,46 ± 2,82
α-Globuline (g/l)	8,07 ± 1,78	8,53 ± 2,44	7,71 ± 1,11	9,80 ± 2,03	8,77 ± 2,14
γ-Globuline (%)	25,90 ± 5,26	26,73 ± 4,28	23,76 ± 3,99	27,07 ± 5,07	26,31 ± 4,60
γ-Globuline (g/l)	20,07 ± 4,79	21,05 ± 3,61	18,52 ± 3,82	20,57 ± 5,06	20,44 ± 4,74

Unterstellt man, daß aufgrund der erhobenen Befunde bei vielen Tieren möglicherweise eine Immunschwäche vorliegt, ist BVD eine nahe liegende Ursache. Tabelle V.7.1 f zeigt die relevanten Daten nach Elimination der Betriebe mit BVD-Problematik.

**Tabelle V.7.1 f :** Lymphozyten und Globuline in den Gruppen A, B, C und D ohne BVD-Einfluß

Parameter/ Gruppe	A (n=27, bzw. 26)	B (n=22, bzw 21)	C (n=14)	D (n=40)
Leukozyten (10 <sup>3</sup> /µl)	6,62 ± 1,86	6,90 ± 1,74	7,84 ± 1,71	8,01 ± 1,77
Lymphozyten (%)	38,59 ± 9,67	36,14 ± 14,05	37,64 ± 14,50	39,68 ± 11,08
Lymphozyten (10 <sup>3</sup> /µl)	2,50 ± 0,86	2,51 ± 1,25	2,88 ± 1,12	3,16 ± 1,06
α-Globuline (%)	11,08 ± 2,05	11,17 ± 3,58	9,99 ± 1,50	13,76 ± 2,58
α-Globuline (g/l)	8,63 ± 1,76	8,76 ± 2,87	7,71 ± 1,11	10,35 ± 1,86
γ-Globuline (%)	25,02 ± 5,36	26,54 ± 5,17	23,76 ± 3,99	27,23 ± 5,02
γ-Globuline (g/l)	19,58 ± 4,96	20,69 ± 4,16	18,52 ± 3,82	20,80 ± 5,00

Nach Elimination des Faktors BVD unterscheiden sich die Ergebnisse kaum.

Der BVD-Einfluß auf Lymphozytenanteil und alpha-Globuline erweist sich als signifikant ( $p=0,041$ , bzw.  $0,035$ ). Zudem spielt der Alterseinfluß der Probanden auf absolute Lymphozytenzahl eine Rolle ( $p<0,001$ ).

Ungeklärt bleiben die geringen Lymphozytenzahlen bei einem Großteil der Tiere. Ein Meßfehler ist unwahrscheinlich, nachdem der TGD Bayern gleiche Befunde erhoben, diese aber nicht diskutiert hat.

### Verlaufsuntersuchung Schnaitsee

Im Jahre 1999 ergab sich die Möglichkeit, 4 tragende Rinder aus einem Betrieb der Gruppe B nach der Erstuntersuchung auf eine Sommerweide mit Stallungen und Untersuchungsmöglichkeit in eine Zone ohne nennenswerte Feldbeaufschlagung zu verbringen und dort über mehrere Monate den Verlauf verschiedener Parameter zu untersuchen.

Hierbei ergaben sich folgendes:

Der prozentuale Anteil an Lymphozyten im Differentialblutbild steigerte sich bei allen 4 Tieren von der ersten Blutabnahme im Heimatstall über 4 Blutentnahmen im Sanitätsstall jeweils im Abstand von etwa 3-4 Wochen, einige Wochen nach dem Zurückbringen in den Heimatstall waren wiederum annähernd die Ausgangswerte erreicht. Die absoluten Lymphozytenzahlen verhielten sich bei drei Tieren ähnlich, bei dem vierten Tier bewegten sich die Werte in engeren Grenzen (s.hierzu Tabelle V.7.1 g)

**Tabelle V.7.1 g:** Lymphozytenzahlen im Verlauf.(BLAB = Blutentnahme)

Lymphozyten%						
Tier	BLAB 1	BLAB 2	BLAB 3	BLAB 4	BLAB 5	BLAB 6
1295	33	40	35	48	54	23
1296	31	51	49	73	60	35
1297	19	46	40	48	57	16
1298	29	34	35	45	33	34
Lymphozyten abs. ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )						
Tier						
1295	3,76	2,93	1,66	5,61	6,1	2,3
1296	1,60	4,48	4,85	7,59	5,34	3,11
1297	1,86	4,32	2,14	4,56	3,26	1,82
1298	3,39	2,18	2,59	2,85	2,97	3,26

Auch die Gehalte an alpha- und gamma-Globulinen folgten bei den vier Tieren einem ähnlichen Verlauf (s. hierzu Tabelle V.7.1 g und Abb.V.7.1 h).

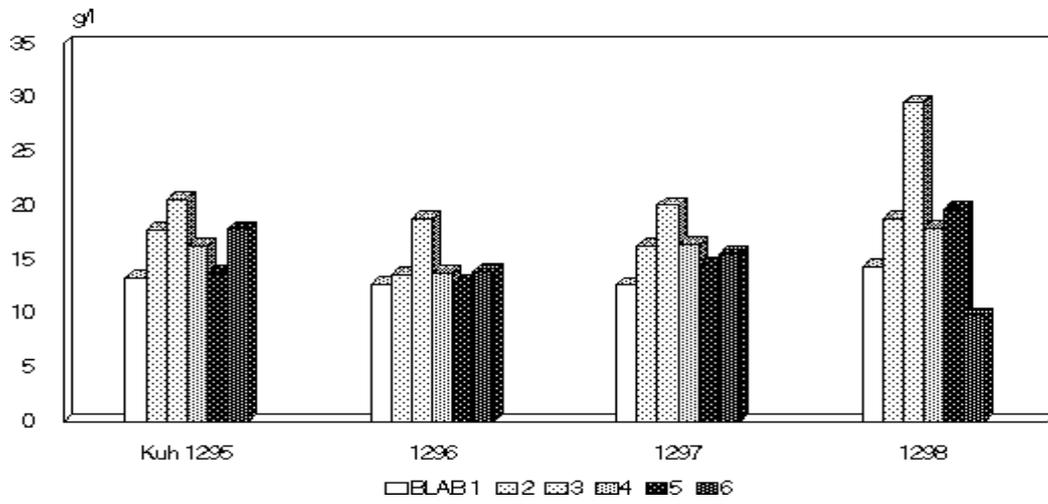
Die Gehalte der untersuchten Globuline steigen zunächst bis in den Hochsommer kontinuierlich an, um dann abzusinken, im Heimatstall fallen die Werte wieder auf das Ausgangsniveau zurück. ( $p < 0,0001$  alpha-Globuline,  $p = 0,0078$  gamma-Globuline) Dies läßt trotz geringer Probandenzahl darauf schließen, daß durch das Verbringen der Tiere in eine andere Umgebung zunächst eine deutliche Verbesserung der Globulingehalte im Serum erreicht werden konnte. Dies kann auf den Weidegang mit besserer Futterqualität und Besonnung zurückzuführen sein. Darauf deuten auch die sich einheitlich bei allen Tieren von 2500 auf 3500  $\mu\text{g/l}$  steigenden Betacarotingehalte im Serum hin. Der Abfall der Globulinwerte ab der Blutabnahme (BLAB) 4 fällt mit einer Leberegelinfektion zusammen, die behandelt werden mußte. Die Verlaufsuntersuchung weist auf erhebliche Umwelteffekte hin, sie ist daher nicht geeignet, mögliche negative Einflüsse der Feldbeaufschlagung nachzuweisen.

**Tabelle V.7.1 h:** Alpha- und gamma-Globuline im Verlauf

<b><math>\alpha</math>-Globuline g/l</b>						
<b>Tier</b>	<b>BLAB 1</b>	<b>BLAB 2</b>	<b>BLAB 3</b>	<b>BLAB 4</b>	<b>BLAB 5</b>	<b>BLAB 6</b>
1295	7,4	9,3	11,3	10,1	9,3	8,9
1296	9,1	10,1	12,3	9,6	9,7	9,0
1297	9,5	9,8	11,2	8,7	9,6	8,2
1298	8,1	9,2	10,9	9,6	8,3	8,6
$\bar{x} \pm s$	$8,53 \pm 0,95$	$9,6 \pm 0,42$	$11,42 \pm 0,61$	$9,5 \pm 0,58$	$9,23 \pm 0,64$	$8,68 \pm 0,36$
<b><math>\gamma</math>-Globuline g/l</b>						
<b>Tier</b>						
1295	13,3	17,7	20,5	16,2	13,7	17,8
1296	12,7	13,6	18,8	13,7	12,9	13,9
1297	12,6	16,2	20	16,4	14,5	15,5
1298	14,3	18,8	29,5	17,9	19,6	9,8
$\bar{x} \pm s$	$13,23 \pm 0,78$	$16,58 \pm 2,25$	$22,2 \pm 4,92$	$16,05 \pm 1,74$	$15,18 \pm 3,02$	$14,25 \pm 3,37$

Auch andere untersuchte Parameter (z.B. Metaphasenkinetik) geben keine derartigen Hinweise

# gamma-Globuline Verlauf



**Abb.V.7.1.f:** Verlauf Gamma-Globuline bei 4 Rindern

## **8. Infektion mit dem Virus der BVD, BVD-Problematik**

Zur Untersuchung der BVD-Situation in den Betrieben wurden Blutseren von 150 Tieren auf Antikörper (AK) gegen BVD untersucht, zusätzlich erfolgte ein Antigennachweis bei erkrankten Tieren, mißgebildeten Kälbern oder abortierten Feten, bei einigen Betrieben wurde auch auf diesbezügliche Untersuchungsergebnisse von staatlichen Untersuchungsstellen zurückgegriffen, die im Zeitrahmen der Studie erhoben wurden.

Als BVD-Betriebe gelten solche Betriebe,

- in denen wegen BVD-Problematik geimpft wird oder wurde,
- die klassische klinische Krankheitsbilder aufweisen,
- die positive Antigennachweise zu verzeichnen haben.
- bei denen während der Studie Neuerkrankungen auftraten.

Gefunden wurden 85 Tiere (56,7%) mit positivem AK-Befund, 61 Tiere mit negativem AK-Befund (40,7%), sowie 4 Tiere (2,7%) mit fraglichem Befund.

Auf Betriebsebene betrachtet fanden sich 16 Betriebe mit AK-positiven, 7 Betriebe mit AK-negativen Tieren und 15 Betriebe mit AK-positiven und AK-negativen Tieren.

"AK-positiv" bedeutet,

- daß die Tiere Antikörper gegen BVD im Blut haben, die von einer früheren (auch latenten) Infektion stammen,
- daß die Tiere mit Antikörpern geboren wurden,
- daß der Erreger präsent war,
- daß die Tiere geimpft wurden,
- daß der gesamte Betrieb durchseucht oder geimpft war,
- daß die Tiere primär durchseucht waren und im ungünstigsten Fall jetzt superinfiziert sind.

"AK-negativ" bedeutet,

- daß die Tiere keine Antikörper im Blut haben, weil sie noch keinen Kontakt mit dem Erreger hatten,
- daß die Tiere frühinfiziert sind und noch keine Antikörper gebildet haben,
- daß die Tiere Virämiker und Ausscheider sind.

Gemischte "AK-positive und AK-negative" Befunde können bedeuten,

- daß der Betrieb noch nicht durchseucht ist und das Infektionsgeschehen läuft,
- daß das Infektionsgeschehen läuft und Ausscheider vorhanden sind,
- daß das Infektionsgeschehen abgelaufen ist und der oder die Virämiker abgängig ist/sind.

Übersicht über Verteilung der BVD-Antikörperstatus in den Betrieben der Expositionsgruppen A, B, C und in der Kontrollgruppe D gibt die Tabelle V.8.1 a.

**Tabelle V.8.1 a** : BVD- AK-Status in den Expositionsgruppen

Gruppe	AK-pos.	AK-neg.	AK-pos./neg.
A	6	2	4
B	5	3	1
C	2	1	1
D	3	1	9

Auffällig hierbei ist der hohe Anteil von Betrieben mit gemischtem AK-Status in der Kontrollgruppe D, obwohl hier nur zwei Betriebe BVD haben.

Nochmals muß an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, daß die Repräsentanz der Stichproben sicherlich nicht in allen Betrieben der komplexen BVD-Problematik gerecht wird, sondern daß für eine abschließende Beurteilung der BVD-Situation in den Betrieben eine andere Stichprobenszusammensetzung bearbeitet werden muß. Für einige Betriebe liegen jedoch, wie oben beschrieben, Untersuchungsergebnisse von anderer Stelle (Vet.UA, TGD Bayern) vor, die bei der Bewertung der BVD-Situation Eingang fanden.

Aufschluß über den möglichen Zusammenhang zwischen BVD-AK-Status und Krankheitsbefunden in den Betrieben gibt Tabelle V.8.1 b. Hierbei ist unter dem Begriff „Auffälligkeiten“ das Auftreten von Krankheitsbildern wie Aborten, Anomalien, typischen Entwicklungsstörungen und klinischen Erkrankungen mit Antigennachweis zu verstehen.

**Tabelle V.8.1.b:** Zusammenhang zwischen BVD-AK-Status und Krankheitsbefunden

Gruppe/AK Status	AK-pos	mit / ohne Auffälligk.	AK-neg.	mit / ohne Auffällig.	AK-pos AK-neg	mit / ohne Auffällig.
<b>A</b>	6	4/2	2	0/2	4	2/2
<b>B</b>	5	3/2	3	1/2	1	1/0
<b>C</b>	2	1/1	1	1/0	1	0/1
<b>D</b>	3	0/3	1	0/1	9	2/7

So finden sich in der Gruppe A 6 durchweg AK-positive Betriebe, hiervon 4 Betriebe mit Auffälligkeiten im Krankheitsgeschehen. 2 Betriebe sind AK-negativ, beide sind ohne spezifische Krankheitsbilder. Die Ak-pos./AK-neg. Betriebe haben zur Hälfte Auffälligkeiten, die andere Hälfte ist unauffällig.

In der Gruppe B sind 5 AK-positive Betriebe, davon 3 mit und 2 ohne klinische Befunde. In den 3 AK-negativen Betrieben gibt es in einem Betrieb Auffälligkeiten. Im gemischten AK-pos./AK-neg.Betrieb kommen ebenfalls auffällige Befunde vor.

In der Gruppe C sind die zwei AK-positiven Betriebe mit und ohne Krankheitsbilder. Der eine AK-negative Bestand weist Auffälligkeiten auf, wobei der Betrieb mit dem gemischten Status unauffällig blieb.

In der Kontrollgruppe D finden sich keine besonderen Erkrankungen in den AK-positiven und AK-negativen Betrieben. Allein in der gemischten Gruppe gibt es 2 Betriebe mit Krankheitsbildern, 7 sind frei davon.

Zusammengefaßt läßt sich sagen, daß von den 16 AK-positiven Betrieben immerhin 8 Auffälligkeiten aufweisen, alle Betriebe kommen aus den Probandengruppen A und B.

Von den 7 AK-negativen Betrieben haben 2 Betriebe Auffälligkeiten, auch diese Betriebe gehören zu den Probandengruppe B.

Von den 15 Betrieben mit gemischtem AK-Status weisen 5 Betriebe Auffälligkeiten auf, 3 davon finden sich in den Probandengruppen A und B, 2 in der Kontrollgruppe D.

Somit stehen 13 Betriebe mit auffälligen Krankheitsbildern 12 Betrieben ohne solche aus den Probandengruppen A, B und C gegenüber. In der Kontrollgruppe D hingegen finden sich nur 2 Betriebe mit gegenüber 11 Betrieben ohne solche Krankheitsbilder. Dies läßt den Schluß zu, daß durch die mögliche Benennung der Betriebe nach Auffälligkeiten in den Probandengruppen A, B und C ein Einfluß auf die statistische Auswertung vorgenommen wurde.

Da es für die Interpretation bestimmter Befunde von Bedeutung war, den negativen BVD-Status von Einzeltieren zusätzlich zum Status des Betriebes zu verifizieren, wurden weiterführende Untersuchungen vorgenommen, um nachzuweisen, daß kein BVD-Antigen (BVD-Virus) in den AK-

negativen Tieren vorhanden war, d.h. daß die Tiere nicht infiziert waren und somit BVD-Einflüsse auf die relevanten Parameter ausgeschlossen werden können. Diese Untersuchungen wurden mittels rt-PCR (Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion) durchgeführt. Sie bestätigten, daß die AK-negativen Probanden auch tatsächlich frei von Antigenen waren.

## **9. Mißbildungen, Aborte und sonstige Krankheitsbefunde**

### **9.1 Mißbildungen**

Im Untersuchungszeitraum wurden in 15 von 39 Betrieben 49 mißgebildete Kälber geboren.

In den untersuchten Betrieben fanden etwa 1500 Geburten im Untersuchungszeitraum statt.

Die Mißbildungsfrequenz beträgt somit 3,27% und liegt damit weit über der Normalfrequenz von etwa 0,2 (RIECK,1972) bis 1,0% (de KRUIF,1998) in der Milchviehzucht.

Die erhobene Gesamtzahl der Mißbildungen ist wahrscheinlich als zu niedrig einzuschätzen, da es bei vielen Betriebsinhabern grundsätzliche Anschauungsprobleme darüber gibt, was eine Mißbildung oder Anomalie ist. Dies gilt z.B. für Nabelbrüche, Katarakte oder therapeutisch korrigierbare Arthrogyposen. Ferner werden Mißbildungen der Geschlechtsorgane oder weniger auffällige Defekte der Wirbelsäule erst bei Eintritt der Zucht reife oder überhaupt nicht erkannt.

Zur eigentlichen pathologisch-anatomischen Untersuchung kam leider nur ein geringer Anteil von mißgebildeten Kälbern, obwohl Abholung und Untersuchung angeboten waren.

Ein Teil der Befunde wurde von den Haustierärzten erhoben oder von den Besitzern fotografisch dokumentiert, die Diagnostik erfolgte nach den vorhandenen Unterlagen.

Zahlreiche Kälber konnten vor Ort klinisch untersucht, fotografiert und Vorschläge für ihre weitere Behandlung gemacht werden.

Von den 49 mißgebildeten Kälbern stammten 6 Tiere (12%) aus den Betrieben der Gruppe D. 43 Tiere (88%) kamen aus den Betrieben der Gruppen A, B und C.

Im einzelnen traten folgende Anomalien auf:

In der Gruppe A wurden bei 16 Kälbern folgende Anomalien festgestellt:

Betrieb 1	1 kongenitales Augenteratom, 1 Amorphus globosus
Betrieb 2	1 Dicephalus, 1 Hydrops universalis, 4 Augenanomalien
Betrieb 3	1 kongenitales Osteochondrom, 2 Bauchspalten
Betrieb 4	2 Gliedmaßenanomalien
Betrieb 5	1 Anurie
Betrieb 6	2 Bauchspalten

In der Gruppe B finden sich bei 22 Kälbern folgende Anomalien:

Betrieb 1	3 Augenanomalien, 2x Zwillinge mit Arthrogrypose
Betrieb 2	6 Anomalien der Gliedmaßen, Nabelbrüche
Betrieb 3	5 Kälber mit Mikrophthalmie, Bauchspalten, Arthrogryposen, Arachnomelie, Mikromelie
Betrieb 4	2 Kälber mit Zwergwuchs
Betrieb 5	1 Kongenitaler Katarakt, 1 Bauchspalte

In der Gruppe C finden sich bei 5 Kälbern folgende Anomalien:

Betrieb 1	1 Amorphus globosus
Betrieb 2	1 Hydrocephalus, 3 Arthrogryposen

In der Kontrollgruppe D finden sich bei 6 Kälbern folgende Anomalien:

Betrieb 1	3 kongenitale Katarakte, 2 Arthrogrypose
Betrieb 2	1 Zyklopie

**Tabelle V.9.1 a:** Verteilung der Anomalien

Typ/Gruppe	A	B	C	D	sum	%
<b>Sinnesorgane, Auge</b>	5	5	-	3	13	26,5
<b>Hernien, Fissuren</b>	4	4	-	-	8	16,3
<b>Muskulatur und Skelett</b>	2	11	3	2	18	36,7
<b>Systemstörungen</b>	1	2	-	-	3	6,1
<b>Doppelbildungen</b>	2	-	1	-	3	6,1
<b>ZNS</b>	-	-	1	1	2	4,08
<b>Teratome</b>	1				1	2,04
<b><i>Diverse</i></b>	1				1	2,04
<b>sum</b>	16	22	5	6	49	100

36,7% der Anomalien betreffen Muskulatur und Skelettsystem gefolgt von Augenanomalien (26,5%), sowie Spaltenbildungen der Bauchdecke (16,3%).

Die Verteilung der Anomalien weist auf eine Beteiligung von BVD-Virus als ätiologischer Faktor hin (sog. Phänokopien).

In der statistischen Betrachtung der Daten ergibt sich nach Durchführung der logistischen Regression primär ein Einfluß von BVD auf die Mißbildungsfrequenz ( $p < 0,0001$ ). Ebenfalls ist die Rassezugehörigkeit, bedingt durch den hohen Fleckviehanteil der betroffenen Betriebe, von Bedeutung

( $p=0,0001$ ). Schließlich ist die Gruppenzugehörigkeit der Milchkühe von Bedeutung. Hierbei ist zu bemerken, daß die Signifikanzen für BVD-Einfluß und Rassen in beiden geprüften statistischen Verfahren nahezu identisch sind, die Signifikanzen für den Einfluß der Expositionsgruppe liegen jedoch knapp über oder unter dem Signifikanzniveau von  $p=0,05$  (0,048; 0,052). Ein Einfluß der Befelderung kann daher nicht ganz ausgeschlossen aber auch nicht definitiv gezeigt werden.

Bei einer Bewertung der statistischen Ergebnisse ist zu berücksichtigen, daß im vorliegenden Datenmaterial eine sehr ungleiche Verteilung der Einflußfaktoren BVD und GSM-Befelderung vorliegt. Tendenziell weisen BVD-positive Betriebe die höchsten GSM-Feldstärken auf, deshalb ist nicht auszuschließen, daß eine Vermengung der beiden Faktoren (Confounding) zu falsch positiven Ergebnissen führt. Analog zur Situation bei der SCE-Auswertung finden sich bei Datenreduktion auf die als BVD-unproblematisch eingestuften Betriebe nur absicherbare Einflüsse der Rasse, während der GSM-Einfluß nicht signifikant ist ( $p=0,12$ ; Odds ratio 2,17; 95%CI 0,71-6,64).

Tabelle V.9.1. b zeigt zum Vergleich von Risiken die ermittelten Odds-ratios.

**Tab. V.9.1 b:** Risiko „Mißbildung“ im Vergleich der Gruppen

<b>Gruppe</b>	<b>Odds ratio</b>	<b>95% Konfidenz</b>
BVD	8,11	3,85 – 17,1
Rasse Rotbunt	0,155	0,049 – 0,486
Rasse Schwarzbunt	0,298	0,036 – 2,46 n.s.
Rasse Braunvieh	0,293	0,110 – 0,781
Expositionsgruppe A	4,60	1,15 – 18,3
Expositionsgruppe B	4,38	1,54 – 12,4
Expositionsgruppe C	3,38	1,19 – 9,63

Aus der Tabelle V.9.1 b geht hervor, daß das Risiko der Geburt eines mißgebildeten Kalbes in einem BVD-Betrieb 8fach höher ist, als in einem Nicht-BVD-Betrieb. Im Vergleich zum Fleckvieh liegen die Risiken für die Geburt von mißgebildeten Kälbern in den Rassen Rotbunt, Schwarzbunt und Fleckvieh um das 6 - 3fache niedriger, wobei das Risiko für die Rasse Schwarzbunt auf Grund des 95%-Konfidenzintervalls nicht signifikant ist. Die Zugehörigkeit zur Gruppe A erhöht das Risiko um das 4,6fache, zur Gruppe B um das 4,4fache und zur Gruppe C um das 3,4fache der Kontrollgruppe D.

Damit ist festzustellen, daß der BVD-Einfluß für das Auftreten von Mißbildungen in der Studie von entscheidender Bedeutung ist. Ein Einfluß der Expositionsgruppenzugehörigkeit läßt sich nicht zweifelsfrei ableiten.

## 9.2 Aborte

Als Abort wird das Absterben und Abstoßen von Früchten zwischen dem 45. und 265. Trächtigkeitstag definiert, als Spätaborte gelten lebensfähige Früchte vor dem 265. Trächtigkeitstag. Insgesamt, also unter Einschluß der embryonalen Frühsterblichkeit vor dem 45. Trächtigkeitstag, wird angenommen, daß etwa 25 – 30% aller Embryonen oder Feten absterben. Unter Einschluß dieser Daten wäre eine Abortrate von 7 – 8% realistisch, 2-3% werden in der Literatur als physiologisch angegeben, da davon ausgegangen werden kann, daß frühe Aborte eigentlich nicht bemerkt werden und im sog. Umrindern verschwinden.

Insgesamt wurden im Untersuchungszeitraum 87 Aborte im Zustand der fortgeschrittenen Trächtigkeit dokumentiert, davon fielen 33 Fälle auf 9 der 13 Kontrollbetriebe, 54 Aborte fanden in 12 der 25 Probandenbetriebe statt (s. Tabelle V.9.2.a).

**Tabelle V.9.2 a:** Verteilung der Aborte auf die Betriebe

Gruppe	Aborte	n Betriebe
<b>A</b>	14	3
<b>B</b>	35	7
<b>C</b>	5	2
<b>D</b>	33	9
<b>Σ</b>	87	21

Die erhobenen Zahlen sind wahrscheinlich zu niedrig, da auch bei fortgeschrittener Trächtigkeit viele Aborte nicht bemerkt werden.

Die abortierten Embryonen bzw. Feten verschwinden in der Entmistung. In den Laufställen werden sie zertreten oder fallen durch die Spalten der Betonspaltenböden. Zudem werden Fruchthüllen, Feten und Sekrete bevorzugt von den häufig im Kuhstall ein- und ausgehenden Hofhunden aufgenommen.

Einer statistischen Überprüfung halten die Ergebnisse der Abortfrequenzen in den Gruppen nicht stand. Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind statistisch nicht absicherbar ( $p=0,2676$ ).

Normale Frequenzen von Aborten in fortgeschrittener Trächtigkeit werden in Milchviehbeständen einheitlich mit etwa 2% (RADOSTITS, 1995) angegeben. Im vorliegenden Fall liegt die Frequenz bei 5,8% der angenommenen ca.1500 Trächtigkeiten deutlich über dem Normalwert.

Über Abortursachen und ihre Häufigkeiten gibt Tabelle V.9.2 b Auskunft.

**Tabelle V.9.2 b:** Abortursachen und ihre Häufigkeiten (aus De KRUIF, 1998)

Ursache	Vorkommen	%
1. genetisch (Chromosomendefekte)	oft	30-60
2. Infektionen	oft	30-60
3. Subfertilität	selten	10
4. Mehrlinge	Selten	5-10
5. Fütterung	Selten	5
6.Fieber	Selten	5
7. Zervixinsuffizienz	Sehr selten	?
8. Plazentablutung	Sehr selten	?
9. Vakzinationen	Sehr selten	?
10. Operationen, Streß	Sehr selten	?
11. Besamung von bereits tragenden Tieren	Sehr selten	?

Die Chromosomendefekte sind auch nach amerikanischen Angaben (RADOSTITS, 1995) auf Chromosomenmutationen, auf Virusinfektionen, vor allem BVD, und auf pflanzliche Teratogene zurückzuführen.

Bei den infektiösen Abortursachen steht neben der IBR-Infektionen, hier beträgt die Aborthäufigkeit bis zu 50% der zum Zeitpunkt der Infektion tragenden Kühe zu, wiederum die BVD-Infektion mit 25% Aborthäufigkeit an vorderer Stelle, ihr Einfluß wird unterschätzt.

An dritter Stelle der infektiösen Aborterreger stehen Chlamydien, deren Nachweis jedoch sehr schwierig ist.

Auch in der Rinderstudie ist ein Einfluß des BVD-Geschehens in den Betrieben vorhanden. So fanden in der Gruppe A 13 der 14 Aborte in Betrieben mit BVD-Geschehen statt, in der Gruppe B 21 der 35 Aborte in entsprechenden Betrieben und in der Kontrollgruppe D 6 der 33 Aborte in Betrieben mit BVD-Erkrankungen statt. Die Gruppe C weist keinen Betrieb mit BVD-Geschehen auf.

Andere potentielle spezifische Aborterreger wurden bei den der Sektion zugeführten Kälber nicht nachgewiesen, in allen Fällen wurde aber eine sog. unspezifische Mischflora kultiviert.

### 9.3 Sonstiges Krankheitsgeschehen

Unter "sonstigen" Krankheiten sind Krankheitsbilder zu verstehen, die in der Milchkuhhaltung eher von untergeordneter Bedeutung sind, in der durchgeführten Studie aber vorkommen. Mit der Dokumentation dieser Krankheiten soll belegt werden, daß sie tatsächlich existieren. Normalerweise dominieren in der leistungsorientierten Milchkuhhaltung Erkrankungen des Euters, der Reproduktionsorgane, der Klauen, des Verdauungsapparates und Stoffwechselstörungen.

In der Gruppe A fanden sich in 6 von 12 Betrieben Auffälligkeiten im Krankheitsgeschehen. Beispielsweise starben hier im Untersuchungszeitraum 8 Kühe an septischen Erkrankungen.

In 4 Betrieben gibt es Tiere mit ausgeprägten Ethopathien wie Weben, Koppen oder Zungenspielen. In einem Betrieb sind zahlreiche Tiere sehr aggressiv, was im Laufstall schon zu einigen gefährlichen Unfällen mit dem Betriebspersonal geführt hat. Im gleichen Betrieb sind Infektionskrankheiten wie BVD, IBR und Parainfluenza präsent. Einige Tiere starben im Untersuchungszeitraum in Folge von Pneumonien, darunter auch zwei Probandenkühe dieser Studie. Ebenfalls sind im Betrieb postpartale Metritiden verbreitet. (nach Auskunft des Besitzers erkrankt nahezu jede Kuh daran). In diesem Betrieb sind grundlegende Sanierungsmaßnahmen dringend erforderlich, während der Studiendauer wurde von Amts wegen damit begonnen.

In der Probandengruppe B finden sich in 5 von 9 Betrieben auffällige Krankheitsbilder. So finden sich in einem Betrieb massive Konjunktividen aller Kühe und eines Teiles der Rinder, trotz des langen Persistierens der Erkrankung war ein Erregernachweis nicht möglich. (TGD Bayern, VetUAFm). Ferner findet sich im Betrieb regelmäßig eine hohe Anzahl von Tieren mit Papillomen, Hygromen und Lymphadenomen. Septische Erkrankungen führten wiederholt zum Tode oder vorzeitigem Ausscheiden der Tiere (>25% des Bestandes).

In einem weiteren Betrieb dieser Gruppe finden sich mehrere Tiere mit Tumorerkrankungen im Bereich des Unterhautbindegewebes und ebenfalls Papillomen.

In drei Betrieben finden sich Zungenspieler und in einem Betrieb sind die Kühe durch hochgradige Nervosität und Aggressivität gekennzeichnet. Bei einer Blutprobennahme wurde annähernd die ganze Anbindeeinrichtung des Stalles und das Freßgitter zerstört.

In der Probandengruppe C finden sich keine Auffälligkeiten im Krankheitsgeschehen.

In der Kontrollgruppe D finden sich außer einer Ethopathie (Zungenspielen) in einem Betrieb keine weiteren Auffälligkeiten.

Die erhobenen Befunden zeigen, daß es in den beschriebenen Betrieben tatsächlich zu einer Häufung von ungewöhnlichen Krankheitsbildern gekommen ist, deren ätiologische Bewertung jedoch im Rahmen dieser Studie nicht durchgeführt werden kann, weil dazu eine erhebliche Anzahl von Folgeuntersuchungen nötig ist. Ebenfalls verbietet sich aus diesem Grunde eine statistische Bewertung dieser Befunde.

#### **9.4 Betriebsevaluation aus tiermedizinischer Sicht**

##### **Managementprobleme**

In zahlreichen Betrieben gibt es gravierende Managementprobleme. Diese Probleme betreffen gleichermaßen alle Gruppen der Rinderstudie.

Aus den Antworten der Landwirte in der Fragebogenaktion und aus den in den Betrieben vor Ort durchgeführten Recherchen, sowie aus den Labordaten, die die Versorgungslage der Kühe widerspiegeln, wurde klar, daß in vielen Betrieben die Anforderungen an ein modernes Herdenmanagement in der Milchviehhaltung bei weitem nicht erfüllt werden.

Im Bereich der Fruchtbarkeit, eigentlich das Zentralthema in Milchviehherden, gab es beispielsweise in 68% der Betriebe Probleme mit der sog. Stillbrünstigkeit, d.h. die Brunstsymptome der Rinder sind entweder so schwach ausgeprägt, daß sie nicht bemerkt werden können, oder die Brunstbeobachtung wird nicht so durchgeführt, daß eine Erkennung möglich ist. Angestrebt werden in gut geführten Herden 80% wahrgenommene Brunsten (De KRUIF,1998). In den betroffenen Betrieben ist die Brunstbeobachtung in der Regel nur auf die Zeiten der Arbeitsspitzen Melken, Füttern und Misten beschränkt. Die von DE KRUIF geforderte 3x20 Minuten Beobachtungszeit wird nur in zwei Betrieben kontinuierlich durchgeführt.

Physiologische Gründe für Stillbrünstigkeit durch Versorgungsmängel, z.B. beim Beta-Carotin, dessen Bedeutung für die Fertilität auch FAILING (1998) besonders hervorhebt, wurden in einigen Betrieben erkannt und zusammen mit den Betriebsinhabern Verbesserungsmaßnahmen umgesetzt.

Der Trächtigkeitsindex (Besamungsindex), d.h. die durchschnittliche Anzahl der Inseminationen, die zur Erzeugung einer Trächtigkeit nötig sind, ist ein weiterer wichtiger Parameter für den Fruchtbarkeitsstatus von Milchviehherden. Von herausragender Bedeutung für den Besamungserfolg ist

der optimale Zeitpunkt der Insemination, dessen Feststellung wiederum stark von der Brunstbeobachtung abhängt.

Der Trächtigkeitsindex liegt bei gut geführten Herden deutlich unter 1,6, im vorliegenden Fall liegen die Indices zwischen 1,2 und 3,25 Besamungen pro erzeugter Trächtigkeit, im Mittel bei 1,6, sodaß auch hier Mängel erkennbar sind. Im Vergleich der Gruppen haben die Expositionsgruppen A, B und C mit 1,4, 1,3 und 1,6 leicht bessere Besamungsindices als die Kontrollgruppe D mit 1,74, statistisch lassen sich diese Unterschiede jedoch nicht absichern.

Die Rastzeit, das ist die Zeit von der Kalbung bis zur ersten Besamung, liegt in den Betrieben nach Angaben der Besitzer zwischen 42 und 120 Tagen (A=56, B=64, C=68, D=64) im Mittel bei  $64 \pm 17$  Tagen.

Die mittlere Gützeit oder Zwischentragezeit, also die Zeit von der Abkalbung bis zum tatsächlichen Eintreten der nächsten Trächtigkeit, wird mit 70 bis 120 Tagen (A=84, B=90, C=94, D=97) angegeben, im Mittel mit  $93 \pm 13$  Tagen.

Beide Parameter, die sich nach FISCHER (1998) besonders gut zur Fertilitätsbeurteilung eignen, bewegen sich in den Betrieben im Normalbereich. Hierbei ist anzumerken, daß die Zeiten in Betrieben mit sehr hoher Milchleistung deutlich über den in der Literatur (de KRUIF, 1998) angegebenen Werten von <85 Tagen für die Rastzeit und <105 Tage für die Zwischentragezeit liegen.

In zahlreichen kleineren Betrieben in allen Gruppen wird von Rastzeiten von 42 bis 63 Tagen ausgegangen, ohne daß sich hier die Zwischentragezeiten verkürzen, deswegen sind die angegebenen Werte mit Vorsicht zu betrachten.

Erkennbare oder gar absicherbare Unterschiede zwischen den Gruppen A,B,C und D bestehen weder für Rast- noch Gützeit.

Erstaunlich war in den Betrieben auch die Einschätzung des Vorkommens von Infektionskrankheiten bei den Milchkühen, die nach Ansicht der Besitzer nur bei 12% der Betriebe vorkommen. Immerhin impfen aber 35% der Betriebe gegen solche Infektionskrankheiten, wobei viele Landwirte nicht wissen, gegen welche Krankheit geimpft wird oder wurde. Die Impfdisziplin ist in vielen Betrieben ebenfalls mangelhaft, bei der Recherche in Sachen BVD ergab sich, daß z.T. manchmal Jungtiere geimpft werden, manchmal nicht.

Ebenfalls mit mangelhaft zu bewerten sind in vielen Betrieben auch die Stallapotheken, welche sich oft auf einem offenen Regalbrett oder sogar auf einer Fensterbank im Kuhstall befinden. Hier wurden sogar Impfstoffe, vor Wochen oder Monaten gelöst oder angebrochen vorgefunden. Durch diese Gegebenheiten lassen sich natürlich einige Ungereimtheiten im BVD-Geschehen in der Studie erklären,

z.B. daß in einem langjährigen Impfbetrieb von Erstlingskühen immer noch BVD-infizierte Kälber geboren werden.

Letztlich müssen in einer möglichen Folgestudie solche Managementfehler weitestgehend ausgeschlossen werden.

### **Parasitologische Befunde**

Im Rahmen der Allgemeinuntersuchung der Probanden wurden auch Kotproben (n = 103) aus dem Enddarm der Tiere entnommen. Die Proben wurden nach den allgemein in den Instituten (Institut für Parasitologie der JLU, VetUA Ffm) durchgeführten Verfahren untersucht. Auf die Untersuchung nach Lungenwurmlarven wurde aus organisatorischen Gründen und wegen der erhobenen Auskultationsbefunde verzichtet. Gefunden wurden Stadien von Magen-Darm-Strongyloiden, Kokzidien, Leberegel, Buxtonellen, Giardien, Haarwürmern, Peitschenwürmern, Bandwürmern und Pansenegeln in den Befallsstärken (+)= vereinzelt (1), (++)= in mäßiger Zahl (2) und (+++) = zahlreich (3).

Im Einzelnen ergaben sich folgende Befunde:

**Tabelle V.9.4 a:** Parasitologische Befunde

<b>Parasit</b>	<b>befallene Tiere</b>	<b>mittlere Befallsstärke</b>
Magen-Darm-Strongyloiden	42	1,09
Kokzidien	26	1,03
Leberegel	4	1
Buxtonella	48	1,41
Giardien	13	1,15
Capillaria	1	1
Trichuris	4	1
Moniezia	1	1
Paramphistomum	1	1

Wie aus der Tabelle V.9.4 a ersichtlich ist sind die parasitologischen Befunde von untergeordneter Bedeutung für die Gesundheitsstatus der Milchkühe in der Studie. Die Prävalenzen entsprechen den aus der Literatur (WACKER 1999) bekannten Werten.

Einzig von den Pansenziliaten Buxtonella liegen bei einigen Tieren höhere Befälle vor, denen jedoch keine pathogenen Effekte auszugehen scheinen (FOX 1986).

## **VI. Kurzfassung des Gesamtberichtes**

### **1. Einleitung**

Im Rahmen des Forschungsprojektes "Untersuchungen zum Einfluss elektromagnetischer Felder von Mobilfunkanlagen auf Gesundheit, Leistung und Verhalten von Rindern" wurden im Auftrag des Bayerischen Staatsministeriums für Landesentwicklung und Umweltfragen in den Jahren 1998 bis 2000 umfangreiche Untersuchungen in landwirtschaftlichen Betrieben mit Rinderhaltung durchgeführt.

Das Institut für Veterinärpathologie, Fachgebiet für Veterinärmedizinische Genetik und Zytogenetik der Justus-Liebig-Universität Gießen hat dazu epidemiologische, klinische, klinisch-genetische, klinisch-hämatologische und serologische Untersuchungen durchgeführt. Vom Institut für Tierhygiene, Verhaltenskunde und Tierschutz der Tierärztlichen Fakultät der Ludwigs-Maximilians-Universität München wurden verhaltenskundliche, tierhygienische, epidemiologische und physiologische Untersuchungen vorgenommen. Die Messung der elektromagnetischen Exposition in den einzelnen Betrieben erfolgte durch die Ingenieurgemeinschaft für Geowissenschaften und Umwelttechnik, München.

### **2. Untersuchungen und Ergebnisse der drei Arbeitsgruppen**

#### **2.1 Messtechnische Ermittlung der Feldexposition**

##### **2.1.1 Einführung**

Untersuchungsgegenstand waren 38 Tierhaltungen, verteilt auf die Bundesländer Bayern und Hessen. Die Betriebe befanden sich zu etwa gleichen Teilen in unmittelbarer Nähe bzw. in sehr weiter Entfernung zu Mobilfunksendeanlagen des D- und E-Netzes. Mit dieser Auswahl sollte erreicht werden, dass die Rinderhaltungen in zwei Gruppen mit möglichst stark unterschiedlicher Feldexposition unterteilt werden können.

Nach der ersten Messkampagne, die hauptsächlich im Sommer und Herbst 1998 durchgeführt wurde, wurden aufgrund der jeweils im Stall gemessenen Felder, Einteilungen der Betriebe in Gruppen mit deutlich unterschiedlicher Exposition bezüglich der Immissionen des GSM-Mobilfunks vorgeschlagen. Zusätzlich wurden im Rahmen dieser Messungen auch die Feldstärkewerte der sonst noch vor Ort wirksamen Sender (z.B. Rundfunk und TV) festgestellt, um für jeden Hof ein Bild der "Gesamtexposition" durch hochfrequente Felder zu erhalten.

Eine in jedem Stall ebenfalls durchgeführte Überprüfung der niederfrequenten Magnetfelder ergab in keinem der 38 Betriebe ungewöhnlich hohe Werte. Eine zusätzliche Berücksichtigung der Niederfrequenzfelder im Rahmen der Studie war daher nicht notwendig.

Um die Größe der in Gebäuden immer vorhandenen räumlichen Feldstärkeschwankungen besser einschätzen zu können, wurden im Sommer 1999 bei einer zweiten Messkampagne in insgesamt acht Ställen ausführliche Homogenitätsmessungen durchgeführt. Mittels der Ergebnisse dieser Untersuchungen konnte die Zuverlässigkeit der vorgenommenen Klassifizierung der 38 Betriebe noch weiter untermauert werden.

Zur Kontrolle der zeitlichen Veränderung der Immission, wurden am Ende des tiermedizinischen Beobachtungszeitraumes (Sommer 2000) bei insgesamt 17 der 38 Betriebe Nachmessungen durchgeführt. Es wurden die Höfe nochmals besucht, bei denen wegen Neu- oder Umbaumaßnahmen der Netzbetreiber nennenswerte Veränderungen der GSM-Felder nicht ausgeschlossen werden konnten. Die Ergebnisse dieser Nachmessungen führten jedoch zu keinen so gravierenden Feldstärkeveränderungen, dass die im Rahmen der ersten Messkampagne getroffenen Gruppeneinteilungen der Höfe in Frage gestellt werden mussten. Für keinen der 38 Betriebe ergab sich die Notwendigkeit einer Umgruppierung.

## 2.1.2 Immissionsklassifizierung mit Untergruppen

### 2.1.2.1 Unterteilung der Betriebe in vier Gruppen

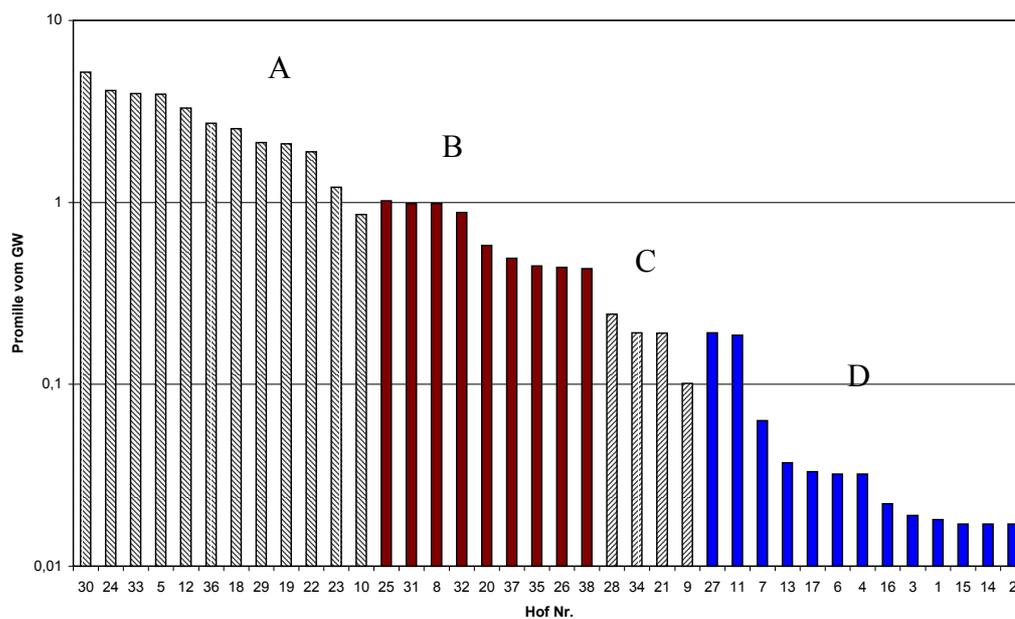
Zur Lokalisierung möglichst stark unterschiedlich exponierter Höfe und zum Zweck der Berücksichtigung anderer HF-Immissionen, die eventuell die Aussagekraft der tiermedizinischen Untersuchungsergebnisse in Frage stellen könnten, wurde eine Einteilung der 38 Betriebe in vier Expositionsgruppen (A – D) vorgeschlagen. Die Gruppeneinteilung erfolgte dabei nach folgenden Kriterien:

- Gruppe A: Summenexposition durch GSM-Felder über 0,337‰ des gesetzlichen Grenzwertes. Die GSM-Immission macht auch mehr als 50% der Gesamtmission am Messort aus.
- Gruppe B: Summenexposition durch GSM-Felder über 0,337‰. Die GSM-Immission macht jedoch weniger als 50% der Gesamtmission am Messort aus.
- Gruppe C: Summenexposition durch GSM-Felder unter 0,337‰, die Summenmission, verursacht durch andere Quellen liegt allerdings über dem Durchschnitt aus allen Messungen.
- Gruppe D: Summenexposition durch GSM-Felder unter 0,337‰, die Summenmission, verursacht durch andere Quellen liegt ebenfalls unter dem Durchschnitt aus allen Messungen.

Anmerkung: Der Wert von 0,337‰ wurde als Grenze gewählt, weil so ein relativ großer Sprung in der gemessenen GSM-Exposition zwischen dem am stärksten exponierten Hof in C und dem am schwächsten exponierten Betrieb in B entsteht und außerdem dann etwa gleich viele Höfe in Gruppe A und B beziehungsweise C und D eingeordnet werden.

Am gegensätzlichsten exponiert sind gemäß dieser Einteilung dann die Ställe von Gruppe A (12 Betriebe) und D (13 Betriebe). Diese Höfe sind somit besonders gut für vergleichende Untersuchungen geeignet, da verfälschende Ergebnisse durch Felder von anderen Funkdiensten als dem GSM-Mobilfunk besonders unwahrscheinlich sind.

Abbildung 1 zeigt die mittels der Ergebnisse der Messungen aus 1998/99 gefundene Unterteilung.



**Abb. 1:** Unterteilung der 38 Betriebe in vier Expositionsgruppen

Um die Größenordnung der gefundenen Unterschiede in der GSM-Exposition zu verdeutlichen, sind in folgender Tabelle die wichtigsten Kennwerte der am stärksten gegensätzlich exponierten Gruppen (A und D) tabellarisch dargestellt:

Kenngröße	Abkürzung	Wert
<b>Größter Wert in A</b>	<b>A<sub>max</sub></b>	<b>5,193 ‰</b>
<b>Kleinster Wert in A</b>	<b>A<sub>min</sub></b>	<b>0,857 ‰</b>
Durchschnittswert in A	A <sub>mittel</sub>	2,832 ‰
<b>Größter Wert in D</b>	<b>D<sub>max</sub></b>	<b>0,192 ‰</b>
<b>Kleinster Wert in D</b>	<b>D<sub>min</sub></b>	<b>0,017 ‰</b>
Durchschnittswert in D	D <sub>mittel</sub>	0,053 ‰
<b>Minimale Distanz zwischen A und D (Unterschiedsfaktor)</b>	<b>A<sub>min</sub> / D<sub>max</sub></b>	<b>4,46</b>
Unterschiedsfaktor der Durchschnittswerte von A und D	A <sub>mittel</sub> / D <sub>mittel</sub>	54,4

**Tab. 1:** Gruppe A und D im Vergleich

Im Durchschnitt sind also die Höfe in Gruppe A um den Faktor 54,4 stärker exponiert als die Betriebe in Gruppe D. Auch zwischen Gruppe B und D ist bezüglich der GSM-Felder ein deutlicher Immissionsunterschied feststellbar (Faktor 13,4). Allerdings sind bei Gruppe B die Felder, die durch andere Sendeanlagen erzeugt werden, größer als die vom GSM-Mobilfunk.

Bezüglich der GSM-Felder kann bei C und D nicht von einem deutlichen Unterschied gesprochen werden.

Aufgrund der im Rahmen dieser Studie im Inneren der einzelnen Ställe gefundenen und auch näher quantifizierten örtlichen Feldstärkeschwankungen, ist die vorgeschlagene Zuordnung zu einer der Gruppen immer für die ganze Herde gültig. Aus dem gleichen Grund dürfen auch nicht Betriebe, die sich in der gleichen Gruppe befinden, untereinander verglichen werden, denn die gefundenen Immissionsunterschiede zwischen manchen Höfen liegen unterhalb der durch die Feldinhomogenitäten bedingten Klassifizierungsunsicherheit (Diese ergab sich im Rahmen der Homogenitätsuntersuchungen zu ca.  $\pm 50$  %).

### **2.1.2.2 Unterteilung der Betriebe in zwei Gruppen**

Zusätzlich zur eben vorgestellten Einteilung in vier Gruppen, wurde noch eine einfache Unterteilung der 38 Rinderhaltungen in zwei Gruppen vorgeschlagen. Zur Expositionsgruppe (E) werden alle Betriebe gezählt, bei denen sich ein Summenexpositionsfaktor für GSM-Felder von mehr als 0,337‰ ergibt. Alle anderen Betriebe werden zur Kontrollgruppe (K) gezählt.

Es wird also für diese Einteilung nur die GSM-Immission berücksichtigt. Im Gegensatz zur Unterteilung in vier Gruppen, werden somit die Felder anderer Funksendeanlagen, die an einigen Höfen deutlich gegenüber den GSM-Feldern dominierten, nicht als Kofaktoren in die Klassifizierung einbezogen.

Vergleicht man diese Einteilung mit der Klassifizierung nach Kapitel 2.1 (vier Gruppen), so besteht die Gruppe E aus den Betrieben der Gruppen A und B, die Gruppe K hingegen aus den Höfen in C und D.

Tabelle 2 zeigt die wesentlichen Kenngrößen der beiden Gruppen E und K. Die Expositionsgruppe beinhaltet 21 Betriebe, für die Kontrollgruppe resultiert folglich eine Anzahl von 17 Betrieben.

Kenngroße	Abkürzung	Wert
<b>Größter Wert in E</b>	<b>E<sub>max</sub></b>	<b>5,193 ‰</b>
<b>Kleinster Wert in E</b>	<b>E<sub>min</sub></b>	<b>0,432 ‰</b>
Durchschnittswert in E	E <sub>mittel</sub>	1,916 ‰
<b>Größter Wert in K</b>	<b>K<sub>max</sub></b>	<b>0,243 ‰</b>
<b>Kleinster Wert in K</b>	<b>K<sub>min</sub></b>	<b>0,017 ‰</b>
Durchschnittswert in K	K <sub>mittel</sub>	0,083 ‰
<b>Minimale Distanz zwischen E und K (Unterschiedsfaktor)</b>	<b>E<sub>min</sub> / K<sub>max</sub></b>	<b>1,78</b>
Unterschiedsfaktor der Durchschnittswerte von E und K	E <sub>mittel</sub> / K <sub>mittel</sub>	23,1

**Tab. 2:** Expositions- (E) und Kontrollgruppe (K) im Vergleich.

Man erkennt deutlich die wesentlich gegensätzlichere Exposition der Gruppen A und D im Vergleich zur Einteilung in zwei Gruppen E und K.

### 2.1.3 Zusammenfassung der messtechnischen Ermittlungen der Feldexposition

Zusammenfassend ist festzustellen, dass mittels der in den Jahren 1998 bis 2000 durchgeführten Feldstärkemessungen eine Klassifizierung der 38 Betriebe in Gruppen mit deutlich unterschiedlicher GSM-Exposition reproduzierbar vorgenommen werden konnte. Zusätzlich durchgeführte Homogenitätsmessungen und Kontrollerhebungen am Ende des tiermedizinischen Beobachtungszeitraumes untermauerten die Zuverlässigkeit und die zeitliche Konsistenz der getroffenen Gruppeneinteilungen.

## 2.2 Klinisch-genetische, hämatologische, chemische und epidemiologische Untersuchungen

### 2.2.1 Datenbasis und Untersuchungsziel

Auf Grund des Auftretens von auffälligen Krankheitsbildern, Aborten, Missbildungen, auffälligen Verhaltensweisen und Leistungsrückgängen bei Milchkühen in zeitlicher Koinzidenz mit der Installation von Mobilfunksendeeinrichtungen an zahlreichen Standorten in Bayern und Hessen wurden klinische, tierhygienische, genetische, ethologische, epidemiologische und physiologische Untersuchungen durchgeführt.

Ziel der Studie war, mögliche Einflüsse von Hochfrequenzfeldern des Mobilfunks (GSM) auf Parameter zu untersuchen, die Hinweise auf den Gesundheitszustand der berücksichtigten Tiere geben können.

Die 38 Betriebe, die an der Studie teilnahmen, wurden zu etwa gleichen Teilen von den Mobilfunkunternehmen, vom Bayerischen Umweltministerium und von Haustierärzten benannt. In den Betrieben befanden sich während der Dauer der Studie etwa 1000 Milchkühe. Die Münchner Arbeitsgruppe reduzierte die Betriebszahl auf 30 (nur Anbindehaltung), da für die verhaltenskundlichen und physiologischen Untersuchungen möglichst einheitliche Haltungsbedingungen vorherrschen mussten.

Die Betriebe wurden nach Qualität und Quantität ihrer Hochfrequenzfeldbeaufschlagung, die von der Ingenieurgesellschaft für Geowissenschaften und Umwelttechnik München (wie in 2.1) ermittelt wurden, in vier Gruppen eingeteilt (Gruppe A = Überdurchschnittlich GSM, die auch >50% der Gesamtexposition ausmacht; Gruppe B = Überdurchschnittlich GSM, die <50% der Gesamtexposition ausmacht, Gruppe C = unterdurchschnittlich GSM, überdurchschnittliche UKW/TV-Exposition, Gruppe D= Kontrollgruppe ohne nennenswerte Feldbeaufschlagung).

Die Erhebungen zu allgemeinen Betriebsdaten, zur Milchleistung, Fruchtbarkeit, Krankheiten und besonderen Ereignissen wurden zum einen per Fragebogen, zum anderen vor Ort durchgeführt.

In den Betrieben wurden nach epidemiologischen Grundsätzen die 138 Probanden (1-14 Tiere pro Betrieb, in der Regel 3-5) ausgewählt. Die Auswahl wurde unter den Tieren vorgenommen, die mit hoher Wahrscheinlichkeit während der Versuchsdauer im Betrieb verbleiben würden, also nicht an den Krankheiten litten, die zu den häufigsten Abgangsursachen von Milchkühen gehören (Sterilität, Euter- und Klauenkrankheiten) und war ansonsten zufällig. Von diesen Probanden wurden Blut- und Kotproben entnommen. Drei Gruppen von Parametern, bzw. deren Messwerte wurden erhoben. Erstens solche, die zum allgemeinen klinischen Repertoire gehören und diagnostisch von Bedeutung sein können (Enzyme, Substrate, Mengen und- Spurenelemente; 15 Parameter). Zweitens solche, die geeignet erscheinen, Auskunft über die immunologische Situation der Tiere zu geben (Großes Blutbild, Serumeiweißfraktionen; 16 Parameter). Schließlich Parameter, die eventuelle genotoxische (erbgutschädigende) Wirkung anzeigen können (Häufigkeit von Mikronuklei, Häufigkeit von Schwesterchromatidaustauschen und Zellteilungsgeschwindigkeit). Zusätzlich wurden serologische und parasitologische Untersuchungen durchgeführt.

Die bei den Probanden erhobenen Untersuchungsdaten wurden einer statistischen Analyse unterworfen. Dabei wurde ein Verfahren angewendet, das als Streuungszerlegung bezeichnet wird.

Dieses Verfahren prüft, ob auffällige Abweichungen von erhobenen Messwerten mit vorgegebenen Einflussfaktoren zu tun haben können. Als mögliche Einflussfaktoren wurden das Alter der Tiere, ihre Rasse, ihre Zugehörigkeit in eine der Expositionsgruppen, sowie das Auftreten der verbreiteten Viruserkrankung BVD (Bovine Virusdiarrhoe) im einzelnen Betrieb berücksichtigt.

Liegen erhebliche, das heißt nicht rein zufällige, im statistischen Sinne signifikante Unterschiede zwischen den Messwerten zweier Gruppen (Expositionsgruppen, Erkrankungsgruppen, Rassegruppen etc.) vor, so bedeutet dies, dass ein Einfluss des entsprechenden Faktors nicht ausgeschlossen werden kann. Gemäß statistischer Konventionen wird ein Unterschied als signifikant angesehen, wenn seine Sicherheit 95% beträgt. Dies wird mit der Maßzahl  $p$  kleiner als 0,05 ( $p < 0,05$ ) gekennzeichnet, ist  $p > 0,05$  so wird der Unterschied als nicht signifikant bezeichnet.

## **2.2.2. Untersuchungsergebnisse mit weiteren Untergruppen**

### **2.2.2.1 Charakterisierung der Untersuchungsbetriebe**

Insgesamt lebten während der Studie etwa 1000 Milchkühe in den Betrieben. Die Bestandsgröße liegt im Mittel bei  $26 \pm 17$  Milchkühen und schwankt zwischen 1 und 80 Tieren. Damit liegt die Bestandsgröße der Versuchsbetriebe nahe beim Mittelwert aller deutschen Milchviehbetriebe (28 Tiere) und leicht über den Mittelwerten der Kuhzahlen hessischer und bayerischer Betriebe, die in Deutschland die geringsten mittleren Bestandsgrößen (19 Tiere) aufweisen.

Die Anzahl der Rinder (weibliche Nachzucht) in den Betrieben liegt zwischen 1 und 110 Tieren, im Mittel  $36 \pm 27$  Tiere. Die untersuchten Tiere gehören folgenden Rinderrassen an: Deutsche Schwarzbunte, Deutsche Rotbunte, Deutsches Fleckvieh, Braunvieh (Brown Swiss), Rotes Höhenvieh, Blonde d'Aquitaine, Jersey sowie Gebrauchskreuzungen der Rassen. Insgesamt finden sich 19 Betriebe mit Fleckvieh, 8 Betriebe mit Rotbunt, 3 Betriebe mit Braunvieh, 2 Betriebe mit Schwarzbunt und 6 Betriebe mit verschiedenen Rassen. Hierbei finden sich Betriebe mit Rotbunten und Schwarzbunten ausschließlich in Hessen, Braunvieh ausschließlich in Bayern. Fleckvieh ist sowohl in Hessen als auch in Bayern vertreten.

Im Bereich der Daten um das Reproduktionsgeschehen in den Betrieben offenbaren sich erhebliche Managementmängel. Viele Daten, die die Fruchtbarkeitssituation charakterisieren, konnten hier insbesondere in den Betrieben, die nicht an der Leistungsprüfung teilnehmen, nicht eruiert werden.

Das Erstbesamungsalter (EBA) liegt abhängig von der Rasse der Milchkühe und Gewohnheit der Landwirte zwischen 15 und 26 Monate, im Mittel bei  $20 \pm 2,6$  Monaten. Stillbrünstigkeit ist ein Problem in 68% der Betriebe. Umrindern kommt in 60% der Betriebe mit unterschiedlicher Frequenz vor. Nur in 10% gibt es nach Angaben der Besitzer kein nennenswertes Umrindern. 30% machten keine auswertbaren Angaben. Die daraus resultierenden Besamungsindices, d.h. die Anzahl der zur

Trächtigkeit führenden notwendigen Besamungen, liegen zwischen 1,2 und 3,3, im Mittel bei  $1,6 \pm 0,6$  Besamungen pro Trächtigkeit. Hierbei liegen die Probandengruppen A, B und C mit Besamungsindices von 1,4, 1,3 und 1,6 leicht besser als die Kontrollgruppe D mit 1,7. Die Rastzeit (Zeit von der Kalbung bis zur Erstbesamung) liegt zwischen 42 und 120 Tagen, im Mittel bei  $64 \pm 17$  Tagen, entsprechend finden sich Zwischentragezeiten (Zeit von der Kalbung bis zur folgenden Konzeption) von 70 bis mehr als 120 Tagen (Mittel  $93 \pm 13$  Tage).

#### **2.2.2.2 Bovine Virusdiarrhoe / Mucosal Disease (BVD/MD) als studienrelevante Infektionskrankheit**

Von herausragender Bedeutung im Krankheitsgeschehen der Betriebe dieser Studie ist die Bovine Virusdiarrhoe - Mucosal Disease, (BVD/MD). Zur Untersuchung der BVD-Situation in den Betrieben wurden zunächst Blutseren von 150 Tieren auf Antikörper (AK) gegen BVD untersucht, zusätzlich erfolgte ein Antigennachweis bei erkrankten Tieren, missgebildeten Kälbern oder auch abortierten Feten, bei einigen Betrieben konnte auch auf diesbezügliche Untersuchungsergebnisse von staatlichen Untersuchungsstellen zurückgegriffen werden, die im Zeitrahmen der Studie erhoben wurden.

#### **2.2.2.3 Missbildungen**

Im Untersuchungszeitraum wurden in 15 von 38 Betrieben 49 missgebildete Kälber geboren.

Die erhobene Missbildungsfrequenz beträgt 3,3% und liegt damit über der Normalfrequenz von etwa 0,2 - 1,0% in der Milchviehzucht. Die Verteilung der Befunde weist auf Grund der hohen Rate von Augen- und Gliedmaßenanomalien auf eine Beteiligung von BVD-Virus im Krankheitsgeschehen hin.

Die epidemiologische Auswertung ergab, dass das Risiko der Geburt eines missgebildeten Kalbes in einem BVD-Betrieb 8fach höher ist als in einem Nicht-BVD-Betrieb. Im Vergleich zum Fleckvieh liegen die Risiken für die Geburt von missgebildeten Kälbern in den Rassen Rotbunt, Schwarzbunt und Braunvieh um das 6 – 3fache niedriger.

Diese Daten können auf verschiedene Weise ausgewertet werden; hierbei liegt die Bedeutung der Expositionsgruppe jeweils nahe der Signifikanzgrenze. Ein Einfluss der Befelderung kann daher zur Zeit noch nicht ganz ausgeschlossen, aber auch nicht definitiv gezeigt werden.

#### **2.2.2.4 Klinisch-genetische Parameter**

In der Studie wurden drei Klinisch-genetische Parameter, die als Standardparameter erbgutschädigende Effekte von Noxen aufzeigen können untersucht. Es sind dies Mikronuklei in

Erythrozyten, Schwesterchromatidaustausche bei Metaphasenchromosomen und die Metaphasenkinetik der Blutlymphozyten.

Die statistische Analyse der Daten gibt keine Hinweise auf signifikante Unterschiede zwischen den Expositionsgruppen, Rassen, BVD-Betrieben und Nicht-BVD-Betrieben hinsichtlich der Mikronukleifrequenz.

Die am häufigsten zur Feststellung der Schädigung von Zellen und Erbmaterial eingesetzten Tests sind Untersuchungen von Schwesterchromatidaustauschen (SCE). Im Detail sind SCE Austausche von Schwesterchromatidsegmenten in einem Chromosom, die als Maß für stattgehabte Reparaturereignisse gezählt werden können. Je höher dieser Wert im Vergleich zu einer Kontrollgruppe liegt, desto eher liegt eine erbgutschädigende Wirkung vor.

Insgesamt wurden von 110 Tieren aus den Kulturen der mononukleären Blutzellen 1446 Metaphasen der Phase 2 analysiert. Diese wiesen im Mittel  $7,70 \pm 2,77$  Schwesterchromatidaustausche auf. Die statistische Analyse ergab, daß die Einflußfaktoren Expositionsgruppe und BVD-Erkrankung signifikanten Einfluß auf die SCE-Frequenz haben ( $p < 0,001$ ). Die Mittelwerte sind in Tabelle 3 angegeben.

Bei der Betrachtung der Expositionsgruppen unterscheiden sich jedoch nicht alle Gruppen signifikant.. Der Vergleich von Gruppe A und D befindet sich an der Grenze des Signifikanzniveaus ( $p = 0,05$ ), das heißt, eine eindeutige Aussage ist auch hier nicht möglich. Gegen einen Einfluss der Hochfrequenzbelastung auf die SCE-Häufigkeiten spricht, dass in der Gruppe B eine erheblich geringere SCE-Frequenz vorliegt (siehe Tab. 3), obwohl diese Gruppe ebenfalls eine überdurchschnittliche GSM-Feldbeaufschlagung aufweist. So kann zwar ein Einfluss von GSM auf die SCE-Frequenz nicht völlig ausgeschlossen werden, maßgeblich ist jedoch die Viruserkrankung BVD für die beobachteten Unterschiede verantwortlich.

Klastogene Agentien haben oft auch einen Einfluss auf die Zellteilungsgeschwindigkeit, wobei zur Analyse der Metaphasenkinetik die differentielle Schwesterchromatidfärbung hervorragend geeignet ist. Im Rahmen der Untersuchung der Metaphasenkinetik (MPK) in den angelegten Zellkulturen wurden Blutproben von 115 Tieren ausgewertet. Insgesamt wurden 11048 Metaphasen von sich teilenden Blutlymphozyten untersucht und nach ihrem Status in die Klassen M1, M2 und M3 (1., 2. und dritte Zellteilung) eingeteilt. Pro Tier wurden zwischen 46 und 154 Metaphasen ausgewertet.

In den Gruppen A und B gibt es bei annähernd gleichem Mittelwert und gleicher Standardabweichung eine Verschiebung der Anteile M2 und M3 zugunsten von M1, während in der Gruppe C eine Annäherung an die Kontrollgruppe D zu beobachten ist (siehe Tab. 3). Die Unterschiede sind statistisch absicherbar (A:D  $p < 0,001$ ; B:D  $p < 0,001$ ; C:D  $p < 0,042$ ). Ebenfalls von Bedeutung sind die Einflüsse von BVD auf die Metaphasenkinetik ( $p = 0,003$ ). Ähnlich wie bei den SCE-Frequenzen können die

Gruppenunterschiede nicht eindeutig einer Hochfrequenzbeaufschlagung durch GSM zugeordnet werden, da sich die Gruppe C ebenfalls signifikant von D unterscheidet, A und B jedoch nicht von C.

Bei der Untersuchung der genotoxischen Parameter ergibt sich insgesamt, dass es keine Anzeichen für klastogene Effekte auf die Mikronukleifrequenz in den Expositionsgruppen gibt. Auf der SCE-Ebene kann ein Einfluß der GSM-Befeldung nicht eindeutig gezeigt, aber auch zur Zeit nicht ganz ausgeschlossen werden. Anhand der Untersuchungen zur Metaphasenkinetik war zu ermitteln, dass die Blutlymphozyten von Tieren aus den Expositionsgruppen A, B und C ein geringeres proliferatives Potential aufweisen, als solche aus der Kontrollgruppe D. Auch hier ist eine klare Trennung von möglichem GSM-Einfluß und BVD-Effekt nicht möglich.

Tabelle 3: Übersicht über Mittelwerte von SCE (Schwesterchromatidaustausche) und MPK (Zellteilungsgeschwindigkeit) in verschiedenen Gruppen

Messgröße	Einflussfaktoren					
	BVD		Expositionsgruppe			
	-	+	A	B	C	D
SCE (abs.) Mittel	6,8	9,6	9,1	7,2	8,2	8,4
Standardfehler	0,2	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3
N	79	35	35	26	10	35
MPK(%) Mittel	31,8	39,8	39,4	38,2	30,6	25,5
Standardfehler	1,3	2,8	2,2	2,7	2,6	1,1
N	78	27	33	28	11	33

### **2.2.2.5 Klinisch-Hämatologische Parameter**

Die absolute Lymphozytenzahl im Blut bei Tieren aus den Expositionsgruppen ist geringer als bei Tieren aus der Kontrollgruppe. Diese Unterschiede lassen sich statistisch jedoch nicht absichern, einzig ist hier das Alter der Probanden von statistisch absicherbarer Bedeutung ( $p < 0,001$ ) für den Parameter. Ebenfalls sind die Gehalte an alpha-Globulinen im Blut bei den Tieren aus den Expositionsgruppen geringer als jene der Kontrolltiere. Rasseneinflüsse machen hier jedoch eine endgültige Bewertung unmöglich. In der statistischen Überprüfung ist der BVD-Einfluß auf Lymphozytenanteil und alpha-Globuline signifikant ( $p = 0,041$ , bzw.  $0,035$ )

Bei allen anderen Parametern konnten keine Auffälligkeiten beobachtet werden.

### **2.2.3 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen des Abschnittes 2.2**

**Die vorliegende Studie zeigt, dass der wesentliche Faktor für Missbildungen und auffällige Befunde bei anderen Parametern, vor allem im Bereich der Genotoxizität, in der Präsenz des BVD-Virus zu sehen ist. Bei einigen der erhobenen Messwerte lassen sich mögliche Einflüsse der GSM-Befelderung, die die spezifischen Auswirkungen der BVD begünstigen oder verstärken könnten, nicht ganz ausschließen. Zur weiteren Abklärung wird empfohlen, Folgestudien durchzuführen, die die Erarbeitung eines Datenmaterials ermöglichen, das den (im epidemiologischen Sinn) Störfaktor BVD ausschließt.**

## **2.3 Verhalten und Labortests**

### **2.3.1 Datenbasis und Untersuchungsziel**

Von der Münchener Arbeitsgruppe wurde zunächst ein umfassendes tierhygienisches Untersuchungsprogramm durchgeführt, um soweit wie möglich stalltypische und haltungsspezifische Einflussfaktoren zu erfassen und gegebenenfalls gegenüber der eigentlichen Fragestellung des Projektes abgrenzen zu können. Dabei zeigte sich, dass die festgestellten Haltungsbedingungen insgesamt als mäßig bezeichnet werden müssen. Wichtig für die weiteren Aussagen erscheint die Feststellung, dass auf diesem relativ niedrigen Niveau die Gruppen A und D etwa gleichwertig waren, während die Betriebe der Gruppen B und C noch etwas schlechter abschnitten.

Das eigentliche Untersuchungsprogramm der Münchener Arbeitsgruppe bestand aus verhaltensphysiologischen Untersuchungen mit Erfassen des Normalverhaltens und möglicher Verhaltensanomalien, zusätzlichen Belastungsparametern in Form eines ACTH-Stimulationstestes mit Kortisol-Bestimmung, um mögliche stärkere Belastungen verifizieren zu können, sowie

stichprobenartigen Ermittlungen der Melatoninrhythmiik wegen möglicher in der Literatur beschriebener entsprechender Reaktionen.

Zur Standardisierung der Versuchsbedingungen wurden alle Betriebe mit Anbindehaltung untersucht (n=30) und Betriebe mit Laufstallhaltung nicht berücksichtigt. Da 8 der 30 untersuchten Betriebe die Kühe von April/Mai bis Oktober/November tagsüber zwischen den Melkzeiten auf der Weide hielten, wurden die Untersuchungen bei diesen Betrieben auch auf den Weidebereich ausgedehnt. Das Verhalten der Kühe im Stall wurde mittels Videokamera ermittelt, wobei ein Verhaltensprofil über 24 Stunden erstellt werden konnte.

Nähere Informationen über die Betriebe, die darin gehaltenen Tiere und über das Management gehen aus dem Abschnitt 2.2.1 hervor.

## **2.3.2 Untersuchungsergebnisse**

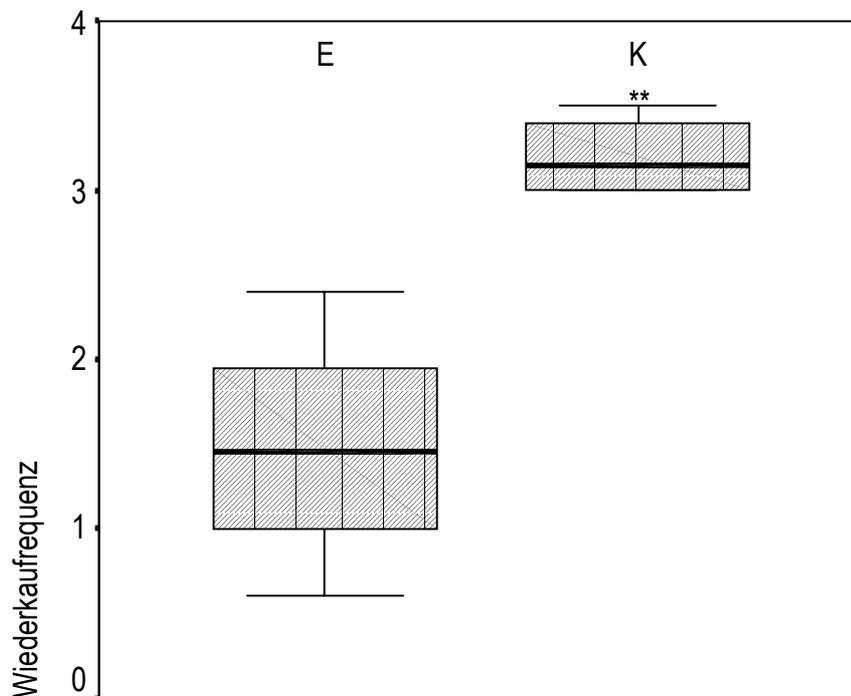
### **2.3.2.1 Verhalten**

Das Verhalten ist ein sensibler Parameter zur Feststellung der Reaktionen von Tieren auf ihre Haltungsumwelt, und es lässt oft bereits vor dem Auftreten von organischen Veränderungen Anpassungsbemühungen des Organismus erkennen. Die Interpretation derartiger Reaktionen wird allerdings problematisch, wenn sie möglicherweise auf mehrere gravierende Einflussfaktoren zurückzuführen sind. Dazu gehören auch die im Abschnitt 2.2.1 angesprochenen Managementmängel, die zu auffälligen Verhaltensweisen – zunächst unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit – in mindestens 22 Betrieben führten. So gibt es eine Reihe von Hinweisen auf Unruhe und erhöhte Erregungszustände wie Fußscharren, Futterwerfen, von der üblichen Norm abweichende Kopfhaltungen, pferdeartiges Aufstehen, Futteraufnahme im Karpalstütz und anderes.

Die Tendenz eines Unterschiedes im Verhalten der Tiere der Gruppen A und D zeigte sich dagegen im nächtlichen Liegeverhalten. So lagen die Kühe der Gruppe A insbesondere bei mittellangen, d. h. 10 – 60 Minuten dauernden Liegephasen weniger als die Tiere der Vergleichsgruppe D. Dieser Befund lässt darauf schließen, dass die Kühe möglicherweise das Aufstehen und Niederlegen vermeiden möchten. Der Befund an der Grenze des Signifikanzniveaus sollte jedoch nicht überbewertet werden. Aus diesem Grund werden auch weitere nur tendenzielle Abweichungen des Verhaltens in Abhängigkeit von der Gruppenzugehörigkeit in dieser Kurzfassung nicht erörtert.

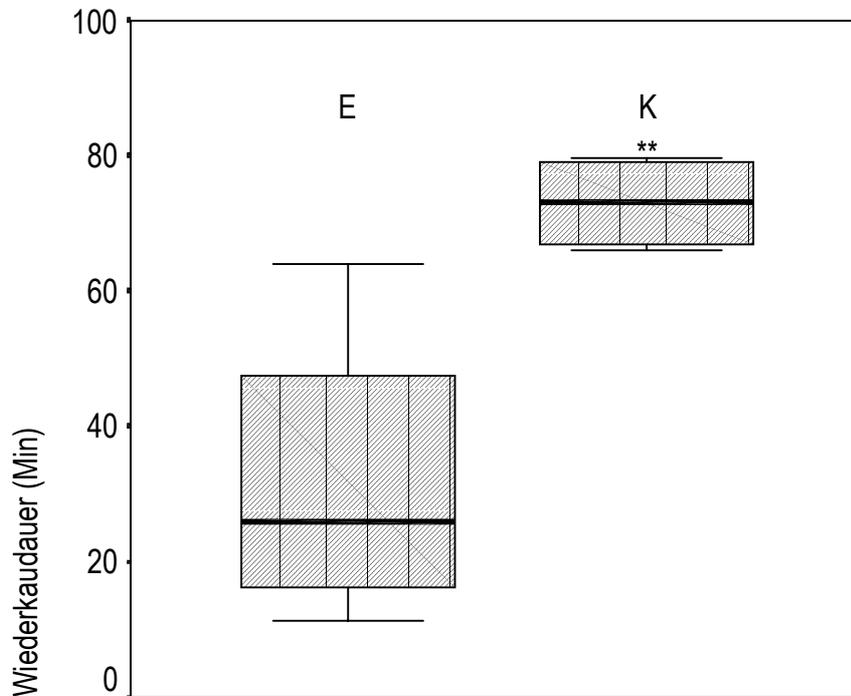
Ein recht deutlicher Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen ergab sich hinsichtlich der Wiederkaudauer auf der Weide. Das Wiederkauen tritt in regelmäßigen Phasen während der Ruheperioden auf. Es handelt sich dabei um einen wichtigen verdauungsphysiologischen Vorgang, so dass Unterschiede in der Häufigkeit oder gar ein Ausbleiben als deutlicher Hinweis auf eine Störung zu

werten sind. Auf biometrischen Rat wurden Tiere der Gruppen A und B sowie C und D zusammengefasst, da nur insgesamt 8 Betriebe eine Weidehaltung hatten. Wie die nachfolgenden Abbildungen über die Wiederkaufrequenz (Anzahl der Wiederkauphasen während des Weideaufenthaltes) und die Wiederkaudauer erkennen lassen, waren beide wichtigen physiologischen Vorgänge in den Gruppen A und B verglichen mit C und D hochsignifikant seltener und hochsignifikant kürzer. Eine Erklärung möglicher kausaler Zusammenhänge ist nicht möglich, aber dieser Befund über Wiederkaufrequenz und Wiederkaudauer ist neben einer Reihe von Tendenzen der einzige deutliche verhaltensphysiologische Aspekt.



**Abb. 2\*:** Wiederkaufrequenz [ $6h^{-1}$ ] in den Gruppen E (n=4) und K (n=4) (\*\* $p \leq 0,01$ ) während der Weidezeit

\* Verteilung der Messwerte in den Gruppen mit Box-Plot-Darstellung: Der dicke Balken im schraffierten Bereich (Box) ist der Median, d. h. je 50% der Fälle haben höhere bzw. niedrigere Werte. Der obere bzw. untere Rand der Box halbiert die obere bzw. untere Hälfte der Stichprobe. Die dünnen waagerechten Striche zeigen die höchsten bzw. niedrigsten Werte.



**Abb. 3\*:** Wiederkaudauer in den Gruppen E(n=4) und K (n=4) (\*\* $p \leq 0,01$ ) während der Weidezeit

### 2.3.2.2 ACTH-Stimulationstest

Mit Hilfe dieses Testes sollte geklärt werden, ob sich chronische Belastungen erfassen lassen, die den einzelnen Gruppen zugeordnet werden können. Es stellte sich heraus, dass es auch hier Anzeichen für chronische Belastungen gibt, ohne dass eine eindeutige Zuordnung möglich ist. Selbstverständlich besteht kein Zweifel, dass der mehrfach erwähnte allgemeine Zustand der Tiere in den nicht von den Arbeitsgruppen ausgewählten landwirtschaftlichen Betrieben zwangsläufig zu Belastungsreaktionen führen muß, die mögliche Gruppeneffekte deutlich überlagern.

### 2.3.2.3 Melatonin

Die Problematik von Feldversuchen in Verbindung mit prinzipiell exakten Untersuchungsverfahren zeigt sich auch bei der Überprüfung der Hypothese, dass elektromagnetische Felder zu einer Suppression des zirkulierenden Melatonins bei Nacht führen. Das Melatonin wurde in den 30 Betrieben bei jeweils 5 Tieren, die nach dem Zufallsprinzip ausgewählt wurden, in Speichelproben bestimmt. Dabei wurde die erste Probe um 12<sup>00</sup> Uhr Mittags entnommen, die weiteren Entnahmen erfolgten um 18<sup>00</sup>, 20<sup>00</sup> und 22<sup>00</sup> Uhr mit einer letzten Probe am dritten Tag um 6<sup>00</sup> Uhr. Zur Zeit der Speichelprobenentnahme wurde auch eine Lichtmessung mittels eines Luxmeters durchgeführt. Die nächtlichen Proben wurden nur mit Hilfe einer Taschenlampe entnommen, um Fehler in der Bestimmung der Melatoninrhythmik durch nächtliches Einschalten der Beleuchtung zu vermeiden.

Die gemessenen Melatoninkonzentrationen zeigen, entsprechend anderer Untersuchungsergebnisse, eine ausgeprägte Streuung zwischen den einzelnen Individuen mit einer guten individuellen Reproduzierbarkeit. Diese hohe Streuung kann zum einen durch die pulsatile Freisetzung von Melatonin bedingt sein. Daneben unterliegt die physiologische Melatoninrhythmik aber dem Umweltfaktor Licht sowie auch sozialen Faktoren wie der Nahrungsaufnahme, dem Alter, evtl. der Rasse, der individuellen Stresstoleranz und der Stoffwechsellage.

Insbesondere Licht hat einen entscheidenden Einfluss auf die Melatoninrhythmik. Dabei ist die individuelle Beleuchtung am Standplatz im Stall sowie die Licht- und Wetterverhältnisse (Jahreszeit und Bewölkung) entscheidend. So kann bei genügend hoher nächtlicher Lichtstärke die Melatoninproduktion vollständig unterdrückt werden. Dies konnte in den eigenen Untersuchungen ausgeschlossen werden, da nur bei einer Lichtstärke von maximal 8 Lux die nächtlichen Proben genommen wurden. Zum Messzeitpunkt bei den stallhygienischen Untersuchungen kann eine durchschnittliche Tageslichtmenge von 182 Lux (Min.: 3 Lux; Max.: 800 Lux) bestimmt werden. Zum Zeitpunkt der Probenahmen wurde ebenfalls die Lichtintensität gemessen. Hohe Abweichungen zwischen den Gruppen zeigen, welchen unterschiedlichsten Lichteinflüssen die Einzeltiere zu den jeweiligen Probenahmen ausgesetzt waren. Diese nicht standardisierbaren Lichteinflüsse könnten einen möglichen Effekt der elektromagnetischer Felder durchaus überschreiben. Statistisch konnte keine negative Korrelation zwischen den entsprechenden Lichtintensitäten zum Zeitpunkt der Probenahme und den einzelnen Melatoninkonzentrationen errechnet werden. Inwieweit individuelle Sensitivitäten bezüglich des Lichteinflusses eine Rolle spielen, bleibt ungeklärt.

Der Einfluss der Fütterung wird an den 18:00 Uhr-Werten deutlich. Bei der Auswertung der Proben ergaben sich Einzelwerte von bis zu 2600 pg Melatonin/ml Speichel. Diese Werte kamen auch bei wiederholter Verdünnung und Nachmessungen nicht in den Messbereich des verwendeten Radio-Immuno-Assays (1-320 pg/ml) und liegen weit über dem durchschnittlichen Melatoninniveau des Rindes. Hier führen Futterreste im Maul der Tiere zu einer Verunreinigung des Speichels und damit vermutlich zu Kreuzreaktionen im Assay.

Entgegen der Angaben in der Literatur sind die nächtlichen Melatoninmittelwerte der exponierten Gruppe (GSM-Belastung > Ensemblemittelwert; n Tiere=150) *höher* als die der Kontrollgruppe (n Tiere=150). Im Gruppenvergleich der Summenbelastung fallen einzig die 20:00 Uhr-Werte der Gruppe A signifikant ( $p < 0,05$ ) höher als die der übrigen Gruppen aus. Auch dies bestätigt nicht die in der Literatur vorherrschende Hypothese der Suppression des nächtlichen zirkulierenden Melatonins durch elektromagnetische Felder.

Insgesamt lässt sich feststellen, dass die Messung der Melatoninkonzentration kein geeigneter Parameter im Rahmen eines Feldversuches zur Überprüfung des Einflusses elektromagnetischer Felder ist. Insbesondere die extrem unterschiedlichen Beleuchtungsbedingungen in den verschiedenen Ställen, die naturgemäß nicht standardisierbar waren, sowie der nicht zu vermeidende Fütterungseinfluss bewirken die doch sehr hohen Streuungen der Werte zwischen den Individuen.

Insgesamt sprechen die Ergebnisse nicht für einen Einfluß elektromagnetischer Felder im Sinne einer Suppression der nächtlichen Melatoninwerte. Die signifikant hohen 20<sup>00</sup> Uhr Melatoninwerte in Gruppe A sind als solche nicht erklärbar, haben aber unter tiermedizinischen Gesichtspunkten keine bekannten negativen gesundheitlichen Konsequenzen für die Tiere. Es wird empfohlen in weitergehenden Untersuchungen die Umgebungsbedingungen, insbesondere die Lichtqualitäten und Lichtintensitäten zu standardisieren, um einen möglichen Effekt elektromagnetischer Felder auf die Melatoninkonzentration von Rindern zu erkennen.

### **2.3.3 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen des Abschnittes 2.3**

**Das als Feldversuch angelegte Konzept hat sich als nicht sehr günstig für exakte verhaltensphysiologische Untersuchungen erwiesen. Dazu tragen vor allem die Einflüsse des Managements und der darauf zurückzuführende allgemeine Zustand der Tiere bei. Zu den Ergebnissen, die als Einflüsse elektromagnetischer Felder mit entsprechender Vorsicht gewertet werden können, gehören die hochsignifikanten Unterschiede in Wiederkaudauer und Wiederkaufrequenz auf der Weide zwischen den Gruppen A und B (=E) einerseits sowie C und D (=K) andererseits. Ein weiterer signifikanter Unterschied besteht hinsichtlich der Melatoninkonzentration um 20<sup>00</sup> Uhr zwischen der Gruppe A und den übrigen Gruppen. Hinweise auf eine Melatoninsuppression liegen damit nicht vor.**

### **Schlussfolgerung**

**Insgesamt zeigen die vorgelegten Ergebnisse, dass Feldversuche in landwirtschaftlichen Betrieben, die man sicherlich auch sorgfältiger hätte aussuchen können, kein geeignetes Mittel sind, um den Einfluss elektromagnetischer Felder von Mobilfunkanlagen auf die Gesundheit von Rindern mit ausreichender Sicherheit zu belegen oder zu widerlegen. Einige der beobachteten Reaktionen sollten jedoch nicht zu dem voreiligen Schluss verleiten, schädigende Wirkungen seien völlig ausgeschlossen. Es ist deshalb zu empfehlen, diesen Phänomenen eine weitere wissenschaftliche und politische Beachtung zu schenken.**

## VII. Literaturverzeichnis

### 1. Literaturverzeichnis Giessener Arbeitsgruppe

- ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. (1996) Immunologie, Verlag Hans Huber, Bern
- ABEL, G.; GEBHARD, E. (1980) Möglichkeiten des Einsatzes der BUDR-Markierung zur Kontrolle der Proliferationskinetik asynchroner Lymphozytenkulturen bei Mutagenitätsuntersuchungen. Ges. Umwelt- und Mutationsforschung e.V., SCE-Workshop 6.-10 Oktober 1980 in Basel. Abstracts 16.
- ABRAMSSON-ZETTERBERG, L., GRAWE, J., ZETTERBERG, G. (1997) Spontaneous and radiation-induced micronuclei in erythrocytes from four species of wild rodents: a comparison with CBA mice. Mutation research, 393, 55-71
- ADEY, W.R. (1988) Cell membranes: the electromagnetic environment and cancer promotion. Neurochem Res. 13, 671-677
- ADEY, W.R. UND BYUS (1988) Aus: Katalyse e.V. (1997)
- ALGERS, B., HENNICH, K. (1985) The effect of exposure to 400 KV transmission lines on the fertility of cows. A retrospective cohort study. Preventive Veterinary Medicine, 3, 351-361
- ALKAN, F.; BURGU, I. (1993) Investigation on the incidence of Bovine Viral Diarrhea virus in calves born with encephalopathy in Turkey. DTW 108, 107-109
- ALKAN, F. ET AL. (2000) Virological and serological studies on the role of PI-3-Virus, BRSV, BVDV and BHV-1 on respiratory infections in cattle. Dtsch.tierärztl.Wschr. 107, 173-212
- ALMASSY, Z., KREPINSKY, A., BIANCO, A. et.al. (1987) The present state and perspectives of micronucleus assay in radiation protection. A review. Appl. Radiat. Isot. Vol.38, No.4, 241-249 / Int. J. Radiat. Appl. Instrum. Part A
- AMSTUTZ, H., MILLER, D. (1980) A study of cattle near 765 kV transmission lines. American Electric Power Service Corp, North Liberty, IN, 32pp// Bovine Pract. 15-51
- ANGELL, R., SCHOTT, M., RALEIGH, R., BRACKEN, T. (1990) Effects of a high-voltage direct-current transmission line on beef cattle production. Bioelectromagnetics, 11, 273-282
- ANTONOPULOS, A.; OBE, G. (1997) Der Einfluß von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern auf den Zellzyklus und auf die Frequenz von Schwesterchromatidaustauschen: Analysen an menschlichen Lymphozyten in Kultur. In: BRINKMANN, G.; FRIEDRICH, G.: Elektromagnetische Verträglichkeit biologischer Systeme, 5, 156-172
- ANWAR, W., KHALIL, M., et.al. (1994) Micronuclei, chromosomal aberrations and aflatoxin-albumin adducts in experimental animals after exposure to aflatoxin B1. Mutation Research 322, 61-67

- ARMSTRONG, M.J., GALLOWAY, S.M. (1993) Micronuclei induced in peripheral blood of E $\mu$ -PIM-1 transgenic mice by chronic oral treatment with 2-acetylaminofluorene or benzene but not with diethylnitrosamine or 1,2-dichloroethane. *Mutation Research* 302, 61-70
- ASANO, N., HAGIWARA, T. (1991) Aus: Watanabe, Kaji, Takagi et.al. (1993)
- ASSMUS, G. (1995) Buiatrik, M. & H. Schaper, Hannover
- AULA, P. (1965) Virus-associated chromosome breakage. *Annales Acad.Scient.Fennicae A IV*, 89
- AXTHELM, M.K.; LEIPOLD, H.W.; JAYASEKARA, U.M.; PHILLIPS, R.M. (1981) Congenital microhydranencephalus in cattle. *Cornell Vet.* 71 (2), 164-174
- BAK,A.; CALLESEN, H.; MEYLING, A.; GREVE, T.(1992) Calves born after embryotransfer from donors persistently infected with BVD virus. *Vet.Rec.*131, 37
- BALODE, Z. (1996) Assessment of radio-frequency electromagnetic radiation by the micronucleus test in bovine peripheral erythrocytes. *The Science of the Total Environment* 180, 81-85
- BARRETT, J.F. et.al. (1981) Aus: Ormiston, Luke, Tice (1989)
- BAUCHINGER, M., HAUF, R., SCHMID, E., DRESP, J. (1981) Analysis of structural chromosome changes and SCE after occupational long-term exposure to electric and magnetic fields from 380 kV-systems. *Radiat. Environ. Biophys.* 19, 235-238
- BAUER, J. (1999) Mykotoxine in Futtermitteln. in: *Handbuch der tierischen Veredlung 2000*, 169-192; Kamlage, Osnabrück
- BECKER, W. (2000) Infektionserreger und ihre Bedeutung, *LW* 15, 24-27
- BEEL et.al.(1983) Aus: Katalyse e.V. (1997)
- BENIASHVILI, D.S.(1991) Aus: Katalyse e.V. *Elektrosmog-Report* 2 (11) im *Strahlentelex*
- BIUK-RUDAN, N.; CVETNIC, S.; MADIC,J.; RUDAN, D. (1999) Prevalence of antibodies to IBR and BVD viruses in dairy cows with reproductive disorders. *Theriogenology* 51 (5), 875 - 881
- BLACKMAN, C.F. et.al. (1990) Aus: Katalyse e.V. (1997)
- BLANK, M. (1995) Biological effects of environmental electromagnetic fields: molecular mechanisms. *BioSystems* 35, 175-178
- BONHOFF, A. u. MITARB. (1981) Aus: Rieck, G. W. (1984) *Allgemeine veterinärmedizinische Genetik, Zytogenetik und allgemeine Teratologie*. Enke Verlag, Stuttgart
- BRENNER, S.L et.al. (1980) Aus: Thomson, Perry (1988)
- BRIX, J. (1995) Kongreßbericht Teil II. Biologische Wirkungen. Aus: Katalyse e.V. *Elektrosmog-Report* 1 (4) im *Strahlentelex*, 204-205

- BROWN, G.B.; BOLIN, S.R.; FRANK, D.E.; ROTH, J.A. (1991) Defective Function of leukocytes from cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus, and the influence of recombinant cytokines. *Am.J.Vet.Res.*52 (3),381-387
- BUNDESANSTALT FÜR VIRUSKRANKHEITEN (2000) Tierseuchenberichte
- BURCHARD, J., NGUYEN, D., RICHARD, L., BLOCK, E. (1996) Biological Effects of Electric and Magnetic Fields on Productivity of Dairy Cows. *J Dairy Sci*, 79, 1549-1554
- CANNON, R. M.; ROE, R.T. (1982) *Livestock Disease Survey. A Field Manual.* Austr.Bureau of Animal Health, Canberra
- COLE, R.J., TAYLOR, N., COLE, J. et.al. (1981) Short term test for transplacentally active carcinogens I. Micronucleus formation in fetal and maternal mouse erythroblasts. *Mutation Research* 80, 141-157
- CORAZZA, G., GINALDI, L., ZOLI, G. et.al. (1990) Howell-Jolly body counting as a measure of splenic function. A reassessment. *Clin. lab. Haemat.* 12, 269-275
- COUNTRYMAN, P.J., HEDDLE, J.A. (1976) The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutation Research* 41, 321-332
- CSGMT (THE COLLABORATIVE STUDY GROUP FOR THE MICRONUCLEUS TEST) (1988) Strain difference in the micronucleus test. *Mutation Research* 204, 307-316
- CSGMT (THE COLLABORATIVE STUDY GROUP FOR THE MICRONUCLEUS TEST) (1986) Sex difference in the micronucleus test. *Mutation Research* 172, 151-163
- CSGMT/JEMS\*MMS (THE COLLABORATIVE STUDY GROUP FOR THE MICRONUCLEUS TEST) (1992) Micronucleus test with mouse peripheral blood erythrocytes by acridine orange supravital staining: The summary report of the 5th collaborative study by CSGMT/JEMS \*MMS. *Mutation Research* 278, 82-98
- DAHME, E.; WEISS, E. (1978) *Grundriß der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere.* Stuttgart: Enke Verlag
- DAS, B.C.; SHARMA, T. (1983) Influence of age on the frequency of sister-chromatid exchanges and X-ray-induced chromosome aberrations in muntjac. *Mutation Research* 109, 53-63
- DE LANGE, T. (1992) Aus: WALKER, BOREHAM et.al. (1996)
- DETINGER, H.; JUNG, H. (1969) *Molekulare Strahlenbiologie,* Berlin, Springer Verlag
- DIXON, W.J.(chief editor) (1993) *BMDP Statistical Software Manual, Volume 1 and 2.* University of California Press, Berkeley, Los Angeles, London
- DOHERTY, T.J.; MULVILLE, J.P.(1992) *Diagnosis and treatment of large animal diseases,* W.B. Saunders, Philadelphia

- DÜRING, F. (1988) Zur Eignung von Daten zu Abgangshäufigkeiten für die Beurteilung des Gesundheitsstatus in Milchviehherden. BMTW 101, 203-208
- DULCE, H.-J. (1997) Medizinische Diskussion experimenteller Ergebnisse, Risiken und Verträglichkeiten hochfrequenter elektromagnetischer Felder. In: BRINKMANN,G.; FRIEDRICH, G. :Elektromagnetische Verträglichkeit biologischer Systeme, 5, 244-253
- EBERLE, P.; ERDMANN-VOURLIOTIS, M.; DIENER, S.; FINKE, H.; LÖFFELHOLZ, B.; SCHNOR, A.; SCHRÄDER, M. (1997) Zellproliferation, Schwesterchromatidaustausche, Chromosomenaberrationen, Mikrokerne und Mutationsrate des HGPRT-Locus nach Einwirkung von elektromagnetischen Hochfrequenzfeldern (440 MHz, 900 MHz und 1,8 GHz) auf humane periphere Lymphozyten.: In: BRINKMANN,G.; FRIEDRICH, G. :Elektromagnetische Verträglichkeit biologischer Systeme, 5, 134-155
- EDWARDS, G.S. et.al. (1983) Aus: Katalyse e.V. (1997)
- FAILING, K.; FISCHER, K.; HOFFMANN, B. (1998) Erhebungen zum Fruchtbarkeitsstatus von Milchkühen, Teil 2; Tierärztl.Umschau 53, 467-480
- FIORANI, M., CANTONI, O., SESTILI, P. et.al. (1992) Electric and/or magnetic field effects on DNA structure and function in cultured human cells.Mutation Research 282, 25-29
- FISCHER, K.; HOFFMANN, B.; BOCKISCH, F.J.; FAILING, K.; BALJER, G. (1998) Erhebungen zum Fruchtbarkeitsstatus von Milchkühen, Teil 1; Tierärztl. Umschau 53, 372-379
- FOX, M.T.; JACOBS, D.E. (1986) Patterns of infection with Buxtonella sulcata in British cattle. Res. Vet.Sci. 41, 90-92
- FRERKING, H.; GEYER, K.; ROSENBERGER, G. (1995) Infektionskrankheiten in: Assmus, G. et al.: Buiatrik. M.&H.Schaper, Hannover
- FRERKING, H. (1997) BVD/MD - eine vielseitige Geißel der Rinderzucht. Rinderproduktion27, 43-45
- FREY, H.R.; EICKEN, K.; TIMM, D.; MOENNING, V.; LIESS, B.(1992) Persistent BVD virus infections in a cattle breeding facility. DTW 99 (5), 191-193
- FREY (1988) Aus: Katalyse e.V. (1997)
- FRIEDMAN, M.A., STAUB, J. (1977) Induction of micronuclei in mouse and hamster bone-marrow by chemical carcinogens. Mutation Research 43, 255-262
- GRAHN, T.C.; FAHNING, M.L.; ZEMJANIS, R. (1984) Nature of early reproductive failure caused by bovine viral diarrhea virus. J.Am.Vet.Med.Assoc. 185 (4), 429-432
- GAUDIN, D. (1973) Aus: ORMISTON, LUKE, TICE (1989)
- GRAWÉ, J. (1993) Automating the in vivo micronucleus assay in the mouse. Dissertation Uppsala, Sweden
- GRAWÉ, J., ZETTERBERG, G., AMNEUS, H. (1992) Flow-Cytometric enumeration of micronucleated polychromatic erythrocytes in mouse peripheral blood. Cytometry 13, 750-758

- GRAWÉ, J., ZETTERBERG, G., AMNEUS, H. (1993) Effects of extended low dose-rate exposure to <sup>137</sup>Cs detected by flow-cytometric enumeration of micronucleated erythrocytes in mouse peripheral blood. Dissertation Uppsala, Sweden
- GRAWÉ, J., ZETTERBERG, G., AMNEUS, H. (1993) DNA content determination of micronucleated polychromatic erythrocytes induced by clastogens and spindle poisons in mouse bone marrow and peripheral blood. Dissertation Uppsala, Sweden
- HALL, S.C., WELLS, J. (1988) Aus: WALKER, BOREHAM et.al. (1996)
- HAMERS, C.; LAMBOT, M.; ONCLIN, M.; LECOMTE, C.; PASTORET, P. (1998) Antigenic diversity of bovine diarrhea viral isolates contradicts the concept of herd specific strain. *Epidemiol. Infect.* 121, 451-457
- HARA, M. et.al. (1992) AUS: WATANABE, KAJI, TAKAGI et.al. (1993)
- HART, J.W., HARTLEY-ASP, B. (1983) Induction of micronuclei in the mouse. Revised timing of the final stage of erythropoiesis. *Mutation Research* 120, 127-132
- HAYASHI, H., MORITA, T., KODAMA, Y. et.al. (1990) The micronucleus assay with mouse peripheral blood reticulocytes using acridine orange-coated slides. *Mutation Research* 245, 245-249
- HAYASHI, M., TICE, R., MAC GREGOR, J.T. et.al. (1994) In vivo rodent erythrocyte micronucleus assay. *Mutation Research* 312, 293-304
- HECKERT, H.P.; HOFMANN, W.; HOLLBERG, W.; KORNER, E. (1998) Praxisorientierte BVD-Kontrolle in Milchviehherden. *Tierärztl. Prax. G* 26, 193- 196
- HEDDLE, J.A. (1973) A rapid in vivo test for chromosomal damage. *Mutation Research* 18, 187-190
- HEDDLE, J.A., CIMINO, M., HAYASHI, M. et.al. (1991) Micronuclei as an index of cytogenetic damage: Past, Present and Future Environmental and Molecular Mutagenesis 18, 277-291
- HEDDLE, J.A., HITE, M., KIRKHART, B. et.al. (1983) The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity. A Report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutation research* 123, 61-118
- HEGEMANN, U. (1990) Verbesserung des Mineralstoffgehaltes der natürlichen Äsungspflanzen zur Vermeidung umweltbedingter Waldschäden durch Rotwild. Dr. agr. Diss.; Uni Gießen
- HEWICKER-TRAUTWEIN, M.; LIESS, B.; TRAUTWEIN, G. (1995) Brain lesions in calves following transplacental infection with bovine-virus-diarrhea virus. *Zentralbl. Veterinärmed.* 42(2), 65-77
- HIGASHIKUNI, N.T. et.al. (1992) Aus: WATANABE, KAJI, TAKAGI et.al. (1993)
- HOCKING, B. (1995) Höhere Leukämieraten in der Umgebung australischer Fernsehsender. Aus: *Elektosmog-Report* 2 (4) im *Strahlentelex*, 222-223
- ICPEMC (International Commission for Protection against Environmental Mutagens and Carcinogens), CARRANO, A.V., NATARAJAN A.T. (1988) ICPEMC Publication No. 14 Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques

- JENSSEN, D., RAMEL, C. (1976) Dose response at low doses of x-irradiation and MMS on the induction of micronuclei in mouse erythroblasts. *Mutation Research* 41, 311-320
- KATALYSE e.V. (1995) Zunahme von DNS-Brüchen nach Hochfrequenzbestrahlung. Aus: *Elektrosmog-Report 1 (1) im Strahlentelex*, 198-199
- KATALYSE e.V. (1996) (a) Hochfrequenz: Gesundheitliche Auswirkungen des Kurzwellensenders Schwarzenberg. Aus: *Elektrosmog-Report 2 (4) im Strahlentelex*, 222-223
- KATALYSE e.V. (1996) Brustkrebs und EMF. Aus: *Elektrosmog-Report 2 (12) im Strahlentelex* 238
- KATALYSE e.V. (1996) Experimentelle HF-Forschung. Beeinflussung des Schlafes durch HF-Strahlung. Aus: *Elektrosmog-Report 2 (8) im Strahlentelex*, 230-231
- KATALYSE e.V. (1996) Tierexperimentelle Forschung: Dosis-Wirkungs-Beziehung bei der Krebspromotion. Aus: *Elektrosmog-Report 2 (11) im Strahlentelex*, 236-237
- KATALYSE e.V. (1997) *Elektrosmog: Gesundheitsrisiken, Grenzwerte, Verbraucherschutz*. C.F. Müller Verlag, Hüthig GmbH, Heidelberg 4. Aufl.
- KATO, H. 1977: Spontaneous and induced sister chromatid exchanges as revealed by the BUdR-labeling-Method. *International Review of Cytology* 49, 55-96
- KHALIL, A.M., W. QASSEM (1991) Cytogenetic effects of pulsing electromagnetic field on human lymphocytes in vitro: Chromosome aberrations, sister-chromatid exchanges and cell kinetics. *Mutation Research* 247, 141-146
- KIRSCH-VOLDERS, M. et.al.. Aus: HERMINE, JONES, PARRY (1997)
- KLEIN, H. (1988) : Angeborene Verkrümmung der Vordergliedmaßen (Arthrodysplasie) beim Kalb. Dr.med.vet.Diss, Gießen
- KLITZING VON, L. (1993) in: Deutscher Bundestag, Protokoll 41.Sitzung, Ausschuß Post und Telekommunikation
- KLOPPERT, B. (1986) : Die Agenesie kaudaler,sakraler und lumbaler Wirbelsäulensegmente des Rindes in Hessen und die damit verbundenen Mißbildungssyndrome, Dr.med.vet Diss. Gießen
- KNICKEL, U.; WILCZEK, C.; JÖST, K. (1996) *MemoVet*, Schattauer Verlag Stuttgart
- KNUUTILA, S. (1979) Human bone marrow cells in the study of cytogenetic abnormalities. Academic dissertation, Helsinki
- KÖNIG, B.; TONTIS, A.; FATZER, R. (1980) Angeborene morphologische Anomalien bei Kälbern aus dem Raum Bern. Schweiz. Arch. Tierheilk.122, 435-458
- KOMOROWSKI, H. (1985) Statistische Analyse des Auftretens von Kälbern mit kongenitalen Anomalien in der Nachkommenschaft von Besamungsbullen in Hessen, eine explorative Datenbeschreibung. Dr.med.vet. Diss., Gießen
- KRAFT, W., DÜRR, U. (1992) *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. Schattauer Verlag, Stuttgart .

- KRUIF, A.; MANSFELD, R.; HOEDEMAKER, M. (1998) Tierärztliche Bestandsbetreuung beim Milchrind. Ferdinand Enke Verlag Stuttgart
- KÜHNE, A. (1989) Mikrowellen- Hinweise auf Gesundheitsgefährdungen, Eigenverlag Verden
- LAI, H., SINGH, N. (1995) Zunahme von DNS-Brüchen nach Hochfrequenzbestrahlung. Aus: Elektromog-Report 1 (1) im Strahlentelex, 198-199
- LAI, H., SINGH, N. (1996) DNA-Brüche nach niederfrequenter EMF-Exposition. Aus Elektromog-Report 2 (4) im Strahlentelex 222-223
- LANGMAN, J. (1980) Medizinische Embryologie. Stuttgart: Georg Thieme
- LATT, S.A. (1974) Sister chromatid exchanges, indices of human chromosome damage and repair: detection by fluorescence and induction by mitomycin C. Proc.Natl.Acad.Sci. USA, 71, 3162
- LECLERC,S.; LOPEZ, A.; ILLANES, O. (1997) Central nervous system and vertebral malformation resmbing the Arnold-Chiari syndrome in a Simmental calf. Can. Vet.J. 38 (5), 300-301
- LEHMANN, A.R.; KARRAN, P. (1981) DNA-Repair. Intern. Rev. Cyt. 72, 101-145
- LEIPOLD, H.W., HUSTON, K.; DENNIS, S. M. (1983) Bovine congenital defects. Adv. Vet. Sci. Comp. Med. 27, 197-271
- LIBOFF, A.R., HOMER, L.D. (1983) In: Marino, A. A.(1988) Modern Bioelectricity, Dekker Inc. New York
- LIBURDY, R.P., (1982) Aus: Katalyse e.V. (1997)
- LIEBLER, E.M.; KUSTERS, C.; POHLENZ, J.F. (1996) Experimental mucosal disease in cattle: changes in the number of lymphocytes and plasma cells in the mucosa. Vet.Immunopathol. 55, 93-105
- LINDNER, A. (1992) . Zytogenetische Untersuchungen an Kälbern mit angeborenen morphologischen Anomalien, Dr. med. vet. Diss, Gießen
- LÖSCHER, W.. Aus: Katalyse e.V. (1997)
- LÖSCHER; W., MEVISSSEN, M. (1994) Animal studies on the role of 50/60-Hertz magnetic fields in carcinogenesis. Life Sciences, Vol.54, No.21, 1531-1543
- MACGREGOR, J. T., WEHR, C, GOULD, D. (1980) Clastogen-induced micronuclei in peripheral blood erythrocytes: The Basis of an improved Micronucleus Test. Environmental Mutagenesis, 2, 509-514
- MACGREGOR, J.-T., WEHR, C., HENIKA, PH. et.al. (1990) The in vivo erythrocyte Micronucleus Test: Measurement at steady state increases assay efficiency and permits integration with toxicity studies. Fundamental and Applied Toxicology 14, 513-522
- MARSCHANG, F. (1979) MD/VD als Verkalbungsursache.Dtsch.tierärztl.Wschr.86, 355-356
- MEVISSSEN, M. (1995) Niederfrequente Magnetfelder. Tierexperimentelle Untersuchungen zeigen krebspromovierende Wirkungen niederfrequenter Magnetfelder. Aus: Katalyse e.V. Elektromog-Report 1 (1) im Strahlentelex 198-199
- MILLER, B.M. et.al. (1992) Aus: HERMINE, JONES, PARRY (1997)

- MITELMAN, F. (1983) Aus: ORMISTON, LUKE, TICE (1989)
- MÜLLER, W.-U., NÜSSE, M., MILLER, B. et.al. (1996) Micronuclei: a biological indicator of radiation damage. Mutation Research 366, 163-169
- MÜLLER, W.U., STREFFER, C. (1986) Aus: THOMSON, PERRY (1988)
- NORDENSON, I., HANSSON MILD, K., NORDSTRÖM, S. et.al. (1984) Clastogenic effects in human lymphocytes of power frequency electric fields: In vivo and in vitro studies. Radiat. Environ. Biophys. 23, 191-201
- NÜSSE, M., KRAMER, J. (1984) Aus: ALMASSY et.al. (1987)
- ORMISTON, B., LUKE, C., et.al. (1989) Increase in micronucleated erythrocytes associated with babesiosis in Syrian golden hamsters Mutation Research 227, 173-177
- PAPE, K.-R. (2000) BVD-Bekämpfung, top-agrar 6, R 18 - R 21
- PARADA, R.; JASZCZAK, K. (1993) A cytogenetic study of cows from a highly industrial or an agricultural region. Mutation Research, 300, 259-263
- PEDERSEN-BJERGAARD, J.L. et.al. (1983) Aus: ORMISTON, LUKE, TICE (1989)
- PERRY, P.; WOLFF, S. (1974) New Giemsa method of differential staining of sister chromatids. Nature 261, 156-158.
- PINCU, M. et.al. (1985) Aus: ALMASSY et.al. (1987)
- QUELLET-HELLSTROM, R., STEWART, W. (1995) Mikrowellentherapie/Fehlgeburtenrisiko bei Physiotherapeutinnen. aus Katalyse e.V. Aus: Elektrosmog-Report 1 (1) im Strahlentelex 202-203
- RADOSTITS, O.M.; LESLIE, K.E.; FETROW, J. (1994) Herd Health. Verlag W.B.Saunders, Philadelphia
- RAMALHO, A., SUNJEVARIC, I., NATARAJAN, A.T. (1988) Use of the frequencies of micronuclei as quantitative indicators of X-ray-induced chromosomal aberrations in human peripheral blood lymphocytes: Comparison of two methods. Mutation Research 207, 141-146
- RAWLINS, D.J. et.al. (1991) Aus: WALKER, BOREHAM et.al. (1996)
- REIF, S., LOWER, K., OGILVIE G. (1995) Residential Exposure to Magnetic Fields and Risk of Canine Lymphoma. American Journal of Epidemiology Vol. 141, No 4
- REISE, K. (1970) : Die Arthrogypose der Hintergliedmaßen beim deutschen schwarzbunten Rind in Hessen - Eine populationsstatistische Analyse-, Dr. med. vet. Diss, Gießen
- REIN, G. (1971) Umweltverhältnisse bei Mißbildungen des Zentralnervensystems und des Gesichts und Gesichtsschädel beim Rind in Hessen. Dr. med. vet. Diss. Gießen.
- RICHTER, W.; WERNER, E. (1992) Grundwerte der Tiergesundheit, Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart
- Rieck, G.W., Herzog, A.; Rau, W. (1973) Untersuchungen zur teratologischen Populationsstatistik und zur Ätiologie der embryonalen entwicklungsstörungen beim Rind, Giessener Beitr: Erbpath. Zuchthyg. 5, 1-70

- RIECK, G.W. (1976) Tätigkeitsbericht, Gießener Beitr. Erbpath. Zuchthyg.6 (3), S. 131 -161
- RIECK, G.W. (1984) Allgemeine veterinärmedizinische Genetik, Zytogenetik und allgemeine Teratologie. Stuttgart:Ferdinand Enke
- ROCHE LEXIKON MEDIZIN (1991) Urban & Schwarzenberg München-Wien-Baltimore 2. neubearbeitete Aufl.
- Ross, C.E.; Dubovi, E.J.; Donis, R.O. (1986) Herd problem of abortions and malformed calves attributed to bovine viral diarrhea. J.Am.Vet.Med.Assoc. 188 (6), 618-619
- ROSSMANITH, W.; DEINHOFER, M. (1998) Untersuchungen über das Vorkommen von BVD-Virusinfektionen in niederösterreichischen Milchviehbetrieben. DTW 105, 346-349
- ROTH, J.A.; KAEBERLE, M.L. (1983) Suppression of neutrophil and lymphocyte function induced by a vaccinal strain of bovine viral diarrhea virus with und without the administration of ACTH. Am.J.Vet.Res 44 (12), 2366- 2377
- ROTH, J.A.; BOLIN, S.R.; FRANK, D.E. (1986) Lymphocyte blastogenesis and neutrophil function in cattle persistently infected with bovine viral diarrhea virus. Am.J.Vet.Res.47 (5), 1139-1141
- RUBES, J. ET AL. (1992) Cytogenetic monitoring of farm animals under conditions of environmental pollution. Mutat.Research 283, 199-210
- RUGH, R. (1976) The relation of sex, age and weight of mice to microwave radiation sensitivity. Journal of Microwave Power, 11 (2)
- SARKAR, S. et.al. (1994) Aus: Katalyse e.V. (1995) Zunahme von DNS-Brüchen nach Hochfrequenzbestrahlung. Elektrosmog-Report 1 (1) im Strahlentelex, 198-199
- SCHADE, W. (1974) Cataracta congenita lentis beim Kalb. Gießener Beitr. Erbpath. Zuchthyg.6 (1), S. 43 - 44
- SCHIFFMAN, D., DE BONI, U. (1991) Aus: WALKER, BOREHAM et.al. (1996)
- SCHLEGEL, R., MAC GREGOR, J.T. (1982) The persistence of micronuclei in peripheral blood erythrocytes: detection of chronic chromosome breakage in mice. Mutation Research, 104, 367-369
- SCHLIEßER, TH.; KRAUSS, H. (1982) Bekämpfung des Q-Fiebers. tierärztl.prax.10, 11-22
- SCHMID, W. (1973) Aus: Grawé, J. (1993)
- SCHMID, W. (1975) The Micronucleus Test. Mutation Research 31, 9-15
- SCHMIDL, M. (1984) Laboruntersuchungen für die Diagnose und Verlaufskontrolle, Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim
- SCHMIDT, V., HORZINEK, M. CH. (1997) Krankheiten der Katze, Band II, 2. durchgesehene Aufl., Enke Verlag

- SHARMA, T.; DAS, B.C. (1986) Higher incidence of spontaneous sister-chromatid exchanges (SCEs) and X-ray-induced chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes during pregnancy. *Mutation Research* 174, 27-33
- SIKOV, M. R. et.al. (1983) Aus: NORDENSON, HANSSON MILD, NORDSTRÖM et.al. (1984)
- SIMPSON, C.F., KLING, J.M. (1967) Aus: STEINHEIDER, NETH, MARQUARDT (1985)
- SÖDERSTRÖM, N., BERG, B. (1970) Observations regarding the nature of Howell-Jolly bodies. *Acta med.scand.* Vol. 187, 257-265
- SSK (STRAHLENSCHUTZKOMMISSION) (1992) Aus: Katalyse e.V. (1997)
- STAUDACHER, M. (1985) : Syndromatologie multipler morphologischer angeborener Defekte beim schwarzbunten Rind in Hessen. Dr.med.vet. Diss., Gießen.
- STEINHEIDER, G., NETH, R., MARQUARDT, H. (1985) Evaluation of nongenotoxic and genotoxic factors modulating the frequency of micronucleated erythrocytes in the peripheral blood of mice. *Cell Biology and Toxicology*, vol. 1, no. 3, 197-211
- STREFFER, C., MÜLLER, W.-U., KRYSZCIO, A., BÖCKER, W. (1998) Micronuclei - biological indicator for retrospective dosimetry after exposure to ionizing radiation. *Mutation Research* 404, 101-105
- SWICORD, M.L., DAVIS C.C. (1982) in :MARINO, A. A (1988): Modern bioelectricity
- SZMIGIELSKI, S. (1988) in :MARINO, A. A.: Modern bioelectricity, S.861 ff., Dekker Inc. New York
- TAUTZ, N.; MEYERS, G.; THIEL, H.J.: (1998) Pathogenesis of mucosal disease, a deadly disease of cattle caused by a pestivirus. *Clin.Diagn.Virol.* 10 (2-3), 121-127
- TAYLOR, J.H. (1957) The organisation and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labelled thymidine. *Proc.nat.Acad.Sci.* 43, 122-128
- TAYLOR, J.H. (1958) Sister chromatid exchanges in tritium-labelled chromosomes. *Genetics*, 43, 515-529
- THOMSON, E., PERRY, P. (1988) The identification of micronucleated chromosomes: a possible assay for aneuploidy. *Mutagenesis* Vol. 3, No 5, 415-418
- TIZARD, I.R. (1996) *Veterinary Immunology*, W.B.Saunders, Philadelphia
- TÖNDURY, G. (1966) Comparative data on the development stages (embryology) of mammals used in teratologic studies. *International workshop in teratology*, Copenhagen, I,60-65
- VAN WAGTENDONK-DE LEEUW, A.M.; AERTS, B.J.; DEN HAAS, J.H. (1998) Abnormal offspring following in vitro production of bovine preimplantation embryos: a field study. *Theriogenology* 49 (5), 883-894
- VARGA, A. (1989) *Physikalische Umwelt und Gesundheit des Menschen*, Eigenverlag Heidelberg
- VERBERNE, L.R. (2000) No title available ( Kontamination von IBR-Impfstoff mit BVD-Virus) *Tijdschr.Diergeneeskd.*125, 218-221

- WACKER, K.; ROFFEIS, M.; CONRATHS, F.J. (1999) Cow-calf herds in eastern Germany: status quo of some parasite species and a comparison of chemoprophylaxis and pasture management in the control of gastrointestinal nematodes. *Zentralbl. Veterinärmed* 46, 475-483
- WAKSVIK, H.; MAGNUS, P.; BERG, K. (1981) Effects of age, sex and genes on sister chromatid exchange. *Clin. Genetics* 20, 449-454
- WALKER, J.-A., BOREHAM, D., UNRAN, P. et.al. (1996) Chromosome content and ultrastructure of radiation-induced micronuclei. *Mutagenesis*, vol.11 no. 5, 419-424
- WATANABE, T., KAJI, H., TAKAGI, K. et.al. (1993) Micronucleus induction in mouse peripheral blood reticulocytes by 2,7-diaminophenazine and related compounds. *Mutation Research* 302, 177-182
- Warkany, J. (1966) Histological analysis of malformations produced by various agents, *International workshop in teratology Copenhagen, II*, 33
- WHO (1984) *Aus : Katalyse e.V.* (1997)
- WIESNER, E., RIBBECK, R. (1991) *Wörterbuch der Veterinärmedizin*. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart.
- WIESNER, E.; WILLER, S. (1993) : *Genetische Beratung in der tierärztlichen Praxis*. Stuttgart, Gustav Fischer
- WILLINGALE-THEUNE, J. et.al. (1989) *Aus: WALKER, BOREHAM et.al.* (1996)
- WOLF, TH., LUEPKE, N.-P. (1997) Formation of micronuclei in incubated hen's eggs as a measure of genotoxicity. *Mutation research*, 394, 163-175
- WULF, H.C.; HUSUM, B.; ENGBERG-PETERSEN, H.; NIEBUHR, E. (1984) Guidelines for the statistical evaluation of SCE, In: RR. Tice & A. Hollaender: *Sister chromatid exchanges*. Plenum Press, New York, 441 - 455
- WULF, H.C. (1990) Monitoring of genotoxic exposure of humans by the sister chromatid exchange test. *Danish medical Bulletin* 37 (2), 132-143
- YAMAMOTO, K. et.al. (1980) *Aus: Hart, Hartley-Asp* (1985)
- YAMAMOTO, K., KIKUCHI, Y. (1980) A comparison of diameters of micronuclei induced by clastogens and by spindle poisons. *Mutation Research* 71, 127-131
- ZETTERBERG, G., GRAWE, J. (1993) Flow cytometric analysis of micronucleus induction in mouse erythrocytes by  $\gamma$ -irradiation at very low dose rates. *Dissertation Uppsala, Sweden*
- ZUNIGA, G., TORRES-BUGARIN, O., RAMIREZ-MUNOZ, M.P. et.al. (1996) Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 35 mammalian species. *Mutation Research* 369, 123-127
- ZWINGELBERG, R., OBE, G., ROSENTHAL, M. et.al. (1993) Exposure of rats to a 50 Hz, 30 mT magnetic field influences neither the frequencies of sister chromatid exchanges nor proliferation of cultured peripheral lymphocytes. *Mutation Research* 302, 39-44

## 2. Literaturverzeichnis Münchner Arbeitsgruppe

### 2.1 Literatur Hygiene

- ACKEMANN, H.-H. (1980) Quantitative Untersuchungen über den bakteriellen Keimgehalt des Absetzstaubes in zwei Schweinemastställen. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 87, 329-364
- BÖHM, R. (1996) Messverfahren zur Erfassung luftgetragener Bakterien und Pilze. 50. Darmstädter Seminar -Abfalltechnik-, Darmstadt: 81-117
- BÖHM, R. (1998) Grundsätzliche Probleme, die mit der Erfassung von Bioaerosolen und der Interpretation der Meßergebnisse verbunden sind. Gesundheitliche Risiken durch Keimemissionen beim Einsammeln, Transport und Verarbeitung häuslicher Abfälle. DVG-Tagung vom 25. und 26. März „Gesundheitliche Risiken durch Keimemissionen bei Einsammeln, Transport und Verarbeitung häuslicher Abfälle“ in München, 203-209
- BORNEFF, J. UND M. BORNEFF (1991) Hygiene des Trinkwassers. Hygiene, Thieme Verlag, 5. Auflage, Stuttgart, 146-219
- BREITIG, G. UND W. V. TÜMPLING (1982) Ausgewählte Methoden der Wasseruntersuchung. Gustav Fischer Verlag, Jena, 470-498
- DAUBNER, I. (1984) Mikrobiologie des Wassers. Akademie Verlag Berlin, 66-137
- DOSSOW V., A. AND W. MÜLLER (1992) Der Einfluß verschiedener organischer und anorganischer Stäube auf die Tenazität von E. coli und St. aureus auf Keimträgern. Mh. Vet.-Med.47, 521-528.
- FIEDLER, K.P.D. (1995) Hygiene / Präventionsmedizin / Umweltmedizin. Lorch, Uni-Med-Verlag 68-95; 210-253
- HARTUNG, J. AND R. T. WHYTE (1994) Erfassung und Bewertung von Luftverunreinigungen in der Nutztierhaltung. Atemw.-Lungenkrkh. 20(1), 17-25
- HARTUNG, J. AND J. SEEDORF (1999) Orientierende Endotoxinmessungen in der Außenluft. Dtsch. tierärztl. Wschr. 106(12), 497-536.
- HENSEL, A. (1998) Significance of microbial survival for assessment and sampling of infectious aerosols. Gesundheitliche Probleme durch Keimemission beim Einsammeln, Transport und Verarbeitung häuslicher Abfälle. DVG-Tagung vom 25. Und 26. März „Gesundheitliche Risiken durch Keimemissionen bei Einsammeln, Transport und Verarbeitung häuslicher Abfälle“ in München, 238-250
- HILLIGER, H.G. (1990) Stallgebäude, Stallluft und Lüftung. Enke Verlag, Stuttgart, 30-35
- HINZ, T. UND H. SONNENBERG (1999) Messung der Luftqualität in Stallsystemen zur Haltung von Jungrindern auf Einstreu. Braunschweig, Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft

SOMMER, H.; E. GREUEL UND W. MÜLLER (1991) Hygiene der Rinder- und Schweineproduktion. 2. Auflage Ulmer-Verlag, 52-55

## 2.2 Literatur Verhalten

ALBRIGHT, J.L., C.W. ARAVE (1997) The behaviour of cattle. CAB International, Oxon/UK

ALGERS, B., I. EKESBO, K. HENNICH (1981) The effects of ultra high-voltage transmission lines on the fertility of dairy cows. Report 5, Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Animal Hygiene, Skara

ALGERS, B., K. HENNICH (1983) Biological effects of electromagnetic fields on vertebrates. Vet. Res. Commun. 6, 265-279

ALGERS, B., K. HENNICH (1985) The effect of exposure to 400 kV transmission lines on the fertility of cows. Prev. Vet. Med. 3, 351-361

ALGERS, B., J. HULTGREN (1987) Effects of long-term exposure to a 400-kV, 50-Hz transmission line on estrous and fertility in cows. Prev. Vet. Med. 5, 21-36

AMSTUTZ, H.E., D.B. MILLER (1980) A study of farm animals near 765 kV transmission lines. Bovine Pract. 15, 51-62

ANDERSON, L.E., R.D. PHILLIPS (1985) Biological effects of electric fields. In: GRANDOLFO, M., S.M. MICHAELSON, A. RINDI (eds.) Biological effects and dosimetry of static and ELF electromagnetic fields. Plenum press, New York, 345-378

ANGELL, R.F., M.R. SCHOTT, R.J. RALEIGH, T.D. BRACKEN (1990) Effects of a high-voltage direct-current transmission line on beef cattle production. Bioelectromagnetics 11, 273-282

BAYER, A., J. BRINKMANN, G. WITKE (1978) Belastung tierischer Organismen durch elektrische und magnetische Felder. Fortschr. Veterinärmed. 28, 153-155

BLACKWELL, R.P., R.D. SAUNDERS (1986) The effects of low-level radiofrequency and microwave radiation on brain tissue and animal behaviour. Int. J. Radiat. Biol. 50, 761-787

BROUCEK, J., A. SANDOR, A. HANUS, M. UHRINCAT, V. TANCIN, S. MIHINA, C.W. ARAVE (1997) The effects of the artificial geopathogene zone on performance and behaviour of dairy cows. Livestock Environment V, Proc. 5<sup>th</sup> Int. Symposium, Vol. I, Bloomington/USA, 409-416

BURCHARD J.F., D.H. NGUYEN, E. BLOCK (1998) Progesterone concentrations during estrous cycle of dairy cows exposed to electric and magnetic fields. Bioelectromagnetics 19, 438-443

BURCHARD J.F., D.H. NGUYEN, L. RICHARD, E. BLOCK (1996) Biological effects of electric and magnetic fields on productivity of dairy cows. J. Dairy Sci. 79, 1549-1554

- HARSCH, B. (1995) Untersuchungen an Rindern, Pferden und Schweinen in Stallungen mit vermuteten Störzonen im Hinblick auf die Auswirkung einer für die Beseitigung von Störzoneneinflüssen von R. WIGGENHAUSER entwickelten Photonenplatte. Diss. agr., Universität Hohenheim
- HILMER, H., G. TEMBROCK (1970) Untersuchungen zur lokomotorischen Aktivität weißer Ratten unter dem Einfluss von 50 Hz-Hochspannungs-Wechselfeldern. Biol. Zbl. 89, 1-8
- KROHN, C.C., L. MUNKSGAARD (1993) Behaviour of dairy cows kept in extensive (loose housing/pasture) or intensive (tie stall) environments. II. Lying and lying-down behaviour. Appl. Anim. Behav. Sci. 37, 1-16
- KROHN, C.C. (1994) Behaviour of dairy cows kept in extensive (loose housing/pasture) or intensive (tie stall) environments. III. Grooming, exploration and abnormal behaviour. Appl. Anim. Behav. Sci. 42, 73-86
- DE LORGE, J. (1985a) Effects of DC magnetic fields on behavior. In: GRANDOLFO, M., S.M. MICHAELSON, A. RINDI (eds.) Biological effects and dosimetry of static and ELF electromagnetic fields. Plenum press, New York, 129-139
- DE LORGE, J. (1985b) Behavioral studies of monkeys in electric and magnetic fields at ELF frequencies. In: GRANDOLFO, M., S.M. MICHAELSON, A. RINDI (eds.) Biological effects and dosimetry of static and ELF electromagnetic fields. Plenum press, New York, 433-439
- LÖSCHER, W. (1999) Biologische Effekte elektromagnetischer Felder („Elektrosmog“) Eine potentielle Gefahr für Mensch und Tier? Tierärztl. Umschau 8, 458
- LÖSCHER, W., G. KÄS (1998) Auffällige Verhaltensstörungen bei Rindern im Bereich von Sendeanlagen. Prakt. Tierarzt 79, 437-444
- MARTIN, P., P. BATESON (1993) Measuring Behaviour. An introductory guide. 2nd edition, Cambridge University Press, Cambridge/UK
- MILLER, F. (1991) Checklisten in der Milchviehhaltung. Diss. med. vet., München
- MÜLLER, C., J. LADEWIG, H.H. THIELSCHER, D. SMIDT (1989) Behavior and heart rate of heifers housed in tether stanchions without straw. Physiol. Behav. 46, 751-754
- NIELSEN, L.H., L. MOGENSEN, C. KROHN, J. HINDHEDE, J.T. SØRENSEN (1997) Resting and social behaviour of dairy heifers housed in slatted floor pens with different sized bedded lying areas. Appl. Anim. Behav. Sci. 54: 307-316
- PETRIE, A., P. WATSON (1999) Statistics for Veterinary and Animal Science. Blackwell Science, Oxford/UK
- PORZIG, E. (1969) Verhalten von Rindern. In: PORZIG, E. (Hrsg.) Das Verhalten landwirtschaftlicher Nutztiere. VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag Berlin: 121-235

- PORZIG, E., H.H. SAMBRAUS (1991) Nahrungsaufnahmeverhalten landwirtschaftlicher Nutztiere. Deutscher Landwirtschaftsverlag GmbH, Berlin, 31-146
- REDBO, I. (1993) Stereotypies and cortisol secretion in heifers subjected to tethering. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 38: 213-225
- SAMBRAUS, H.H. (1978) Rind In: SAMBRAUS, H.H. (Hrsg.) *Nutztierethologie*. Paul Parey Verlag Berlin: 49-127
- SAMBRAUS, H.H. (1993) Was ist über die Ursachen von Verhaltensstörungen bekannt? In: MARTIN, G. (Hrsg.) *Leiden und Verhaltensstörungen bei Tieren*. Birkhäuser Verlag Basel: 38-49
- SIENKIEWICZ, Z.J., R.G.E. HAYLOCK, R. BARTRUM, R.D. SAUNDERS (1998) 50 Hz magnetic field effects on the performance of a spatial learning task by mice. *Bioelectromagnetics* 19, 486-493
- SILNY, J. (1999) Electrical Hypersensitivity in Humans – Fact or Fiction? *Zbl. Hyg. Umweltmed.* 202, 219-233
- SPITTKA, O., M. TAEGE, G. TEMBROCK (1969) Experimentelle Untersuchungen zum operanten Trinkverhalten von Ratten im 50 Hz-Hochspannungswechselfeld. *Biol. Zbl.* 88, 273-282
- SÜSS, M., U. ANDREAE (1984) Rind In: BOGNER, H., A. GRAUVOGL (Hrsg.) *Verhalten landwirtschaftlicher Nutztiere*. Eugen Ulmer Verlag Stuttgart, 149-245
- STERN, S., V.G. LATIES (1998) 60 Hz electric fields and incandescent light as aversive stimuli controlling the behavior of rats responding under concurrent schedules of reinforcement. *Bioelectromagnetics* 19, 210-221
- UNSHELM, J. (1991) Reaktionen landwirtschaftlicher Nutztiere als Indikatoren der Haltungsumwelt. *Swiss Vet* 8, 9-15
- WITKOWSKI, G., N. MEIER, K. FEHLINGS, H. TENHUMBERG (1998) Untersuchungsbericht zum Gesundheitszustand einer Rinderhaltung in Schnaitsee. Selbstverlag, Tiergesundheitsdienst Bayern e.V., Poing (unveröffentlicht)
- WUSCHEK, M. (1999) Messtechnische Ermittlung der Feldexposition im Zusammenhang mit Untersuchungen zum Einfluss elektromagnetischer Felder von Mobilfunkanlagen auf Gesundheit, Leistung und Verhalten von Rindern. (unveröffentlicht)
- ZAHNER, R. (1964) Zur Wirkung des elektrischen Feldes auf das Verhalten des Goldhamsters. *Z. vgl. Physiol.* 49, 172-190
- ZEEB, K. (1985) Zur Beurteilung von Haltungssystemen für Rinder aus ethologischer Sicht. *Tierärztl. Umschau* 40, 752-758
- ZHADIN, M.N., O.N. DERYUGINA, T.M. PISACHENKO (1999) Influence of combined DC and AC magnetic fields on rat behavior. *Bioelectromagnetics* 20, 378-386

### 2.3 Literatur Melatonin

- AKERSTEDT, T, B. ARNETZ, G. FICCA, L.E. PAULSSON AND A. KALLNER (1999) A 50-Hz electromagnetic field impairs sleep. *J.-Sleep-Res.* 8/1, 77-81
- BARTSCH C., H. BARTSCH AND D. MECKE (2000) Melatonin and Cancer: Experimental and Clinical Aspets. Cologne International Symposium: Low frequency EMF, Visible Light, Melatonin and Cancer, May 4-5, 2000
- BAUM, A., M. MEVISSSEN, K. KAMINO, U. MOHR AND W. LÖSCHER (1995) A histopathological study on alterations in DMBA-induced mammary carcinogenesis in rats with 50-Hz, 100  $\mu$ T magnetic field exposure. *Carcinogenesis* 16, 119-125
- BIRKLE, J. (1999) Untersuchungen zur bovinen tageszeitabhängigen Melatoninrhythmik. Diss. med. vet., München
- BERTHELOT, X., J.P. RAVAUULT, D. CONCORDET, J. FERNEY AND P.L. TOUTAIN (1990) Circadian profile and production rate of melatonin in the coe. *Dom. Anim. Endocrinol.* 7, 315-322
- BRAINARD G.C., M.D. ROLLAG AND J.P. HANIFIN (1997) Photic regulation of melatonin in humans: ocular and neural signal transduction. *J. Biol. Rhyth.* 12, 537-546
- BRINKLOW, B.R., J.M. FORBES AND R.G. RODWAY (1984) Melatonin in the Plasma of growing sheep subjected to short and skeleton long photoperiods. *Experientia* 40, 758-760.
- BROWN, M.G. (1994) Light, Melatonin and the Sleep-Wake-Cycle. *J. Psychiatr. Neurosci.* 19, 345-353
- BURCHARD, J.F., D.H. NGUYEN AND E. BLOCK (1998) Effects of Electric and Magnetic Fields on Nocturnal Melatonin Concentrations in Dairy Cows. *J Dairy Sci* 81, 722-727
- CARDINALI, D.P., H. LYNCH AND R. WURTMANN (1972) Binding of melatonin to human and rat plasma proteins. *Endocrinology* 91, 1213-1218
- CASSONE, V.M., J.C. SPEH, J.P. CARD UND R.Y. MOORE (1988) Comparative anatomy of the mammalian hypothalamic suprachiasmatic nucleus. *J. Biol. Rhythms* 3, 71-91.
- FERNIE, K.J., D.M. BIRD AND D. PETITCLERC (1999) Effects of electromagnetic fields on photophasic circulating melatonin levels in American Turmfalken. *Environ.-Health-Perspect.* 107/11, 901-904
- FERNIE, K.J., N.J. LEONARD AND D.M. BIRD (2000) Behavior of free-ranging and captive American Turmfalken und electromagnetic fields. *J. Toxicol. Environ. Health Part A* 59/8, 597-603.
- FEWS, A.P., D.L. HENSHAW, R.J. WILDING AND P.A. KEITCH (1999) Corona ions from powerlines and increased exposure to pollutant aerosols. *Int. J. Rad. Biol.* 75, 1523-1531
- FORBES AND D.L. FOSTER (1993) Melatonin secretion and puberty in female lambs exposed to environmental electric and magnetic fields. *Biol. Reprod.* 49/4, 857-864
- GARFINKEL, D., M. LAUDON AND N. ZISAPEL (1995) Improvement of sleep quality in elderly people by controlled release melatonin. *Lancet* 346, 541-544

- GRAHAM, C. (2000) Multi-night exposure to 60 Hz magnetic fields: effects on melatonin and its enzymatic metabolite. *J. Pin. Res.* 28, 1-8
- ILLERNOVA, H. (1991) The suprachiasmatic nucleus and rhythmic pineal melatonin production. In: Klein D.C., R.Y. Moore und S.M. Reppert (eds.). *Suprachiasmatic nucleus: the mind's clock*. Oxford University Press, New York, 197-216
- JUUTILAINEN, J. (2000) Nocturnal 6-hydroxymelatonin sulfate excretion in female workers exposed to magnetic fields. *J. Pin. Res.* 28, 97-104
- KALAYCI, U. (1999) Lichtprogramme steigern die Milchleistung. *top agrar*, 11, R4-R7
- KARASEK, M, M. WOLDANSKA-OKANSKA, J. CZERNICKI, K. ZYLINSKA AND J. SWIETOSLAWSKI (1998) Chronic exposure to 2.9 mT, 40 Hz magnetic field reduces melatonin concentrations in humans. *J. Pineal Res.* 25, 240-244.
- LEE JR-JM; F. STORMSHAK, J.M. THOMPSON, P. THINESEN, L.J. PAINTER, L.G. OLENCEK, D.L. HESS, R. FORBES AND D.L. FOSTER (1993) Melatonin secretion and puberty in female lambs exposed to environmental electric and magnetic fields. *Biol. Reprod.* 49/4, 857-864
- LERCHL, A., K.O. NONAKA, K.A. STOKKAN AND R.J. REITER (1990) Marked rapid alterations in nocturnal pineal serotonin metabolism in mice and rats exposed to weak intermittent magnetic fields. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 169, 102-108
- LÖSCHER, W., M. MEVISSSEN, W. LEHMACHER AND A. STAMM (1993) Tumor promotion in a breast cancer model by exposure to a weak alternating magnetic field. *Cancer Lett.* 71, 75-81
- LÖSCHER, W., U. WAHNSCHAFFE, M. MEVISSSEN, A. LERCHL AND A. STAMM (1994) Effects of weak alternating magnetic fields on nocturnal melatonin production and mammary carcinogenesis in rats. *Oncology* 51, 288-295
- LÖSCHER, W. AND M. MEVISSSEN (1997) Magnetic fields and breast cancer: Experimental studies on the melatonin hypothesis. In *The Melatonin Hypothesis. Breast Cancer and Use of Electric Power* (R.G. Stevens, B.W. Wilson and L.E. Anderson, Eds.), pp. 555-584. Battelle Press, Columbus, OH, 1997
- LÖSCHER, W. AND R.P. LIBURDY (1998) Animal and cellular studies on carcinogenic effects of low frequency (50/60-Hz) magnetic fields. *Mutat Res.* 410, 185-220
- LÖSCHER, W., M. MEVISSSEN AND A. LERCHL (1998) Exposure of Female Rats to a 100- $\mu$ T 50 Hz Magnetic Field does not induce consistent changes in nocturnal Levels of Melatonin. *Radiat. Res.* 150, 557-567
- LÖSCHER, W. (2000) Laboratory Studies on Magnetic Fields, Melatonin and Cancer. Cologne International Symposium: Low frequency EMF, Visible Light, Melatonin and Cancer, May 4-5, 2000
- MACK, A.C. AND J. UNSHELM (1997) Circadian rhythm of the light-dependent hormone melatonin as an indicator for the photic requirement of domestic pigs. In : 9<sup>th</sup> International Congress in Animal Hygiene, Helsinki, 216-220.

- MANN, K., P. WAGNER, G. BRUNN, F. HASSAN, C. HIEMKE AND J. RÖSCHKE (1998) Effects of Pulsed High-Frequency Electromagnetic Fields on the Neuroendocrine System. *Neuroendocrinol.* 67, 139-144
- MEVISSSEN, M., A. LERCHL AND W. LÖSCHER (1996) Study on pineal function and DMBA-induced breast cancer formation in rats during exposure to a 100-mG, 50-Hz magnetic field. *J. Toxicol. Environ. Health* 48, 101-117
- MEVISSSEN, M., A. LERCHL, M. SZAMEL AND W. LÖSCHER (1996) Exposure of DMBA-treated female rats in a 50-Hz, 50  $\mu$ Tesla magnetic field: Effects on mammary tumor growth, melatonin levels, and T lymphocyte activation. *Carcinogenesis* 17, 903-910
- MEVISSSEN, M., M. HÄUßLER, A. LERCHL AND W. LÖSCHER (1998) Acceleration of mammary tumorigenesis by exposure of 7,12-dimethylbenz[a]-anthracene-treated female rats in a 50-Hz, 100  $\mu$ T magnetic field: replication study. *J. Toxicol. Environ. Health* 53, 401-418
- MILES A., D. PHILBRICK, D. SHAW, S. TIDMARSH AND A. PUGH (1985 a) Salivary melatonin estimation in clinical research. *Clin. Chem.* 31, 2041-2042
- NOWAK, R. (1987) The correlation between serum and salivary melatonin concentrations and urinary 6-Hydroxymelatonin sulphate excretion rates: two non invasive techniques for monitoring human circadian rhythmicity. *Clin. Endocrinol.* 27, 445-452
- REITER R.J. (1982) *The Pineal and its Hormones*. Alan R. Liss, New York.
- REITER, R.J. (2000) Historical Account of the Research Related to EMF, Melatonin and Cancer. Cologne International Symposium: Low frequency EMF, Visible Light, Melatonin and Cancer, May 4-5, 2000
- RICE, J. (1995) Effect of light therapy on salivary melatonin in seasonal affective disorder. *Psych. Res.* 56, 221-228
- ROSEN, L.A., I. BARBER AND D.B. LYLE (1998) A 0.5G, 60 Hz Magnetic Field Suppresses Melatonin Production in Pinealocytes. *Bioelectromagnetics* 19, 123-127
- STARK, K.D., T. KREBS, E. ALTPETER, B. MANZ, C. GRIOT AND T. ABELIN (1997) Absence of chronic effect of exposure to short-wave radio broadcast signal on salivary melatonin concentrations in dairy cattle. *J-Pineal-Res.* 22/4, 171-176
- STEVENS, R.G. (1987) Electric power use and breast cancer: a hypothesis. *Am. J. Epidemiol.* 125, 556-561.
- STEVENS, R.G. AND S. DAVIS (1996) The melatonin hypothesis: electric power and breast cancer. *Environmental Health Perspectives* 104, 135-140
- STOLL, S. UND W.E. MÜLLER (1996) Melatonin - Hormon oder Wundermittel? *Psychopharmakotherapie* 1, 2-7
- STEVENS, R.G. (2000) The Melatonin Hypothesis: Circadian Disruption and Breast Cancer. Cologne International Symposium: Low frequency EMF, Visible Light, Melatonin and Cancer, May 4-5, 2000

- WILSON, B.W., E.K. CHESS AND L.E. ANDERSON (1986) 60Hz Electric-field effects on pineal melatonin rhythms: time course for onset and recovery. *Bioelectromagnetics* 7, 239-242
- UTIGER, R.D. (1992) Melatonin - the hormone of darkness. *N. Engl. J. Med.* 327, 1377-1379.
- YANOVSKY J., J. WITCHER, N. ADLER, S.P. MARKEY AND D.C. KLEIN (1987) Stimulation of the paraventricular nucleus area of the hypothalamus elevates urinary 6-sulphatoxymelatonin during daytime. *Brain Res. Bull.* 19, 129-133
- YELLON, S.M. (1994) Acute 60 Hz magnetic field exposure effects on the melatonin rhythm in the pineal gland and circulation of the adult Djungarian hamster. *J. Pin. Res.* 16, 136-144

### 2.3 Literatur Cortisol

- von BORELL, E., J. LADEWIG (1986) Möglichkeiten der Erfassung von chronischen Belastungsreaktionen beim Schwein mit Hilfe von Nebennierenrinden-Funktionsprüfungen und ethologischen Merkmalen. In: KTBL (Hrsg.) Aktuelle Arbeiten zur artgemäßen Tierhaltung 1985. KTBL-Schrift 311, 30-36
- BAMBERG, E. (1987) Endokrinium. In: Scheunert, A., A. Trautmann Lehrbuch der Veterinärphysiologie. 7. Aufl., Paul Parey Verlag, Berlin, 437-477
- BUDDECKE, E. (1989) Grundriss der Biochemie. 8. Aufl., Walter de Gruyter Verlag, Berlin
- FOX, L., W.R. BUTLER, R.W. EVERETT, R.P. NATZKE (1981) Effect of Adrenocorticotropin on milk and plasma cortisol and prolactin concentrations. *J Dairy Sci* 64, 1794-1803
- KAUFMANN, C., R. THUN (1998) Einfluß von akutem Streß auf die Sekretion von Cortisol und Progesteron beim Rind. *Tierärztl. Umschau* 53, 403-409
- LADEWIG, J., D. SMIDT (1989) Behavior, episodic secretion of cortisol, and adrenocortical reactivity in bulls subjected to tethering. *Horm. Behav.* 23, 344-60
- LEBELT, D., S. SCHÖNREITER, A.J. ZANELLA (1996) Salivary cortisol in stallions: the relationship with plasma levels, daytime profile and changes in response to semen collection. *Pferdeheilkunde* 12, 411-414
- PAAPE, M.J., D.W. CARROLL, A.J. KRAL, R.H. MILLER, C. DESJARDINS (1974) Corticosteroids, circulating leukocytes, and erythrocytes in cattle: diurnal changes and effects of bacteriologic status, stage of lactation, and milk yield on response to adrenocorticotropin. *Am. J. Vet. Res.* 35, 355-362
- REDBO, I. (1993) Stereotypies and cortisol secretion in heifers subjected to tethering. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 38, 213-225
- ROBIA, C. (1998) Bestimmung der Konzentration von Kortisolmetaboliten im Kot von Wiederkäuern als Parameter für die Kortisolkonzentration im Blut. Diss. med. vet., Universität Wien
- SCHÖNREITER, S., H. HUBER, V. LOHMÜLLER, A.J. ZANELLA, J. UNSHELM, J. HENKE, W. ERHARDT (1999) Speichelcortisol als Stressparameter bei Saugferkeln. *Tierärztl. Prax.* 27 (G), 175-179

- SELYE H (1951) Das allgemeine Adaptationssyndrom als Grundlage für eine einheitliche Theorie der Medizin. Dtsch. Med. Wochenschr. 76, 965-7, 1001-3
- TERMEULEN, S. B., W.R. BUTLER, R.P. NATZKE (1981) Rapidity of cortisol transfer between blood and milk following adrenocorticotropin injection. J. Dairy Sci., 2197-2200
- THUN R (1987) Untersuchungen über die Tagesrhythmik von Cortisol beim Rind. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart
- THUN, R., D. SCHWARTZ-PORSCHKE (1994) Nebennierenrinde. In: DÖCKE, F. (Hrsg.) Veterinärmedizinische Endokrinologie. 3. Aufl., Gustav Fischer Verlag, Jena, 309-56
- UNSHELM, J. (1991) Reaktionen landwirtschaftlicher Nutztiere als Indikatoren der Haltungsumwelt. Swiss Vet 8, 9-15

## VIII. Danksagung

Gemeinsam bedanken wir uns bei allen Landwirten und ihren Familien für die Teilnahme an dieser Studie und für die gute Kooperation während der Untersuchungen. Dem Bayerischen Staatsministerium für Landesentwicklung und Umweltfragen, dort besonders Frau Dr. Evi Vogel, danken wir für gute Zusammenarbeit und jede gewährte Unterstützung.

Den Betreiberfirmen T-mobil, Mannesmann Mobilfunk, E-plus und VIAG Interkom danken wir für die Teilfinanzierung der Studie, sowie für die Bereitstellung von Literatur und technischem Gerät.

Die Gießener Untersucherguppe wurde von Kollegen des Institutes für Veterinärpathologie, des Instituts für Virologie, des Instituts für Parasitologie, der Klinik für Wiederkäuer, der Arbeitsgruppe Biomathematik des Fachbereichs Veterinärmedizin, der Zentralen biotechnischen Betriebseinheit des Strahlencentrums der Universität und des Staatlichen Veterinäruntersuchungsamtes für Südhessen in Frankfurt durch die Übernahme von Teil- und Gegenuntersuchungen sowie engagierte Diskussionen dankenswerterweise unterstützt.

Die Münchener Arbeitsgruppe dankt Herrn Dr. Siegfried Platz, Akademischer Oberrat am Institut für Tierhygiene, Verhaltenskunde und Tierschutz für seine Diskussionsbeiträge, Frau Dr. Michaela Schneider und Hermann Kuchler, Angestellte im selben Haus, für die Unterstützung bei der Probenahme und Frau Dr. Sandra Schönreiter-Fischer für die Beratung im Zusammenhang mit dem ACTH-Belastungstest.

Herrn Professor Dr. Klaus Osterkorn, Institut für Tierzucht der Tierärztlichen Fakultät in München, sowie Herrn Dr. Michael Wiseman, Leibnitz-Rechenzentrum München danken wir für die statistische Beratung.

Der Deutschen-Reisemobil-Vermietung in der Landsberger Strasse in München sei für die freundliche und kooperative Zusammenarbeit gedankt.