

Departement für Nutztiere
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. H. Bollwein

Arbeit unter der Leitung von Prof. em. Dr. Dr. h. c. U. Braun

**Haarcortisolkonzentrationen bei Kälbern verschiedener Produktionslabels
und bei solchen mit und ohne Bronchopneumonie**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

Amelie Margarethe Rosalia Wiest

Tierärztin
aus Pfarrweisach, Deutschland

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. Dr. h. c. U. Braun, Referent
Prof. Dr. T. Lutz, Korreferent

2018

Für meine lieben Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

1. ZUSAMMENFASSUNG	1
2. SUMMARY	2
3. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG	3
4. LITERATURÜBERSICHT	5
4.1. Haltungsbedingungen und Produktionslabels in der Schweizer Kälbermast	5
4.1.1. Qualitätsmanagement Schweizer Fleisch	6
4.1.2. Naturafarm	7
4.1.3. KAGfreiland	8
4.2. Häufigkeit und Bedeutung der chronischen Bronchopneumonie für die Wirtschaftlichkeit von Kälbern	9
4.3. Stress	10
4.3.1. Definition von Stress	11
4.3.2. Chronische Krankheiten als Stressor	12
4.4. Haarcortisolkonzentrationen	13
4.4.1. Cortisolnachweis im Haar und dessen Validität	13
4.4.2. Einfluss des Gesundheitszustands auf die Haarcortisolkonzentration	13
4.4.3. Einfluss der Umwelt auf die Haarcortisolkonzentration	14
4.4.4. Einfluss von Haltungsbedingungen auf die Haarcortisolkonzentration	14
4.5. Nebennieren	14
4.5.1. Anatomie, Histologie und Funktion der Nebennieren	14
4.5.2. Gewicht der Nebennieren	15
4.5.3. Einfluss von Stress auf die Nebennieren	15
5. MATERIAL UND METHODIK	16
5.1. Untersuchte Tiergruppen	16
5.2. Gruppe 1: Kälber von 3 verschiedenen Produktionslabels	16
5.3. Gruppe 2: Kälber mit und ohne Bronchopneumonie	17
5.4. Schlachtung, Gewinnung von Haar- und Organproben (Gruppen 1A, 1B, 2A, 2B)	18
5.5. Haarproben bei KAG-Freilandkälbern (Gruppe 1C)	18
5.6. Untersuchung der verschiedenen Proben	19
5.6.1. Haare	19
5.6.2. Lungen	19
5.6.3. Labmägen	19
5.6.4. Nebennieren	19
5.6.5. Entscheid für die Gruppeneinteilung	20
5.6.6. Haarcortisolbestimmung	20

5.6.7. Cortisolextraktion und -bestimmung in den linken Nebennieren	21
5.6.8. Histologische Untersuchung der rechten Nebennieren	22
5.7. Statistik	24
5.8. Zusammenarbeit mit anderen Institutionen	24
5.9. Tierversuchsbewilligung	25
6. ERGEBNISSE	26
6.1. Gruppe 1: Kälber mit 3 verschiedenen Produktionslabels	26
6.1.1. Haarcortisolkonzentrationen	26
6.1.2. Nebennieren	26
6.1.2.1. Nebennierengewichte	27
6.1.2.2. Histologische Untersuchung der rechten Nebennieren der QM- und Naturafarm-Kälber	28
6.1.3. Gewicht und Cortisolgehalt der linken Nebennierenrinde	30
6.1.4. Korrelation zwischen den Nebennierenrinden- und den Haar- cortisolkonzentrationen	31
6.1.5. Labmagenulzera	31
6.1.6. Korrelationen bei Kälbern von 2 verschiedenen Produktionslabels	33
6.2. Gruppe 2: Kälber mit und ohne Bronchopneumonie	33
6.2.1. Haarcortisolkonzentrationen	33
6.2.2. Nebennieren	34
6.2.2.1. Nebennierengewichte	34
6.2.2.2. Histologische Untersuchung der rechten Nebennieren von Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie	35
6.2.3. Gewicht und Cortisolgehalt der rechten Nebennierenrinde	37
6.2.4. Untersuchung der Lungen	37
6.2.5. Korrelationen bei den Kälbern mit und ohne Broncho- pneumonie	38
6.3. Vergleich der Haarcortisolkonzentrationen der Gruppen 1 und 2	39
7. DISKUSSION	40
7.1. Vergleich der Haarcortisolkonzentration mit der Literatur	40
7.2. Vergleich der Haarcortisolkonzentration bei Kälbern von 3 verschiedenen Labels	41
7.3. Vergleich der Haarcortisolkonzentration bei Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie	42
7.4. Gewicht der Nebennieren bei Kälbern verschiedener Labels	44
7.5. Gewicht der Nebennieren bei Kälbern mit und ohne Broncho- pneumonie	44
7.6. Histologische Befunde bei Kälbern 2 verschiedener Labels	45
7.7. Histologische Befunde bei Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie	46
7.8. Rindenschichten und corticomedulläres Verhältnis bei Kälbern von 2 verschiedenen Labels	46

7.9. Rindenschichten und corticomedulläres Verhältnis bei Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie	47
7.10. Nebennierenmarkbreite und -gewicht bei Kälbern von 2 verschiedenen Labels	47
7.11. Nebennierenmarkbreite und -gewicht bei Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie	47
7.12. Cortisolgehalt der Nebennieren bei Kälbern von 2 verschiedenen Labels	47
7.13. Cortisolgehalt der Nebennieren bei Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie	48
7.14. Einzelne Tiere mit stark erhöhten Haarcortisolkonzentrationen	48
7.15. Häufigkeit von Labmagenulzera	49
7.15. Schlussfolgerungen	50
8. LITERATURVERZEICHNIS	52
9. DANKSAGUNG	
10. LEBENSLAUF	

1. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde die Haarcortisolkonzentration bei Kälbern von 3 verschiedenen Produktionslabels und bei solchen mit und ohne Bronchopneumonie bestimmt. Im ersten Versuch wurden die Haarcortisolkonzentrationen von 115 Kälbern 3 verschiedener Produktionslabels (Qualitätsmanagement Schweizer Fleisch (QM), Naturafarm, KAG-Freiland) bestimmt. Bei den QM- und den Naturafarm-Kälbern erfolgte die Haargewinnung im Rahmen der Schlachtung. Gleichzeitig wurden auch die Nebennieren für die makroskopische und histologische Untersuchung sowie für die Bestimmung der Cortisolkonzentration in den Nebennierenrinden entnommen, und es wurde sichergestellt, dass die inneren Organe makroskopisch unverändert waren. Im zweiten Versuch wurden die oben beschriebenen Untersuchungen bei je 50 Schlachtkälbern mit und ohne Bronchopneumonie durchgeführt. Bei Kälbern mit Bronchopneumonie musste mindestens ein Drittel der Lunge pneumonisch verändert sein. Die Kälber ohne Bronchopneumonie durften keine Lungenveränderungen aufweisen. Die Haarcortisolkonzentration aller 215 Kälber reichte von 0.10 bis 11.55 pg/mg. Der Cortisolgehalt der Nebennieren variierte von 0.24 bis 6.15 µg/g. Die Haar- und Nebennierencortisolkonzentrationen der verschiedenen Gruppen unterschieden sich nicht signifikant. Das Gleiche wurde für die Nebennierengewichte festgestellt. Die Nebennierenkapsel ($P < 0.01$) und die Zona glomerulosa ($P < 0.01$) der Nebennierenrinden der Kälber des QM-Labels bzw. die Kapsel ($P < 0.01$) und die Zona fasciculata und die Zona reticularis ($P < 0.05$) der kranken Kälber waren signifikant dicker als diejenigen der Naturafarm-Kälber und der Kälber ohne Bronchopneumonie. 29.3% aller untersuchten Kälber wiesen Labmagenulzera auf. Die Hypothese, dass sich die Art der Kälberhaltung und das Vorkommen von Bronchopneumonie auf die Haarcortisolkonzentration auswirkt, konnte mit den vorliegenden Untersuchungen nicht bestätigt werden.

2. SUMMARY

Hair cortisol concentration was measured in veal calves of three different production labels and in calves with and without bronchopneumonia. A total of 215 calves were sampled. In the first experiment, the hair cortisol concentration of 115 veal calves of three different production labels was measured (Qualitätsmanagement Schweizer Fleisch [QM], Naturafarm, KAG-Freiland). In QM and Naturafarm calves, hair was collected at slaughter. Adrenal glands were collected concurrently for macroscopic and histologic examination and cortisol measurement of the cortex, and the internal organs were examined macroscopically. Hair samples were collected from KAG-Freiland calves at three different farms. In the second experiment, 50 veal calves with and without bronchopneumonia were sampled using the same method described in the first experiment. Calves were classified as having bronchopneumonia when at least one third of the lungs was affected, and calves were classified as being free of bronchopneumonia when there were no lung lesions. The median hair cortisol concentration of all 215 calves ranged from 0.10 to 11.55 pg/mg, and the cortisol concentration of the adrenal cortex ranged from 0.24 to 6.15 µg/g. The weight of the adrenal glands and the cortisol concentrations of hair and adrenal cortex did not differ significantly among the different groups of calves. The adrenal capsule ($P < 0.01$) and the zona glomerulosa ($P < 0.01$) of the QM calves and the capsule ($P < 0.01$) and the zonae fasciculata and reticularis ($P < 0.05$) of the bronchopneumonic calves were significantly thicker compared with the Naturafarm calves and the calves without bronchopneumonia from experiment 2. Abomasal ulcers were seen in 29.3% of all calves. The hypothesis that husbandry practices and the occurrence of bronchopneumonia affect hair cortisol concentration of veal calves was rejected based on the findings of the present study.

3. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

In der Schweiz existiert ein wachsender Bedarf der Verbraucher nach tierfreundlicher Produktion, welche die Standards der aktuellen Verordnungen und Gesetze zum Tierwohl überschreitet. Als Konsequenz daraus sind in den letzten Jahren auch für die Kalbfleischproduktion verschiedene Labels in der Schweiz entstanden (BÄHLER et al., 2010). Neben der Haltung stellt besonders auch die Tiergesundheit einen entscheidenden Faktor für das Tierwohl dar. Mannigfache, auf den tierischen Organismus einwirkende Reize wie Traumen, Operationen, extreme physische Belastungen, thermische Einflüsse oder plötzliche Umweltveränderungen beeinflussen als Stressoren über das Zentralnervensystem den Hypophysenvorderlappen (DÖCKE, 1981). Chronischer Stress übt einen Einfluss auf die Immunkompetenz, die Reproduktion, den Stoffwechsel und das Verhalten der Tiere aus (MOBERG, 2000). Die Schlüsselkomponente der physiologischen Antwort auf Stress ist Cortisol (DAVENPORT et al., 2006). Bei Belastung werden in erhöhtem Mass Glukokortikoide gebildet. Diese verfügen unter anderem über immunsuppressive Eigenschaften (MÖSTL, 2010). Als massgebliches Hormon der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (HPA-Achse) wird für die Beurteilung von Stress Cortisol bestimmt (MORMÈDE et al., 2007). Die Cortisolkonzentration unterliegt zirkadianen Schwankungen, und für die Erfassung von chronischen Geschehen sind deshalb mehrmalige Probenentnahmen in regelmässigen, zeitnahen Abständen nötig (D'ANNA-HERNANDEZ et al., 2011). Für die Erfassung von chronischem Stress hat sich gezeigt, dass Substrate wie Blut oder Speichel nur kurzfristige Änderungen erfassen, und dass Haare besser geeignet sein sollen (STALDER und KIRSCHBAUM, 2012). In den letzten Jahren wurden diverse Untersuchungen zur Thematik der Cortisolbestimmung im Haar von Rindern durchgeführt (zitiert in BRAUN et al., 2017a). Mehrere Autoren (DAVENPORT et al., 2006; RUSSELL et al., 2012) kamen zum Schluss, dass die Haarcortisolkonzentration als neuer Biomarker für chronischen Stress verwendet werden kann. Die Ziele dieser Arbeit wa-

ren es, abzuklären, ob sich die Haarcortisolkonzentrationen bei Kälbern verschiedener Produktionslabels unterscheiden und ob dies auch für Kälber mit und ohne Bronchopneumonie gilt.

4. LITERATURÜBERSICHT

4.1. Haltungsbedingungen und Produktionslabels in der Schweizer Kälbermast

Die konventionelle Fleischproduktion in der Schweiz erfüllt die gesetzlichen Mindeststandards für tiergerechte Haltung. Diese sind im Tierschutzgesetz vom 16. Dezember 2005, in der Tierschutzverordnung vom 23. April 2008 und in der Verordnung des Bundesamts für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen (BLV) über die Haltung von Nutztieren und Haustieren vom 27. August 2008 und in den technischen Weisungen vom 25. November 2013 des BLV festgehalten. In der Schweiz wurden in den vergangenen Jahren verschiedene Produktionslabels für die Fleischproduktion geschaffen, welche unterschiedlich weit über die Mindestanforderungen der artgerechten Tierhaltung hinausgehen. Eines davon ist das Label "Qualitätsmanagement Schweizer Fleisch" (QM) des Schweizer Bauernverbandes; dieses ist in der Schweiz weit verbreitet und beruft sich, was die Haltung und Fütterung betrifft, auf das Schweizer Tierschutzgesetz. Die schweizerischen Grossverteiler Coop und Migros haben ebenfalls ihre eigenen Vermarktungslabell geschaffen. Es handelt sich dabei um "Naturafarm" (Coop) und "TerraSuisse" (IP-Suisse; Migros), deren eigene Richtlinien schon weitergehen. Zu den strengsten Labels, was die Vorgaben und Richtlinien betrifft, gehören "Demeter", "Bio Suisse" und "KAGfreiland". Alle Labels verfügen über eigene Richtlinien und Voraussetzungen. Diese müssen von den Erzeugern erfüllt werden, um mit dem jeweiligen Logo vermarktet werden zu dürfen. Tierfreundlichere Haltungsbedingungen unterscheiden sich gegenüber der konventionellen Haltung vor allem darin, dass den Kälbern mehr Platz zur Verfügung steht, dass sie Auslauf und zum Teil sogar täglichen Weidegang haben und dass die Anzahl der medikamentösen Behandlungen während der Mastperiode je nach Richtlinien eingeschränkt ist.

4.1.1. Qualitätsmanagement Schweizer Fleisch

Die geringsten Anforderungen werden an die konventionelle Kälberhaltung gestellt, wozu auch das Label "Qualitätsmanagement Schweizer Fleisch" (QM) gezählt wird. Hier schreibt das TIERSCHUTZGESETZ (2005) folgendes vor: Kälber dürfen bis zum maximal 14. Lebenstag einzeln gehalten werden. In diesem Fall muss dem Kalb mindestens ein Raum von 85 x 130 cm zur Verfügung stehen. Im Alter von 2 Wochen bis 4 Monate müssen die Kälber in Gruppen gehalten werden, sofern sich mehr als ein Kalb auf dem Betrieb befindet. Ausgenommen sind Kälber, die einzeln in Unterkünften mit permanentem Zugang zu einem Gehege im Freien gehalten werden; diese müssen aber Sichtkontakt zu anderen Artgenossen haben. Bis 4 Monate alte Kälber dürfen, bis auf maximal 30 Minuten zum Tränken, nicht angebunden gehalten werden und ihr Liegebereich, mindestens 1.2 bis 1.5 m² gross, muss mit genügend geeigneter Einstreu versehen sein. Die Buchtenfläche muss minimal 2.4 bis 3.0 m² gross sein. Ab der 3. Lebenswoche muss geeignetes Raufutter, z. B. Heu oder Mais, zur freien Aufnahme zur Verfügung stehen; Stroh allein genügt nicht. Das QM-Label bildet die Voraussetzung, dass das Fleisch später mit dem Siegel "Suisse Garantie" verkauft werden darf. Viele Schlachtlokale nehmen nur noch Tiere an, die mindestens als "SUISSE GARANTIE" vermarktet werden können (QM-SCHWEIZER-FLEISCH, 2011b). QM-Fleisch steht für Tierhaltung und -fütterung gemäss der schweizerischen Gesetzgebung für Transparenz, Rückverfolgbarkeit und Fleisch aus Schweizer Herkunft (QM-SCHWEIZER-FLEISCH, 2011a). Zusammenfassend steht das QM-Label, was die Haltungsbedingungen, die Fütterung und tierärztliche Behandlungen betrifft, für die konventionelle Haltung. Das Label beruft sich auf die Schweizer Gesetzgebung und die Anforderungen gehen nicht darüber hinaus. Der Unterschied zu Kälbern ohne Label besteht vor allem darin, dass QM eine Mindesthaltungsdauer in der Schweiz vorschreibt (5 Monate für Schlachtreuhen, für Kälber die gesamte Lebensdauer) und dass die Betriebe unabhängig kontrolliert werden. Zudem müssen die Erzeuger den ökologischen Leistungsnachweis erbringen (QM, 2017) .

4.1.2. Naturafarm

Es existiert ein wachsender Bedarf der Verbraucher für tierfreundliche Produktion, welche die Standards der aktuellen Verordnungen und Gesetze zum Tierwohl überschreiten (BÄHLER et al., 2010). Aus diesem Bedarf heraus haben viele Organisationen Produktionslabels geschaffen, die über die Mindestanforderungen des Schweizer Tierschutzgesetzes zur artgerechten Tierhaltung hinausgehen. Das Label "Naturafarm" entstand 2007 und ging aus dem im Jahr 2004 gegründeten Label "Naturaplan" (Coop) hervor. Es handelt sich hierbei um ein Tierhaltungsprogramm und Vermarktungsetikette. In den Richtlinien von "Coop Naturafarm Kalb" wird unter anderem mehr Platz vorgeschrieben. Kälber unter 4 Monaten müssen mindestens 3.5 m² (Liege-, Fress- und Laufbereich inklusive Laufhof) pro Kalb zur Verfügung haben; bei weniger als 3 Tieren muss die Gesamtfläche mindestens 10 m² gross sein. Weiter muss täglicher Zugang zu einem Laufhof oder einer Weide gewährleistet sein. Der Landwirt muss nachweisen, dass er mit allen unter 160 Tage alten Kälbern an den Tierwohlprogrammen "Besonders tierfreundliche Stallhaltung" (BTS) und "Regelmässiger Auslauf von Nutztieren im Freien" (RAUS) teilnimmt und dass er den ökologischen Leistungsnachweis erbringt. Die Kälber müssen auf einem Betrieb in der Schweiz geboren sein. Es wird eine Tieranzahl von 20 bis 30 Mastkälbern pro Gruppe empfohlen und die maximale Tieranzahl wird auf 50 Mastkälber pro Gruppe festgelegt. Weiter heisst es, dass die Tiere mindestens 80 Tage auf dem Coop Naturafarm Mastbetrieb verbringen müssen. Die Kälber müssen frei in Gruppenhaltungssystemen oder -iglus gehalten werden und Einzelhaltung ist bis auf in den Richtlinien festgelegte Ausnahmen nicht erlaubt. Die Beschaffung der Kälber sollte aus dem eigenen Betrieb oder aus wenigen Betrieben aus der Region erfolgen, welche ab der Geburt des Tieres auf gute Pflege und Haltung sowie ausreichende Kolostrumversorgung achten und kurze, direkte Transporte zum Mastbetrieb garantieren. Die Kälber dürfen frühestens ab dem 21. Lebenstag das erste Mal transportiert werden. Es dürfen keine Tiere über öffentliche Märkte beschafft werden. Der Wechsel vom Geburts- zum Mastbetrieb und vom Mastbetrieb in den Schlachthof

muss für alle Tiere innerhalb von 24 Stunden vollzogen sein. Zwischenstallungen sind nicht erlaubt. Ein Naturafarm Mastkalb darf in seinem ganzen Leben (von der Geburt bis zur Schlachtung) höchstens auf 2 Betrieben gewesen sein, was anhand der TVD-Nummer kontrolliert wird (NATURAFARM, 2016). Das Ziel dieses Labels ist es, neben vermehrtem Tierwohl auch eine verbesserte Tiergesundheit zu erreichen (LUGINBÜHL et al., 2012).

4.1.3. KAGfreiland

Bei dem 1975 gegründeten Label "KAGfreiland" handelt es sich um das Label eines gemeinnützigen Vereins. Bis 2016 stand die Abkürzung für "Konsumenten-Arbeits-Gruppe für Tier und umweltfreundliche Nutztierhaltung", dann wurde das Kürzel umbenannt in "Konsequent Artgerecht Gehalten". Voraussetzung für den KAGfreiland-Produktions- und Tierhaltungsvertrag sind die Einhaltung des Schweizer Tierschutzgesetzes, der zugehörigen Verordnung und der Ethoprogrammverordnung mit den darin verankerten Tierwohlprogrammen BTS und RAUS des Bundes sowie der Richtlinien von Bio Suisse und der labelinternen Vorschriften. Alle Kälber müssen in Laufställen mit regelmässigem Auslauf ins Freie gehalten und mit biozertifizierten Futtermitteln getränkt bzw. gefüttert werden. Kälber dürfen in den ersten 2 Wochen zur besseren Betreuung und Beobachtung einzeln gehalten werden; sie brauchen aber mindestens eine Liegefläche von 1.5 m² und einen zusätzlichen Auslaufbereich bis zum Alter von 4 Monaten. Ab der 3. Lebenswoche bis zu einem Alter von 4 Monaten müssen jedem Kalb minimal 10 m² Gesamtfläche (Liege-, Fress- und Laufbereich) inklusive permanent zugänglichem Laufhof zur Verfügung stehen. Raufutter muss den Kälbern bereits ab dem 3. Lebenstag angeboten werden. Unangemeldete Kontrollen durch unabhängige Kontrollfirmen und die jeweiligen Kantone garantieren die Einhaltung der Bestimmungen. Schlachttiertransporte dürfen höchstens 2 Stunden dauern (nicht wie gesetzlich vorgeschrieben 6 bzw. 8 Stunden), in Ausnahmefällen mit Genehmigung 3 Stunden. Finden mehr als 3 Behand-

lungen mit chemisch-synthetischen allopathischen Tierarzneimitteln oder Antibiotika oder mehr als eine therapeutische Behandlung statt (wenn die produktive Lebensdauer kürzer als ein Jahr ist), dürfen die Tiere bzw. deren Erzeugnisse nicht mehr als biologisch verkauft werden (KAGFREILAND, 2017).

4.2. Häufigkeit und Bedeutung der chronischen Bronchopneumonie für die Wirtschaftlichkeit von Kälbern

Nach BUSATO et al. (1997) sind in der Schweiz ungefähr 50 % der Verluste in der Ammenkuhhaltung auf Respirationskrankheiten zurückzuführen. MARTIG (1976) traf diese Aussage für die Milchmast. Neueren Untersuchungen zu Folge sind respiratorische Erkrankungen bei den Schweizer Mastkälbern für etwas mehr als einen Viertel der Kälberverluste verantwortlich (BÄHLER et al., 2012). Virusinfektionen des Respirationstrakts stellen, von gewöhnlichen Erkältungen bis hin zu lebensbedrohenden Pneumonien, die meistvorkommenden viralen Erkrankungen weltweit dar (GARIBALDI, 1985). Die enzootische Bronchopneumonie ist die zweithäufigste Todesursache (BÄHLER et al., 2012) und der häufigste Grund für den Einsatz von Antibiotika (LUGINBÜHL et al., 2012; LAVA et al., 2016b). Sie ist eine der beiden wichtigsten Gründe für Morbidität und Mortalität bei Kälbern und betrifft sowohl Tränke- als auch abgetränkte Kälber (POULSEN und McGUIRK, 2009). Bei der enzootischen Bronchopneumonie handelt es sich um eine typische Faktorenerkrankung, die gehäuft bei nasskaltem Wetter, aber auch direkt nach Transporten und Vermarktungen auftritt (KASKE, 2016). Stress und eine dadurch reduzierte Immunitätslage ermöglichen es den krankmachenden Viren und Bakterien, sich zu vermehren (KIRCHHOFF et al., 2014). Bei den eine Bronchopneumonie überlebenden Kälbern treten viele, sich negativ auswirkende Langzeitkonsequenzen wie subklinische, klinische, oder chronische Pneumonien auf. Diese führen später bei Aufzuchtkälbern zu einer Reduktion von Wachstum, Fruchtbarkeit, Milchproduktion und Langlebigkeit (WALTNER-TOEWS et al., 1986; WARNICK et al., 1997; DONOVAN et al., 1998). Die Wirtschaftlichkeit der Kälberaufzucht wird erheblich

durch das Auftreten von Erkrankungen bzw. Tierverlusten beeinflusst. Zu den finanziellen Einbussen durch eingegangene Kälber kommen wirtschaftliche Verluste durch Aufwendungen für den Tierarzt und Medikamente sowie ein vermehrter zeitlicher Aufwand für die Versorgung kranker Kälber dazu (KASKE, 2016). Die Häufigkeit der Erkrankung variiert von Betrieb zu Betrieb erheblich (LAVA et al., 2016a). Es kann davon ausgegangen werden, dass in der Schweiz auf Zukaufbetrieben mindestens jedes dritte Kalb aufgrund von enzootischer Bronchopneumonie behandelt wird (KASKE, 2017). Die täglichen Zunahmen bei Tieren mit enzootischer Bronchopneumonie liegen um 50 bis 200 g/Tag (auf die gesamte Mastdauer bezogen) niedriger als bei lungengesunden Tieren (THOMPSON et al., 2006; WILLIAMS et al., 2007; MACCARI et al., 2015). Mastkälber mit einer einmaligen Erkrankung weisen im Vergleich zu nicht erkrankten Kälbern ein 2.6 Mal höheres Mortalitätsrisiko auf (PARDON et al., 2013). In der Bestandesmedizin besteht derzeit die Auffassung, dass Rinder, die im ersten Lebensjahr 3 Mal oder häufiger krank waren, nicht besamt werden sollten, da sie ihr Leistungspotential als Milchkuh nicht mehr realisieren können (KASKE, 2017).

4.3. Stress

Stress ist ein alltäglicher Begriff (GOODNITE, 2014). Nach SELYE (1976) ist Stress wichtig für das Leben; die totale Elimination von Stress käme dem Tod gleich. Auch MOBERG (2000) erwähnt die psychologisch befriedigende bis sogar berauschende Wirkung von Stress, erwähnt aber auch, dass Stress zu Krankheiten, Entwicklungsschäden oder Fortpflanzungsproblemen führen kann. Verschiedene Autoren (URSIN und MURISON, 1984; MOBERG, 2000; GOODNITE, 2014) betonen die Unklarheit der Definition von Stress, da die Verwendung dieses Begriffs allgemein weit verbreitet ist.

4.3.1. Definition von Stress

Der Terminus „Stress“ bezeichnet eine biologische Antwort auf eine individuell empfundene Bedrohung des physiologischen Gleichgewichts, welche der Stressor ist (MOBERG, 2000). Nach BANKS (1982) liegt der Unterschied zwischen Stress und keinem Stress in der Aktivierung der Nebennierenrinde. Bei Stress im Sinne einer akuten Aktivierung handelt es sich zunächst um eine physiologische Anpassung, die aber pathologische Auswirkungen haben kann, sofern eine Adaptation des Organismus an den Stressor nicht erfolgt oder nicht möglich ist (MCEWEN und STELLAR, 1993; KOOLHAAS et al., 2011). Eine länger anhaltende oder in kurzen Abständen immer wiederkehrende häufige Stresssituation kann zu einer chronischen Stresssystemaktivierung führen (BURCHFIELD, 1979; WRIGHT et al., 2007). Chronischer Stress ist durch länger anhaltende hohe Blutcortisolkonzentrationen charakterisiert (MUNCK et al., 1984; LIPTRAP, 1993). GOODNITE (2014) definiert Stress nach ausführlichen Vergleichen in der Literatur anhand der folgenden 3 Punkte, nämlich erstens, dem Auftreten von Anspannung, Belastung oder Druck als Stimulus auf den Organismus, zweitens, der Unfähigkeit des Organismus, der Herausforderung adäquat zu begegnen, und drittens, eine Antwort des Organismus auf den Stressor messen zu können. Potentielle Stressoren können z. B. Platzmangel oder häufiges Umstallen und damit verbundene Änderungen der Gruppenzusammensetzung sein (FERNÁNDEZ et al., 2007). Weiter tragen auch mangelnde Hygiene, ungeeignete klimatische Verhältnisse oder steigender Infektionsdruck zu geringerem Wohlbefinden der Tiere (BOON und WRAY, 1989) und damit zur Reduktion der individuellen Adaptationskapazität bei (KOOLHAAS et al., 2011). Wird das Wohlbefinden des Tieres beeinträchtigt, so handelt es sich um Distress (negativer Stress). Eine Stressantwort, die für das biologische Gleichgewicht des Körpers nicht beeinträchtigend wirkt, wird als Eustress (positiver Stress) angesehen (SELYE, 1976; MOBERG, 2000). BREAZILE (1987) ergänzt diese Begriffe noch mit dem Begriff *Neutral Stress*. Damit ist Stress gemeint, der sich weder positiv

noch negativ auswirkt. Weiter wird zwischen endogenem und exogenem Stress unterschieden. Endogener Stress kommt geistig oder körperlich zustande, exogener Stress wirkt von aussen auf den Organismus ein (BREAZILE, 1987). INGVARTSEN (2006) beschreibt den Zusammenhang von haltungsbedingtem Umweltstress und den steigenden Ansprüchen an den Stoffwechsel bei Kühen in der peri- und postpartalen Übergangsperiode. Als Umweltstress werden jegliche Änderungen der Umweltsituation, welche als unvorhersehbare Stressoren eine Verschiebung des regulatorischen Bereichs oder der Adaptationskapazität hervorrufen, bezeichnet (KOOLHAAS et al., 2011).

4.3.2. Chronische Krankheiten als Stressor

Chronische Krankheiten stellen für den Organismus einen massiven, krankheitsbedingten Stress dar (WOSU et al., 2013). Stress beeinträchtigt das Immunsystem speziell durch die Aktivierung der HPA-Achse (BLECHA, 2000; MOBERG, 2000). Im Hypothalamus wird das Corticotropin-Releasing-Hormon (CRH) synthetisiert, das in der Hypophyse die Ausschüttung von Corticotropin (Adrenocorticotropic Hormone, ACTH) stimuliert. ACTH wiederum fördert das Wachstum der Nebennierenrinde und stimuliert die Synthese und Ausschüttung von Glukokortikosteroiden. CRH aktiviert zusätzlich noch den Sympathikus, mindert die Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme und wirkt lokal entzündungssteigernd. ACTH wirkt (vorwiegend hemmend) auf die Immunabwehr (LANG, 2010). Die Nebennieren haben also eine sehr wichtige Funktion bei der Stressreaktion: Ungünstige Situationen aktivieren die Nebennieren mit der Konsequenz, dass die Glukokortikoid- und/oder die Katecholaminkonzentration im Blut ansteigt (MUNCK et al., 1984; LIPTRAP, 1993). Eine Überproduktion von Glukokortikoidsteroiden führt zur vermehrten Bildung von neutrophilen Granulozyten, parallel wird die Bildung von eosinophilen und basophilen Granulozyten, Monozyten und T-Lymphozyten gehemmt (MUNCK et al., 1984; LANG, 2010). Auch die Bildung bzw. Ausschüttung von Entzündungs-

mediatoren wie Prostaglandinen, Interleukinen, Lymphokinen, Histamin und Serotonin wird verringert. Weiter hemmen Glukokortikoide die Freisetzung lysosomaler Enzyme. Somit unterdrücken Glukokortikosteroide die Immunabwehr. Durch ihre einschränkende Wirkung auf die Zellteilung und die Kollagensynthese sind Reparationsvorgänge bei Verletzungen oder Entzündungen erschwert. Stärkster Stimulus für die Ausschüttung von CRH, ACTH und somit Cortisol ist Stress. Die Cortisolausschüttung ist bei schwerer physischer (z. B. Infektionen) und psychischer (z. B. Angst) Belastung und Schmerzen gesteigert (LANG, 2010). Die durch die erhöhte Cortisolausschüttung aus den Nebennieren hervorgerufene Immunsuppression wiederum führt zu einem vermehrten Vorkommen von Krankheiten bei Tieren, die unter Stress leiden (MOBERG 2000). Folgen von Distress sind reduzierte Futteraufnahme, Magen-Darmulzera, Dysbalancen im Elektrolythaushalt und Urtikaria. Weiter verursacht chronischer Stress Muskelschwäche und eine erhöhte Anfälligkeit für Infektionskrankheiten (BREAZILE, 1987). Beim Hund z. B. führt die atopische Dermatitis als chronisch entzündliche Erkrankung zu erhöhter Haarcortisolkonzentration (PARK et al., 2016). Auch bei Katzen, die unter einer deutlichen Infektion mit *Microsporium canis* leiden, wurden höhere Haarcortisolkonzentrationen als bei Katzen ohne diese Infektion nachgewiesen (GALUPPI et al., 2013).

4.4. Haarcortisolkonzentrationen

4.4.1. Cortisolnachweis im Haar und dessen Validität

Diese Themen wurden bereits in der Masterarbeit von Nico Michel (MICHEL, 2016) beschrieben und sollen deshalb an dieser Stelle nicht wiederholt werden.

4.4.2. Einfluss des Gesundheitszustands auf die Haarcortisolkonzentration

Diese Thematik wurde bereits in den Masterarbeiten von Georg Clavadetscher (CLAVADETSCHER, 2016) und Nico Michel (MICHEL, 2016) beschrieben und soll deshalb an dieser Stelle nicht wiederholt werden.

4.4.3. Einfluss der Umwelt auf die Haarcortisolkonzentration

Der Einfluss der Umwelt auf die Haarcortisolkonzentration wurde bereits in der Masterarbeit von Georg Clavadetscher (CLAVADETSCHER, 2016) beschrieben und soll deshalb an dieser Stelle nicht wiederholt werden.

4.4.4. Einfluss von Haltungsbedingungen auf die Haarcortisolkonzentration

Rhesusaffen wiesen nach einer Umsiedlung in eine neue Umgebung mit neuen Artgenossen deutlich höhere Haarcortisolwerte als in ihrer zuvor gewohnten Umgebung auf (DAVENPORT et al., 2006). Nach einem Jahr in der neuen Umgebung wurden die Ausgangswerte wieder erreicht. Ebenso konnte bei Kaninchen der Rasse Weisse Neuseeländer nach einem Umzug und auch bei Personalwechsel ein Anstieg des Cortisols im Haar nachgewiesen werden (PERIC et al., 2017). Auch bei asiatischen Schwarzbären übten die Haltungsbedingungen einen starken Einfluss auf die Aktivität der HPA-Achse aus: MALCOLM et al. (2013) stellten nach Umzug der Bären von Bärenfarmen mit schlechten Haltungsbedingungen in Auffangstationen eine Reduktion der Haarcortisolkonzentration um 12 bis 88 % fest. Bei Milchkühen kam es zu einem, wenn auch nur geringen, Anstieg des Haarcortisols nach der Umstellung von Winterhaltung im Stall auf die sommerliche Weidehaltung in den Bergen (COMIN et al., 2011). Nach CASAL et al. (2017) wiesen Schweine, die über 4 Wochen in einem besonders artgerechten Stall mit Beschäftigungsmöglichkeiten wie Bällen, Hanfseilen und Sägespänen zum Wühlen gehalten wurden, signifikant tiefere Haarcortisolwerte als Artgenossen in Ställen ohne diese Beschäftigungsmassnahmen auf.

4.5. Nebennieren

4.5.1. Anatomie, Histologie und Funktion der Nebennieren

Die Anatomie, Histologie und Funktion der Nebennieren wurden bereits in der Masterarbeit von Manuel Stirnimann (STIRNIMANN, 2017) beschrieben. Der Autor

kam in seiner Arbeit zum Ergebnis, dass sich die Nebennierenkapsel nie gleichmässig darstellte, sondern von unregelmässiger Dicke war und teils knotige Strukturen bildete. Weiter fand er bei seinen histologischen Untersuchungen knotige Hyperplasie und Melanose, welche sich vor allem im Übergang der Kapsel zur Zona glomerulosa manifestierte. Bei 84.8 % seiner Fälle wurden, besonders im Zytoplasma der Zellen der Zona glomerulosa, eosinophile Granula festgestellt. Bei 8 Kühen war eine extramedulläre Hämatopoese zu sehen. Der Autor kam zum Schluss, dass die histologische Untersuchung der Nebennieren das Ausmessen der Nebennierenstrukturen und deren histologische Beurteilung ermöglichte; sie war jedoch nicht geeignet, um grundsätzliche Unterschiede zwischen gesunden, akut und chronisch kranken Kühen aufzudecken.

4.5.2. Gewicht der Nebennieren

Untersuchungen über das Gewicht der Nebennieren wurden bereits in der Masterarbeit von Georg Clavadetscher (CLAVADETSCHER, 2016) beschrieben. In der Arbeit von BRAUN et al. (2017a) korrelierten die Nebennierengewichte positiv mit dem Alter und Gewicht der Kühe; es konnten aber keine signifikanten Unterschiede zwischen akut und chronisch kranken Kühen festgestellt werden.

4.5.3. Einfluss von Stress auf die Nebennieren

Der Einfluss von Stress auf die Nebennieren wurde bereits in der Masterarbeit von Manuel Stirnimann (STIRNIMANN, 2017) beschrieben. Eine Hypothese in der genannten Arbeit bestand darin, dass chronisch kranke Kühe vermutlich dickere Nebennierenrinden aufwiesen als akut kranke. Die Hypothese konnte allerdings durch die in der Masterarbeit durchgeführten Untersuchungen nicht bestätigt werden. Allerdings wiesen chronisch kranke Kühe signifikant schwerere Nebennierenmarkgewichte als akut kranke auf. Weiter wurden bei den akut kranken Kühen tendenziell höhere Nebennierencortisolkonzentrationen als bei den chronisch kranken festgestellt.

5. MATERIAL UND METHODIK

5.1. Untersuchte Tiergruppen

Die Untersuchungen wurden zwischen dem 28. August 2016 und dem 9. Mai 2017 an den 2 Tiergruppen 1 und 2 durchgeführt. Es sollte abgeklärt werden, ob sich die Haarcortisolkonzentrationen von Kälbern verschiedener Produktionslabels sowie von Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie unterscheiden. Die Tiergruppe 1 umfasste 115 Kälber von 3 verschiedenen Produktionslabels und die Tiergruppe 2 100 Kälber mit und ohne Bronchopneumonie. Die Kälber waren 100 bis 257 Tage alt (152 ± 25 Tage) und wogen zwischen 69.5 kg und 250 kg (134.4 ± 20.0).

5.2. Gruppe 1: Kälber von 3 verschiedenen Produktionslabels

Die Untersuchungen in der Gruppe 1 wurden durchgeführt, um abzuklären, ob sich die Haarcortisolkonzentrationen bei Kälbern von 3 verschiedenen Produktionslabels unterscheiden. Die Gruppe umfasste 115 Kälber, die wie folgt aufgeteilt wurden:

- Gruppe 1A: 50 Kälber des Produktionslabels "Qualitätsmanagement Schweizer Fleisch": Die Gruppe 1A umfasste 50 am Schlachthof Zürich geschlachtete Kälber im Alter von 106 bis 257 Tagen (155 ± 28 Tage) und einem Lebendgewicht von 80.5 bis 158.5 kg (131.6 ± 15.4 kg). Alle Kälber mussten gesund und nicht an Trichophytie erkrankt sein. Im Weiteren durften sie bei der Schlachtung mit Ausnahme von Labmagen-Typ-1-Ulzera keine pathologisch-anatomischen Veränderungen der inneren Organe, insbesondere keine makroskopischen Lungenveränderungen aufweisen.
- Gruppe 1B: 50 Kälber mit dem Produktionslabel "Naturafarm": Die Kälber der Gruppe 1B umfasste 50 am Schlachthof Bell Schweiz AG in Oensingen geschlachtete Kälber im Alter von 119 bis 173 Tagen (144 ± 13 Tage) und einem Lebendgewicht von 108 bis 145 kg (126.3 ± 9.4 kg). Alle Kälber mussten gesund und nicht an Trichophytie erkrankt sein. Im Weiteren durften sie bei der Schlachtung mit Ausnahme von Labmagen-Typ-1-Ulzera keine pathologisch-anatomischen

Veränderungen der inneren Organe, insbesondere keine makroskopischen Lungenveränderungen aufweisen.

- Gruppe 1 C: 15 Kälber mit dem Produktionslabel "KAG-Freiland": Die Gruppe 1C umfasste 15 gesunde, nicht mit Medikamenten behandelte Kälber, die für die Aufzucht oder den Weiterverkauf bestimmt waren und nicht geschlachtet wurden. Die Kälber stammten von 3 verschiedenen landwirtschaftlichen Betrieben des Kantons Zürich. Die Betriebe wurden über die Homepage des Labels "KAG-Freiland" (<https://www.kagfreiland.ch/label/bauern>) ermittelt und die Besitzer wurden um die Erlaubnis zur Probenentnahme gebeten. Die Kälber waren zum Zeitpunkt der Probenentnahme 100 bis 239 Tage (139 ± 38 Tage) alt und 150 bis 250 kg (189.5 ± 33.7 kg) schwer.

5.3. Gruppe 2: Kälber mit und ohne Bronchopneumonie

Die Untersuchungen in der Gruppe 2 wurden durchgeführt, um abzuklären, ob sich die Haarcortisolkonzentrationen von Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie unterscheiden. Die Gruppe umfasste 100 Kälber, die in die folgenden 2 Untergruppen aufgeteilt wurden:

- Gruppe 2A: 50 Kälber mit Bronchopneumonie: Die Kälber der Gruppe 2A umfasste 50 am Schlachthof Zürich geschlachtete Kälber im Alter von 109 bis 230 Tagen (158 ± 28 Tage) und einem Lebendgewicht von 69.5 bis 157.5 kg (132.5 ± 15.6 kg). Die Lunge der Kälber dieser Gruppe musste bei der postmortalen Untersuchung makroskopisch zu mindestens einem Drittel bronchopneumonisch verändert sein.
- Gruppe 2B: 50 Kälber ohne Bronchopneumonie: Die Kälber der Gruppe 2B umfasste 50 am Schlachthof Zürich geschlachtete Kälber im Alter von 100 bis 194 Tagen (156 ± 19 Tage) und einem Lebendgewicht von 101 bis 165 kg (136.2 ± 14.5 kg). Die Lunge der Kälber dieser Gruppe durfte bei der postmortalen Untersuchung keine makroskopischen Veränderungen aufweisen.

5.4. Schlachtung, Gewinnung von Haar- und Organproben (Gruppen 1A, 1B, 2A, 2B)

Bei den Untersuchungen im Schlachthof Zürich bzw. im Schlachthof Bell Schweiz AG in Oensingen waren die Doktorandin und zwei Hilfspersonen (für die Mithilfe angestellte Studentinnen) beteiligt. Die Hilfsperson 1 stand im Tötungsbereich und gewann unmittelbar nach der Bolzenschuss-Betäubung und der darauffolgenden Entblutung mittels einer Schermaschine (Aesculap® Favorita CL, Aesculap Suhl GmbH, D-98528 Suhl) vom Stirnbereich ca. 3 g pigmentierte Haare. Diese wurden umgehend in Plastikbehälter verpackt. Die Hilfsperson 2 stand am Schlachtband und trennte die Labmägen mit Hilfe eines Messers vollständig aus dem Magen-Darm-Konvolut heraus und verpackte sie einzeln in stabile Plastiktüten. Die Doktorandin stand ebenfalls am Schlachtband und entnahm mit Hilfe eines Messers die Nebennieren. Zudem beurteilte sie die Lungen während der Untersuchung durch den Fleischbeschauer optisch und palpatorisch und teilte sie den beiden Gruppen mit und ohne Bronchopneumonie zu. Kälber, die den unter 5.3 beschriebenen Anforderungen (entweder keine Lungenveränderungen oder mindestens ein Drittel der Lunge makroskopisch verändert) nicht entsprachen, wurden nicht in die Dissertation aufgenommen.

5.5. Haarproben bei KAG-Freilandkälbern (Gruppe 1C)

Bei der Gruppe 1C wurden die Haare an den lebenden Kälbern auf die gleiche Weise, aber an der Halsregion, entnommen, in Plastikbehälter verpackt und gekennzeichnet. Die Proben wurden auf 3 verschiedenen landwirtschaftlichen Betrieben im Kanton Zürich gewonnen. In 2 der 3 Betriebe wurden die Kälber zusammen mit den Mutterkühen gehalten, im dritten Betrieb waren sie von den Müttern getrennt. Zusammen mit den jeweiligen Landwirten wurden die Kälber kurz fixiert (Fressgitter, Halfter, Festhalten, Treibstand) und mittels Schermaschine wurden ca. 3 g Haare im Halsbereich gewonnen. Auch bei dieser Gruppe wurden ausschliesslich pigmentierte Haare verwendet.

5.6. Untersuchung der verschiedenen Proben

5.6.1. Haare

Die Haare wurden nach der Entnahme lichtgeschützt in einem offenen Behälter 5 bis 7 Tage bei Raumtemperatur vollständig getrocknet und anschliessend in Alufolie verpackt und bis zur Cortisolmessung trocken bei Raumtemperatur aufbewahrt.

5.6.2. Lungen

Die Lungen aller Kälber (mit Ausnahme der Gruppe 1C) wurden während der Fleischuntersuchung makroskopisch und palpatorisch auf bronchopneumonische Veränderungen untersucht und beurteilt. Zudem wurden sie durch den Fleischbeschauer angeschnitten. Zuerst wurden die Hauptbronchen im Längs- und Querschnitt eröffnet. Dann wurden die Lungenlymphknoten (Lnn. bifurcationis, Lnn. tracheobronchialis, Lnn. mediastinales) besichtigt und angeschnitten. Zum Schluss erfolgte ein Längsschnitt durch die Trachea.

5.6.3. Labmägen

Die Labmägen wurden verpackt und innerhalb von 4 Stunden ans Tierspital Zürich verbracht. Dort wurden sie im Kühlraum bei 3.0 °C bis zur weiteren Verarbeitung gelagert (maximal 14 Stunden). Die Labmägen wurden mit einem Messer entlang der grossen Krümmung eröffnet, mit Leitungswasser ausgespült und makroskopisch auf Labmagenulzera untersucht.

5.6.4. Nebennieren

Die Nebennieren wurden in stabile Plastiksäcke verpackt und innerhalb von 4 Stunden zur weiteren Analyse ans Tierspital Zürich verbracht. Dort wurden von der Doktorandin beide Nebennieren mittels einer feinen Schere und Pinzette vom umgebenden Gewebe freipräpariert und einzeln gewogen. Anschliessend wurde die rechte Nebenniere bis zur histologischen Untersuchung in 4%iges Formalin eingelegt und die linke Nebenniere wurde bei -70°C tiefgefroren.

5.6.5. Entscheid für die Gruppeneinteilung

Die Kälber, deren Lungen zu mindestens einem Drittel deutlich makroskopisch bronchopneumonisch verändert waren, wurden in die Gruppe 2A eingeteilt. Die Kälber, die den Gruppen 1A, 1B und 2B zugeteilt wurden, durften keine makroskopischen Lungenveränderungen aufweisen.

5.6.6. Haarcortisolbestimmung

Die Bestimmung der Haarcortisolkonzentration erfolgte im Zentrum für Forensische Haaranalytik des Instituts für Rechtsmedizin der Universität Zürich nach der von BINZ et al. (2016) beschriebenen Methode. Zuerst wurden die Haare mehrstufig äusserlich gereinigt. Dazu wurden sie mit 15 ml Wasser für eine Stunde bei 40 °C gewaschen, dann mit 10 ml Aceton 2 Minuten lang nachgereinigt und anschliessend bei Raumtemperatur getrocknet. Für die weitere Analyse wurde ein Aliquot von 20 mg der gewaschenen Haare in ein Sarstedt-Gefäss (Tube 30 ml, 107 x 25 mm, PP, SARSTEDT®) eingewogen. Die Haare wurden darin mit einer Schere in Stücke von ca. 0.5 mm Länge geschnitten. Für die Kontrolle der gesamten Extraktion und Aufarbeitung wurde als interner Standard D7-Cortison (CAS-Nr. 1261254-36-7, Cerilliant®), 2000 pg pro Einwaage, hinzugefügt. Anschliessend wurde aus den Haarfragmenten über Nacht mit 3 ml Methanol (LC-MS CHROMASOLV®, Fluka®) bei konstanter Ultraschallbehandlung bei 50 °C für 16 Stunden das Cortisol extrahiert. Die Extrakte wurden bei 35 °C unter Stickstoff eingedampft und anschliessend in 150 µl Methanol und 350 µl LC-Laufmittel A (Wasser mit 1 mM Ammoniumformiat und 0.1 % Ameisensäure) resuspendiert. Die erhaltenen Analyseproben wurden mittels der substanzspezifischen Methodenkombination LC-MS/MS (Flüssigkeitschromatographie, gekoppelt mit Massenspektrometrie) gemessen. Das LC-MS/MS System bestand aus einer Shimadzu Prominence XR Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC), die an ein Massenspektrometer (Sciex QTRAP® 5500, Darmstadt, Germany) angeschlossen war.

5.6.7. Cortisolextraktion und -bestimmung in den linken Nebennieren

Die Präparation der Nebennierenrinden erfolgte im Department für Nutztiere, die Cortisolextraktion im Institut für Veterinärphysiologie und die Cortisolbestimmung mittels Chemielumineszenztest im Veterinärmedizinischen Labor. Das Vorgehen wurde in der Masterarbeit von Manuel Stirnimann (STIRNIMANN, 2017) bereits im Detail beschrieben.

Präparation der linken Nebennieren

Die bis zur Untersuchung bei -70 °C tiefgefrorenen linken Nebennieren wurden bei Raumtemperatur ca. 15 Minuten angetaut. Anschliessend wurden sie mit Hilfe eines Skalpell (22 mm) in der Sagittalebene halbiert. Mit einer Skalpellklinge (10 mm) wurde das Nebennierenmark beider Hälften von der Nebennierenrinde getrennt und verworfen. Die gesamte Nebennierenrinde wurde gewogen und erneut bei -70 °C eingefroren. Das Gewicht des Nebennierenmarks wurde durch Subtraktion des Nebennierenrindengewichts vom Gesamtgewicht der Nebenniere (bereits vor dem Tiefgefrieren) errechnet.

Cortisolextraktion aus den linken Nebennieren

Die Cortisolextraktion aus der linken Nebennierenrinde erfolgte nach der Extraktionsanleitung von KUNTZ et al. (2006) und dem Extraktionsprotokoll aus dem Cortisol EIA Kit von Oxford Biomedical Research (Product Number: EA65). Es wurden zwei Stücke à 0.1 g des Nebennierenrindengewebes entnommen und mit einem Extraktionspuffer (150 mmol/l NaCl, 50 mmol/l Tris/HCl pH 7.4) versetzt und homogenisiert. Anschliessend wurde das Gemisch zentrifugiert. Ein Teil des Homogenisats wurde mit Äther versetzt und mit einem Vortexmischer geschüttelt, damit das Cortisol in den Äther überging. Das Homogenisat wurde wenige Minuten stehen gelassen, bis es sich in eine Äther- (obere Phase) und Pufferphase (untere Phase) geteilt hatte. Die Ätherphase wurde darauf in ein Reagenzglas abpipettiert und mit Stickstoffgas evaporiert. Die untere Phase wurde verworfen. Durch die Evaporation

der Ätherphase setzte sich das Cortisol als feine Schicht am Reagenzglas ab, welche dann mit einem Extraktionspuffer (Zusammensetzung wie oben) gelöst wurde. Bis zur weiteren Bearbeitung wurden die Proben bei -20 °C tiefgefroren.

Cortisolbestimmung in den Extrakten

Die Cortisolkonzentration wurde mit einem für die Untersuchung menschlicher Proben entwickelten Cortisol-Test (Cortisol Immulite, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Zürich, Schweiz) durch ein Chemielumineszenzverfahren in einem Vollautomaten (Immulite® 1000, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Zürich, Schweiz) bestimmt. Die Testeinheit enthielt eine mit Cortisol-Antikörpern (polyklonal, Kaninchen) beschichtete Kugel, einen Cortisol-Reagenzbehälter, der 7.5 ml mit alkalischer Phosphatase unkonjugiertes Cortisol in Pufferlösung enthielt, und Cortisol-Kalibratoren. 10 µl der Probe wurden zusammen mit dem Reagens pipettiert und jeweils für 30 Min. bei 37 °C inkubiert. Während der Inkubation wurde das Testsystem mitzentrifugiert; dabei wurde die Reaktionsflüssigkeit in einen Sammelbehälter verlagert. Nach mehreren Waschungen wurde das ungebundene, markierte Cortisol aus der Probe entfernt und das Chemielumineszenz-Substrat wurde zur Testeinheit hinzugefügt. Die Lichtemission wurde photometrisch gemessen. Vor jeder Untersuchungsreihe wurden zwei Kontrollseren gemessen.

5.6.8. Histologische Untersuchung der rechten Nebennieren

Die histologischen Untersuchungen wurden im Institut für Veterinärpathologie durchgeführt. Die Anfertigung der histologischen Schnitte der rechten Nebennieren und deren Beurteilung erfolgten von Februar bis Mai 2017 durch die Doktorandin unter Anleitung von Frau Dr. M. Hilbe. Für die histologische Untersuchung wurde mit dem Skalpell in der Mitte der Nebenniere ein ca. 20 x 15 x 5 mm grosser Querschnitt herausgeschnitten und in Einbettkapseln aus Kunststoff verbracht. Die Gewebeeinbettung wurde, wie von RIEDELSHEIMER et al. (2010) beschrieben, in leicht modifizierter Form durchgeführt: Im ersten Schritt wurden die Präparate

durch eine aufsteigende Alkoholreihe von 70, 90, 96 und 100 % mit dem Gewe-
entwässerungsautomaten Tissue-TEK[®] VIP[®] Jr. (Sakura) entwässert. Anschliessend
wurden die Schnitte in ein Intermedium (Xylol) verbracht, das sich mit Alkohol und
Paraffin mischen liess. Darauf wurden die Schnitte in Paraffinblöcke eingebettet.
Um die Gewebeproben später im Lichtmikroskop analysieren zu können, wurden
die Paraffinblöcke nach Aushärtung am Rotationsmikrotom Hyrax M55 (Zeiss) in
optisch transparente Gewebeproben geschnitten. Mittels eines Wasserbads erfolgte
anschliessend die Übertragung der Paraffinschnitte auf die Objektträger. Das Trock-
nen (60 °C) und Färben der Schnitte wurde im Färbeautomaten Tissue-Tek[®] Prisma
(Sakura) durchgeführt. Darauffolgend wurden die Schnitte mit Hilfe von Xylol ent-
paraffiniert, mit einer absteigenden Alkoholreihe bearbeitet und mit dem wasserlös-
lichen Farbstoff Hämotoxylin Eosin (HE) eingefärbt. Anschliessend erfolgten eine
nochmalige Dehydrierung mit einer Alkoholreihe in aufsteigender Konzentration
und die abschliessende Eindeckung zum Dauerpräparat durch den Folieneindeck-
automaten Tissue-Tek[®] Film[®] (Sakura). Von den HE-Schnitten der Nebennieren
wurden zusätzlich digitale Scans (Hamamatsu NanoZoomer) angefertigt, um diese
mit dem Programm NDP.view2 NanoZoomer Digital Pathology (Hamamatsu) his-
tologisch beurteilen und vermessen zu können. Vermessen wurden die Kapseldicke
(μm), die Breite (μm) der drei Nebennierenrindenschichten Zona glomerulosa, Zona
fasciculata und Zona reticularis sowie die Markbreite (μm). Die Zona fasciculata
war im HE-Schnitt nur sehr schlecht von der Zona reticularis zu unterscheiden; aus
diesem Grund wurden diese Zonen zusammen ausgewertet. Die Kapsel und die Rin-
denschichten wurden an jeweils 10 und das Mark an jeweils 5 verschiedenen Stellen
vermessen. Aus den Messwerten wurden die Mittelwerte bestimmt. Das corticome-
dulläre Verhältnis wurde danach nach der Methode von TERIO et al. (2004) errech-
net.

5.7. Statistik

Alle statistischen Analysen wurden mit dem Programm R (R CORE TEAM, 2016) durchgeführt. Es wurden die folgenden Variablen analysiert: Alter, Gewicht, Haarcortisolkonzentration, Cortisolkonzentration in den Extrakten der linken Nebennieren, Gewichte beider Nebennieren (absolutes und relatives Gewicht), Ausdehnung der einzelnen Nebennierenstrukturen (Kapsel, Nebennierenrinde [Zona fasciculata, Zona reticularis, Zona glomerulosa], Nebennierenmark), Labmagenulkus vorhanden oder nicht, und Bronchopneumonie vorhanden oder nicht. Die beiden letzteren waren ordinaler Natur, alle anderen numerisch. Zuerst wurden alle numerischen Variablen mit Hilfe von Quantil-Quantil-Plots auf ihre Verteilung hin überprüft. Weiter wurde die Verteilung mittels des Wilk-Shapiro-Tests mit dem Programm STATA 12.1 (StataCorp LP, College Station, Texas, USA) analysiert. Bei der deskriptiven Statistik wurden bei normalverteilten Werten der Mittelwert und die Standardabweichung, bei nicht normalverteilten der Medianwert bestimmt. Da beim Grossteil der Daten keine Normalverteilung vorlag, wurden die Daten für die analytische Statistik mit einem Logarithmus transferiert und normalverteilt. Die Abhängigkeiten zwischen den numerischen Daten wurden mittels einer Varianzanalyse (ANOVA, Analysis of Variance) und diejenige der ordinalen Daten mit dem Kruskal-Wallis-Test überprüft. Die Korrelationen wurden mit Hilfe des Pearson'schen Tests bestimmt. Die Gruppen 1 und 2 wurden getrennt voneinander untersucht. Das Signifikanzniveau für alle Tests war 0.05.

5.8. Zusammenarbeit mit anderen Institutionen

Am Zustandekommen der vorliegenden Arbeit waren neben der Abteilung für Nutztiermedizin der Klinik für Wiederkäuer (Prof. Dr. Dr. h. c. U. Braun) die folgenden Institute und Abteilungen der Vetsuisse-Fakultät und der Medizinischen-Fakultät der Universität Zürich beteiligt:

- Zentrum für forensische Haaranalytik des Instituts für Rechtsmedizin (Dr. M. Baumgartner): Bearbeitung der Haarproben durch Frau Dr. T. Binz und ihre Mitarbeiterinnen.
- Institut für Veterinärphysiologie (Prof. Dr. T. Lutz): Cortisolextraktion aus den linken Nebennieren durch Herrn Beat Grenacher, Frau med. vet. Kerstin Lindner und die studentischen Hilfskräfte Nicole Bichsel, Morena Amsler und Andrea Leuthardt.
- Veterinärmedizinisches Labor (Frau Prof. Dr. R. Hofmann-Lehmann): Cortisolbestimmung aus den Nebennierenextrakten durch Frau Dr. B. Riond und die Mitarbeiterinnen des Veterinärmedizinischen Labors.
- Institut für Veterinär-Pathologie (Frau Prof. Dr. A. Kipar): Durchführung der histologischen Schnitte und Anleitung bei der histologischen Untersuchung durch Frau Dr. M. Hilbe.
- Abteilung Ambulanz und Bestandesmedizin (Prof. Dr. M. Hässig): Hilfe bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.
- Schlachthof Zürich: Bereitstellung des Probenmaterials.
- Schlachthof Bell Schweiz AG Oensingen: Bereitstellung des Probenmaterials.
- Drei Landwirte aus dem Kanton Zürich: Bereitstellung der Kälber für die Probenentnahmen.

5.9. Tierversuchsbewilligung

Für die Untersuchungen bei den KAG-Freilandkälbern lag eine Tierversuchsbewilligung des Kantonalen Veterinäramts Zürich ZH295/14 vor. Die Bewilligung war gültig vom 26. 1. 2017 bis 19. 2. 2018.

6. ERGEBNISSE

6.1. Gruppe 1: Kälber mit 3 verschiedenen Produktionslabels

6.1.1. Haarcortisolkonzentrationen

Die durchschnittlichen Haarcortisolkonzentrationen (Medianwerte) der QM-Kälber betragen 2.4, diejenigen der Naturafarm-Kälber 2.3 und die der KAG-Freilandkälber 1.8 pg/mg Haar (Tab. 1). Die Werte der 3 Gruppen unterschieden sich nicht signifikant.

Tab. 1: Haarcortisolkonzentrationen bei 115 Kälbern verschiedener Produktionslabels (Medianwerte, Schwankungsbreiten in Klammern)

Gruppe	Label	Cortisol (pg/mg Haar)
1A (n = 50)	QM-Kälber	2.4 (0.69 – 8.76)
1B (n = 50)	Naturafarm-Kälber	2.3 (0.96 – 11.55)
1C (n = 15)	KAG-Freiland-Kälber	1.8 (0.26 – 10.34)

QM Qualitätsmanagement Schweizer Fleisch

6.1.2. Nebennieren

Das Gewicht wurde bei insgesamt 188 von 200 Nebennieren ermittelt. Die linke Nebenniere konnte bei 98 von 100 Kälbern und die rechte bei 90 von 100 Kälbern vollständig und unbeschädigt aus dem Schlachttierkörper entnommen werden. Bei 88 Kälbern waren beide Nebennieren vollständig erhalten. Bei 12 Tieren war eine

der beiden, bei keinem Kalb waren bei der Herausnahme beide Nebennieren beschädigt oder nur unvollständig entfernt worden, so dass deren Gewicht nicht bestimmt werden konnte.

6.1.2.1. Nebennierengewichte

Die Nebennierengewichte der QM- und Naturafarm-Kälber unterschieden sich nicht signifikant. Sie zeigten bezüglich ihres Gewichts eine grosse Variation. Die linke Nebenniere wies ein Gewicht von 3.33 – 7.63 g, die rechte ein solches von 2.92 – 7.54 g auf (Tab. 2). In 76.1% der Fälle war die linke Nebenniere schwerer als die rechte, im Mittel betrug der Gewichtsunterschied 0.3 g. In 23.9 % war die rechte Nebenniere schwerer und bei keinem Kalb waren beide Nebennieren gleich schwer. Auch die relativen Nebennierengewichte der linken und rechten Nebennieren der QM- und Naturafarm-Kälber unterschieden sich nicht signifikant.

Tab. 2: Nebennierengewichte der QM- und Naturafarm-Kälber ($\bar{x} \pm s$ bzw. Medianwerte, Schwankungsbreiten in Klammern)

Parameter	Nebenniere	Gewicht (in g)	
		QM-Kälber (Gruppe 1A)	Naturafarm-Kälber (Gruppe 1B)
Absolut (g)	Links (n = 98)	4.80 (3.68 – 7.63)	4.78 ± 0.78 (3.33 – 7.21)
	Rechts (n = 90)	4.70 ± 0.89 (2.92 – 7.54)	4.44 ± 0.87 (2.99 – 7.14)
Relativ (g/kg Schlachtgewicht)	Links (n = 98)	0.0367 (0.0263 – 0.0783)	0.0381 ± 0.0068 (0.0276 – 0.0560)
	Rechts (n = 90)	0.0364 (0.0222 – 0.0774)	0.0353 ± 0.0072 (0.0219 – 0.0557)

6.1.2.2. Histologische Untersuchung der rechten Nebennieren der QM- und Naturafarm-Kälber

Die Nebennierenkapsel der QM-Kälber war mit 144.3 μm signifikant dicker als diejenige der Naturafarm-Kälber mit 126.5 μm ($P < 0.01$) (Tab. 3). Das Gleiche galt für die Zona glomerulosa, welche bei den QM-Kälbern eine Dicke von 318.4 μm und bei den Naturafarm-Kälbern eine solche von 294.5 μm aufwies ($P < 0.01$). Die übrigen Parameter, d. h. die Nebennierenrinde, die Gesamtdicke von Zona fasciculata und Zona reticularis, die Breite des Nebennierenmarks und das corticomedulläre Verhältnis der beiden Gruppen unterschieden sich nicht signifikant.

Tab. 3: Ausdehnung der einzelnen Nebennierenstrukturen und corticomedulläres Verhältnis bei Kälbern verschiedener Labels ($\bar{x} \pm s$ bzw. Medianwerte, Schwankungsbreiten in Klammern)

Parameter	QM-Kälber (n = 50) (Gruppe 1A)	Naturafarm-Kälber (n = 50) (Gruppe 1B)
Nebennierenrinde (gesamt, μm)	1761.9 \pm 251.03 (1403.80 – 2829.80)	1826.2 \pm 332.42 (1162.60 – 2874.00)
Nebennierenkapsel (μm)	144.3 \pm 24.16** (102.22 – 220.60)	126.5 \pm 23.19 (87.32 – 187.80)
Zona glomerulosa (μm)	318.4** (212.60 – 413.20)	294.5 \pm 53.35 (200.80 – 425.80)
Zona fasciculata + Zona reticularis (μm)	1429.5 (1129.30 – 2506.00)	1531.8 \pm 324.70 (904.70 – 2600.50)
Nebennierenmark (μm)	3164.0 (2056.00 – 6192.00)	3553.1 \pm 1077.26 (1380.00 – 6972.00)

Fortsetzung Tab. 3:

Parameter	QM-Kälber (n = 50) (Gruppe 1A)	Naturafarm-Kälber (n = 50) (Gruppe 1B)
Corticomedulläres Verhältnis	0.5 ± 0.13 (0.27 – 0.81)	0.5 (0.25 – 1.49)

** Differenz zur Gruppe 1B (Naturafarm) $P < 0.01$

Nebenbefunde der histologischen Untersuchung

Bei 11 Kälbern wurden eine noduläre Hyperplasie (Abb. 1), bei 9 Kälbern eine Melanose (Abb. 2) und bei 1 Kalb beide Befunde festgestellt.

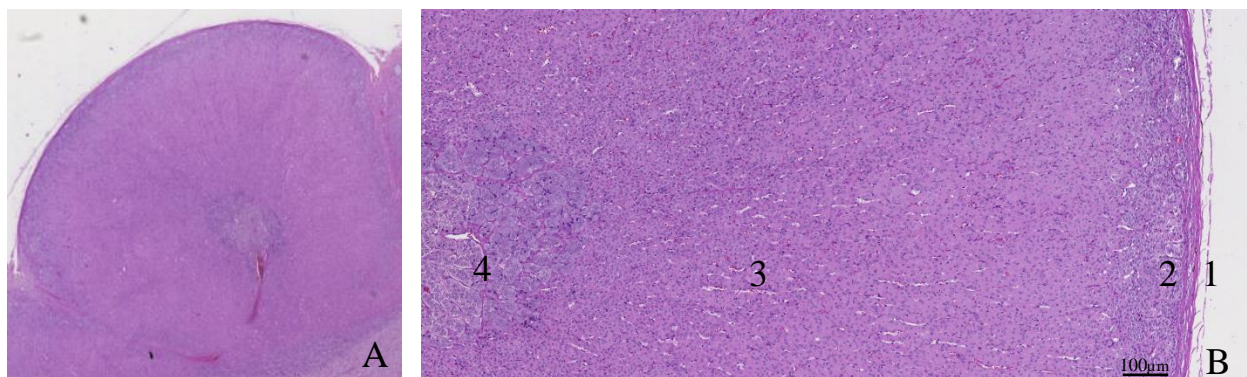


Abb. 1: Noduläre Hyperplasie der rechten Nebenniere eines gesunden, 25 Wochen alten Braunviehkalbes der Gruppe 1A. A Übersicht (Vergrößerung x 1.5), B Ausschnitt (Vergrößerung x 6.4). Die noduläre Hyperplasie zeigt sich in perikapsulären akzessorischen Rindenknötchen. Diese haben den gleichen histologischen Aufbau wie die Nebennieren selbst. 1 Kapsel, 2 Zona glomerulosa, 3 Zona reticularis + Zona fasciculata, 4 Mark, HE-Färbung

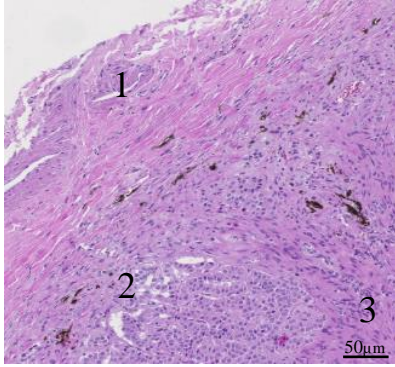


Abb. 2: Melanose im Übergang Zona glomerulosa und Zona fasciculata der rechten Nebenniere eines gesunden, 23 Wochen alten Braunviehkalbes der Gruppe 1B. Die Melanose manifestiert sich in dunkelbraunen bis schwarzen punktierten Verfärbungen. 1 Kapsel, 2 Zona glomerulosa, 3 Zona reticularis + Zona fasciculata, HE-Färbung, Vergrößerung x 10

6.1.3. Gewicht und Cortisolgehalt der linken Nebennierenrinde

Die durchschnittlichen Nebennierenrindengewichte der QM- und der Naturafarm-Kälber unterschieden sich nicht signifikant (3.2 vs. 3.1 g) (Tab. 4). Das Gleiche galt für die Nebennierenmarkgewichte der beiden Gruppen (beide 1.7 g). Auch in Bezug auf die Cortisolgehalte pro g Rinde (4.8 vs. 4.7 µg/g Nebennierenrinde) und die Cortisolkonzentration pro Gesamtnebennierenrinde (1.7 vs. 1.6 µg) waren zwischen den beiden Labelgruppen keine signifikanten Unterschiede festzustellen.

Tab. 4: Gewicht der Nebennierenrinde und Cortisolgehalt der linken Nebenniere von 48 QM- und 49 Naturafarm-Kälbern ($\bar{x} \pm s$ bzw. Medianwerte, Schwankungsbreiten in Klammern).

Parameter	QM-Kälber (n = 48) (Gruppe 1A)	Naturafarm-Kälber (n = 50) (Gruppe 1B)
Gewicht Nebennierenrinde (g)	3.2 (2.16 – 5.41)	3.1 ± 0.45 (1.97 – 4.31)
Gewicht Nebennierenmark (g)	1.7 (0.30 – 2.50)	1.7 (1.10 – 3.09)
Cortisol (µg/g Nebennierenrinde)	1.7 (0.36 – 5.57)	1.6 (0.34 – 6.15)
Gesamtcortisolgehalt der Nebennierenrinde (µg)	4.8 (1.23 – 21.72)	4.7 (1.03 – 17.04)

6.1.4. Korrelation zwischen den Nebennierenrinden- und den Haarcortisolkonzentrationen

Die Cortisolkonzentrationen der linken Nebennierenrinden korrelierten nicht signifikant mit den Haarcortisolkonzentrationen der entsprechenden Kälber ($r = -0.09$, $n = 98$).

6.1.5. Labmagenulzera

Bei 20 von 50 QM- und bei 16 von 50 Naturafarm-Kälbern wurden bei der Sektion der Labmägen Labmagenulzera festgestellt (Abb. 3) (Differenz $P > 0.05$, $\text{Chi}^2 = 0.69$). Die Ulzera variierten im Durchmesser von 0.30 bis 40 mm und in der Tiefe von 0.05 bis 8.00 mm; kein Ulkus war perforierend. Die durchschnittlichen Haar-

und Nebennierenrinden-Cortisolkonzentrationen der 36 Kälber mit Ulzera unterschieden sich nicht signifikant von denen der 64 Kälber ohne Ulzera (2.4 vs. 2.3 pg/mg) (Tab. 5).

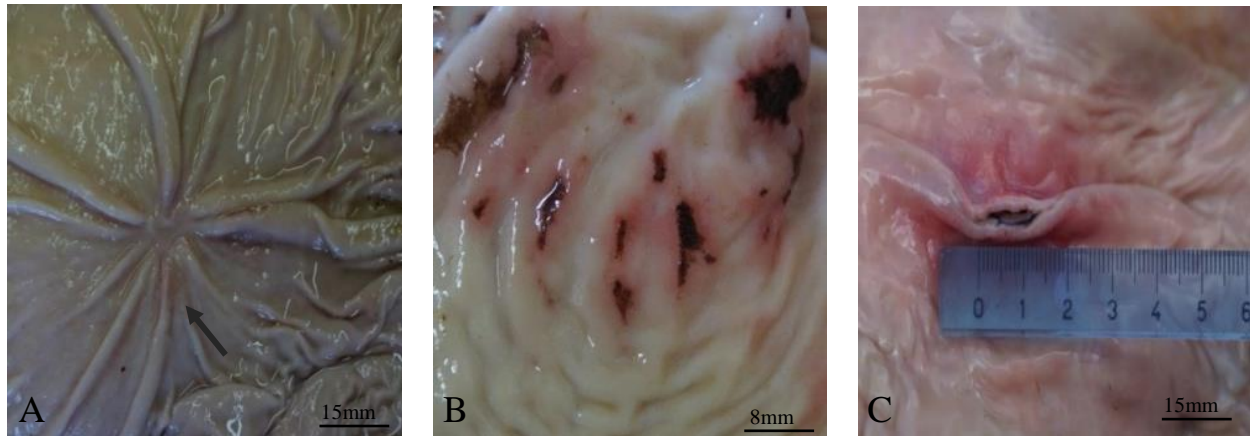


Abb. 3: Labmagenulzera bei klinisch gesunden QM- und Naturafarm-Kälbern. A Vernarbtes Ulkus, eines 32 Wochen alten Holstein-Friesian-Kalbes der Gruppe 1A (QM), B Multiple oberflächliche Ulzera, bei einem 21 Wochen alten Braunviehkalb der Gruppe 1A (QM), C Längliches, nicht perforierendes Ulkus eines Braunviehkalbes der Gruppe 1B (Naturafarm)

Tab. 5: Vergleich der Cortisolkonzentrationen bei Kälbern mit und ohne Labmagenulkus

Parameter	Kälber mit Labmagenulkus (n = 36)	Kälber ohne Labmagenulkus (n = 64)
Haarcortisol (pg/mg)	2.4 (0.69 – 8.76)	2.3 (0.95 – 11.55)
Cortisol/Nebennierenrinde (µg)	4.3 (1.23 – 21.72)	5.4 (1.03 – 17.37)

6.1.6. Korrelationen bei Kälbern von 2 verschiedenen Produktionslabels

Korrelationen zwischen den Haarcortisolkonzentrationen und Alter, Gewicht und Nebennierenmark

Bei den QM- und Naturafarm-Kälbern wurden schwache, allerdings signifikante Korrelationen zwischen den Haarcortisolkonzentrationen und dem Alter ($r = -0.27$, $P < 0.01$), dem Gewicht ($r = -0.23$, $P < 0.05$) und der Breite des Nebennierenmarks ($r = -0.13$, $P < 0.05$) festgestellt.

Korrelationen zwischen den Nebennierengewichten und den Haarcortisolkonzentrationen

Bei den QM- und Naturafarm-Kälbern bestanden keine signifikanten Korrelationen zwischen den absoluten (links, $r = -0.03$; rechts, $r = 0.01$) sowie den relativen (links, $r = -0.04$; rechts, $r = -0.02$) Gewichten der Nebennieren und den Haarcortisolkonzentrationen.

6.2. Gruppe 2: Kälber mit und ohne Bronchopneumonie

6.2.1. Haarcortisolkonzentrationen

Die durchschnittlichen Haarcortisolkonzentrationen (Medianwerte) der Kälber mit Bronchopneumonie betragen 1.9 und diejenigen der Kälber ohne Bronchopneumonie 1.6 pg/mg Haar (Tab. 6). Die Werte der beiden Gruppen unterschieden sich nicht signifikant.

Tab. 6: Haarcortisolkonzentration bei 100 Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie (Medianwerte, Schwankungsbreiten in Klammern)

Gruppe	Diagnose	Cortisol (in pg/mg)
2A (n = 50)	Mit Bronchopneumonie (Gruppe 2A)	1.9 (1.09 – 4.66)

Fortsetzung Tab.6:

Gruppe	Diagnose	Cortisol (in pg/mg)
2B (n = 50)	Ohne Bronchopneumonie (Gruppe 2B)	1.6 (0.1 – 7.27)

6.2.2. Nebennieren

Das Gewicht wurde bei insgesamt 182 von 200 Nebennieren der Gruppen 2A und 2B ermittelt. Die linke Nebenniere konnte bei 90 von 100 Kälbern und die rechte bei 92 von 100 Kälbern vollständig und unbeschädigt aus dem Schlachttierkörper entnommen werden. Bei 84 Kälbern waren beide Nebennieren vollständig vorhanden. Bei 14 Tieren war eine der beiden, bei 2 Tieren waren bei der Herausnahme beide Nebennieren beschädigt oder nur unvollständig herausgenommen worden, so dass deren Gewicht nicht bestimmt werden konnte.

6.2.2.1. Nebennierengewichte

Die Nebennierengewichte der Kälber mit und ohne Bronchopneumonie unterschieden sich nicht signifikant (Tab. 7). Sie zeigten jedoch bezüglich ihres Gewichts eine grosse Variation. Die linken Nebennieren der Kälber ohne Bronchopneumonie wiesen ein Gewicht von 2.49 – 7.35 g (Mittelwert 5.18 ± 1.01), die rechten ein solches von 3.39 – 7.26 g (Mittelwert 4.96 ± 0.87) auf. Die linken Nebennieren der Kälber mit Bronchopneumonie wiesen ein Gewicht von 3.15 – 9.89 g (Median 5.30 g), die rechten ein solches von 3.09 – 9.71 g (Median 5.00 g) auf. In 76.2 % der Fälle war die linke Nebenniere schwerer als die rechte, im Mittel betrug der Gewichtsunterschied 0.3 g. In 23.8 % war die rechte Nebenniere schwerer und bei keinem Kalb waren beide Nebennieren gleich schwer. Auch die relativen Gewichte der linken und rechten Nebennieren der Kälber mit und ohne Bronchopneumonie unterschieden sich nicht signifikant.

Tab. 7: Nebennierengewichte der Kälber mit und ohne Bronchopneumonie ($\bar{x} \pm s$ bzw. Medianwerte, Schwankungsbreiten in Klammern)

Parameter	Nebenniere	Gewicht (in g)	
		Kälber mit Bronchopneumonie	Kälber ohne Bronchopneumonie
Absolut (g)	Links (n = 90)	5.30 (3.15 – 9.89)	5.18 ± 1.01 (2.49 – 7.35)
	Rechts (n = 92)	5.00 (3.09 – 9.71)	4.96 ± 0.87 (3.39 – 7.26)
Relativ (g/kg Schlachtgewicht)	Links (n = 90)	0.0387 (0.0250 – 0.0994)	0.0385 ± 0.0081 (0.0174 – 0.0573)
	Rechts (n = 92)	0.0369 (0.0202 – 0.0834)	0.0351 (0.0251 – 0.0548)

6.2.2.2. Histologische Untersuchung der rechten Nebennieren von Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie

Die Nebennierenkapsel der Kälber mit Bronchopneumonie war mit 144.9 µm signifikant dicker als diejenige der Kälber ohne Bronchopneumonie mit 131.6 µm ($P < 0.01$) (Tab. 8). Das Gleiche galt für die Zona fasciculata und Zona reticularis, welche bei den Kälbern mit Bronchopneumonie eine Dicke von 1425.0 µm und bei den gesunden Kälbern eine solche von 1478.5 µm aufwies ($P < 0.05$). Die Breite des Nebennierenmarks war bei den Kälbern ohne Bronchopneumonie mit 3305.0 µm signifikant grösser als bei den Kälbern mit Bronchopneumonie mit 3178.0 µm ($P < 0.01$). Die übrigen Parameter, d. h. die Nebennierenrinde, die Zona glomerulosa und das corticomedulläre Verhältnis der beiden Gruppen unterschieden sich nicht signifikant.

Tab. 8: Ausdehnung der einzelnen Nebennierenstrukturen und corticomedulläres Verhältnis bei Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie ($\bar{x} \pm s$ bzw. Medianwerte, Schwankungsbreiten in Klammern)

Parameter	Mit Bronchopneumonie (n = 49) (Gruppe 2A)	Ohne Bronchopneumonie (n = 50) (Gruppe 2B)
Nebennierenrinde (gesamt, μm)	1840.0 \pm 342.30 (1258.70 – 2870.40)	1807.7 \pm 267.70 (1087.40 – 2448.40)
Nebennierenkapsel (μm)	144.9 \pm 26.54 ** (87.71 – 216.02)	131.6 \pm 22.48 (92.98 – 188.98)
Zona glomerulosa (μm)	316.4 (212.50 – 459.60)	329.2 \pm 57.12 (223.10 – 489.50)
Zona fasciculata + Zona reticularis (μm)	1425.0* (1005.60 – 2621.20)	1478.5 \pm 248.72 (864.30 – 2127.90)
Nebennierenmark (μm)	3178.0 (1778.00 – 8210.00)	3305.0** (2274.00 – 6870.00)
Corticomedulläres Verhältnis	0.6 (0.18 – 0.93)	0.5 \pm 0.16 (0.22 – 1.06)

* P < 0.05, ** P < 0.01

Nebenbefunde der histologischen Untersuchung

Bei 24 Kälbern wurden eine noduläre Hyperplasie, bei 12 Kälbern eine Melanose und bei 5 Kälbern beide Befunde festgestellt.

6.2.3. Gewicht und Cortisolgehalt der linken Nebennierenrinde

Die Kälber mit und ohne Bronchopneumonie unterschieden sich in Bezug auf die Nebennierenrinden- und die Nebennierenmarkgewichte sowie die Cortisolkonzentrationen in den Nebennieren nicht signifikant (Tab. 9).

Tab. 9: Nebennierencortisolgehalt und Gewicht der Nebennierenrinde und des Nebennierenmarks bei Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie ($\bar{x} \pm s$ bzw. Medianwerte, Schwankungsbreiten in Klammern)

Parameter	Mit Bronchopneumonie (n = 49)	Ohne Bronchopneumonie (n = 50)
Gewicht Nebennierenrinde (g)	3.5 (1.77 – 6.90)	3.3 ± 0.68 (1.98 – 5.32)
Gewicht Nebennieren- mark (g)	1.8 (0.70 – 3.67)	1.7 (0.44 – 3.76)
Cortisol (µg/g Nebennierenrinde)	1.4 (0.32 – 5.54)	1.1 (0.24 – 4.49)
Gesamtcortisolgehalt der Nebennierenrinde (µg)	4.6 (0.87 – 28.82)	3.7 (0.79 – 16.33)

6.2.4. Untersuchung der Lungen

Um das Ziel zu erreichen, je 50 Lungen von Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie zu erhalten, mussten die Lungen von insgesamt 118 Kälbern beurteilt werden. 18 Kälber erfüllten die geforderten Kriterien nicht, da sie weitere Organmängel wie Nieren- oder Leberschäden aufwiesen. Die 50 Lungen der Kälber ohne Bronchopneumonie (Gruppe 2B) wiesen definitionsgemäss keine Veränderungen auf. Bei den 50 Lungen der Kälber mit Bronchopneumonie (Gruppe 2A) waren deutliche bronchopneumonische Veränderungen wie diffuse, grau-rote, zum Teil auch

dunkelrot-violette Verfärbungen (Marmorierung) der Lungenflügel, eine deutliche Volumenzunahme der Lungenlappen, Koagulationsnekrosen, Abszesse, fibrinöse Auflagerungen bis Verklebungen und Lungenemphyseme zu sehen. Je nach Befund liessen sich auch unterschiedliche Konsistenzen des Lungengewebes feststellen. Bei Vorhandensein eines alveolären Lungenemphysems war die Lunge blassrosa, nicht kollabiert und wies eine puffige Konsistenz auf, bei der katarrhalisch-eitrigen-Bronchopneumonie war das Lungengewebe fester. Die Veränderungen waren meist am deutlichsten im Bereich der ventralen Spitzenlappen zu sehen; sie reichten aber weit über diesen Bereich hinaus.

6.2.5. Korrelationen bei den Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie

Korrelationen zwischen den Nebennierenrinden- und den Haarcortisolkonzentrationen

Die Cortisolkonzentration der linken Nebennierenrinden der Gruppen 2A und 2B (n = 99) korrelierte nicht signifikant mit den Haarcortisolkonzentrationen ($r = -0.09$).

Korrelationen zwischen den Haarcortisolkonzentrationen und der Zona glomerulosa

Zwischen den Haarcortisolkonzentrationen und der Dicke der Zona glomerulosa bestand eine signifikante negative Korrelation ($r = -0.18$, $P < 0.05$).

Korrelationen zwischen den Nebennierengewichten, den Haarcortisolkonzentrationen und dem Alter

Zwischen den absoluten (links, $r = 0.07$; rechts, $r = 0.10$) und relativen (links, $r = 0.12$; rechts, $r = 0.15$) Gewichten der Nebennieren und den Haarcortisolkonzentrationen bestanden keine signifikanten Korrelationen. Im Gegensatz dazu korrelierten die Nebennierengewichte signifikant mit dem Alter der Kälber ($r = 0.15$, $P < 0.01$).

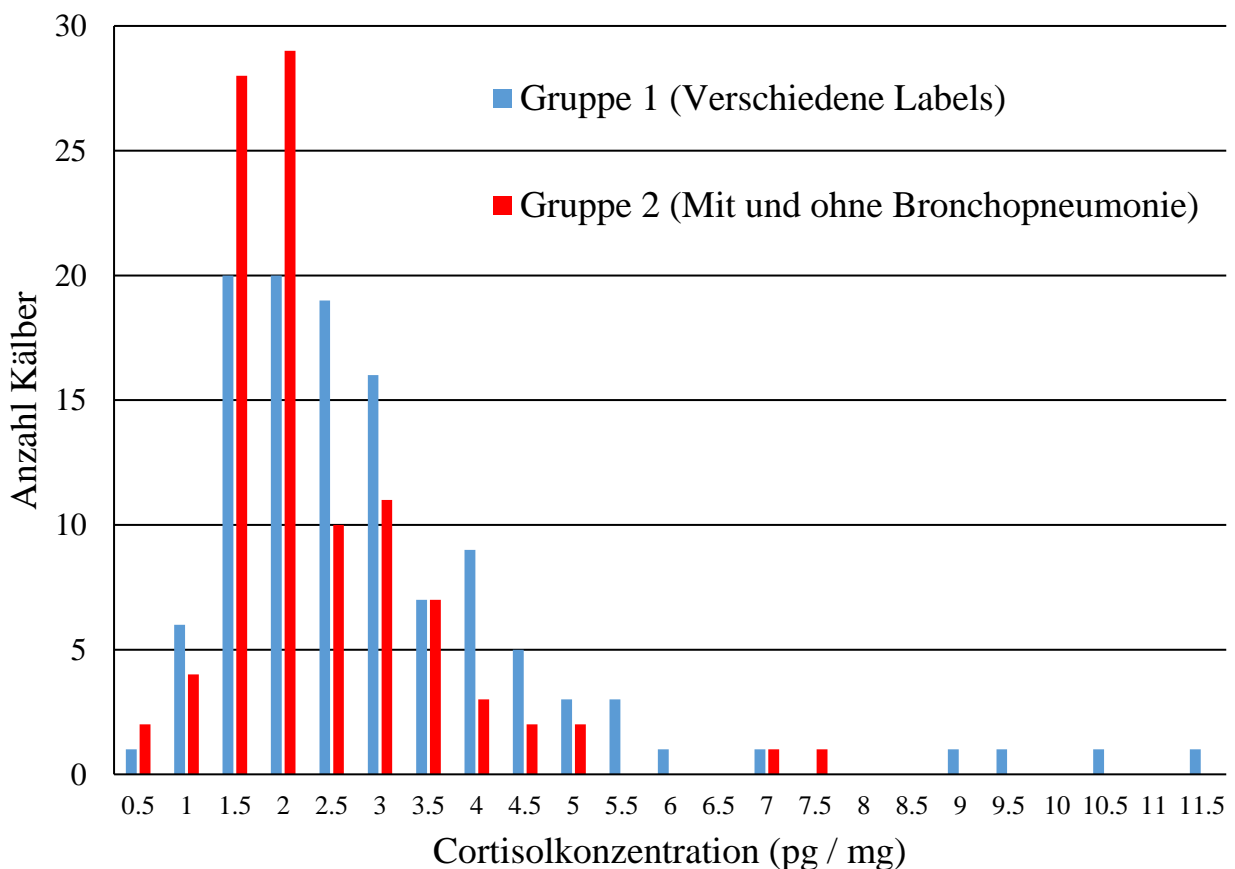
Korrelationen bei der histologischen Untersuchung

Die Breite der Nebennierenkapsel korrelierten signifikant mit dem absoluten Gewicht der Kälber ($r = 0.23$, $P < 0.01$).

6.3. Vergleich der Haarcortisolkonzentrationen der Gruppen 1 und 2

Die durchschnittlichen Haarcortisolkonzentrationen der Gruppen 1 und 2 unterschieden sich nicht signifikant (Median 1.8 vs. 2.3 pg/mg Haar). Sie lagen bei der Gruppe 1 zwischen 0.26 und 11.55 pg/mg Haar und bei der Gruppe 2 zwischen 0.1 und 7.27 pg/mg Haar. Die Häufigkeitsverteilungen der beiden Gruppen unterschieden sich ebenfalls nicht signifikant (Abb. 4).

Abb. 4: Häufigkeitsverteilung der Haarcortisolkonzentrationen der Gruppen 1 und 2



7. DISKUSSION

7.1. Vergleich der Haarcortisolkonzentration mit der Literatur

Beim Vergleich der vorliegenden Werte war zu sehen, dass diese mit einer Schwankungsbreite von 0.10 bis 11.55 pg/mg und Medianwerten von 1.6 und 2.4 pg/mg (je nach Gruppe) über den von TALLO-PARRA et al. (2017) ermittelten Werten lagen. Diese Autoren untersuchten männliche Holstein-Friesian-Kälber mit einem Durchschnittsalter von 137 ± 10 Tagen, welche eine durchschnittliche Haarcortisolkonzentration von 0.49 ± 0.22 pg/mg aufwiesen. Weitere Studien mit chronisch und akut kranken Kühen (BRAUN et al., 2017a) sowie mit gesunden Kühen (BRAUN et al., 2017b) ergaben mit 1.37 pg/mg bzw. 0.56 pg/mg und 0.73 pg/mg ebenfalls eher niedrigere Werte. Andere Autoren berichteten wiederum über höhere Werte von 2.50 pg/mg (COMIN et al., 2011), 2.35 pg/mg (MOYA et al., 2013), 5.70 pg/mg (BURNETT et al., 2014) und 12.15 pg/mg (GONZÁLEZ-DE-LA-VARA et al., 2011). Ein Hauptgrund für die unterschiedlichen Werte sind wahrscheinlich die verschiedenen Messmethoden (BRAUN et al., 2017a). In dieser, wie auch in den eben erwähnten früheren Studien (BRAUN et al., 2017a,b), wurden die Haarcortisolkonzentrationen durch Flüssigkeitschromatographie und Massenspektrometrie (LC-MS/MS) ermittelt. Die Massenspektrometrie gilt in der Haaranalytik als Goldstandard und wird im Allgemeinen als sensitiver und spezifischer als andere Methoden angesehen (GOW et al., 2010). Andere Autoren (COMIN et al., 2011; GONZÁLEZ-DE-LA-VARA et al., 2011; COMIN et al., 2012; COMIN et al., 2013; PERIC et al., 2013; BURNETT et al., 2014; BURNETT et al., 2015; TALLO-PARRA et al., 2017) arbeiteten mit Immunoassay-Verfahren wie RIA (Radioimmunoassay) oder ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay). Immunoassay-Verfahren generieren generell 2.5 bis 10-fach höhere Cortisolkonzentrationen als die hier verwendete LCMS/MS-Methodik, da es je nach Test zu Kreuzreaktionen mit anderen Steroidhormonen kommt (RUSSELL et al., 2015). Ein weiterer Faktor ist die erhebliche Variation der Haarcortisolkonzentration je nach Körperstelle, Haarfarbe und Verarbeitungsprozess (BURNETT et al., 2014). In dieser Studie wurden

die Haare am Kopf und zum Teil am Hals gewonnen, und es wurden nur pigmentierte Haare verwendet. Da jüngere Tiere höhere Haarcortisolkonzentrationen als ältere (GONZÁLEZ-DE-LA-VARA et al., 2011) aufweisen, könnte dies die Erklärung für die höheren Werte der hier untersuchten Kälber im Vergleich zu adulten, mit der gleichen Messmethode untersuchten Tieren sein. Ein Grund für die höheren Messwerte im Vergleich zu TALLO-PARRA et al. (2017) könnten auch die im folgenden Abschnitt beschriebenen weiteren Faktoren sein.

7.2. Vergleich der Haarcortisolkonzentration bei Kälbern von 3 verschiedenen Labels

In jüngerer Vergangenheit hat sich gezeigt, dass das Thema Tierwohl in der landwirtschaftlichen Nutztierhaltung die Öffentlichkeit bewegt. Neben der Verschärfung der gesetzlichen Rahmenbedingungen gehört die Etablierung sogenannter Tierwohl-Labels zu den dominierenden Entwicklungen der vergangenen Jahre, um den Erwartungen der Gesellschaft gerecht zu werden (HEISE et al., 2016). Ein Hauptziel dieser Arbeit war es, unter dem Aspekt des Tierwohls bzw. der Stressantwort die Haarcortisolkonzentrationen von Kälbern 3 verschiedener Labels miteinander zu vergleichen. Zwischen den 3 Labels waren keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Haarcortisolkonzentrationen festzustellen. Dies könnte zum einen daran liegen, dass, abgesehen von Stress, noch weitere, die Haarcortisolkonzentration beeinflussende Faktoren existieren. Zu nennen sind unter anderem die Fütterung (MOYA et al., 2013), die Rasse (PERIC et al., 2013), das Alter (GONZÁLEZ-DE-LA-VARA et al., 2011) und Veränderungen der Umgebung. Bei einer früheren Untersuchung (STARVAGGI CUCUZZA et al., 2014) wiesen Piemonteser Rinder in Anbindehaltung signifikant höhere Serum- und Kotcortisolkonzentrationen als Rinder einer im Laufstall gehaltenen Vergleichsgruppe auf. Auch Schweine, die über vier Wochen in einem artgerecht ausgestatteten Stall mit Beschäftigungsmöglichkeiten wie Bällen, Hanfseilen und Sägespänen zum Wühlen

gehalten wurden, zeigten signifikant tiefere Haarcortisolwerte als Schweine in Ställen ohne diese Beschäftigungsmöglichkeiten (CASAL et al., 2017). MALCOLM et al. (2013) stellten eine signifikante Reduktion der Cortisolkonzentrationen bei Schwarzbären fest, nachdem diese von einer nicht artgerechten Haltung in artgerecht gestaltete Auffangstationen verbracht wurden. Im Gegensatz dazu wurden bei Ziegen, die ebenfalls in unterschiedlichen Haltungssystemen gehalten wurden (ausgestalteter Stall mit Möglichkeiten zum Klettern und Verstecken, höher angerichtete Futternetze im Vergleich zu einem Stall, der diese Annehmlichkeiten nicht aufwies), keine signifikanten Unterschiede bei den Serumcortisolkonzentrationen festgestellt (ROSAS-TRIGUEROS et al., 2017). Generell existieren noch wenig Literaturangaben zur Beurteilung der Stressreaktion bei verschiedenen Labels, und es besteht diesbezüglich Bedarf für weitere Forschungsarbeiten. Dennoch ist schon jetzt die Aussage erlaubt, dass die Tierhaltung so artgerecht wie möglich gestaltet werden muss und dass die Haltungssysteme im Sinne des Tierwohls stetig verbessert werden müssen. Denn Defizite im Haltungssystem wirken sich negativ auf das Tierverhalten aus. So neigen z. B. Schweine, die ihrem ausgeprägten Spiel- und Wühltrieb nicht nachkommen können, häufig zu aggressivem Verhalten gegenüber Artgenossen (Schwanzbeissen). Auch die Tiergesundheit kann darunter leiden (Klauenverletzungen, verdickte Gelenke) (HEISE et al., 2016). Strenge Richtlinien bezüglich des Tierschutzes tragen zum Wohl der Tiere und somit auch zur Leistungssteigerung bei (BÄHLER, 2009).

7.3. Vergleich der Haarcortisolkonzentration bei Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie

Ein weiteres Hauptziel dieser Arbeit war es, die Haarcortisolkonzentrationen von Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie miteinander zu vergleichen. Zwischen den Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie waren keine signifikanten Unterschiede festzustellen. Dies könnte zum einen an den im vorherigen Abschnitt erläuterten äusseren Einflüssen liegen, zum anderen aber auch an dem Schweregrad der

Krankheit, der evtl. zu wenig gross war, um krankheitsbedingten Stress und damit erhöhte Haarcortisolkonzentrationen auszulösen. In die Gruppe der Kälber mit Bronchopneumonie wurden nur solche Tiere eingeteilt, deren Lungen mindestens zu einem Drittel deutlich makroskopisch verändert waren. Es war aber nicht bekannt, wie es diesen Kälbern zuvor klinisch ging. Auch eine etwaige Vorbehandlung war nicht bekannt. Ähnliche Befunde wurden bei Kühen mit verschiedenen Erkrankungen erhoben. So wiesen Kühe, die an einer subklinischen Form von Endometritis erkrankt waren, keine höheren Haarcortisolkonzentrationen als gesunde Kühe auf (BURNETT et al., 2015). Auch die Haarkonzentrationen von festliegenden Kühen (Weichteiltraumen oder Frakturen) unterschieden sich nicht nennenswert von unbeeinträchtigten Tieren (BRAUN et al., 2017a). In einer weiteren Studie wurden bei Kühen keine signifikanten Unterschiede der Haarcortisolwerte vor und nach einer Erkrankung festgestellt (BRAUN et al., 2017b). Die kranken Kühe wurden unmittelbar nach Auftreten der Erkrankung medikamentös behandelt und es wurde davon ausgegangen, dass dies der Grund für die nicht erhöhten Cortisolwerte war. Auch MANENSCHIJN et al. (2013) konnten keinen Zusammenhang zwischen den Haarcortisolkonzentrationen und unspezifischen chronischen Lungenerkrankungen feststellen. Einen weiteren Faktor stellt der Krankheitszeitpunkt bzw. der zeitliche Abstand der Haarentnahme zur Erkrankung dar. Die Haare brauchen etwa 2 Wochen, um vom Follikel bis zur Hautoberfläche zu wachsen; jede Haarprobe repräsentiert somit das Haar bzw. den körperlichen Zustand von vor 2 bis 3 Wochen (BURNETT et al., 2015). Bei einer anderen Studie wurden Haarproben in Segmente unterteilt, welche jeweils ca. 3 Monate repräsentierten. In der Kontrollgruppe nahmen die Cortisolkonzentrationen im Haar von proximal nach distal kontinuierlich ab und näherten sich asymptotisch einer tieferen Konzentration. Dieser Auswascheffekt wurde als limitierend für Aussagen über die HPA-Aktivität, die länger als 6 Monate zurückliegt, angesehen (ERICKSON et al., 2001; SANDMAN et al., 2006). Wie auch in der Masterarbeit von STIRNIMANN (2017) wurde in dieser

Studie kein Zusammenhang zwischen der Nebennierenrinden- und Haarcortisolkonzentration festgestellt.

7.4. Gewicht der Nebennieren bei Kälbern verschiedener Labels

Die Gewichte der Nebennieren zeigten im Vergleich zwischen den QM- und den Naturafarm-Kälbern nur geringe Unterschiede. Auch bei Ziegen, die in zwei unterschiedlichen Haltungssystemen gehalten wurden (ROSAS-TRIGUEROS et al., 2017), wurden keine Unterschiede bezüglich der Nebennierengewichte festgestellt (Gruppe 1: möglichst artgerecht mit Klettermöglichkeiten, erhöhten Arealen über dem Boden, erhöhter Futterpräsentation in Futternetzen über dem Boden und Strohballen zum Verstecken; Gruppe 2: ohne die erwähnten Extras). Allerdings wiesen die Tiere der Gruppe 2 eine Hypertrophie der Nebennierenrinde auf, was auf eine erhöhte Aktivität der Nebennieren hinweist. In dieser Untersuchung wurden, wie bereits erwähnt, keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen bezüglich der Haarcortisol- oder Nebennierenrindencortisolkonzentration festgestellt. Daher ist es auch nicht verwunderlich, dass sich die Gewichte der Nebennieren nicht unterscheiden. Nur anhand des Gewichts der Nebennieren scheint es nicht möglich zu sein, auf die Aktivität der HPA-Achse zu schliessen, da das Gewicht der Nebennieren offenbar noch von verschiedenen weiteren Faktoren wie geographischem Standort, Klima, Ernährung, Zuchtziel und Nutzungsrichtung abhängig ist (SMOLLICH, 1958).

7.5. Gewicht der Nebennieren bei Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie

Ähnliche Ergebnisse wie bei den 2 verschiedenen Labels wurden auch bei den Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie erzielt. Die Gewichte der Nebennieren zeigten bei den Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie keine nennenswerten Unterschiede. BRAUN et al. (2017a) konnten auch keine signifikanten, aber deutlichere tendenzielle Unterschiede bezüglich des Nebennierengewichts zwischen chronisch kranken und akut kranken Kühen feststellen, wobei die Nebennieren der chronisch

kranken etwas schwerer als die der akut kranken waren. An einer *Psoroptes-ovis*-Räude erkrankte, unbehandelte Rinder wiesen signifikant höhere Nebennierengewichte als gesunde Artgenossen auf (BLUTKE et al., 2015). Bei mit Ivermectin behandelten Rindern waren die Nebennieren gleich gross wie bei den gesunden Kontrolltieren. Daraus lässt sich schliessen, dass die Vergrösserung der Nebennieren auf Grund einer permanenten Stressbelastung ein reversibler Prozess ist.

7.6. Histologische Befunde bei Kälbern 2 verschiedener Labels

Die von anderen Autoren (JELINEK und KONECNY, 2011) wie auch in der Masterarbeit von STIRNIMANN (2017) beschriebenen Histologiebefunde konnten zum Teil auch in dieser Untersuchung beobachtet werden. Ebenso war die Kapsel von ungleichmässiger Dicke, zog zum Teil in die tieferliegenden Rindenschichten und bildete teilweise knotige Strukturen. Dies widerspricht der gängigen Lehrmeinung (DELLMANN, 1971), dass sich die Nebennierenkapsel als dünne gleichmässige Schicht darstellt, welche zum Teil Muskelfasern enthält. JELINEK und KONECNY (2011) stellten auch fest, dass sich die Nebennierenrinde oft bis ins Mark ausdehnte und sich dort in unterschiedlicher Grösse und Anzahl strang-, knoten-, oder insel-förmig darstellte. In vielen Fällen reichte das Nebennierenrindengewebe bis in das Zentrum des Nebennierenmarks. Diese Beobachtungen konnten in dieser Untersuchung bestätigt werden. Die bei 26 Kälbern festgestellte Melanose tritt laut SMOLLICH und MICHEL (1992) bei etwa 10 bis 30 % der Fälle auf. Sie manifestiert sich in Chromatophoren, welche mit kugelförmigen Melaningranula beladen sind und das Bild der Kapselmelanose hervorrufen; gesundheitlich sind diese Melanosen als unbedenklich einzustufen. Die noduläre Hyperplasie, die bei 40 Kälbern festzustellen war, wird als Produkt verstärkter ACTH-Produktion oder auch als Alterserscheinung angesehen; sie hat aber keine weiteren Folgen (VALLANT, 2010).

7.7. Histologische Befunde bei Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie

Die histologischen Befunde der Kälber mit und ohne Bronchopneumonie waren sehr ähnlich wie diejenigen der Kälber der 2 verschiedenen Labels. Sie werden aus diesem Grund nicht weiter diskutiert.

7.8. Rindenschichten und corticomedulläres Verhältnis bei Kälbern von 2 verschiedenen Labels

Eine der Hypothesen dieser Arbeit bestand darin, dass Kälber aus konventioneller Haltung schwerere Nebennieren und damit wahrscheinlich auch dickere Nebennierenrinden aufweisen als Kälber aus einer tierfreundlicheren Haltung. Die Nebennierenrinde setzt sich aus der Zona glomerulosa, der Zona fasciculata und der Zona reticularis zusammen (MATTERI et al., 2000; MÖSTL, 2010). Es ist bekannt, dass eine lang anhaltende ACTH-Stimulation zu einer Vergrößerung der Zona fasciculata führt (MÖSTL, 2010). In der vorliegenden Untersuchung wiesen die Rindenschichten beim Labelvergleich signifikante Unterschiede auf. Die Tiere des Labels QM wiesen eine dickere Zona glomerulosa auf. Dies deutet darauf hin, dass die Dicke der Nebennierenrinden einen Hinweis auf die Aktivität der Nebennieren geben kann. Wie bereits beschrieben, waren die einzelnen Schichten der Nebennierenrinde und die Kapsel ungleichmässig und nicht klar voneinander zu differenzieren. Dies könnte zu der fälschlichen Annahme geführt haben, dass die Rinde dicker war und dass sie teilweise der Kapsel zugeordnet wurde. Daher wäre eine Differenzierung der einzelnen Zonen im Lichtmikroskop durch Spezialfärbungen und Immunhistochemie für weiterführende Untersuchungen empfehlenswert (STIRNIMANN, 2017). Bei Geparden wurde die Hyperplasie von Nebennieren unter anderem auch durch das Berechnen des corticomedullären Verhältnisses objektiviert (TERIO et al., 2004). Freilebende Geparden wiesen signifikant kleinere corticomedulläre Verhältnisse als in Gefangenschaft lebende auf. In dieser und in der Untersuchung von STIRNIMANN (2017) konnte diese Beobachtung nicht bestätigt werden.

7.9. Rindenschichten und corticomedulläres Verhältnis bei Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie

Die Ergebnisse beim Vermessen der Rindenschichten und die corticomedullären Verhältnisse der Kälber mit und ohne Bronchopneumonie waren sehr ähnlich wie diejenigen der Kälber der 2 verschiedenen Labels. Sie werden aus diesem Grund nicht weiter diskutiert.

7.10. Nebennierenmarkbreite und -gewicht bei Kälbern von 2 verschiedenen Labels

Die Nebennierenmarkgewichte der beiden Labels QM- und Naturafarm unterschieden sich nicht signifikant. Bei Kühen mit höheren Haarcortisolwerten (chronisch kranke) wurden signifikant schwerere Nebennierenmarkgewichte und tendenziell eine grössere Breite des Nebennierenmarks registriert (STIRNIMANN, 2017). Der Autor vermutete, dass die Stressbelastung als Folge einer Krankheit auch mit einer Vergrößerung des Nebennierenmarks einhergeht. Dies konnte hier nicht festgestellt werden.

7.11. Nebennierenmarkbreite und -gewicht bei Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie

Die Markbreite und das Nebennierenmarkgewicht der Kälber mit und ohne Bronchopneumonie waren sehr ähnlich wie diejenigen der Kälber der 2 verschiedenen Labels. Sie werden aus diesem Grund nicht weiter diskutiert.

7.12. Cortisolgehalt der Nebennieren bei Kälbern von 2 verschiedenen Labels

Die Cortisolgehalte der Nebennieren der verschiedenen Labelgruppen unterschieden sich nicht signifikant. Dies bestätigt die früheren Untersuchungen (STIRNIMANN, 2017), in denen die Cortisolkonzentrationen im Nebennierengewebe von akut kranken Kühen mit denen von chronisch kranken verglichen wurden. Nach zwei Autorengruppen (VOIGT, 2003; LÜLLMANN-RAUCH und

PAULSEN, 2012) wird Cortisol nicht in den Nebennierenzellen gespeichert, sondern nach der Freisetzung von ACTH synthetisiert und freigesetzt. Dies lässt die Vermutung zu, dass allfällige Unterschiede zwischen den Gruppen aufgrund der geringen Speicherfähigkeit der Nebennieren (KOLB, 1989) nicht nachweisbar sind. Aus diesen Überlegungen lässt sich schliessen, dass das Messen der Cortisolkonzentration in den Nebennierenrinden zur Beurteilung von chronischem Stress bei Rindern als ungeeignet anzusehen ist. Bei weiteren Untersuchungen bezüglich der Objektivierung von Langzeitstress sollte stattdessen das Extrahieren der Katecholamine aus dem Nebennierenmark in Betracht gezogen werden, da diese dort gespeichert werden (VOIGT, 2003)

7.13. Cortisolgehalt der Nebennieren bei Kälbern mit und ohne Bronchopneumonie

Die Cortisolgehalte der Nebennieren der Kälber mit und ohne Bronchopneumonie waren sehr ähnlich wie diejenigen der Kälber der 2 verschiedenen Labels. Sie werden aus diesem Grund nicht weiter diskutiert.

7.14. Einzelne Tiere mit stark erhöhten Haarcortisolkonzentrationen

Bei 7 Kälbern (3 QM, 3 Naturafarm, 1 KAGfreiland) wurden sehr hohe Haarcortisolkonzentrationen zwischen 6.5 und 11.5 pg/mg gemessen. Das Kalb aus der KAGfreiland-Haltung wies eine Haarcortisolkonzentration von 10.3 pg/mg auf. Da es bei der Probenentnahme noch lebte, wurde es nach Vorliegen der Haarcortisolmessung noch einmal besucht und in der Gruppe beobachtet. Dabei wurde festgestellt, dass es zu den rangniedrigeren Kälbern gehörte, was sicher einen Stressfaktor darstellte und evtl. die hohe Haarcortisolkonzentration erklärt. Bei einem Kalb des Labels QM wurde bei der Untersuchung des Labmagens ein tiefes Ulkus festgestellt. Allerdings muss darauf hingewiesen werden, dass es viele andere Kälber in dieser Studie mit Labmagenulzera gab, die keine erhöhten Cortisolwerte aufwiesen. Bei einem weiteren Kalb des QM-Labels mit einer Haarcortisolkonzentration von

7.3 pg/mg ergab die Auswertung, dass es innerhalb von 81 Tagen vom Stall auf die Weide und dann wieder zurückgebracht wurde. In der Studie von COMIN et al. (2011) mit Kühen kam es 40 Tage nach Umgebungsveränderung und damit wahrscheinlich verbundenen neuen Gruppeneingliederungen zu einem Anstieg der Haarcortisolkonzentrationen. Bei den anderen 4 Kälbern konnten keine Erklärungen für die erhöhten Haarcortisolwerte gefunden werden. Anders als bei BRAUN et al. (2017a) wiesen die Tiere mit höheren Haarcortisolkonzentrationen keine schweren Nebennieren auf; auch bei der Fleischtaxation lagen die Tiere im guten bis mittleren Durchschnitt. Eine langanhaltend erhöhte Cortisolkonzentration im Blut führt unter anderem zu vermehrtem Abbau von Fett und Proteinen. Dies macht sich vor allem bei den Muskeln und dem Bindegewebe bemerkbar (LANG, 2010) und könnte sich bei der Fleischtaxation negativ widerspiegeln. Die grundsätzlich nicht ausschliessbaren intraindividuellen Unterschiede bei der Cortisolausschüttung müssen ebenfalls in Betracht gezogen werden, da die Variabilität der Antwort der HPA-Achse auf Stress von 2 Umständen abhängt, nämlich dem Stressor an und für sich und der individuellen Reaktionsweise auf den Stressor (MILLER et al., 2007). Das heisst, dass ein bestimmter Stressor eine tierindividuelle Stressreaktion hervorrufen kann.

7.15. Häufigkeit von Labmagenulzera

Bei 36 % der Kälber wurden nicht perforierende Labmagenulzera diagnostiziert. Perforierende Ulzera wurden bei keinem Kalb gefunden. Andere Studien berichteten über eine Häufigkeit nicht perforierender Labmagenulzera bei Mastkälbern von 11 (VALGAEREN et al., 2013) bis 67 (GROTH und BERNER, 1971) und 95 % (WELCHMAN und BAUST, 1987). Das von BÄHLER et al. (2010) beschriebene vermehrte Auftreten von Labmagenulzera im Fundusbereich bei konventionell gehaltenen Kälbern im Gegensatz zu Naturafarm-Kälbern konnte hier nicht nachvollzogen werden. Die Ätiopathogenese der Labmagenulzera bei Kälbern ist nach wie vor nicht vollständig aufgeklärt. Es besteht jedoch dahingehend Übereinstimmung,

dass es ein multifaktorielles Geschehen ist. Begünstigend sind grosse Milchmengen (AHMED et al., 2002), ein niedriger pH-Wert im Labmagen (CONSTABLE et al., 2005), die Verfütterung von grobem Raufutter (MATTIELLO et al., 2002) sowie akuter und chronischer Stress. Durch all diese Faktoren entsteht ein Ungleichgewicht zwischen aggressiven und protektiven Mechanismen, wodurch die schützende Schleimhaut des Labmagens beeinträchtigt wird (GEISHAUSER, 1989; DIRKSEN et al., 1997). Labmagenulzera sind in der Schweiz für 25 % der Todesfälle bei Milchmastkälbern verantwortlich (BÄHLER et al., 2010). Unsere Untersuchung zeigt, dass in der Schweiz durch das strenge Tierschutzgesetz sowohl bei konventioneller Haltung als auch beim Label Naturafarm keine wesentlichen Unterschiede bezüglich der Prävalenz von Labmagenulzera bei Mastkälbern bestehen. Dennoch stellen 36 % einen beachtlichen Prozentsatz dar und es sollte aus Gründen des Tierschutzes, aber auch aus wirtschaftlicher Sicht alles unternommen werden, um die Entstehung von Labmagenulzera zu minimieren.

7.16. Schlussfolgerungen

Bei den Haarcortisolkonzentrationen wurden zwischen den verschiedenen Gruppen keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Wenn die Haarcortisolkonzentration wirklich ein Mass für chronischen Stress darstellt, lässt sich mit der vorliegenden Untersuchung nicht belegen, dass die Naturafarm- und KAGfreiland-Kälber weniger Stress als die QM-Kälber ausgesetzt waren. Ähnliches gilt für Kälber mit und ohne Bronchopneumonie. Entweder ist die Haarcortisolkonzentrations-Bestimmung ungeeignet, um den krankheitsbedingten Stress nachzuweisen oder die Kälber waren durch die Bronchopneumonie nicht nachweisbar gestresst. Dafür spricht auch, dass die Kälber trotz mehr als einem Drittel veränderten Lungengewebes klinisch gesund, also nicht krankheitsbedingt gestresst, erschienen. Trotz allem muss es das Ziel sein, Kälber möglichst tierfreundlich und krankheitsfrei zu halten. Auch

wenn es mit dieser Arbeit nicht gelang, den Einfluss einer tierfreundlicheren Haltung zu objektivieren, besteht die Überzeugung, dass sich eine optimale Haltung trotz fehlender Objektivierung positiv auf das Wohlbefinden der Kälber auswirkt.

8. LITERATURVERZEICHNIS

AHMED, A. F., P. D. CONSTABLE and N. A. MISK (2002): Effect of feeding frequency and route of administration on abomasal luminal pH in dairy calves fed milk replacer. *J. Dairy Sci.* 85, 1502-1508.

BÄHLER, C. (2009): Coop Naturafarm Kalb - Transport und Einstellung von Mastkälbern in der Schweiz. *Prakt. Tierarzt* 90, 576-579.

BÄHLER, C., G. REGULA, M. H. STOFFEL, A. STEINER and A. VON ROTZ (2010): Effects of the two production programs 'Naturafarm' and 'conventional' on the prevalence of non-perforating abomasal lesions in Swiss veal calves at slaughter. *Res. Vet. Sci.* 88, 352-360.

BÄHLER, C., A. STEINER, A. LUGINBÜHL, A. EWY, H. POSTHAUS, D. STRABEL, T. KAUFMANN and G. REGULA (2012): Risk factors for death and unwanted early slaughter in Swiss veal calves kept at a specific animal welfare standard. *Res. Vet. Sci.* 92, 162-168.

BANKS, E. M. (1982): Behavioral research to answer questions about animal welfare. *J. Anim. Sci.* 54, 434-446.

BINZ, T. M., U. BRAUN, M. R. BAUMGARTNER and T. KRAEMER (2016): Development of an LC-MS/MS method for the determination of endogenous cortisol in hair using ¹³C₃-labeled cortisol as surrogate analyte. *J. Chromatogr. B.* 1033, 65-72.

BLECHA, F. (2000): Immune system response to stress. In: *The Biology of Animal Stress – Basic Principles and Implications for Animal Welfare*. Eds. G. P. MOBERG and J. A. MENCH, CABI Publishing, Wallingford 111-122.

BLUTKE, A., P. BORJES, N. HERBACH, K. PFISTER, D. HAMEL, S. REHBEIN and R. WANKE (2015): Acaricide treatment prevents adrenocortical hyperplasia as a long-term stress reaction to psoroptic mange in cattle. *Vet. Parasitol.* 207, 125-133.

BOON, C. and C. WRAY (1989): Building design in relation to the control of diseases of intensively housed livestock. *J. Agric. Engng Res.* 43, 149-161.

BRAUN, U., G. CLAVADETSCHER, M. BAUMGARTNER, B. RIOND and T. BINZ (2017a): Hair cortisol concentration and adrenal gland weight in healthy and ill cows. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 159, 493-495.

BRAUN, U., N. MICHEL, M. R. BAUMGARTNER, M. HÄSSIG and T. M. BINZ (2017b): Cortisol concentration of regrown hair and hair from a previously unshorn area in dairy cows. *Res. Vet. Sci.* 114, 412-415.

BREAZILE, J. E. (1987): Physiologic basis and consequences of distress in animals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 191, 1212-1215.

BURCHFIELD, S. R. (1979): The stress response: a new perspective. *Psychosom. Med.* 41, 661-672.

BURNETT, T. A., A. M. L. MADUREIRA, B. F. SILPER, A. NADALIN, A. TAHMASBI, D. M. VEIRA and R. L. A. CERRI (2014): Short communication: Factors affecting hair cortisol concentrations in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97, 7685-7690.

BURNETT, T. A., A. M. L. MADUREIRA, B. F. SILPER, A. TAHMASBI, A. NADALIN, D. M. VEIRA and R. L. A. CERRI (2015): Relationship of concentrations of cortisol in hair with health, biomarkers in blood, and reproductive status in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98, 4414-4426.

BUSATO, A., L. STEINER, S. W. MARTIN, M. M. SHOUKRI and C. GAILLARD (1997): Calf health in cow-calf herds in Switzerland. *Prev. Vet. Med.* 30, 9-22.

CASAL, N., X. MANTECA, D. ESCRIBANO, J. J. CERÓN and E. FÀBREGA (2017): Effect of environmental enrichment and herbal compound supplementation on physiological stress indicators (chromogranin A, cortisol and tumour necrosis factor- α) in growing pigs. *Animal* 11, 1228-1236.

CLAVADETSCHER, G. (2016): Vergleich der Cortisolkonzentrationen im Haar mit den Nebennierengewichten bei Kühen. Masterthesis, Universität Zürich.

COMIN, A., A. PRANDI, T. PERIC, M. CORAZZIN, S. DOVIER and S. BOVOLENTA (2011): Hair cortisol levels in dairy cows from winter housing to summer highland grazing. *Livest. Sci.* 138, 69-73.

COMIN, A., T. PERIC, M. MONTILLO, M. FAUSTINI, V. ZUFFERLI, A. CAPPA, G. CORNACCHIA and A. PRANDI (2012): Hair cortisol levels to monitor hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in healthy dairy cows. *J. Anim. Vet. Adv.* 11, 3623-3626.

COMIN, A., T. PERIC, M. CORAZZIN, M. C. VERONESI, T. MELONI, V. ZUFFERLI, G. CORNACCHIA and A. PRANDI (2013): Hair cortisol as a marker

of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation in Friesian dairy cows clinically or physiologically compromised. *Livest. Sci.* 152, 36-41.

CONSTABLE, P. D., A. F. AHMED and N. A. MISK (2005): Effect of suckling cow's milk or milk replacer on abomasal luminal pH in dairy calves. *J. Vet. Intern. Med.* 19, 97-102.

D'ANNA-HERNANDEZ, K. L., R. G. ROSS, C. L. NATVIG and M. L. LAUDENSLAGER (2011): Hair cortisol levels as a retrospective marker of hypothalamic-pituitary axis activity throughout pregnancy: comparison to salivary cortisol. *Physiol. Behav.* 104, 348-353.

DAVENPORT, M. D., S. TIEFENBACHER, C. K. LUTZ, M. A. NOVAK and J. S. MEYER (2006): Analysis of endogenous cortisol concentrations in the hair of rhesus macaques. *Gen. Comp. Endocrinol.* 147, 255-261.

DELLMANN, H. D. (1971): Adrenal glands. In: *Veterinary Histology: An outline Text-Atlas*. Ed. H. D. DELLMANN, 1st edn., Lea and Febiger, Philadelphia, 287.

DIRKSEN, G., K. DOLL, J. EINHELLIG, A. SEITZ, G. RADEMACHER, W. BREITNER und W. KLEE (1997): Labmagengeschwüre beim Kalb: Klinische Untersuchungen und Erfahrungen. *Tierärztl. Prax.* 25, 318–328.

DÖCKE, F. (1981): *Veterinärmedizinische Endokrinologie*. 2. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Jena.

DONOVAN, G. A., I. R. DOHOO, D. M. MONTGOMERY and L. F. BENNETT (1998): Calf and disease factors affecting growth in female Holstein calves in Florida, USA. *Prev. Vet. Med.* 33, 1-10.

ERICKSON, K., P. THORSEN, G. CHROUSOS, D. E. GRIGORIADIS, O. KHONGSALY, J. MCGREGOR and J. SCHULKIN (2001): Preterm birth: associated neuroendocrine, medical, and behavioral risk factors. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86, 2544-2552.

FERNÁNDEZ, M. A., L. ALVAREZ and L. ZARCO (2007): Regrouping in lactating goats increases aggression and decreases milk production. *Small Rumin. Res.* 70, 228-232.

GALUPPI, R., J. F. LEVEQUE, V. BEGHELLI, C. BONOLI, M. MATTIOLI, F. OSTANELLO, M. P. TAMPIERI and P. A. ACCORSI (2013): Cortisol levels in cats' hair in presence or absence of *Microsporium canis* infection. *Res. Vet. Sci.* 95, 1076-1080.

GARIBALDI, R. (1985): Epidemiology of community-acquired respiratory tract infections in adults. Incidence, etiology, and impact. *Am. J. Med.* 78, 32-37.

GEISHAUSER, T. (1989): Labmagengeschwür bei einem Kalb nach thermischer Enthornung ohne Betäubung. *Tierärztl. Umsch.* 44, 102-108.

GONZÁLEZ-DE-LA-VARA, M. R., R. A. VALDEZ, V. LEMUS-RAMIREZ, J. C. VÁZQUEZ-CHAGOYÁN, A. VILLA-GODOY and M. C. ROMANO (2011): Effects of adrenocorticotropic hormone challenge and age on hair cortisol concentrations in dairy cattle. *Can. J. Vet.* 75, 216-221.

GOODNITE, P. M. (2014): Stress: a concept analysis. *Nurs Forum* 49, 71-74.

GOW, R., S. THOMSON, M. RIEDER, S. VAN UUM and G. KOREN (2010): An assessment of cortisol analysis in hair and its clinical applications. *Forensic Sci. Int.* 196, 32-37.

GROTH, W. und H. BERNER (1971): Vergleichende Untersuchungen des Panseninhaltes von Mastkälbern mit und ohne Einstreu und von frühentwöhnten Kälbern. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 78, 634-637.

HEISE, H., W. PIRSICH und L. THEUVSEN (2016): Kriterienbasierte Bewertung ausgewählter europäischer Tierwohl-Labels. *Berichte über die Landwirtschaft* 94, 1-9.

INGVARTSEN, K. L. (2006): Feeding- and management-related diseases in the transition cow. *Anim. Feed Sci. Technol.* 126, 175-213.

JELINEK, F. and R. KONECNY (2011): Adrenal glands of slaughtered bulls, heifers and cows: a histological study. *Anat. Histol. Embryol.* 40, 28-34.

KAGFREILAND (2017): KAGfreiland-Tierhaltungsrichtlinien für Rindvieh (https://kagfreiland.ch/images/BAUERN_PRODUKTE/Label/KAG-Label/KAG_RL2017_finale-Version.pdf).

KASKE, M. (2016): Faktorenkrankheiten beim Kalb - von Fakten und Fiktionen. *Schweiz. Z. Ganzheitsmed.* 28, 25-26.

KASKE, M. (2017): Auswirkungen chronischer Bronchopneumonie bei Kälbern (Persönliche Mitteilung).

KIRCHHOFF, J., S. UHLENBRUCK, K. GORIS, G. M. KEIL and G. HERRLER (2014): Three viruses of the bovine respiratory disease complex apply different strategies to initiate infection. *Vet. Res.* 45, 20-32.

KOLB, E. (1989): Die Nebennierenrinde (NNR). In: *Lehrbuch der Physiologie der Haustiere*. Teil I. Hrsg. E. Kolb, 5. Auflage, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, 98-102.

KOOLHAAS, J. M., A. BARTOLOMUCCI, B. BUWALDA, S. F. DE BOER, G. FLUGGE, S. M. KORTE, P. MEERLO, R. MURISON, B. OLIVIER, P. PALANZA, G. RICHTER-LEVIN, A. SGOIFO, T. STEIMER, O. STIEDL, G. VAN DIJK, M. WOHR and E. FUCHS (2011): Stress revisited: a critical evaluation of the stress concept. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 35, 1291-1301.

KUNTZ, A. R., C. M. GRIFFITHS, J. M. RANKIN, C. W. ARMSTRONG and T. J. McLOUGHLIN (2006): Cortisol concentrations in human skeletal muscle tissue after phonophoresis with 10% hydrocortisone gel. *J. Athl. Train.* 41, 321-324.

LANG, F. (2010): Hormone. In: *Physiologie des Menschen*. Hrsg. R. F. SCHMIDT, F. LANG und M. HECKMANN, Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 436-454.

LAVA, M., B. PARDON, G. SCHÜPBACH-REGULA, K. KECKEIS, P. DEPRez, A. STEINER and M. MEYLAN (2016a): Effect of calf purchase and other herd-level risk factors on mortality, unwanted early slaughter, and use of antimicrobial group treatments in Swiss veal calf operations. *Prev. Vet. Med.* 126, 81-88.

LAVA, M., G. SCHÜPBACH-REGULA, A. STEINER and M. MEYLAN (2016b): Antimicrobial drug use and risk factors associated with treatment incidence and mortality in Swiss veal calves reared under improved welfare conditions. *Prev. Vet. Med.* 126, 121-130.

LIPTRAP, R. M. (1993): Stress and reproduction in domestic animals. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 697, 275-284.

LUGINBÜHL, A., C. BÄHLER, A. STEINER, T. KAUFMANN, G. REGULA und A. EWY (2012): Ergebnisse der integrierten Tierärztlichen Bestandesbetreuung in der Kälbermast. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 154, 277-285.

LÜLLMANN-RAUCH, R. und F. PAULSEN (2012): Nebenniere. In: *Taschenlehrbuch Histologie*. Hrsg. R. Lüllmann-Rauch, 4. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 448-452.

MACCARI, P., S. WIEDEMANN, H. J. KUNZ, M. PIECHOTTA, P. SANFTLEBEN and M. KASKE (2015): Effects of two different rearing protocols for Holstein bull calves in the first 3 weeks of life on health status, metabolism and subsequent performance. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 99, 737-746.

MALCOLM, K. D., W. J. McSHEA, T. R. VAN DEELEN, H. J. BACON, F. LIU, S. PUTMAN, X. ZHU and J. L. BROWN (2013): Analyses of fecal and hair glucocorticoids to evaluate short- and long-term stress and recovery of Asiatic black bears (*Ursus thibetanus*) removed from bile farms in China. *Gen. Comp. Endocrinol.* 185, 97-106.

MANENSCHIJN, L., L. SCHAAP, N. M. VAN SCHOOR, S. VAN DER PAS, G. M. PEETERS, P. LIPS, J. W. KOPER and E. F. VAN ROSSUM (2013): High long-term cortisol levels, measured in scalp hair, are associated with a history of cardiovascular disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 98, 2078-2083.

MARTIG, J. (1976): Tierärztliche Probleme in der Kälbermast: Abhandlung zur Erlangung der Venia legendi über ausgewählte Kapitel der Buiatrik und Geburtshilfe, an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Bern. Habilitation, Universität Bern.

MATTERI, R. L., J. A. CARROL and C. J. DYER (2000): Neuroendocrine response to stress. In: *The Biology of Animal Stress – Basic Principles and Implications for Animal Welfare*. Eds. G. P. MOBERG and J. A. MENCH, CABI Publishing, Wallingford, 44-45.

MATTIELLO, S., E. CANALI, V. FERRANTE, M. CANIATTI, F. GOTTARDO, G. COZZI, I. ANDRIGHETTO and M. VERGA (2002): The provision of solid feeds to veal calves: II. Behavior, physiology, and abomasal damage. *J. Anim. Sci.* 80, 367-375.

McEWEN, B. S. and E. STELLAR (1993): Stress and the individual: mechanisms leading to disease. *Arch. Intern. Med.* 153, 2093-2101.

MICHEL, N. (2016): Cortisolbestimmung im Haar von Kühen im Verlauf eines Jahres. Masterthesis, Universität Zürich.

MILLER, G. E., E. CHEN and E. S. ZHOU (2007): If it goes up, must it come down? Chronic stress and the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis in humans. *Psychol. Bull.* 133, 25-45.

MOBERG, G. P. (2000): Biological response to stress: Implications for Animal Welfare. In: *The Biology of Animal Stress – Basic Principles and Implications for*

Animal Welfare. Eds. G. P. MOBERG and J. A. MENCH, CABI Publishing, Wallingford, 1-12.

MORMÈDE, P., S. ANDANSON, B. AUPÉRIN, B. BEERDA, D. GUERMENÉ, J. MALMKVIST, X. MANTECA, G. MANTEUFFEL, P. PRUNET, C. G. VAN REENEN, S. RICHARD and I. VEISSIER (2007): Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiol. Behav.* 92, 317-339.

MÖSTL, E. (2010): Spezielle Endokrinologie. In: *Physiologie der Haustiere*. Hrsg. W. von Engelhardt und G. Breves, 3. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart, 524-527.

MOYA, D., K. S. SCHWARTZKOPF-GENSWEIN and D. M. VEIRA (2013): Standardization of a non-invasive methodology to measure cortisol in hair of beef cattle. *Livest. Sci.* 158, 138-144.

MUNCK, A., P. M. GUYRE and N. J. HOLBROOK (1984): Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocr. Rev.* 5, 25-44.

NATURAFARM (2016): Richtlinie Coop Naturafarm Kalb (<https://www.coop.ch/content/dam/naturafarm/standards/r-cnf-kalb-d.pdf>).

PARDON, B., M. HOSTENS, L. DUCHATEAU, J. DEWULF, K. DE BLEECKER and P. DEPREZ (2013): Impact of respiratory disease, diarrhea, otitis and arthritis on mortality and carcass traits in white veal calves. *BMC Vet. Res.* 9, 79.

PARK, S., S. KIM, N. SHIN and C. HWANG (2016): Elevated cortisol content in dog hair with atopic dermatitis. *Jpn. J. Vet. Res.* 64, 123-129.

PERIC, T., A. COMIN, M. CORAZZIN, M. MONTILLO, A. CAPPÀ, G. CAMPANILE and A. PRANDI (2013): Short communication: Hair cortisol concentrations in Holstein-Friesian and crossbred F1 heifers. *J. Dairy Sci.* 96, 3023-3027.

PERIC, T., A. COMIN, M. CORAZZIN, M. MONTILLO, F. CANAVESE, M. STEBEL and A. PRANDI (2017): Relocation and hair cortisol concentrations in New Zealand white rabbits. *J. Appl. Anim. Welf. Sci.* 20, 1-8.

POULSEN, K. P. and S. M. McGUIRK (2009): Respiratory disease of the bovine neonate. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 25, 121-131.

QM-SCHWEIZER-FLEISCH (2011a): Programm QM-Schweizer Fleisch (<https://www.qm-schweizerfleisch.ch/de/2011-09-27-13-10-15/qm-schweizerfleisch>).

QM-SCHWEIZER-FLEISCH (2011b): FAQ Qualitätsmanagement Schweizer Fleisch (<https://www.qm-schweizerfleisch.ch/de/faq>).

QM (2017): Produktionsrichtlinie Rindvieh, Schweine, Schafe, Ziegen und Kaninchen und Allgemeine Geschäftsbedingungen (<https://qm-schweizerfleisch.ch/images/dokumente/de/QM-Richtlinie-2017-dt.pdf>).

R CORE TEAM (2016): R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing (<https://www.R-project.org/>).

RIEDELSHEIMER, B., S. B. ZIMMERMANN und U. WELSCH (2010): Schnittpräparation für die Lichtmikroskopie. In: Romeis - Mikroskopische Technik. Hrsg. M. Mulisch and U. WELSCH, 19. Auflage, Springer Verlag, Heidelberg, 99-120.

ROSAS-TRIGUEROS, A. P., I. E. CANDANOSA-ARANDA, A. E. DUCOING-WATTY, J. GUTIÉRREZ-MOLOTLA, F. GALINDO and A. M. SISTO-BURT (2017): Histological differences in the adrenal glands and cortisol levels of suckling dairy goat kids in enriched and non-enriched environments. Res. Vet. Sci. 115, 221-225.

RUSSELL, E., G. KOREN, M. RIEDER and S. VAN UUM (2012): Hair cortisol as a biological marker of chronic stress: current status, future directions and unanswered questions. Psychoneuroendocrinology 37, 589-601.

RUSSELL, E., C. KIRSCHBAUM, M. L. LAUDENSLAGER, T. STALDER, Y. DE RIJKE, E. F. VAN ROSSUM, S. VAN UUM and G. KOREN (2015): Toward standardization of hair cortisol measurement: results of the first international interlaboratory round robin. Ther. Drug Monit. 37, 71-75.

SANDMAN, C. A., L. GLYNN, C. D. SCHETTER, P. WADHWA, T. GARITE, A. CHICZ-DEMET and C. HOBEL (2006): Elevated maternal cortisol early in pregnancy predicts third trimester levels of placental corticotropin releasing hormone (CRH): priming the placental clock. Peptides 27, 1457-1463.

SELYE, H. (1976): Forty years of stress research: principal remaining problems and misconceptions. Can. Med. Assoc. J. 115, 53-56.

SMOLLICH, A. (1958): Gestalt, Topographie, Masse und Gewichtsverhältnisse der Nebennieren des Rindes. *Anat. Anz.* 105, 205-221.

SMOLLICH, A. und G. MICHEL (1992): *Mikroskopische Anatomie der Haussäugetiere*. 2. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Jena-Stuttgart.

STALDER, T. and C. KIRSCHBAUM (2012): Analysis of cortisol in hair-state of the art and future directions. *Brain Behav. Immun.* 26, 1019-1029.

STARVAGGI CUCUZZA, L., F. RIONDATO, E. MACCHI, C. BELLINO, G. FRANCO, B. BIOLATTI and F. T. CANNIZZO (2014): Haematological and physiological responses of Piemontese beef cattle to different housing conditions. *Res. Vet. Sci.* 97, 464-469.

STIRNIMANN, M. (2017): Untersuchung der Nebennieren von Schlachtkühen mit verschiedenen Erkrankungen. Masterthesis, Universität Zürich.

TALLO-PARRA, O., M. LOPEZ-BEJAR, A. CARBAJAL, L. MONCLÚS, X. MANTECA and M. DEVANT (2017): Acute ACTH-induced elevations of circulating cortisol do not affect hair cortisol concentrations in calves. *Gen. Comp. Endocrinol.* 240, 138-142.

TERIO, K. A., L. MARKER and L. MUNSON (2004): Evidence for chronic stress in captive but not free-ranging cheetahs (*Acinonyx jubatus*) based on adrenal morphology and function. *J. Wildl. Dis.* 40, 259-266.

THOMPSON, P. N., A. STONE and W. A. SCHULTHEISS (2006): Use of treatment records and lung lesion scoring to estimate the effect of respiratory disease on growth during early and late finishing periods in South African feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 84, 488-498.

TIERSCHUTZGESETZ (2005): Bundesversammlung der Schweizerischen Eidgenossenschaft (<https://www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/20022103/index.html>).

URSIN, H. and R. MURISON (1984): Classification and description of stress. In: *Neuroendocrinology and Psychiatric Disorder*. Ed. G. M. Brown, Raven Press, New York, 123-129.

VALGAEREN, B. R., B. PARDON, B. FLAHOUE, S. VERHERSTRAETEN, E. GOOSSENS, L. TIMBERMONT, F. HAESEBROUCK, R. DUCATELLE, F. VAN IMMERSEEL and P. R. DEPREZ (2013): Prevalence and bacterial colonisation of fundic ulcerations in veal calves. *Vet. Rec.* 172, 269-270.

VALLANT, A. (2010): Nebenniere. In: Taschenatlas Schlachttierkörper-Pathologie bei Rind und Schwein. Hrsg. A. Vallant, Enke Verlag, Stuttgart, 436-441.

VOIGT, K. (2003): Endokrines System. In: Lehrbuch der Physiologie. Hrsg. R. Klinke und S. Silbernagel, 4. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 444-492.

WALTNER-TOEWS, D., S. W. MARTIN and A. H. MEEK (1986): The effect of early calfhood health status on survivorship and age at first calving. *Can. J. Vet. Res.* 50, 314-317.

WARNICK, L. D., H. N. ERB and M. E. WHITE (1997): The relationship of calfhood morbidity with survival after calving in 25 New York Holstein herds. *Prev. Vet. Med.* 31, 263-273.

WELCHMAN, D. D. and G. N. BAUST (1987): A survey of abomasal ulceration in veal calves. *Vet. Rec.* 121, 586-590.

WILLIAMS, P., L. GREEN and E. LAURA (2007): Associations between lung lesions and grade and estimated daily live weight gain in bull beef at slaughter. *Cattle Pract.* 15, 244-249.

WOSU, A. C., U. VALDIMARSDOTTIR, A. E. SHIELDS, D. R. WILLIAMS and M. A. WILLIAMS (2013): Correlates of cortisol in human hair: implications for epidemiologic studies on health effects of chronic stress. *Ann. Epidemiol.* 23, 797-811.

WRIGHT, A. J., N. A. SOTO, A. L. BALDWIN, M. BATESON, C. M. BEALE, C. CLARK, T. DEAK, E. F. EDWARDS, A. FERNÁNDEZ and A. GODINHO (2007): Anthropogenic noise as a stressor in animals: a multidisciplinary perspective. *Int. J. Comp. Psychol.* 20, 250-273.

9. DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei allen Personen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, insbesondere:

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Ueli Braun für die Vergabe des interessanten Themas, die Übernahme des Referats, die stets gute und freundliche Betreuung, die wertvollen Ideen und die Korrektur der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Thomas Lutz für die Übernahme des Korreferats.

Herrn Dr. Markus Baumgartner, Frau Dr. Tina Binz und den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Zentrums für forensische Haaranalytik des Instituts für Rechtsmedizin der Universität Zürich für die Analyse der Haarproben.

Frau Dr. Monika Hilbe und den Laborantinnen des Instituts für Veterinärpathologie für die Hilfe bei der Erstellung der histologischen Schnitte und deren Interpretation.

Herrn Prof. Dr. Franco Guscelli, Institut für Veterinärpathologie, für das Einscannen der histologischen Schnitte.

Herrn Prof. Dr. Thomas Lutz, Herrn Beat Grenacher, Frau med. vet. Kerstin Linder, Frau Morena Amsler und Frau Nicole Bichsel, Institut für Veterinärphysiologie, für die Extraktion des Cortisols aus den Nebennieren.

Frau Dr. Barbara Riond und den Laborantinnen des Veterinärmedizinischen Labors für die Bestimmung der Cortisolkonzentrationen in den Nebennieren.

Herrn PhD. Volkher Scholz und Herrn Prof. Dr. Michael Hässig für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Daten.

Herrn Dr. Clemens Bauer, Schlachtbetrieb Zürich AG, Herrn Dr. Marco Jäggi, Bell Schweiz AG Oensingen, und allen Mitarbeitern, welche mir das Probenmaterial zur Verfügung gestellt und die Störung des Schlachtablaufs mit helfender Hand geduldet haben.

Den Landwirten Herrn Gerri Brunner, Herrn Benjamin Gutknecht und Herrn Florian Weidmann für die Erlaubnis und die tatkräftige Unterstützung bei der Haarprobenentnahme bei ihren Kälbern.

Herrn Paul Müller und Herrn Harald Gabriel für die Mithilfe bei den Untersuchungen der Labmägen.

Den Studentinnen Christina Widmer, Anna Indergand und Sarah Meyer, die mich unermüdlich beim Sammeln der Proben unterstützt haben.

Meinem Freund Benjamin Rüppléin für die unendliche Geduld, Liebe und allgegenwärtige Unterstützung. Danke, dass Du immer für mich da bist.

Nicht zuletzt gilt ein grosser Dank meinen Eltern Christine und Peter Wiest, welche mich bei all meinen Vorhaben und Plänen stets frag- und kompromisslos unterstützt haben und die immer hinter mir stehen. Ich bin sehr froh, Euch als Eltern zu haben.

10. LEBENSLAUF

Name:	Amelie Margarethe Rosalia Wiest
Geburtsdatum:	5. September 1989
Geburtsort:	Lichtenfels, Deutschland
Nationalität:	Deutsch
1997-1999	Grundschule Pfarrweisach, Deutschland
1999-2006	Freie Waldorfschule Coburg, Deutschland
2006-2009	Freie Waldorfschule Marburg, Deutschland
Juni 2009	Abitur an der Freien Waldorfschule Marburg, Deutschland
2010-2016	Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin, Deutschland
Januar 2016	Staatsexamen an der Freien Universität Berlin, Deutschland
Februar 2016	Approbation als Tierärztin
2016 - 2017	Assistentztierärztin in der Klinik für Wiederkäuer des Departements für Nutztiere, Vetsuisse-Fakul- tät, Universität Zürich (Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. U. Braun).
2016 - 2018	Doktorandin unter der Leitung von Prof. Dr. Dr. h.c. U. Braun