

## **Pilotstudie zur Gesundheitsüberwachung bei Kühen mit Hilfe der Messung des Carotinoid Gehaltes in der Haut**

*Martina Jakob<sup>1</sup> und Christina Umstätter<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Leibniz-Institut für Agrartechnik und Bioökonomie e.V., Potsdam, Deutschland*

*<sup>2</sup>Agroscope, Tänikon, Schweiz*

*E-Mail: [mjakob@atb-potsdam.de](mailto:mjakob@atb-potsdam.de)*

**The carotenoid content of human skin can provide information about the health status and stress level. It can be measured by multiple spatially resolved reflection spectroscopy. A non-invasive, handheld device was developed for measurements on the palm of humans. The sensor is available on the market now and is continually improved.**

**A pilot study was designed to find out, whether the same sensor can also be used to measure the carotenoid content of the skin of cows. Such a tool could be a useful basis for detecting health issues in the udder and could therefore enable farmers to respond early and prevent more severe courses of illness.**

**Two on-farm trials in France and Ireland were run to collect data on different breeds and feeding systems. In addition, different measuring points were tested on the udder. In France the measurements were focused on the teats whereas in Ireland the side of the udder was also measured. Overall, in France the measured values were higher than in Ireland. The results varied for the teats, but feed and breed have shown a significant influence.**

**Therefore, the pilot study results indicate that the sensor has potential to provide useful information for farmers. As the sensor is developed for human use, more research needs to be done. The calibration models need to be adapted for dairy cows as well as the tool needs adaptation to the specifics of the udder.**

***Keywords: Animal health, antioxidants, sensor, MSRRS method***

## Einleitung

Automatisierte Systeme zur Gesundheitsüberwachung oder sogar zur Früherkennung von Erkrankungen sind durch die neuen Möglichkeiten der digitalen Transformation vielfach diskutiert. Gerade die Eutergesundheit spielt in der Milchproduktion eine wichtige Rolle. Mastitis ist eine endemische Krankheit, die als eine der häufigsten und teuersten Krankheiten in der Milchviehhaltung gilt (Halasa et al., 2007). Die momentane Nutzungsdauer von Rindern in Deutschland liegt im Mittel deutlich unter drei Laktationen (Martens & Bange 2013). Dieser Umstand ist weder wirtschaftlich noch nachhaltig. Mastitis kann beispielsweise anhand erhöhter Zellzahlen, mit dem Schalm-Test (manuell oder automatisiert), oder über die elektrische Leitfähigkeit erkannt werden. Für eine Früherkennung sind diese Ansätze jedoch nicht geeignet. Es wäre deshalb hilfreich, bereits frühzeitig entzündliche Prozesse anzeigen zu können. Das sogenannte C-reaktive Protein ist beispielsweise ein Anzeiger für entzündliche Prozesse. Es erhöht sich u. a. bei rheumatischen Entzündungen, bakteriellen Infektionen und entzündlichen tumorartigen Erkrankungen. Dadurch werden die in der Haut befindlichen Antioxidantien verbraucht. Bei Menschen lässt sich der Carotinoid Gehalt in der Haut in vivo bereits verlässlich bestimmen und beschreibt den Ernährungsstatus sowie das Stresslevel (Hata et al. 2000; Darvin et al. 2012).

Carotinoide sind in Pflanzen sehr weit verbreitete rote, gelbe oder orangerote Farbstoffe. Sie sind in den entsprechend gefärbten Gemüsearten wie Möhren, Paprika, Tomaten, Kürbis, Melonen oder in Obstarten wie Aprikosen in besonders hohen Konzentrationen enthalten. Sie kommen in Zusammenhang mit Chlorophyll vor, da es ihre Aufgabe ist, bei der pflanzlichen Photosynthese die Photooxidation bei Chlorophyllmolekülen zu unterbinden. Carotinoide wirken demnach als Antioxidantien und können das Immunsystem stimulieren. Da Rinder sehr chlorophyllhaltig ernährt werden, ist ein ausreichender Carotinoidgehalt in der Haut zu erwarten.

Im Rahmen einer Pilotstudie wurden deshalb erste Messungen zur Überprüfung des Potenzials eines bereits für Menschen kommerziell erhältlichen Sensors zur Detektion des Carotinoidgehaltes in der Haut zur Gesundheitsüberwachung von Milchkühen durchgeführt.

## Material und Methode

Ein neuartiger optischer Sensor biozoom® (biozoom services GmbH, Kassel, Deutschland) zur Detektion des Carotinoidgehaltes in der Haut beim Menschen wurde erstmalig auf zwei verschiedenen Milchviehbetrieben in Frankreich (Le Pin-au-Haras/INRA, Normandie) und Irland (Moorepark, TEAGASC, Fermoy) für eine Pilotstudie eingesetzt. Die Funktionsweise des Sensors basiert auf der MSRRS Methode (Multiple Spatially Resolved Reflection Spectroscopy). Der Sensor wird mit seiner reflektierenden Fläche auf der Haut mit leichtem Druck angelegt, dann wird die Epidermis von 18.000 unterschiedlichen Lichtwellen durchlaufen, um Auskunft über die Versorgung des Körpers mit Antioxidantien zu geben (Darvin et al. 2016). Für unsere Studie wurde die Messung vor dem Melken an der gereinigten Zitze oder am Euterboden durchgeführt. Die Messung dauerte etwa 15 Sekunden. Da die Messung nur bei pigmentarmer Haut funktioniert, wurden nur Zitzen für die Studie ausgewählt, die über eine helle Haut verfügten.

Der Sensor wurde für die Messung per USB Kabel an ein 8 Zoll Windows 10 Tablet angeschlossen. Der Messstart und die Datenspeicherung erfolgte über das Tablet. Im Anschluss berechnete dann die Firma biozoom services GmbH die Messwerte mithilfe eines speziellen Algorithmus. Jedem Messwert wurde ein Wert einer Skala von 0 bis 25 zugeordnet, der den Carotinoidgehalt in der Haut repräsentiert. Die Messwerte wurden allerdings ohne Einheit ausgegeben. Zusätzlich erfolgte eine Charakterisierung der Messwerte durch die zusätzliche Information Messqualität (0 = sehr gut bis 70 = nicht nutzbar) sowie den Zeitpunkt der Messung.

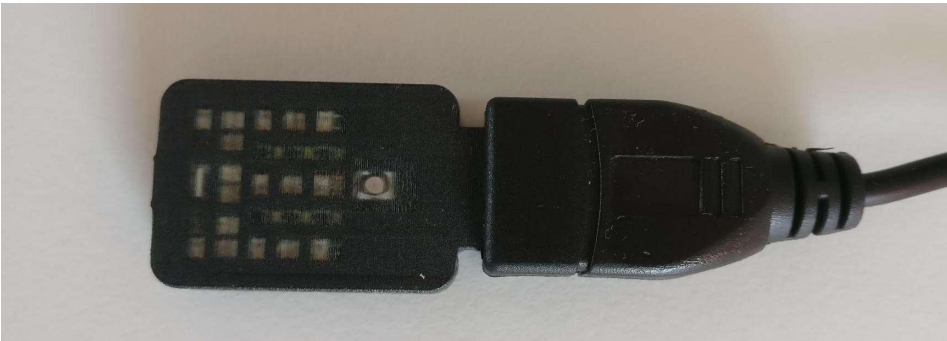


Abbildung 1: Optischer Sensor zur Carotinoidmessung (biozoom services, Kassel, Deutschland).

### Messperiode in Frankreich

In Frankreich wurden über einen Zeitraum zwei Wochen täglich nachmittags Messungen vor dem Melken an allen vier Zitzen pro Kuh durchgeführt. Insgesamt wurden 2467 Werte gemessen. Die 41 laktierenden Kühe wurden zufällig ausgewählt und waren in zwei Gruppen unterteilt, eine Gruppe mit Weidegang ( $n = 31$ ) und eine Gruppe mit ausschließlicher Stallhaltung ( $n = 10$ ) und Fütterung mit Silage und Konzentrat. Das Konzentrat enthielt Getreide und Raps.

Die Rassen Holstein Frisian und Normande waren vertreten, Normande jedoch ausschließlich in der Gruppe mit Weidegang. Die Milchleistung der mit Gras gefütterten Holstein Kühe liegt bei etwa 9000 kg/Jahr, der mit Gras gefütterten Normande Kühe bei 6500 kg/Jahr und die der Holstein Kühe in Stallhaltung bei 10 000 kg/Jahr.

### Messperiode in Irland

Nach Auswertung der Messergebnisse aus Frankreich wurde die Messroutine für Irland abgewandelt. In Irland wurden die Messungen vom Nachmittagsgemelk über 10 Tagen bei einer zufällig ausgewählten Gruppe von 28 laktierenden Kühen durchgeführt. Insgesamt liegen hier 726 Messwerte vor. Es wurden jeweils von einer gut erreichbaren Zitze und einer Stelle seitlich am Euter Daten gesammelt. Die Messung wurde pro Melkzeit zweimal durchgeführt, im Idealfall erfolgte die Wiederholungsmessung an derselben Stelle ohne den Sensor zwischendurch zu entfernen. Die Kühe hatten ganztägigen Weidegang und bekamen zusätzlich etwa 2 kg Krafffutter pro Tag. Neben den reinen Holstein Frisian Kühen waren auch Jersey, Norwegian Red oder Normande eingekreuzt.

### Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software JMP® 14.0., (SAS Institute, Cary, North Carolina, USA) sowie mit SAS (SAS Institute, Cary, North Carolina, USA) über das generalisierte gemischte lineare Modell mittels kleinster Quadrate Schätzung. Für die statistische Auswertung wurde die gesamte Stichprobe verwendet.

### Ergebnisse

Die Analyse der Messqualitätsdaten zeigt, dass bei 75 % aller Messungen in Frankreich und Irland eine Qualität von null bis dreißig erreicht wird. Dieser Bereich wird von der Firma als vertrauenswürdig angegeben. Beispielhaft ist in Abbildung 2 die Werteverteilung beim Qualitätsgrad null dargestellt. Null entspricht der höchsten Qualität.

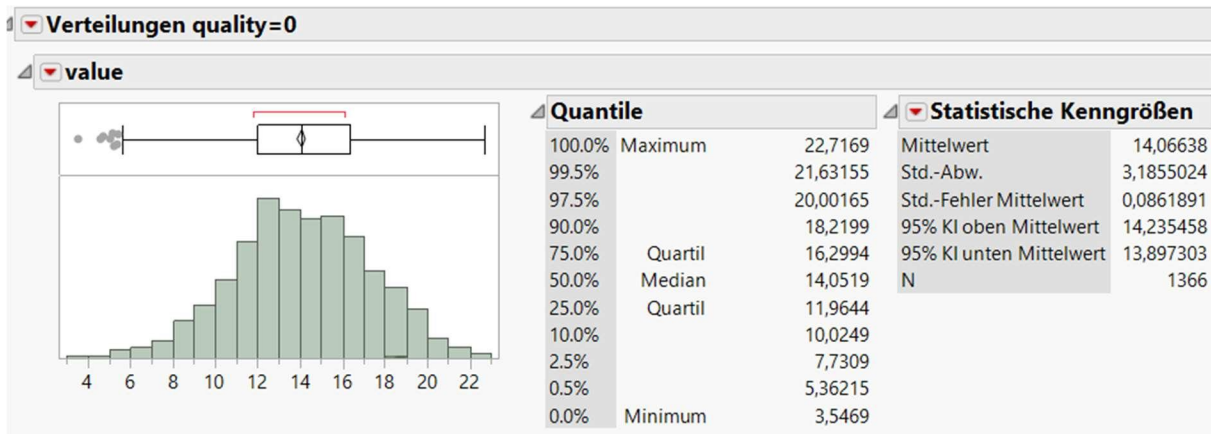


Abbildung 2: Messwerte Stichprobe Frankreich bei Qualitätsgrad 0 = sehr gut (n = 1366).

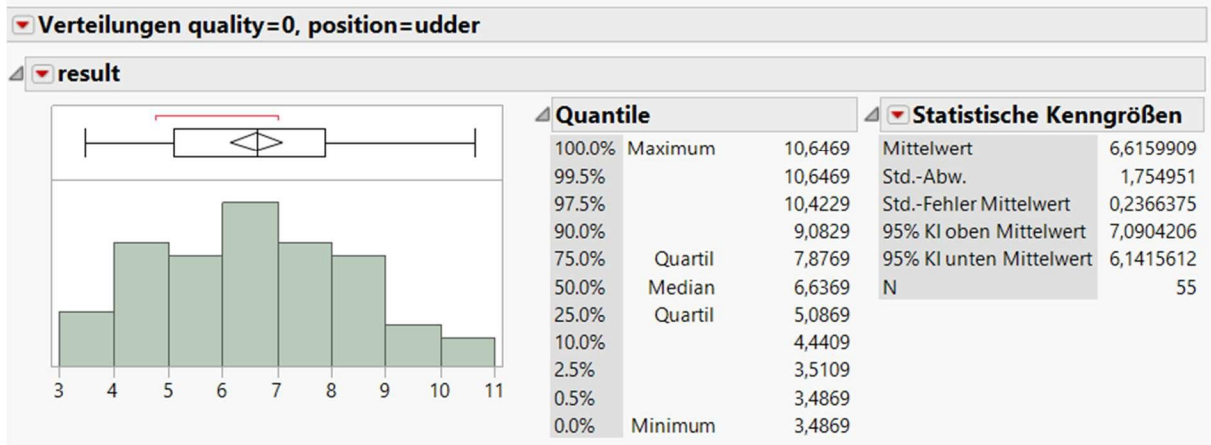
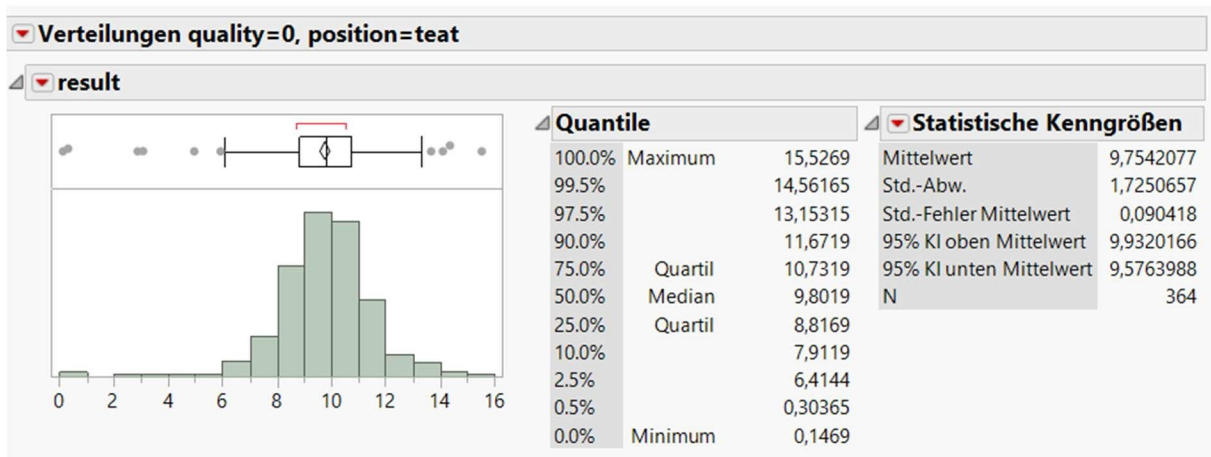


Abbildung 3: Messwerte Stichprobe Irland für Zitze (teat) und Euter (udder) bei Qualitätsgrad 0 = sehr gut (n<sub>gesamt</sub> = 726).

Im Vergleich der beiden Stichproben liegen die Messwerte der französischen Kühe im Mittel bei 14 Einheiten und die der irischen Kühe bei 10 Einheiten, wenn nur die Werte mit höchster Messqualität berücksichtigt werden. Die Ergebnisse zu den Messungen an der Seite des Euters bei der Messqualität null weisen eine deutlich andere Verteilung auf und liegen unter den Werten am Messpunkt Zitze (Abbildung 3). Sie umfassen lediglich 20 % der Gesamtstichprobe. 105 von insgesamt 258 der am Euter erhobenen Messwerte haben eine Messqualität schlechter als 30.

Die Ergebnisse aus Frankreich zeigen einen signifikanten Einfluss der Fütterung und der Rasse (Tabelle 1) auf den Sensormesswert. Der größte Unterschied ergibt sich zwischen den beiden Gruppen ‚Silage gefütterte Holsteinkühe‘ und ‚Normandekühe auf der Weide‘. Der geringste Unterschied zeigt sich bei der Unterscheidung zwischen den beiden Rassen bei Weidehaltung. Auch der Vergleich der Holsteinkühe bei Silage versus Weide konnte einen signifikanten Effekt bei der Fütterung identifizieren.

Tabelle 1: Fütterungs- und rassespezifischer Unterschied der Stichprobe in Frankreich

Fütterung	Rasse		Fütterung	Rasse	Schätzer	Standardfehler	Signifikanz
Weide	Holstein	vs	Silage	Holstein	1.9417	0.2753	***
Weide	Holstein	vs	Weide	Normande	-1.0770	0.2262	***
Silage	Holstein	vs	Weide	Normande	-3.0187	0.2405	***

\*\*\*  $p \leq 0,0001$

## Diskussion

Für die Pilotstudie wurde ein für Menschen entwickelter Sensor verwendet. Die genutzten Algorithmen basieren daher auf einer Kalibrierung, die für die menschliche Haut - und hier den Handballen - durchgeführt wurde. Der erwartete Messbereich beim Menschen reicht bis maximal 15, alle Werte darüber werden bei der Berechnung automatisch als unglaubwürdig bewertet. Viele der französischen Kühe erzielten deutlich höhere Werte, so dass der Wertebereich auf der Basis der bestehenden Kalibrierung extrapoliert wurde. Zukünftig müsste deshalb die Kalibrierung für Milchvieh einen breiteren Skalenbereich abdecken. Die hier dargestellten Messungen an Milchkühen sollten vor allem erstmal einen Einblick in die Machbarkeit der Messung geben sowie ihre Plausibilität überprüfen. In Vorbereitung auf die Studie wurden bereits Probemessungen an verschiedenen Stellen des Tierkörpers, wie z. B. im Ohr oder an der Nase, durchgeführt. In diesem Verlauf wurde dann entschieden, den Fokus auf den Euterbereich zu legen.

Aufgrund einer recht hohen Streuung der Messwerte bei einem Tier zwischen den vier Zitzen in Frankreich wurde die Messroutine für Irland geändert. Die generelle Wiederholbarkeit der Messung an ein und derselben Stelle sollte überprüft werden. Weiterhin sollte das Euter selbst als Messort getestet werden.

Der höhere in Frankreich gemessene Carotinoidgehalt der Haut lässt sich vermutlich über die Fütterung erklären. Die Gruppe mit den höchsten Werten hatte Weidegang. Die Messungen wurden im Frühling durchgeführt. Calderó et al. (2007) untersuchten in einer Studie die Messbarkeit verschiedener Carotinoide in der Milch und im Blutplasma. Besonders Vitamin E ließ sich im Plasma sehr gut nachweisen, und die Werte spiegelten die Carotinoidgehalte der verschiedenen Futterrationen gut wieder. Der Einfluss auf die Tiergesundheit wurde in der Studie nicht dargestellt, da der Nutzen hoher Vitamin E Gehalte in der Milch und damit der Vitamin E Versorgung der Verbraucher im Vordergrund stand. Der rassespezifische Unterschied könnte durch die verschiedenen Milchleistungsniveaus erklärt werden. Insgesamt ist die Dynamik der Carotinoide bei Milchkühen jedoch nur wenig erforscht. Dobbelaar et al. (2010) haben die oxidativen Prozesse bei Färsen z. B. anhand von Blutproben, Leberbiopsien, u. a. über einen Zeitraum von 8 Wochen vor bis 8 Wochen nach dem Abkalben untersucht und dabei festgestellt, dass die oxidativen Prozesse vor dem Abkalben reduziert sind. Dies kann durch die geringere Milchproduktion und die reduzierte Futteraufnahme verursacht werden. Die Gruppe der irischen Kühe wies eine niedrigere Milchproduktion auf und befand sich im fortgeschrittenen Laktationsstadium (> 200 Tage nach Abkalbung), was die niedrigeren Messwerte erklären könnte. Die französischen Tiere lagen im Durchschnitt erst bei Tag 76 der Laktation, jedoch variierten die Werte hier zwischen 10 und 191 Tagen.

Auf dem irischen Betrieb wird eine saisonale Abkalbung praktiziert, während in Frankreich Abkalbungen über das ganze Jahr verteilt sind.

Insgesamt lagen hohe Streuungen in den Messwerten vor, sowohl zwischen den Zitzen als auch von Tag zu Tag. Als kritisch ist sicherlich die nicht für die Kühe erfolgte Kalibrierung des Sensors anzusehen. Bei einer Fortführung der Arbeiten ist eine Validierung des Sensors für Kühe durch einen Vergleich mit Messwerten aus dem Blut zwingend notwendig. Einschränkungen in der Nutzung sind leider durch die Voraussetzung von pigmentarmen Hautstellen gegeben.

### **Schlussfolgerungen**

Die durchgeführten Messungen mit einem Carotinoidsensor zeigten Potenzial für einen Einsatz im Milchviehbereich. Trotz der fehlenden Kalibrierung für Milchvieh konnten Unterschiede in den Fütterungsregimes und möglicherweise sogar im Leistungsniveau bzw. in den Rassen detektiert werden. Die Ergebnisse indizieren, dass eine Messung an der Zitze möglich ist. Inwieweit die Unterschiede zwischen den Zitzen zu erklären sind ist noch unklar. Eine Vermutung ist unter anderem, dass der Sensor für manche Zitzen zu groß ist, und daher während der Messung Fremdlicht einfällt. Die Seite des Euters scheint sich nur bedingt für eine Messung zu eignen. Wahrscheinlich ist die Eignung vor allem von der Stärke der Behaarung abhängig. Für weitere Untersuchungen ist es wichtig, dass das System im nächsten Schritt für die Tierart kalibriert wird und die Form des Sensors an die Zitze angepasst wird.

## Literatur

- Caldero'n, F., Chauveau-Duriot, B., Pradel, P., Martin, B., Graulet, B., Doreau, M., Nozie`re, P. 2007. Variations in Carotenoids, Vitamins A and E, and Color in Cow's Plasma and Milk Following a Shift from Hay Diet to Diets Containing Increasing Levels of Carotenoids and Vitamin E. *J. Dairy Sci.* 90:5651–5664; 2007. doi:10.3168/jds.2007-0264.
- Darvin, M. E., Magnussen, B., Lademann, J., Köcher W. 2016. Multiple spatially resolved reflection spectroscopy for in vivo determination of carotenoids in human skin and blood. *Laser Phys. Lett.* 13 095601 (7pp) doi:10.1088/1612-2011/13/9/095601.
- Darvin, M. E., Sandhagen, C., Koecher, W., Sterry, W., Lademann, J., Meinke, M. C. 2012. Comparison of two methods for noninvasive determination of carotenoids in human and animal skin: Raman spectroscopy versus reflection spectroscopy. *Journal of Biophotonics*, 5 (7), 550-558. <https://doi.org/10.1002/jbio.201100080>.
- Dobbelaar, P., Bouwstra, R. J., Goselink, R. M. A., Jorritsma, R., van den Borne, J. J. G. C., Jansen, E. H. J. M. 2010. Effects of vitamin E supplementation on and the association of body condition score with changes in peroxidative biomarkers and antioxidants around calving in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 93:, 3103–3113. doi: 10.3168/jds.2009-2677.
- Halasa, T., Huijps, K., Østerås, O., Hogeveen, H. 2007. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: a review. *Veterinary Quarterly*, 29: 18 – 31.
- Hata, T. R., Scholz, T. A., Pershing, L. K., Ermakov, I. V., McClane, R. W., Khachik, F., Gellermann, W. 2000. Non-Invasive Raman Spectroscopic Detection of Carotenoids in Human Skin. *Journal of Investigative Dermatology*, Volume 115, Issue 3, Pages 441-448; <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.2000.00060.x>.
- Martens, H., Bange, C. 2013. Longevity of high producing dairy cows: a case study. *Lohmann Information* Vol. 48 (1), 57.