

HUES, J. (1991): Fütterungsbedingte Gesundheitsstörungen in Nutztierbeständen. Übers. Tierernährung 19, 247–272. – **KING, R. R., McQUEEN, R. E., LEVESQUE, D., GREENHALGH, R.** (1984): Food additives and contaminants. J. of Agric. and Food Chem. 32, 1181–1190. – **KUIPER-GOODMAN, T.** (1987): Risk assessment of the mycotoxin zearalenone. Reg. Toxicol. Pharmacol. 7, 253–257. – **KURTZ, H. J., NAIRN, M. E., NELSON, G. H., CHRISTENSEN, C. M., MIROCHA, C. J.** (1969): Histologic changes in the genital tracts of swine fed estrogenic mycotoxin. Am. J. Vet. Res. 30, 551–556. – **LEIBETSEDER, J., LEXER, W.** (1993): Probiotics in fattening bulls. Proc., 2nd Sci. Cong., Egyptian Society for Cattle Diseases, Assiut, p. 1–20. – **LEPSCHY, J.** (1992): Fusarientoxine in Getreide – ihre Entstehung und Vorbeugemaßnahmen. Gesunde Pflanzen 44, 35–39. – **LEYK, W.** (1999): Untersuchungen zur Bedeutung von Mykotoxinen in der Schweinehaltung. Proc. 21. Mykotoxin-Workshop, Jena, S. 49–55. – **MANSFELD, R., GRÜNERT, E., KAUTNI, J.** (1989): Mykotoxikose als Bestandsproblem bei Milchkühen. Mh. Vet. Med. 44, 412–414. – **MAULER-MACHNIK, A., ZAHN, K.** (1994): Ährenfusariosen an Weizen. Neue Erkenntnisse zu Epidemiologie und Bekämpfung mit Folicur® (Tebusconazol). Pflanzenschutznachrichten Bayer 47, 133–160. – **MÜLLER, H. M., REIMANN, J., SCHUMACHER, U., SCHWADORF, K.** (1997): Fusarium toxins in wheat harvested during six years in an area of southwest Germany. Natural Toxins 5, 24–30. – **REUTTER, M.** (1999): Zearalenon und Deoxynivalenol in Getreide und Futtermitteln Schleswig-Holsteins: Untersuchungen aus dem Erntejahr 1998. Proc. 21. Mykotoxin-Workshop, Jena, S. 5–9. – **SCHUH, M.** (1981): Klinische Auswirkungen der in Österreich vorkommenden Mykotoxine. Wien. Tierärztl. Mschr. 68, 308–312. – **SCHUH, M.** (1982): Experimentelle Untersuchungen über die chronische Toxizität von Desoxy-nivalenol (Vomitoxin) beim Mastschwein. Habil.-Schrift, Vet. Med. Univ. Wien. – **SCHUH, M., BAUMGARTNER, W.** (1988): Mikrobiologisch und mykotoxikologisch kontaminierte Futtermittel als Krankheitsursache bei Rindern. Wien. Tierärztl. Mschr. 75, 329–333. – **UENO, Y.** (1977): Trichothecenes: Chemical, biological and toxicological aspects. Development in Food Science 4, 195–209. – **WOLFF, J.** (1995): Zum Vorkommen von Mykotoxinen in Getreide, Getreidemehl und Brot 49, 139–147. – **ZEPAUER, GERISCH, V., SCHACHT, K.-H.** (1985): Beitrag zur Mykotoxikose beim Rind (Speichelsyndrom). Mh. Vet. Med. 40, 622–624.

Korrespondenzadresse:

Dr. Werner HOCHSTEINER, Univ. Prof.
Dr. Maximilian SCHUH, Veterinärplatz 1,
A-1210 Wien.
e-mail: werner.hochsteiner@vu-wien.ac.at

Einfluss der Impfung auf die Konzentration von Kortisolmetaboliten im Kot von Fleischfressern

PALME, R., SCHATZ, S., MÖSTL, E.

Institut für Biochemie und Ludwig Boltzmann Institut für veterinärmedizinische Endokrinologie, Veterinärmedizinische Universität Wien

PALME, R., SCHATZ, S., MÖSTL, E. (2001): **Einfluss der Impfung auf die Konzentration von Kortisolmetaboliten im Kot von Fleischfressern.** Dtsch. Tierärztl. Wschr. 108, 23–25

Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, die Anwendbarkeit einer Bestimmung von Kortisolmetaboliten im Kot zum Nachweis von Belastungen bei Katzen und Hunden anhand der jährliche Routineimpfung zu erheben. Dazu wurden bei 10 Katzen und 10 Hunden (jeweils 5 pro Geschlecht) von einem Tag vor bis zwei Tage nach der Impfung der gesamte Kot jedes Spontanabsatzes gesammelt. Die Proben wurden mit einem Enzymimmunoassay (EIA) für 11-Oxoätiocolanolon bzw. Kortisol analysiert. Nach der Impfung war ein deutlicher Anstieg der Metabolitenkonzentrationen zu verzeichnen, wobei in einer der zwei folgenden Kotproben Maximalwerte gemessen wurden. Der Medianwert der Maxima betrug bei der Katze 412 % (11-Oxoätiocolanolon-EIA) bzw. beim Hund 417 % des Initialwertes (Kortisol-EIA). Dies zeigte eine Aktivierung der Nebennierenrinde an, wobei der Beitrag der einzelnen physischen sowie psychischen Komponenten des gesamten Impfvorganges nicht erhoben wurden. Die Ergebnisse unterstreichen die Anwendbarkeit dieser nicht invasiven Methodik als Hilfsmittel zur Erhebung von Belastungen bei Katze und Hund.

Schlüsselworte: Hund, Katze, Kot, Kortisolmetaboliten, 11,17-Dioxoandrostan, Impfung

PALME, R., SCHATZ, S., MÖSTL, E. (2001): **Influence of a vaccination on faecal cortisol metabolite concentrations in cats and dogs.** Dtsch. Tierärztl. Wschr. 108, 23–25

Summary

The aim of this study was to apply a cortisol metabolite determination in the faeces of cats and dogs for monitoring disturbances. In this experiment faeces from every spontaneous defecation of 10 cats and 10 dogs (5 of each sex) were collected starting from one day before until two days after the yearly vaccination. Concentrations of 11,17-dioxoandrostan (cat) and cortisol equivalents (dog) were determined by enzyme immunoassay (EIA). Faecal cortisol metabolites increased and reached peak concentrations (median: 412 % in cats and 417 % in dogs, respectively above baseline values) in one of the next two samples following the vaccination. This indicated an activation of the adrenocortex, the degree to which the different parts (physical and psychological components) of the whole vaccination procedure contributed to it was not evaluated. From this experiment we conclude that measuring cortisol metabolites in the faeces is a non-invasive method to monitor stressful conditions in cats and dogs and thus is a valuable tool for evaluating animal welfare.

Key words: dog, cat, faeces, cortisol metabolites, vaccination stress

Physische und emotionale Belastungen rufen eine Vielzahl von Reaktionen im Organismus hervor (LADEWIG, 1994; CLARK et al., 1997). Unterschiede in den Stresseinflüssen und im individuellen Charakter von Tieren führen dabei zu einer großen Variabilität der Stressantworten. Diese Vielfältigkeit kompliziert aber eine stichhaltige Interpretation im Hinblick auf das Wohlergehen (BEERDA et al., 1997).

Stress ist u.a. in der Lage, einen Anstieg der Produktion und der Sekretion von Glukokortikoiden in der Nebennierenrinde auszulösen. Daher wird die Konzentration dieser Hormone im Blut (Kortisol) als ein endokrinologischer Parameter bestimmt (LADEWIG, 1994). Da aber gerade beim Fleischfresser eine Blutentnahme eine

nicht unwesentliche Belastung des Tieres und somit eine Beeinflussung des Ergebnisses darstellt, sind Methoden mit einer nicht invasiven Probenahme erforderlich. Neben Speichel- (BEERDA et al., 1998) bzw. Harnproben (VAN VONDEREN et al., 1998), deren Sammlung aber mit Nachteilen verbunden ist, sind Kotproben dazu am besten geeignet. Nachweisverfahren zur Bestimmung von Kortisolmetaboliten im Kot von Tieren wurden bereits bei verschiedenen Arten mit Erfolg etabliert (PALME u. MÖSTL, 1997; MÖSTL et al., 1999; PALME et al., 1999; SCHATZ u. PALME, 2001; TESKEY-GERSTL et al., 2000). Auch beim Fleischfresser werden Glukokortikoide über den Kot ausgeschieden (GRAHAM u. BROWN, 1996; SCHATZ u. PALME, 2001). Dabei erwies

sich die Bestimmung der Metaboliten mittels eines 11-Oxoätiocholanolon-EIAs (erfasst 11,17-Dioxoandrostane) bei der Katze bzw. Kortisol-EIAs beim Hund, als gut geeignet, um Rückschlüsse auf die Aktivität der Nebennierenrinde zu ziehen (SCHATZ u. PALME, 2001). Das Ziel der vorliegenden Studie war es, die Anwendbarkeit dieser nicht-invasiven Nachweisverfahren anhand des Modells der jährlichen Impfung bei Katzen und Hunden zu überprüfen.

Material und Methodik

Tiere

In dieser Studie wurden insgesamt 10 Katzen und 10 Hunde (je 5 beiderlei Geschlechts) vom Institut für Ernährung der Veterinärmedizinischen Universität Wien verwendet. Alle Tiere sind an diesem Institut geboren und aufgewachsen und mit verschiedensten Manipulationen, wie z.B. Blutentnahmen vertraut. Die Europäischen Kurzhaarkatzen waren zwischen neun und zwölf Jahre alt (Körpergewicht: 3,0 bis 5,2 kg). Die Tiere wurden zwei Tage vor der Versuchsdurchführung dar-

an gewöhnt, sich einzeln in Stoffwechselfäfigen aufzuhalten. Sie bekamen Wasser ad libitum und wurden mit Feuchtfutter (rund 300 g pro Tier und Tag; Whiskas® Master Foods, Bruck/Leitha, Österreich) gefüttert. Das Alter der Hunde (Beagles) lag zwischen zwei bis fünf Jahren (Körpergewicht: 10,2 bis 15,2 kg). Sie wurden ebenfalls in Einzelkäfigen gehalten. Auch sie bekamen Was-

ser ad libitum und Feuchtfutter (0,9–1,5 kg, Pedegree Pal®, Master Foods, Bruck/Leitha, Österreich).

Versuch

Die Tiere wurden jeweils in einen adäquaten Transportkorb verbracht, mit dem Auto zirka 10 Minuten herumgefahren und in einen tierarztpraxisähnlichen Raum transportiert. Dort erfolgte die jährliche Impfung (Katzen: Feliniffa*HC, Feliniffa*P, Merial-Pasteur Merieux Connaught, Austria; Leukocell 2, Pfizer, Austria; Hunde: Vanguard* DA2Pi-CPV Lepto, Pfizer, Austria) durch einen, ihnen nicht vertrauten Veterinärmediziner. Der Rücktransport erfolgte in derselben Weise. Sämtliche abgesetzte Kotproben aller Tiere wurden einen Tag vor, am Tag der Impfung und zwei Tage nach der Impfung gesammelt, in einen Gefrierbeutel verbracht und bei -24 C° bis zur Analyse gelagert.

Analysenmethode

Jeweils 0,5 g des homogenisierten, feuchten Kots wurden mit 5 ml Methanol (80 %), wie bei SCHATZ und PALME (2001) beschrieben, extrahiert. Die Bestimmung der Konzentration der Kotmetaboliten wurde in einem Aliquot des Überstandes mittels eines, bei PALME und MÖSTL (1997) beschriebenen, Enzymimmunoassays (EIAs) für Kortisol und 11-Oxoätiocholanolon (erfasst 11,17-Dioxoandrostane) durchgeführt.

Statistik

Die individuellen Basalwerte (Median) der Kortisolmetabolitenkonzentration wurden anhand aller Proben (n=1 bis 3) vor bzw. bis 12 h nach der Impfung kalkuliert. Da die ermittelten Werte hinsichtlich Tier und Spezies nicht alle normal verteilt waren (Kolmogorov-Smirnov Test), wurden Minimal-, Maximal- und Medianwerte angegeben (Tab. 1). Bei beiden Tierarten wurden die Unterschiede zwischen Basiswerten (Median) und jeweiligen Maximalwerten bzw. der in beiden EIAs ermittelte Konzentrationsanstieg (%) mittels „paired t-test“ bzw. „signed rank test“ auf Signifikanz hin überprüft (SigmaStat, SPSS Inc, Erkrath, Deutschland).

Ergebnisse

Bei beiden Fleischfresserarten konnten große individuelle Konzentrationsunterschiede festgestellt werden. Nach der Impfung war ein deutlicher Anstieg der Metabolitenkonzentrationen zu verzeichnen, wobei in einer der zwei folgenden Kotproben Maximalwerte gemessen wurden (Abb. 1), was einer zeitlichen Verzögerung von 40 Stunden bei der Katze bzw. 23 Stunden beim Hund (Tab. 1) entspricht. Dieser Anstieg war bei der Katze mit dem 11-Oxoätiocholanolon-EIA ($p = 0,039$) bzw. beim Hund mit dem Kortisol-EIA ($p = 0,06$) deutlicher zu erfassen (Abb. 1, Tab. 1). Die gemessenen Medianwerte der Basalkonzentrationen der 11,17-DOA (11,17-Dioxoandrostane) bei

Tab. 1: Basalwerte (nmol/kg Kot), absolute (nmol/kg Kot) und relative (%) Maximalkonzentrationen, sowie der Zeitraum (h) bis zum Erreichen der Maximalkonzentrationen der mit dem 11-Oxoätiocholanolon (11,17-Dioxoandrostane = 11,17-DOA) bzw. Kortisol EIA gemessenen Metaboliten im Kot nach einer Impfung von Katzen und Hunden.

	Katze		Hund	
	11,17-DOA	Kortisol	Kortisol	11,17-DOA
Basalwert				
Median	277	8,9	2,1	18
Min - Max	69-753	4,5-14,7	1,4-7,6	6-65
Maximalwert				
Median	1267	20,3	9,7	45
Min - Max	325-2188	6,0-25,4	2,6-33,1	7-304
Anstieg (%)				
Median	412	228	417	203
Min - Max	106-2755	83-478	173-1839	91-468
Zeit (h)				
Median	40	50	23	28
Min - Max	22-58	22-58	14-46	14-46

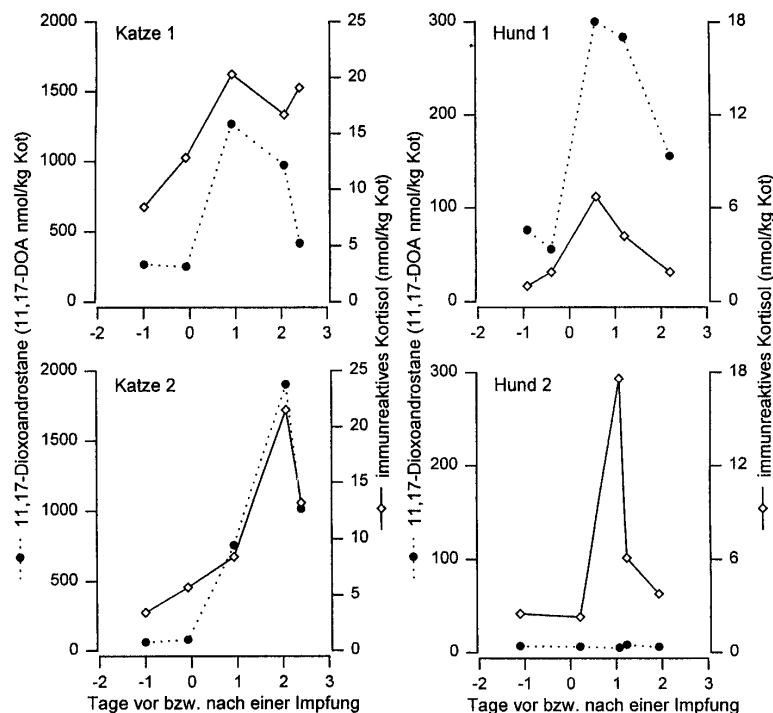


Abb. 1: Individueller Verlauf der Konzentrationen von 11,17-Dioxoandrostane bzw. Kortisoläquivalenten in den Kotproben vor und nach der Impfung bei zwei Katzen (linke Grafiken) und zwei Hunden (rechte Grafiken).

der Katze lagen bei 277 nmol/kg Kot und stiegen im Maximum auf 1267 nmol/kg (Medianwert; $p = 0.008$) an. Beim Hund stiegen die Kortisolwerte (Median) im Kot von 2,1 nmol/kg auf Maximalwerte von 9,7 nmol/kg ($p = 0.002$). Daraus ergab sich bei der Katze ein Anstieg von durchschnittlich 412 % und beim Hund von 417 %.

Diskussion

Es liegen schon verschiedene Studien vor, die gezeigt haben, dass Glukokortikoidmetaboliten im Kot von Tieren (u. a.: Schaf, Rind, Pferd, Katze, Primaten bzw. Hase) ausgeschieden werden, und dass ihre Analyse genutzt werden kann, um Belastungen mittels nicht-invasiver Proben-gewinnung zu ermitteln (GRAHAM u. BROWN, 1996; PALME et al., 1996, 1999, 2000; PALME u. MÖSTL, 1997; MÖSTL et al., 1999; BAHR et al., 2000; TESKEY-GERSTL et al., 2000). Eine vor kurzem durchgeführte Radiometabolismusstudie (Administration von ^{14}C -Kortisol), sowie Experimente bei denen die Nebennierenrindenaktivität pharmakologisch stimuliert (ACTH) bzw. supprimiert (Dexamethason) wurde, konnten dies auch beim Fleischfresser (Katze, Hund) bestätigen (SCHATZ u. PALME, 2001). Dabei spiegelte die Konzentration der über den Kot ausgeschiedenen Kortisolmetaboliten die Nebennierenrindenaktivität wider. In der vorliegenden Studie sollte die Anwendbarkeit dieser nicht invasiven Methodik zum Nachweis von Belastungen bei Katzen und Hunden anhand der jährlichen Impfung erhoben werden.

Wie bei allen Experimenten in denen Kortisol oder seine Metaboliten gemessen wurden (LADEWIG, 1994; VAN VONDEREN et al., 1998; PALME et al., 1999; SCHATZ u. PALME, 2001), traten auch in diesem Fall große individuelle Unterschiede im Bezug auf Basal- bzw. Maximalwerte auf. Dies unterstreicht die Notwendigkeit von Longitudinalstudien (PALME et al., 1999), in denen jedes Tier als seine eigene Kontrolle fungiert, wobei gerade hier die Vorteile der nicht invasiven Kot-analytik zum Tragen kommen.

Die Impfung führte bei allen Tieren zu einem deutlichen Anstieg der Konzentration von Kortisolmetaboliten im Kot. Dabei konnten vergleichbare Werte wie nach einer pharmakologischen Stimulation mittels ACTH (SCHATZ u. PALME, 2001) beobachtet werden. In Einklang mit der eben erwähnten Untersuchung reflektierte, aufgrund der bei Katze und Hund unterschiedlichen Metabolisierung von Kortisol (SCHATZ u. PALME, 2001), die Konzentration von 11,17-Dioxoandrostanen bei der Katze bzw. von Kortisoläquivalenten beim Hund diesen Anstieg am besten. Der zeitliche Abstand bis zum Erreichen der Maximalkonzentrationen war, vorwiegend bei der Katze, stark individuell unterschiedlich, da es durch die physiologische und psychische Belastung zu einem verzögerten Kotabsatz gekommen war.

Allerdings ließen sich die höchsten Konzentrationen bei allen Versuchstieren in einer der beiden der Impfung folgenden Kotproben messen. Durch die gegebene Versuchsordnung konnte der Beitrag der verschiedenen Komponenten der durchgeführten Impfung, wie das Einfangen des Tieres, der Transport im Transportkorb, die Autofahrt, die fremde Umgebung, das Fixieren der Tiere bzw. der eigentliche Impfungsvorgang, nicht erhoben werden. Aufgrund der erhöhten Ausscheidung der Kortisolmetaboliten im Kot stellte der gesamte Vorgang aber für die Tiere eine Belastung dar. Dies stimmt mit anderen Untersuchungen beim Hund überein, die einen Anstieg der Kortisolwerte in Harnproben (VAN VONDEREN et al., 1998) bzw. indirekt aufgrund ihrer immunsuppressiven Wirkung (STRASSER et al., 1997) im Zusammenhang mit einer Impfung beim Hund fanden. Zu bedenken ist außerdem, dass es sich bei den untersuchten Tieren um an Manipulationen gewöhnte Tiere handelte, sodass wahrscheinlich bei nicht als Versuchstieren gehaltenen Katzen und Hunden noch ausgeprägtere Reaktionen zu erwarten sind. Da Glukokortikoide immunsuppressiv wirken (LADEWIG, 1994) ist es in diesem Zusammenhang wichtig, in weiterführenden Untersuchungen die Hauptkomponenten der mit einer Impfung einhergehenden Belastungen zu ermitteln, um durch gezielte Modifikationen das Risiko eines Impfversagen zu minimieren zu können.

Wie mehrfach beschrieben (z.B.: CARLSTEAD et al., 1993; LADEWIG, 1994; BEERDA et al., 1997) ist es wichtig, zur objektiveren Erhebung von Belastungen bzw. Stress, neben dem Verhalten auch eine Reihe endokrinologischer, physiologischer bzw. immunologischer Parameter zu erfassen. Unsere Untersuchungen anhand der Impfung unterstreichen die Bedeutung einer Bestimmung von Kortisolmetaboliten im Kot von Carnivoren als ein Hilfsmittel zur Erfassung der Nebennierenrindenaktivität. Dabei stellt vor allem die einfache Kotprobensammlung, bei der die Tiere nicht behelligt werden müssen, einen großen Vorteil dar.

Danksagungen

Die Autoren bedanken sich beim Institut für Ernährung, Veterinärmedizinischen Universität, Wien (Vorstand: A. Univ. Prof. Dr. Ch. Iben) für die Bereitstellung der Tiere, bei Frau M. Stark für die gewissenhafte Analyse der Kotproben, sowie beim Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (FWF) für die finanzielle Unterstützung (P 12376-Med).

Literatur

BAHR, N., PALME, R., MÖHLE, U., HODGES, K., HEISTERMANN, M. (2000): Comparative aspects of the metabolism and excretion of cortisol in three individual nonhuman primates. *Gen. Comp. Endocrinol.* 117, 427–438. – BEERDA, B., SCHILDER, M. B. H., VAN

HOOFF, J., DE VRIES, H. W., MOL, J. A. (1997): Manifestations of chronic and acute stress in dogs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 52, 307–319. – BEERDA, B., SCHILDER, M. B. H., VAN HOOFF, J., DE VRIES, H. W., MOL, J. A. (1998): Behavioural, saliva cortisol and heart rate responses to different types of stimuli in dogs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 58, 365–381. – CARLSTEAD, K., BROWN, J. L., STRAWN, W. (1993): Behavioural and physiological correlates of stress in laboratory cats. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 38, 143–158. – CLARK, J. D., RAGER, D. R., CROWELL-DAVIS, S., EVANS, D. L. (1997): Housing and exercise of dogs: effects on behaviour, immune function, and cortisol concentration. *Lab. Anim. Sci.* 47, 500–510. – GRAHAM, L. H., BROWN, J. L. (1996): Cortisol metabolism in the domestic cat and implications for non-invasive monitoring of adrenocortical function in endangered felids. *Zoo Biol.* 15, 71–82. – LADEWIG, J. (1994): Streß. In: DÖCKE, F. (Hrsg.) *Veterinärmedizinische Endokrinologie*. Gustav Fischer Verlag, Jena – Stuttgart, p. 377–398. – MÖSTL, E., MEBMANN, S., BAGU, E., ROBIA, C., PALME, R. (1999): Measurement of glucocorticoid metabolite concentrations in faeces of domestic livestock. *J. Vet. Med. A* 46, 621–632. – PALME, R., MÖSTL, E. (1997): Measurement of cortisol metabolites in faeces of sheep as a parameter of cortisol concentration in blood. *Int. J. Mammal. Biol.* 62, Suppl. 2, 192–197. – PALME, R., ROBIA, C., MESSMANN, S., HOFER, J., MÖSTL, E. (1999): Measurement of faecal cortisol metabolites in ruminants: a non-invasive parameter of adrenocortical function. *Wien Tierärztl. Mschr.* 86, 237–241. – PALME, R., ROBIA, C., BAUMGARTNER, W., MÖSTL, E. (2000): Transport stress in cattle as reflected by an increase in faecal cortisol metabolites. *Vet. Rec.* 146, 108–109. – SCHATZ, S., PALME, R. (2001): Measurement of faecal cortisol metabolites in cats and dogs: a non-invasive method for evaluating adrenocortical function. *Vet. Res. Commun.* (in press). – STRASSER, A., MAY, B., TELTSCHER, A. (1997): Immunosuppression after vaccination in the dog. *Proc. 2nd Africa Congress World Vet. Assoc.* Pp 47–52. – TESKEY-GERSTL, A., BAMBERG, E., STEINECK, T., PALME, R. (2000): Excretion of corticosteroids in urine and faeces of hares (*Lepus europaeus*). *J. Comp. Physiol. B* 170, 163–168. – VAN VONDEREN, I. K., KOOISTRA, H. S., RIJNBERK, A. (1998): Influence of veterinary care on the urinary corticoid: creatinine ratio in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 12, 431–435.

Korrespondenzadresse:

A.Univ. Prof. Dr. R. PALME (korrespondierender Autor: e-mail: Rupert.Palme@vu-wien.ac.at); Dr. S. SCHATZ; A. Univ. Prof. Dr. E. MÖSTL, Institut für Biochemie und Ludwig Boltzmann Institut für Veterinärmedizinische Endokrinologie, Veterinärmedizinische Universität, Veterinärplatz 1, A-1210 Wien, Österreich.