

Die Untersuchung von hormonellen und biochemischen Belastungsindikatoren im Blut von Tieren erfordert eine Probenahme, deren Vorbereitung und Durchführung häufig selbst als Belastungsfaktor wirkt. Zur Beurteilung von Belastungszuständen ist deshalb die Kenntnis des Einflusses der Probenahmetechnik unerlässlich. Es wurden zur Einschätzung der Belastungsantwort auf den Blutentnahmevorgang an 6 Schafen unter standardisierten Bedingungen (Klimakammer mit Lichtprogramm) die drei Blutentnahmetechniken Venenpunktion (PKT), Venenverweilkatheter (KAT) sowie automatisches Blutentnahmegesetz (BEG) in einem Überkreuzversuch verglichen. Das Probenahmeintervall betrug bei PKT 60 Minuten und bei KAT und BEG 30 Minuten. Im 2. Teil der Arbeit erfolgte die Untersuchung von zwei dieser Techniken (KAT und BEG) unter Belastungsbedingungen während des Transportes über eine Dauer von 2, 5 und 8 Stunden an 12 Schafen.

Die Veränderung der Belastungsindikatoren durch die Blutentnahme fällt unter Ruhebedingungen methoden- und parameterspezifisch aus. Beim Cortisol bleibt bei keiner der drei Blutentnahmetechniken der diurnale Sekretionsrhythmus erhalten. Der Plasmaspiegel ist bei Anwendung von BEG und PKT jeweils um im Mittel etwa 20 % gegenüber der des KAT erhöht, bleibt aber im physiologischen Bereich. Die Catecholamine Noradrenalin und Adrenalin reagieren in unterschiedlicher Weise auf die angewendete Technik. Beide sind bei der Punktion um etwa 30 bzw. 36 % gegenüber der Katheteranwendung erhöht. Die Anwendung des KAT ruft dagegen gegenüber dem BEG eine Erhöhung der Plasma-Adrenalin-Konzentration um im Mittel 17 % hervor, während sich der Noradrenalinegehalt nicht verändert. Durch eine gesteigerte motorische Aktivität der Schafe bei Fixation zur Blutentnahme per PKT steigt die Plasmaaktivität der Creatinkinase gegenüber dem BEG und der KAT um etwa 19 % an. Von den Stoffwechselmetaboliten reagiert das Lactat sehr ausgeprägt auf die manuellen Blutentnahmeverfahren KAT und PKT, deren Plasmaproben einen um etwa 60 % höheren Konzentration aufweisen als die des BEG. Tendenziell bestehen diese Unterschiede auch bei der Glucose (5%). Die Anwendung unterschiedlicher Blutentnahmetechniken bewirkt bei den Plasmakonzentrationen an unveresterten Fettsäuren (NEFA), 3-Hydroxybutyrat (3-HB) und Gesamtprotein unter Ruhebedingungen keine Veränderungen. Der Hämatokrit steigt bei Anwendung von KAT und PKT geringfügig gegenüber dem BEG, während die Herzfrequenz durch die Venenpunktion deutlich und durch die Anlage des BEG mittelgradig gegenüber dem Blutentnahmeverfahren KAT erhöht wird.

Unter Ruhebedingungen zeigt die Anwendung des BEG somit Rückwirkungen hauptsächlich auf den Cortisolgehalt der Blutproben und die Herzfrequenz der Schafe, während der Katheter vornehmlich Auswirkungen auf den Adrenalin- und Lactatgehalt der Proben zeigt. Die Venenpunktion ist zur Untersuchung von Cortisol, Catecholaminen, CK, Lactat und Glucose im

Blutplasma von Schafen nicht geeignet. Sie zeigt zudem deutliche Auswirkungen auf die Herzfrequenz.

Unter Transportbedingungen verändert sich die Reaktion von Schafen auf den Blutentnahmevorgang. Im Vergleich zu den Bedingungen im Klimastall bestehen beim Cortisol nur zu Beginn des Transportes Unterschiede zwischen den Blutentnahmeverfahren BEG und KAT. Die Anwendung des Katheters führt beim Noradrenalin gegenüber den BEG-Proben teilweise zu deutlich erhöhten Gehalten in den Blutproben, die so als erhöhte Transportbelastung fehlerinterpretiert werden können. Beim Adrenalin gehen dagegen unter Transportbedingungen die unter Ruhebedingungen deutlichen Reaktionsunterschiede zwischen den beiden Blutentnahmeverfahren verloren.

Die Belastungsreaktion der Schafe auf dem Transport verlief bei Anwendung der beiden Blutentnahmetechniken BEG und KAT bei den Parametern Creatinkinase, Lactat, Glucose, NEFA und Herzfrequenz in gleicher Weise. Auch hier sind, vor allem bei der Creatinkinase und dem Lactat, Unterschiede zur Belastungsreaktion auf die Blutentnahme unter Ruhebedingungen vor allem durch die Verwendung des BEG vorhanden, das durch sein Gewicht unter Transportbedingungen größere motorisch bedingte Auswirkungen auf diese Parameter zeigt als der KAT und somit als zusätzlicher Stressor wirkt. Die Verwendung des BEG führt auf längeren Transporten zu gegenüber dem KAT geringgradig erhöhten Hämatokritwerten. Die Ursache der bei Verwendung des BEG während des Transportes aufgetretenen deutlichen Verminderung der Plasmakonzentrationen an Gesamtprotein ist nicht geklärt.

In der Transportsituation eignet sich die Blutentnahme mit KAT zur Untersuchung des Cortisolspiegels, des Adrenalins und der Stoffwechselmetaboliten. Das Blutentnahmegerat bietet große Vorteile durch funktionsgesteuerte Probenahme in Belastungssituationen, die für diesen Zweck nicht unterbrochen werden müssen. Es zeigt aber Rückwirkungen auf den Cortisolspiegel und in Situationen, die mit erhöhter motorischer Belastung der Tiere einhergehen, auch auf den Lactatgehalt und den Hämatokrit der Blutproben. Es eignet sich daher gut zur Untersuchung akuter Belastungssituationen, in denen Catecholamine, NEFA und CK zu untersuchen sind.

Durch den Transport werden beim Schaf die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrindendachse (HHA) und das Sympatho-Adrenomedulläre System (SAM) vornehmlich während der Verladung der Tiere und durch den Fahrtbeginn aktiviert, wodurch es zu deutlichen und nachhaltigen Konzentrationszunahmen von Cortisol und Adrenalin im Blutplasma kommt. Der Noradrenalinegehalt ändert sich, abgesehen von Einflüssen durch die Blutentnahmemethode, nur geringfügig. Im Transportverlauf sinkt der Cortisolspiegel langsam ab, während Adrenalin unabhängig von der Transportdauer auf einem hohen Niveau verbleibt. Die Plasmaaktivität der Creatinkinase und die Gehalte an NEFA steigen durch den Verladevor-

gang um ein Mehrfaches der Ausgangssituation an und nehmen mit der Dauer der Transporte zu. Das trifft in geringerem Umfang auch auf den Plasmagehalt an Gesamtprotein zu, der jedoch, da eine gleichzeitige Hämokonzentration ausbleibt, kein Anzeichen für eine zunehmende Dehydratation der Schafe auf den längeren Transporten darstellt. Die Herzfrequenz ist in allen Stadien des Transportes erhöht und zeigt mit steigender Transportdauer eine Tendenz zur Zunahme.

Eine Erhöhung der Transportdauer auf bis zu acht Stunden überfordert nach den vorliegenden Ergebnissen nicht das physiologische Anpassungsvermögen der Schafe, da z. B. weder der Anstieg der Herzfrequenz noch der der Plasmakonzentrationen von CK und NEFA Normwertbereiche nicht verlassen. Unter veränderten klimatischen Bedingungen, erhöhter Ladedichte und längeren Transportdauern, wie sie in der Praxis üblich ist, sind jedoch u. U. stärkere Belastungsreaktionen möglich.

Die vieldiskutierte Fahrtunterbrechung zur Erholung der Tiere trägt nicht zwangsläufig zu einer Verminderung von Belastungsindikatoren bei. In der vorliegenden Untersuchung führt im Gegenteil der erneute Fahrtbeginn nach einer halbstündigen Pause zu einer Steigerung der Konzentration von Cortisol, Adrenalin, Creatinkinase, Lactat und NEFA.

Michael Marahrens

The influence of different methods of blood sampling on the stress response of sheep under standardized conditions and during transport

The investigation of hormonal and biochemical stress response - induced blood parameters in animals is often confounded by the invasiveness of the sampling methods and the need to restrain the animals during such procedures. For the characterization of stress response during the sampling procedure three different techniques, venous puncture (VP), blood collection with jugular indwelling catheter (JIC) and an automatic remote controlled blood sampler (RCBS), were estimated in six sheep in a climate chamber regulating temperature and humidity of the air including a light programme. The sampling interval for the VP was 60 min and 30 min for JIC and RCBS over 6 hours per day. In a subsequent study the stress response of these sheep were investigated during road transport of 2, 5 and 8 hours by using JIC and RCBS.

The climate chamber study showed that there was a clear method-depending influence on individual stress indicators.

All three sampling techniques induced an alteration of the diurnal rhythm of cortisol secretion. Using RCBS and VP the cortisol plasma level was 20 % higher compared to the JIC-induced level. The noradrenaline and adrenaline concentrations were 30 % and 36 % higher following VP compared to the JIC-technique. The application of JIC evoked an adrenaline elevation of 17 % compared to RCBS. The higher motoric activity of the restrained sheep may be the cause for an increased creatin kinase activity. Lactate levels were up to 60 % higher after VP and JIC than the RCBS-induced levels. It seems, that the blood sampling evoked a mainly psychical induced metabolic stress reaction. Similar findings have been made by investigation of plasma glucose levels (5 %). There was no change of plasma concentrations of non-esterified fatty acids (NEFA), 3-hydroxybutyrate (3-HB) and total protein caused by the different blood sampling techniques under the standardized environment in the climate chamber. Hematocrit and heart rate increased after VP significantly and 5 to 7 per cent higher than after using RCBS and JIC.

The transport study showed the additional influence of transport on the sampling methods and the animals. The initial difference of cortisol levels decline with duration transport. The levels of noradrenalin increase after RCBS and JIC treatment. They increase, however, with different intensity. After JIC the higher levels are initially reached, this could be misinterpreted as an activation of the sympatho-adrenomedullary (SAM) system which seems to be induced by the transport. These differences do not exist for adrenaline.

Creatinase, lactate, glucose, NEFA and heart rate during the transport were similar when RCBS and JIC were compared. RCBS-sampled blood revealed a higher hematocrit than the JIC samples. The cause of plasma protein decline in RCBS-samples during the transport is not clear.

The study shows that VP is not an appropriate blood sampling technique for the characterization of stress response in sheep. RCBS technique has got some advantages in comparison to the other techniques, the remote control in particular which ensures blood sampling without any disturbance of the environmental situation. Nevertheless the RCBS-probes revealed an increase of cortisol-, lactate- and hematocrit-levels.

Transport activates the ovine SAM especially by loading the animals and when starting the journey. The increased cortisol and adrenaline plasma levels sustained for a long period. Only slight changes in the noradrenaline plasma levels can be measured. A slight cortisol decline occurred during the transport time, whereas no decline of the high elevated adrenaline level can be observed, without any influence due to the duration of transport. The increased creatinase activity and NEFA concentrations rose progressively during the transport and reached a several times higher level than the level when the journey started.

The observed increased protein level is not an indicative parameter for dehydration of the animal, as no changes in hematocrit take place.

There was a significant increase in the mean heart rate during all intervals of transport with a tendency to progress. Sheep adapted to an 8 hours lasting transport, heart rate, creatinase activity and NEFA concentrations never reach pathological values. Variability of climatic conditions and loading density as usual in practice, expect a higher significant stress response. Transport breaks, discussed as a main factor for stress reduction, leads in our experiments to an increase of cortisol, adrenaline, creatinase, lactate and NEFA concentrations.

All three tested techniques can be used to investigate the levels of stress indicators in the blood of sheep when housed under usual keeping conditions. Best results can be expected using JIC followed by RCBS. VP should be used only when immediate results are requested e.g. for cortisol. VP is not suitable for investigating catecholamines.