

28. Fortbildungsveranstaltung

Klinische Labordiagnostik

Medizinische Tierklinik Leipzig

An den Tierkliniken 11

04103 Leipzig

Leipzig, 13. 6. 2003

28. Fortbildungsveranstaltung - Klinische Labordiagnostik Leipzig, 13. 6. 2003

Tagungsort: Kursraum der Medizinischen Tierklinik Leipzig
An den Tierkliniken 11, 04103 Leipzig

Program

- 9.00 Begrüßung
- 9.15 – 9.30 C. Wolf (Rostock): Se-Versorgung bei Pferden in M-V
- 9.35 - 9.50 G.F. Schusser, A. Eckhoff (Leipzig): Erweiterte Möglichkeiten zur Liquordiagnostik beim Pferd
- 9.55 – 10.05 U. Lober (Jena): Kritische Beurteilung der Stoffwechsellnormwerte für Milchkühe. (Schwerpunkt: β -OH-Butyrat, Harnstoff Cholesterol, CK, Bilirubin, P anorg., Zn, Mn, Cu [Blutserum], pH-Wert, NSBA, Na, K [Harn])
- 10.10 – 10.20 U. Lober (Jena): Normwertabweichungen von Stoffwechsellparametern in der Frischkalbperiode (1 Woche p.p.)
- 10.25 – 10.40 U. Lober (Jena): Möglichkeiten und Grenzen der Stoffwechsellkontrolle anhand von Poolproben
- 10.45 – 11.00 P a u s e**
- 11.00 – 11.15 B. Klein, B. Rittgerodt, R. Staufenbiel (Berlin): Untersuchungen zu den Blutserumkonzentrationen an Vitaminen aus dem B-Komplex bei Milchkühen
- 11.20 – 11.35 G. Neumann, J. Gottschalk, K. Eulenberger, E. Grün, J. Gottschalk (Leipzig): Methodische Untersuchungen zur Stabilität des Gestagengehalts im Kot bei verschiedenen im Zoo gehaltenen Wildtierarten
- 11.40 – 11.55 C. Wolf (Rostock): Praktische Erfahrungen mit β -Carotinbestimmung im Rahmen der Abklärung von Fruchtbarkeitsstörungen bei Milchkühen
- 12.00 – 13.00 M i t t a g s p a u s e**
- 13.00 – 13.15 N. Zahn, T. Sattler M. Fürll, Leipzig: Verhalten der Superoxid-Dismutase-(SOD) Aktivität im Jahres- und Laktationsverlauf bei gesunden Kühen
- 13.20 – 13.35 T. Sattler, N. Zahn, M. Fürll Leipzig: Vergleich unterschiedlicher Parameter des antioxidativen Systems bei gesunden Kühen im peripartalen Zeitraum
- 13.40 – 13.55 Ahmed, M., C.-C. Gelfert und R. Staufenbiel (Berlin): Technik der Leberbiopsie beim Rind und Vergleich zweier Methoden zur Leberfettbestimmung
- 14.00 – 14.15 C.-C. Gelfert, M. Ahmed und R. Staufenbiel (Berlin): Leberfettgehalt bei Kühen mit unterschiedlichen Erkrankungen und seine prognostische Aussagekraft
- 14.20 – 14.35 Ch. Röhl, M. Fürll (Leipzig): Antioxidativer Status bei klinisch gesunden sowie kranken Schweinen



Selenversorgung bei Pferden in Mecklenburg-Vorpommern

Carola Wolf* Jens-Christian Rudnick**

*Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt Mecklenburg-Vorpommern

** Tierklinik-Tierheim-GmbH Rostock

Mecklenburg-Vorpommern (M-V) ist für seine Selen-Mangelstandorte bekannt. Insbesondere ausgewaschene Sandböden, Standorte mit niedrigem Boden-pH und Böden in Küstennähe führen in der Mutterkuh-Haltung und anderen extensiven Haltungsformen von Pflanzenfressern bei fast ausschließlicher Weidefütterung zu Selen(Se)- Mangel, wenn die Tiere nicht zusätzlich mit Se-haltigem Mineral- und/oder Mischfutter versorgt werden. Nachfolgende Untersuchungen sollen Hinweise darauf geben, inwiefern diese Verhältnisse auch für die Pferdepopulation von M-V unter Berücksichtigung von Haltung, Nutzung und Rasse zutreffen.

Seit 1998 wurden im Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt (LVL) M-V Blutproben von 124 Pferden aus M-V in der Routine mittels Bestimmung der Se-Glutathionperoxidase(GPX)-Aktivität untersucht. Die Proben stammten von Pferde-Patienten der Tierklinik Rostock und aus Einsendungen zur Stoffwechseldiagnostik des LVL M-V und ließen sich folgenden Gruppen zuordnen:

- A: Tierklinik-Patienten und Einzeltier-Einsendungen zur Stoffwechseldiagnostik diverser Rassen und Nutzungsrichtungen, Mineralstoffsubstitution unbekannt
- B: Isländer mit Mineralstoffsubstitution
- C: Shetland-Ponys ohne Mineralstoffsubstitution
- D: Isländer ohne Mineralstoffsubstitution

Die Untersuchungsergebnisse führten zu folgenden Schlussfolgerungen:

1. Extensiv auf Se-Mangelstandorten gehaltene bzw. gefütterte Pferde in M-V entwickeln Se-Mangel, wenn sie keine Mineralstoffsubstitution erhalten. Nicht heimische Rassen wie speziell Isländer sind bezüglich Se-Mangel möglicherweise besonders gefährdet.
2. Intensiv gefütterte, mit Mineral- bzw. Leistungsfutter versorgte Pferde (Sport- und Zuchtpferde) sind unabhängig von der Rasse fast ausnahmslos gut mit Se versorgt.
3. Die Pferde-Durchschnittspopulation in M-V ist zu ca. 2/3 bedarfsentsprechend mit Se versorgt. Se-Mangel und Se-Unterversorgung treten bei etwa jeweils 1/6 der Pferde auf. Diese Situation war zwischen 1998 und 2002 im wesentlichen unverändert.
4. Bei ausgewachsenen Pferden ohne Leistungsanforderung verursacht Se-Mangel i.d.R. keine klinischen Symptome. Jungtiere hingegen können an „Weißmuskelkrankheit“, Abwehrschwäche, Durchfall u.a.m. leiden. Bei Zuchtpferden kann es vorwiegend zu Fruchtbarkeitsstörungen kommen, bei Sportpferden sind Leistungseinbußen möglich.
5. Pferdehalter in M-V sollten die Se-Versorgung ihrer Tiere anhand der Ration schätzen oder berechnen und ggf. labordiagnostisch überprüfen lassen. Die Bestimmung der Se-Glutathionperoxidase-Aktivität aus ungeronnenem Vollblut ist als vergleichsweise kostengünstiges und schnelles Screeningverfahren gut zur Beurteilung des Se-Versorgungsstatus geeignet.

Methodische Untersuchungen zur Stabilität des Gestagengehalts im Kot bei verschiedenen im Zoo gehaltenen Wildtierarten

G. NEUMANN, J. GOTTSCHALK, * K. EULENBERGER, E. GRÜN

Veterinär-Physiologisch-Chemisches Institut, Leipzig

*Zoologischer Garten Leipzig GmbH

In methodischen Untersuchungen sollte festgestellt werden, inwiefern äußere Faktoren (Trockenmasse des Kotes, Zeitpunkt des Einfrierens, Dauer der Probenlagerung im gefrorenen Zustand, mehrmaliges Auftauen der Proben) Einfluss auf die Gestagenkonzentration im Kot bei verschiedenen, im Zoo gehaltenen Wildtierarten (Rothschild-Giraffen, Spitzmaulnashörner, Damagazellen, Schneesiegen) haben. Zur Bestimmung der Gestagenmetaboliten wurde ein Progesteron-Radioimmunoassay mit ³H-markiertem Progesteron eingesetzt.

Innerhalb einer Tierart zeigten sich nur geringfügige Schwankungen der Trockenmasse des Kotes von maximal 5 %, so dass sich auch ohne vorherige Trocknung der Proben gut vergleichbare Gestagenwerte in verschiedenen Kotproben der gleichen Tierart ermitteln lassen. Nach 24- bzw. 48-stündiger Lagerung der Proben bei Raumtemperatur waren die Gestagenwerte im Kot aller drei Tierarten im Vergleich zum sofortigen Einfrieren der Proben erhöht, bei Giraffen und Nashörnern signifikant. Bei Nashörnern und Gazellen wurden nach längerer Lagerzeit (1 und 3 Monate) im gefrorenen Zustand (-20 °C) keine signifikanten Veränderungen der Gestagenkonzentration im Kot festgestellt. Im Gegensatz dazu zeigte sich bei den Giraffenproben mit hohen Ausgangskonzentrationen unter ansonsten gleichen Bedingungen eine signifikante Erniedrigung des Gestagengehaltes.

Im Vergleich zu einmaligem führte mehrmaliges Auftauen der Proben unabhängig von der Tierart zum Absinken der Gestagenkonzentration des Kotes (signifikant bei Nashörnern und Gazellen).

Fruchtbarkeitsstörungen und β -Carotinbestimmung bei Milchkühen

Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt M-V
Carola Wolf

β -Carotinmangel tritt vorwiegend bei verminderter β -Carotin-Aufnahme durch Verfütterung maislastiger Rationen oder bei erhöhtem β -Carotinverbrauch infolge von Hochträchtigkeit, Kolostrumbildung, Erkrankung, oxidativem Stress, Schwermetallbelastung u.ä. auf und führt zu stiller Brunst, verzögerter Ovulation, Zysten und embryonalem Fruchttod (Umrindern nach 6-8 Wochen). Weiterhin wird von höheren Kälberverluste infolge Durchfallerkrankungen und von Nachgeburtsverhaltungen bei Kühen berichtet.

Im Futter enthaltenes β -Carotin wird im Blutserum/Plasma sichtbar und gibt durch dessen Färbung Hinweise auf den Carotin-Versorgungsstatus des Rindes. Eine visuelle β -Carotinschätzung anhand von Farbtafeln ist möglich. Während β -Carotinmangel sicher durch eine blasse Serumfarbe angezeigt wird, kann der β -Carotingehalt bei Hämolyse (Serum/Plasma wird m.o.w. orange-rötlich) oder bei erhöhtem Gehalt anderer Farbstoffe (z.B. Bilirubin, Serum/Plasma wird gelb-orange) falsch hoch geschätzt werden.

Im LVL M-V erfolgt die β -Carotinbestimmung mittels der Methode nach Thiemann (BIV Cottbus 1983) folgendermaßen: Enteiweißung von 0,5 ml Serum/Plasma mit Ethanol (intensives Mischen), Extraktion mit Toluol (Schütteln), Zentrifugation, Photometrie bei 465 nm gegen Toluol und Berechnung aus der Eichkurve. Die Beurteilung der β -Carotinkonzentrationen wird anhand folgender Toleranzwerten vorgenommen: geburtsnah

mind. 4,0 $\mu\text{mol/l}$

übrige Stadien mind. 7,4 $\mu\text{mol/l}$

Zur Beurteilung der β -Carotinversorgung einer Herde im Zusammenhang mit Fruchtbarkeitsstörungen sind gesunde Tiere im Besamungszeitraum zu untersuchen.

Die Praktischen Erfahrungen zeigen, dass β -Carotinmangel nur relativ selten alleinige Ursache von Fruchtbarkeitsstörungen ist. Weitere mögliche Ursachen von Fruchtbarkeitsstörungen können sein:

- K-Überschuss/Na-Mangel
- Rohfasermangel/Azidose
- P-Mangel
- Ca-Mangel/P-Überschuss
- Mn-Mangel, Mn-Überschuss

- Energiemangel
- Rohproteinüberschuss oder -mangel
- Spurenelement-Imbalancen (z.B. Fe-, Cu-Überschuss/Mn-Mangel, Ca-Überschuss/Zn-Mangel...)

Insofern ist zur Abklärung der Ursachen von Fruchtbarkeitsstörungen i.d.R. ein komplettes Stoffwechsel-Screening notwendig (Blut- und Harnuntersuchung)

Physiologisches Verhalten der Superoxid-Dismutase- (SOD) Aktivität im Jahres- und Laktationsverlauf bei gesunden Kühen

N. Zahn, T. Sattler M. Fürll, Medizinische Tierklinik der Universität Leipzig

Problemstellung: Die Tiergesundheit wird wesentlich vom antioxidativen Status bestimmt. Das betrifft bei Rindern z.B. die Prädisposition für Infektionen des Euters, die bei Mangel an Selen/Vitamin E deutlich ansteigt. Ein weiteres wichtiges Gebiet ist die Beeinflussung von Reperfusionsschäden. Frühere Untersuchungen zeigten z.B., dass die Labmagenmotilität bei Kühen nach Reposition einer Dislocatio abomasi durch gezielte Nutzung von Antioxidantien (Vitamin C, Vitamin E/Selen, Glucocorticoide) günstig beeinflusst werden kann. Für die Bewertung des Antioxidativen Status mangelt es aber bei Rindern an grundlegenden Kenntnissen über den physiologischen Status einschließlich der Frage nach informativen, labordiagnostisch nutzbaren Indikatoren, zu denen die SOD zählt.

Zielstellung: Ziel nachstehender Untersuchung war es, das Verhalten der SOD-Aktivität bei gesunden Kühen im Verlauf eines Jahres sowie im Verlauf einer Laktationsperiode vom Trockenstehen bis 8 bis 12 Wochen post partum (p.p.) zu beschreiben. Zur Charakterisierung des Gesundheitszustandes der Kühe sowie zur Prüfung potentieller Beziehungen zur SOD wurden weitere klinisch-chemische Parameter analysiert.

Material und Methodik: Für die Untersuchungen wurden gesunde pluripare, ganzjährig mit Silage gefütterte SB-Kühe mit einem Leistungsniveau von ca. 8000 kg/Jahr genutzt. Zur Charakteristik des SOD-Verhaltens (Erythrozytenlysat[El]) im Jahresverlauf wurden aller 6 Wochen bei 10 beliebigen gesunden Kühen im Zeitraum 1-2 Wochen p.p. Blutproben aus der V. jugularis, zur Beschreibung des SOD-Verhaltens im Laktationsverlauf bei 12 Kühen beim Trockenstellen, 1 Woche ante partum (a.p.), 1 bis 2 Wochen post partum, 4 Wochen p.p. sowie 8 bis 12 Wochen p.p. entnommen. Dabei wurden die Tiere ebenfalls klinisch und die Proben weitergehend hämatologisch und klinisch-chemisch (Bilirubin-, Glucose-, FFS- und Cholesterolkonzentrationen) untersucht.

Ergebnisse: Das Verhalten der SOD-Aktivitäten (Medianwerte, erste und dritte Quartile) im Jahres- sowie Laktationsverlauf ist in den Abbildungen eins sowie zwei dargestellt. Im Jahresverlauf bewegen sich die SOD-Aktivitäten zwischen 5000 bis XXXX U/l El. Es ist eine deutliche Abnahme der SOD-Aktivität im Februar sowie im Oktober feststellbar, während in den Sommermonaten eine weitgehend ausgeglichene hohe Aktivität besteht. In den Wintermonaten sind die Aktivitäten der SOD tendenziell niedriger als in den

Sommermonaten.

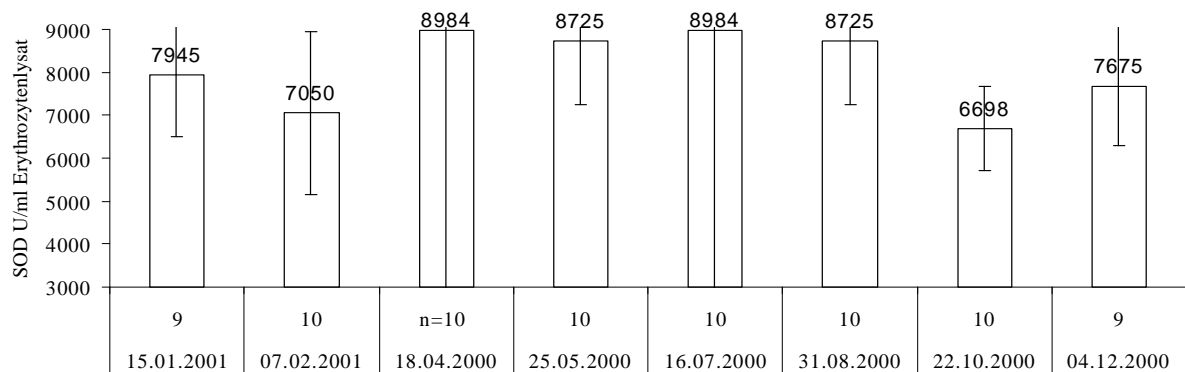


Abb. 1: SOD-Aktivitäten (El) im Jahresverlauf bei gesunden, pluriparen SB-Milchkühen ein bis zwei Wochen post partum

Die Aktivitätsmessungen der SOD im Laktationsverlauf ergaben einen stetigen Abfall der Aktivität vom Trockenstellen (6320 U/ml El) bis zur ersten bis zweiten Woche (4937 U/ml El) p.p., um bis zur vierten Woche p.p. wieder bis auf 7506 U/ml El anzusteigen (Abb. 2). Erstes und drittes Quartil umfassen einen Bereich von 4000 bis 8000 U/ml El.

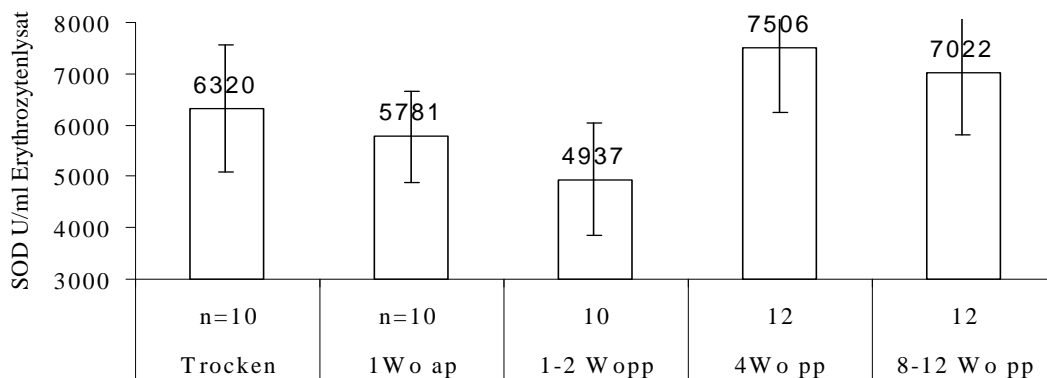


Abb. 2: SOD-Aktivitäten im Laktationsverlauf bei gesunden pluriparen SB-Milchkühen

Das Verhalten der SOD stimmt prinzipiell mit dem für die TEAC ebenfalls bei gesunden SB-Kühen ermittelten Befunden überein.

Schlussfolgerungen: Die SOD-Aktivitäten schwanken bei Milchkühen signifikant im Jahres und Laktationsverlauf. Dies ist für Referenzwerte zu beachten, wirft aber auch Fragen nach der optimalen Versorgung mit Antioxidantien auf.

Anschrift: Medizinische Tierklinik, An den Tierkliniken 11, 04103 Leipzig

VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER PARAMETER DES ANTIOXIDATIVEN SYSTEMS BEI GESUNDEN KÜHEN IM PERIPARTALEN ZEITRAUM

Sattler, T., Zahn, N., Fürll, M., Medizinische Tierklinik der Universität Leipzig

Einleitung: Es gibt verschiedene Möglichkeiten, den antioxidativen Status eines Tieres zu charakterisieren. Die meisten Methoden beruhen darauf, jeweils ein Teilgebiet des gesamten antioxidativen Systems genauer zu beleuchten. So stellen die Superoxid-Dismutase (SOD) und die Glutathionperoxidase (GPX) repräsentative Parameter der intrazellulären enzymatischen Antioxidantien dar. Die Trolox Equivalent of Antioxidative Capacity (TEAC) und die „Antioxidative Kapazität von wasserlöslichen Stoffen“ (ACW) sind Methoden zur Messung der wasserlöslichen extrazellulären Antioxidantien (Vitamin C, Albumin, Bilirubin Harnsäure, Coeruloplasmin u.a.). Die „Antioxidative Kapazität von lipidlöslichen Stoffen“ (ACL) berücksichtigt nur die extrazellulären lipidlöslichen Antioxidantien und erfasst die Vitamine A, - E, -D, β -Carotin sowie Steroide und aromatische Verbindungen.

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, die unterschiedlichen Methoden parallel zur Messung des antioxidativen Status bei gesunden Kühen im peripartalen Zeitraum zu nutzen, miteinander zu vergleichen und die Reaktion der einzelnen Parameter in unterschiedlichen Zeiträumen im peripartalen Zeitraum zu prüfen.

Material und Methoden: 34 klinisch gesunde Kühe eines Bestandes wurden an zwei folgenden Tagen im peripartalen Zeitraum untersucht. Die Kühe wurden nach Laktationsstadien in folgende Gruppen unterteilt: Trockensteher (n=7), eine Woche ante partum (a.p.; n=6), ein bis zwei, vier bzw. acht bis zwölf Wochen post partum (p.p.; n = 7). Die SOD-Aktivität wurde im Erythrozytenlysat (EL) mit Hilfe eines Testsatzes der Fa. Oxis bestimmt. Die Analyse der GPX-Aktivität erfolgte in heparinisiertem Vollblut mit Hilfe eines Testsatzes der Fa. Ransel. Weiterhin wurde die TEAC im Blutserum gemessen. Dabei handelt es sich um ein spektralphotometrisches Messverfahren, bei dem eine dunkelgrün gefärbte ABTS-Radikal-Kationenlösung durch die in der Probe enthaltenen Antioxidantien teilweise entfärbt wird. Die Menge der Antioxidantien wird auf einen Standard (Trolox) bezogen. Nach Aufbereitung des Blutserums zur Messung der lipidlöslichen Antioxidantien wurde die ACL mit Hilfe eines Testsatzes der Fa. AnalyticJenaAG im Blutserum gemessen. Dabei werden durch optische Anregung einer Photosensitizer-Substanz Messradikale erzeugt. Die Antioxidantien der Probe deaktivieren die Radikale teilweise. Über die durch die verbleibenden Radikale erzeugte Lumineszenz einer Dektektorsubstanz kann die Antioxidantienmenge als Äquivalent eines Standards ermittelt werden.

Ergebnisse: Die Ergebnisse der labordiagnostischen Untersuchung zeigt Tabelle 1.

Tab. 1: Aktivitäten der SOD und GPX sowie Konzentrationen der TEAC und ACL bei 34 gesunden Kühen im peripartalen Zeitraum (2., 1., 3. Quartil)

Gruppe	Trockensteher	1 W. ante p.	1-2 W.p.p.	4 W.p.p.	8-12 W.p.p.
SOD U/ml EL	10466 (9787;10919)	10101 (9062;11916)	12205 (10685;14826)	11790 (8928;13702)	13225 (11497;15072)
GPX U/mg Hb	232 (213; 246)	202 (191; 246)	208 (204; 240)	216 (193; 231)	237 (195; 244)
TEAC µmol/l	486 (329; 505)	434 (408; 458)	360 (341; 385)	349 (327; 383)	373 (351; 392)
ACL µmol/l	20,5 (16,3; 26,0)	9,2 (6,1; 11,8)	16,3 (13,5; 18,0)	17,3 (12,7; 19,5)	33,0 (20,3; 38,6)

Die SOD-Aktivität zeigte postpartal eine steigende Tendenz. 8-12 Wochen p.p. lag sie signifikant ($p < 0,05$) über der der Trockensteher und der Kühe eine Woche a.p. Gegenläufig zur SOD-Aktivität verhielt sich die TEAC. Sie hatte a.p. eine signifikant ($p < 0,01$) höhere Konzentration als in der Frühlaktation bis 12 Wochen p.p.

Die ACL sanken zur Geburt hin ab ($p < 0,01$), um postpartal wieder anzusteigen ($p < 0,01$) und 8-12 Wochen p.p. das Maximum zu erreichen. Ähnlich wie die ACL verhielt sich die GPX-Aktivität im Vollblut. Sie zeigte einen tendenziellen Aktivitätsabfall zur Abkalbung hin und eine ansteigende Tendenz postpartal. Die Aktivitätsänderungen der GPX waren jedoch nicht signifikant.

Schlussfolgerungen: Es gibt unterschiedliche Methoden zur Bestimmung des antioxidativen Status bei Tieren. Die verschiedenen Parameter des antioxidativen Systems verhalten sich bei gesunden Kühen im peripartalen Zeitraum unterschiedlich. Während die wasserlöslichen Antioxidantien zur Geburt hin absinken und postpartal nur langsam steigen, zeigen intrazelluläre Antioxidantien und lipidlösliche, antioxidativ wirksame Stoffe mit Beginn der höheren Futteraufnahme nach der Abkalbung einen schnellen Konzentrationsanstieg. Die praktische Bedeutung dieser Befunde ist weiter zu verifizieren und sollte bei der Wahl der zu messenden Parameter des antioxidativen Systems beachtet werden.

Anschrift: Dr. Tatjana Sattler, Universität Leipzig, Medizinische Tierklinik, An den Tierkliniken 11, 04103 Leipzig

Technik der Leberbiopsie beim Rind und Vergleich zweier Methoden zur Bestimmung des Leberfettgehaltes

Ahmed, M., C.-C. Gelfert und R. Staufenbiel

Freie Universität Berlin, Fachbereich Veterinärmedizin, Klinik für Klautiere

Einleitung

Stoffwechselerkrankungen im peripartalen Zeitraum sind immer noch die Haupterkrankungen der Hochleistungskuh. In der Ätiologie spielt auch die Energiebilanz und damit die Mobilisation der Körperreserven eine Rolle. Mittels Blutuntersuchungen kann das Vorliegen einer Fettmobilisation nachgewiesen und das Maß derselben eingeschätzt werden. Die Auswirkungen auf den Leberfettgehalt und die Funktionsfähigkeit der Leber können mittels Blutuntersuchungen nur unzureichend oder mit ungenügender Sicherheit diagnostiziert werden. In der vorliegenden Untersuchung wurde daher der Einsatz der Leberbiopsie zur Ergänzung der Routinediagnostik und ein einfacher Test zur Bestimmung des Leberfettgehaltes überprüft. Desweiteren wurden die Einsatzmöglichkeiten des Ultraschall zur Diagnostik einer Leberverfettung überprüft.

Material und Methoden

Von 471 Kühen, die als Patienten der Klinik für Klautiere eingestellt wurden, wurde am ersten Tag oder am Tag danach eine Leberbiopsie entnommen. Der Leberfettgehalt wurde mittels einer Schwimmprobe von Teilen des Biopats in einer Kupfersulfatlösung mit abnehmender Dichte bestimmt. Diese Kupfersulfatreihe ermöglichte eine Bestimmung des Leberfettgehaltes zwischen 1% und 33% in Schritten von 3,5 %. Nach dem Schwimmtest wurde das Leberbiopat tiefgefroren. Für die exakte Bestimmung des Leberfettgehaltes zur Überprüfung des Wertes aus der Schwimmprobe wurde die aufgetaute Probe im Homogenisator zerkleinert. Hierbei wurde der Probe ein Lysin-Puffer zugesetzt, um die Zerkleinerung des Gewebes und die Zerstörung der Zellen zu optimieren. Das Leberfett wurde mittels einer Chloroform-Methanollösung extrahiert und nach einer Trocknung gewogen. Die Laborwerte wurden denen aus dem Schwimmtest gegenübergestellt. Desweiteren wurde am Tag der Biospie mittels Ultraschall die Leber vermessen und folgende Parameter ermittelt:

Ergebnisse

Die Leberbiopsie ließ sich sehr gut an den nur mit einer Halskette fixierten Kühen durchführen. Keines der Tiere zeigte hinterher eine klinische Reaktion außerhalb des schon bestehenden Krankheitsbildes. Der Leberschwimmtest in der Kupfersulfatlösung ist ebenfalls leicht durchzuführen. Die ermittelten Werte reichten über den gesamten Meßbereich der Kupfersulfatreihe. Im Vergleich mit dem nach Homogenisierung ermittelten Leberfettgehalt ergab sich eine gute Korrelation der Werte für den Meßbereich der Kupfersulfatlösung.

Fazit:

Die Leberbiopsie ist eine auch unter Stallbedingungen ohne großen Aufwand durchführbare diagnostische Methode, die von den Tieren gut toleriert wird. Der Leberschwimmtest mittels einer in der Dichte zunehmenden Kupfersulfatlösung bietet eine ausreichend sichere Möglichkeit, den Leberfettgehalt direkt im Stall zu bestimmen und kann aufwendige Labormethoden ersetzen.

Bei letzteren ist bei der Homogenisierung der Einsatz eines Lysin-Puffers zu empfehlen, um eine optimale Zerstörung der Zellstrukturen und damit eine exakte Erfassung des Leberfettgehaltes zu sichern.

Der Leberfettgehalt bei Kühen mit unterschiedlichen Erkrankungen und seine prognostische Aussagekraft

C.-C. Gelfert, M. Ahmed und R. Staufenbiel

Freie Universität Berlin, Fachbereich Veterinärmedizin, Klinik für Kleintiere

Die Leber ist das zentrale Stoffwechselorgan beim Rind. Damit beeinflusst ihre Funktionsfähigkeit auch die Prognose eines an einer anderen Stoffwechselstörung erkrankten Tieres. Leberfunktionsstörungen, Leberschäden und Leberverfettungen sind diagnostisch nur unzureichend zu diagnostizieren. Dies trifft im besonderen Maße auf die Verfettung zu, da die entsprechenden Parameter mehr eine Aussage über die Dynamik und die Höhe der Fettmobilisation machen als über den Verfettungsgrad der Leber. Mit der Leberbiopsie ist eine Methode vorhanden, den Fettgehalt schnell und sicher zu bestimmen. In der vorliegenden Untersuchung wurde bei Kühen mit unterschiedlichen Erkrankungen der Leberfettgehalt und weitere Laborparameter bestimmt, um eine Aussage über den möglichen Einfluß der Leberverfettung auf den Krankheitsverlauf der Tiere machen zu können.

Im Verlauf eines Jahres wurden von 471 Kühen, die als Patienten der Klinik für Kleintiere eingestellt wurden am ersten Tag oder am Tag danach eine Leberbiopsie entnommen und mittels Schwimprobe in einer Kupfersulfatlösung mit abnehmender Dichte der Leberfettgehalt bestimmt. Zeitgleich wurde eine Serumprobe entnommen und folgende Parameter bestimmt: Magnesium, Calcium, Phosphor, Natrium, Kalium, Chlor, ASAT, Bilirubin, Harnstoff.

Von den 471 Kühen hatten 65% eine Labmagenverlagerung nach links (LMVL), 8% eine Labmagenverlagerung nach rechts (LMVR) und 27 % eine andere Erkrankung. Ein Drittel der Tiere litt neben der Grunderkrankung noch an einer Endometritis. 44% der Patienten war älter als 4 Jahre und 15% jünger als 3 Jahre.

Der Leberfettgehalt zeigte signifikante Unterschiede zwischen den Kühen mit LMVL und denen mit anderen Erkrankungen. Dabei wiesen die Patienten mit LMVL eine mittel- bis hochgradige Leberverfettung auf. Kühe, die gleichzeitig eine Endometritis aufwiesen, hatten dabei tendenziell höhere Leberfettwerte als Tiere, die nur eine LMVL hatten. Dieser Unterschied war signifikant bei den Patienten, die eine andere Grunderkrankung als eine LMVL hatten. In diesen Gruppen zeigten nur die Patienten mit einer Endometritis mittelgradig erhöhte Leberfettwerte. Tiere mit einer ungenügenden Futteraufnahme wiesen unabhängig von der Grunderkrankung höhere Leberfettwerte auf als die Vergleichstiere mit

erhaltenem Appetit. Das Alter der Tiere zeigte keinen signifikanten Einfluß auf den Leberfettgehalt.

Der Leberfettgehalt zeigt keine signifikanten Korrelationen zu den untersuchten Blutparametern. Eine Ausnahme bildete Phosphor, hier konnte eine signifikante negative Korrelation zum Leberfettgehalt festgestellt werden.

Ab einem Leberfettgehalt von über 33 % war die Prognose für eine Heilung des Tieres zunehmend ungünstig.

Fazit:

LMVL und Endometritiden im peripartalen Zeitraum sind nach der vorliegenden Untersuchung eng mit einer mittel- bis hochgradigen Leberverfettung verknüpft. Eine ungenügende Futteraufnahme verstärkt den Grad der Verfettung. Es besteht eine signifikante, negative Korrelation zwischen dem Leberfettgehalt und der Phosphorkonzentration im Serum. Tiere mit einem Leberfettgehalt über 33% haben in der Mehrheit eine infauste Prognose.

UNTERSUCHUNGEN ZU DEN BLUTSERUMKONZENTRATIONEN AN VITAMINEN AUS DEM B-KOMPLEX BEI MILCHKÜHEN

B. Klein¹, B. Rittgerodt², R. Staufenbiel³

Freie Universität Berlin, Fachbereich Veterinärmedizin, Klinik für Klauentiere^{1,3}

Dr. Ing. H. Knauer GmbH, Scientific Instruments, Berlin²

Einleitung: Pansenfunktionsstörungen sind bei Hochleistungskühen häufig Ursache einer verminderten Herdengesundheit. Um gravierende Auswirkungen auf die Tiere zu vermeiden und prophylaktische Maßnahmen einzuleiten, ist die aktuelle Diagnostik jedoch nicht ausreichend. Daher ist geprüft worden, ob die Vitamine des B-Komplex ein empfindlicher Indikator zur frühzeitigen Erkennung von Pansenfunktionsstörungen sind.

Derzeit ist keine zeitsparende und kostengünstige Methode für die Bestimmung der B-Vitamine vorhanden. Daher ist gleichzeitig untersucht worden, ob die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) in der Routinediagnostik hierfür eingesetzt werden kann.

Material und Methoden: Die Analyse der Vitamine B₁, B₁₂ und Folsäure aus entproteinisiertem Serum sollte mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) durchgeführt werden. Hierfür stand ein Analysegerät der Fa. Knauer zur Verfügung.

Gerät	Dr. Ing. H. Knauer GmbH, Scientific Instruments, 14163 Berlin
Detektor	<i>UV, K-2501</i>
Säule	Spherimage-80, ODS2, QE 125
Eluent A	Methanol
Eluent B	Ionen-Paar-Reagenz: Dodecan-1-sulfonsäure-Natriumsalz
Software	ChromGate, Chromatography Data Systems

In einer Feldstudie sind Betriebe im Rahmen dieser Arbeit ein- bis dreimal besucht worden. Die Betriebsgrößen variierten von 150 bis 3500 Kühen pro Bestand.

Bei jedem Bestandsbesuch wurde eine Herdenanamnese erhoben und in der Form eines Fragebogens festgehalten. Hierbei wurden besonders Haltungs-, Fütterungs- und Erkrankungsprobleme festgehalten.

Für die Untersuchungen wurden nur Tiere herangezogen, die keine äußeren Anzeichen einer klinischen Erkrankung aufwiesen und somit den Herdendurchschnitt repräsentierten. Alle für die Untersuchungen in Frage kommenden Tiere wurden in Abhängigkeit von den Laktationstagen Gruppen zugeordnet:

Gruppe 1	Kühe 8 bis 3 Woche ante partum
Gruppe 2	Kühe 3 bis 1 Woche ante partum
Gruppe 3	Kühe 0 bis 1 Wochen post partum
Gruppe 4	Kühe 3 bis 5 Wochen post partum
Gruppe 5	Kühe 15 bis 18 Wochen post partum

Pro Gruppe wurde je eine Poolprobe aus den 10 Einzelproben hergestellt. Die Analyse der Poolprobe lieferte den Poolwert, der die gleichen Informationen wie der Mittelwert aus den Einzelproben beinhaltet.

Ergebnisse: Die Etablierung einer HPLC-Methode zur Bestimmung der Vitamine B₁, B₁₂ und Folsäure wurde im Standard erfolgreich etabliert. Es ist möglich diese Vitamine in einem Lauf nachzuweisen. Die Analyse scheitert derzeit an der Nachweisgrenze. Mit der UV-Detektion betrug die untere Nachweisgrenze (Peak mit der dreifachen Höhe des größten Rauschpeaks) für Folsäure 100 mg/l und für Vitamin B₁ und B₁₂ jeweils 20 mg/l. Um die physiologischen Konzentrationen im Serum messen zu können muß für Folsäure eine Aufkonzentrierung um 10⁴, für Vitamin B₁ um 10³ und für Vitamin B₁₂ um 10⁵ erfolgen. Dies ist mit der derzeitigen Gerätekonfiguration nicht möglich. Die Analyse des Blutserums erfolgte daher mit bereits etablierten Methoden. Folsäure und Vitamin B₁₂ wurden simultan mittels Radioimmunassay bestimmt. Vitamin B₁ wurde derivatisiert und mittels HPLC/Fluoreszenz-Detektor analysiert.

Vitamin B₁ zeigt weder im Vollblut noch im Blutserum eine signifikante Laktationsdynamik. Es besteht offensichtlich kein Zusammenhang zwischen der Vitamin B₁ Konzentration und einer subklinischen Pansenazidose.

Die Folsäurekonzentration sinkt signifikant bei den trockenstehenden Kühen und Kühen in der frühen Laktation. Die Dynamik der Folsäurekonzentration folgt der aus anderen Parametern abzuleitenden mikrobiellen Pansenfunktion.

Ein Indikator zur frühzeitigen Erkennung von Pansenfunktionsstörungen könnte Vitamin B₁₂ sein. Die Vitamin B₁₂ Konzentration sinkt ab der 3. Woche post partum signifikant unter den Referenzwert. Das kann Ergebnis einer primären Kobaltunterversorgung oder einer sekundären Kobaltunterversorgung durch Kaliumübersversorgung sein. Es kann aber auch Hinweis auf eine Pansenfunktionsstörung sein. Die Untersuchung der Vitamin B₁₂ Konzentration in Milch hat keine anderen Aussagen gegenüber der Blutserumbestimmung.

B-Vitamine besitzen eine große Streuung zwischen und innerhalb der einzelnen Laktationsgruppen. Die Ergebnisse schließen aber die Möglichkeit nicht aus, dass Folsäure und Vitamin B₁₂ eine Beziehung zur Pansenfunktion besitzen und damit Indikator einer subklinischen Pansenazidose sein könnten.

„Untersuchungen zum antioxidativen Status beim klinisch gesunden und klinisch kranken Schwein verschiedener Altersgruppen“

Ch. Röhl, M. Fürll

Medizinische Tierklinik Leipzig

Problemstellung

Die Bedeutung von Radikalen (Elemente oder Verbindungen mit unpaaren Elektronen) auf der einen Seite sowie Antioxidantien (Stoffe, die vor der Wirkung von Radikalen schützen) andererseits ist grundsätzlich seit längerem bekannt. Ihre universelle Bedeutung für Lebensabläufe, Leistungsfähigkeit, die Adaptation und immunologische Reaktionen wie auch für den Alterungsprozess sind in jüngerer Zeit besonders in der Humanmedizin stärker in den Mittelpunkt der Forschung gerückt worden.

Tiere verfügen ebenfalls über ein komplexes System antioxidativer Stoffe, um sich vor der übermäßigen Wirkung von Radikalen zu schützen. Dazu zählen viele Stoffe, die z.T. mit der Nahrung aufgenommen werden wie Carotinoide, Jod, Selen, Vitamin C und Vitamin E, Folsäure, Flavonoide, Riboflavin, Thiamin, Niacin und Chelatbildner, oder im Stoffwechsel entstehen wie z.B. Bilirubin, NADH, NADPH, Transportproteine und Harnsäure. Des Weiteren stehen dem Organismus eine Vielzahl an enzymatischen Systemen zur Verfügung (SOD, GPX usw.).

Der antioxidative Status hat besonders beim Schwein Einfluss auf die gesundheitliche Situation und die Leistung (Zunahme bei Saugferkeln und Mastläufern, Absetzen von der Mutter, Trächtigkeit, Geburt und folgende Laktationsperiode).

Klassische Störungen, die besonders auf der Lipidperoxidation beruhen (Weißmuskelkrankheit, Maulbeerherzkrankheit, Mosaikkrankheit der Leber), aber auch andere Erkrankungen bakterieller oder virologischer Art setzen den Körper stärkeren Belastungen aus.

Zielstellung

- Feststellung physiologischer Werte bei 3 verschiedenen Altersgruppen (Saugferkel, Mastläufer, Sauen) in natürlichen Belastungsperioden für die GPX (Glutathionperoxidase), die CK (Creatinkinase) und TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity)

- Gewinnung eines tieferen Einblickes in das Verhalten antioxidativer Enzyme und anderer Antioxidantien in Krankheitssituationen (PRRS, Clostridiose, MMA) bei 3 verschiedenen Altersgruppen
- Test auf die Verwendbarkeit labordiagnostischer Methoden (TEAC, SOD)

Material und Methoden

Es erfolgte die Untersuchung von 5 Sauengruppen (je 15 klinisch gesunde güste, nieder- und hochtragende Sauen; 11 klinisch gesunde Sauen nach der Geburt, 8 klinisch an zu mindestens einem Zeitpunkt der Blutentnahmen am MMA – Symptomkomplex erkrankte Sauen nach der Geburt) sowie von 15 gesunden Mastläufern und 10 klinisch an PRRS (Rhinitis, Bronchitis) erkrankten Mastläufern zwischen 20 und 30 kg, 15 klinisch gesunden und 10 an durch Clostridien verursachte Diarrhoe erkrankten 14 Tage alten Saugferkeln sowie von 10 Ferkeln 3 Tage vor dem Absetzen, 1 Tag nach dem Absetzen und 10 Tage nach dem Absetzen.

Daraufhin wurde die TEAC mit der Methodik nach Miller, die GPX und die CK photometrisch bestimmt.

Zudem erfolgte die Bestimmung weiterer antioxidativ wirkender nicht - enzymatischer Antioxidantien und Proteine (Gesamteiweiß, Albumin, Haptoglobin, Bilirubin, Harnstoff) sowie der Natrium- und Kaliumkonzentrationen, des Hämatokrits, der Erythrozytenanzahl, der Hämoglobinkonzentration und der Leukozytenanzahl im venösen Blut.

Ergebnisse

Für die klinisch gesunden sowie kranke Tiergruppen liegen folgende Medianwerte vor:

Gruppen	CK (U/l)	GPX (U/g Hb)	TEA C µmo l/l	TP g/l	Albu g/l	Bilir u µmo l/l	Hast mmo l/l	Na mmo l/l	K mmo l/l
Klinisch g e s u n d									
Saugferkel 14 d	187, 8	94,1	302	60,3	21,8	6,1	3,17	142, 8	4,5
Mastläufer 20 bis 30 kg	1061 ,2	254,6	211	56,0	33,4	2,5	3,54	142, 9	5,9
Sauen hochtragend	332, 1	249,0	069	71,2	48,3	3,0	4,18	140, 0	4,8
Sauen niedertragend	323, 1	215,4	182	79,2	42,4	2,0	4,71	141, 4	4,7
Sauen güst	369, 4	279,2	074	85,2	41,5	2,0	5,50	141, 1	4,7
Sauen 1.d p.p.	993, 5	209,0	140	74,0	44,5	2,2	3,39	145, 3	4,3
Sauen 3.d p.p.	612, 4	215,4	157	80,9	45,7	1,9	4,91	145, 1	4,3
Sauen 5. d p.p.	568, 9	232,2	147	79,2	44,5	2,0	4,93	143, 9	4,4
Sauen 10. d p.p.	451, 5	242,5	149	78,3	43,7	2,0	4,63	142, 6	4,2
Ferkel 3 d vor Absetzen	336, 9	122,7	138	47,9	29,5	8,2	0,71	139, 3	4,2
Ferkel 1 d nach Absetzen	357, 0	116,9	188	48,4	30,5	2,9	1,00	139, 6	4,9
Ferkel 10 d nach Absetzen	391, 5	205,8	219	45,5	28,0	2,3	0,58	141, 9	5,6
Klinisch krank									
Saugferkel 14 d	342, 8	155,0	337	62,0	23,3	5,7	4,19	140, 5	4,3
Mastläufer 20 bis 30 kg	1095 ,1	240,2	202	57,3	33,7 5	3,3	4,63	140, 9	5,1
Sauen 1 .d p.p.	417, 0	235,0	122	73,7	41,6	2,2	4,52	143, 5	4,4
Sauen 3. d p.p.	609, 6	246,5	136	80,1	41,1	2,0	5,20	142, 8	4,5
Sauen 5. d p.p.	820, 2	270,0	114	81,2	40,3	1,9	6,01	142, 9	4,3
Sauen 10 d p.p.	325, 2	293,4	133	79,6	40,1 5	2,2	4,98	142, 1	4,4

Bei den hier dargestellten Ergebnissen handelt es sich ausnahmslos um Medianwerte, um die Vergleichbarkeit untereinander zu ermöglichen.

Schlussfolgerungen

Klinisch gesunde Tiere:

- Die gütigen Sauen zeigten die höchste GPX – Aktivität in Verbindung mit einer sehr geringen TEAC.
- Die Saugferkel hatten die geringste CK – und GPX – Aktivität bei der höchsten TEAC.
- Bei den Sauen nach der Geburt sank die CK – Aktivität kontinuierlich vom 1. bis zum 10. d nach der Geburt, während sich die GPX – Aktivität gegenläufig verhielt und die TEAC einen schwankenden Verlauf nahm.
- Bei den Ferkeln zum Absetzen stiegen die CK – Aktivität wie auch die TEAC kontinuierlich an, während die GPX – Aktivität 1 d nach dem Absetzen am niedrigsten und 10 d nach dem Absetzen am höchsten war.
- Die Mastläufer wiesen die höchste CK – Aktivität neben der zweithöchsten TEAC und GPX – Aktivität auf.
- Die Bilirubin - Konzentration zeigte bei den Ferkeln 3 d vor dem Absetzen gefolgt von den 14 d alten Saugferkeln die höchste Konzentration, während die niedrigste Konzentration bei den Sauen am 3. d nach der Geburt nachzuweisen war.
- Die Albuminkonzentration war bei den 14 d alten Saugferkeln am niedrigsten und bei den hochtragenden Sauen am höchsten.

Klinisch kranke Tiere:

- Die höchste CK – Aktivität fand sich bei den Mastläufern in Verbindung mit der zweithöchsten TEAC und einer sich im Mittelfeld bewegenden GPX – Aktivität.
- Die 14 d alten Saugferkel zeigten die niedrigste GPX – Aktivität und höchste TEAC bei der zweitniedrigsten CK – Aktivität, geringster Albumin – und höchster Bilirubin - Konzentration.
- Die höchste Albumin - Konzentration ließ sich bei den Sauen 1 d nach der Geburt und die niedrigste Bilirubin - Konzentration bei den Sauen 5 d nach der Geburt nachweisen.
- Bei den Sauen nach der Geburt steigerte sich die Aktivität der CK vom 1. bis 5. d nach der Geburt, während sich die niedrigste CK – Aktivität am 10. d nach der Geburt zeigte. Dabei stieg die GPX – Aktivität kontinuierlich an und die TEAC nahm einen schwankenden Verlauf.
- Die niedrigste gemessene TEAC war am 5. d nach der Geburt zu verzeichnen.

Vergleich der klinisch gesunden mit den klinisch kranken Gruppen:

- Bei den an Clostridiose erkrankten Saugferkeln zeigten sich eine deutlich höhere CK – und GPX – Aktivität sowie eine höhere TEAC, eine höhere Albuminkonzentration und eine niedrigere Bilirubinkonzentration.
- Die CK – Aktivität der an PRRS erkrankten Mastläufer war höher als bei den gesunden Mastläufern, aber die TEAC und die GPX – Aktivität waren etwas niedriger. Albumin und Bilirubin zeigten bei den klinisch kranken Mastläufern geringfügig höhere Konzentrationen.
- Die CK – Aktivität war bei den klinisch kranken Sauen am 1. d nach der Geburt am niedrigsten und am 5. d nach der Geburt am höchsten. Die GPX – Aktivität stieg bei beiden Gruppen vom 1. bis 10. d nach der Geburt kontinuierlich an, befand sich jedoch bei der Gruppe der klinisch kranken Sauen auf einem deutlich höheren Aktivitätsniveau. Die TEAC folgte einem schwankenden Verlauf, die Albumin - Konzentration war bei den klinisch kranken Sauen niedriger und die Bilirubin – Konzentration bewegte sich auf dem selben Niveau wie bei den klinisch gesunden Sauen.