

### 3. Material und Methoden

#### 3.1 Beschreibung des Patientenguts

##### 3.1.1 Betriebsstruktur, Rassenverteilung und durchschnittliche Milchleistungen

Die folgenden Untersuchungen wurden in einer Gemischtpraxis in Mittelholstein durchgeführt. Die Praxis betreut durchschnittlich etwa 60 landwirtschaftliche Betriebe. Zum großen Teil handelt es sich hierbei um milchliefernde Betriebe, in denen Rinder der Rassen Holstein-Frisian, Red-Holstein, Deutsche Schwarzbunte und Deutsche Rotbunte gehalten werden. In kleinbäuerlichen Betrieben werden maximal 30 Kühe gemolken. Die Betriebsgröße bei Laufstallhaltung liegt zwischen 40 und 180 Kühen. In den Milchviehherden sind Zucht- und Selektionsziel von den Betriebsleitern unterschiedlich definiert worden. Nach dem Zuchtziel richtet sich auch die durchschnittliche Milchleistung der Tiere (Tabelle 3.1).

Tab. 3.1: Patientengut in den Milchviehherden

Durchschnittliche Milchleistung/ Kuh	Zuchtziel	bevorzugt vorkommende Rassen
5000 – 6500 Liter /Jahr	Selektion auf Fleischleistung	Deutsche Rotbunte, Deutsche Schwarzbunte
6500 – 8000 Liter / Jahr	Zweinutzungsherden	Häufig Kreuzungstiere aus Deutschen Rotbunten, Deutschen Schwarzbunten, Holstein-Frisian und Red-Holstein
8000 – 10000 Liter/Jahr und höher	Selektion auf hohe Milchleistung	Holstein-Frisian und Red-Holstein

Das Patientengut verteilt sich zu je einem Drittel auf diese drei Betriebsformen.

### 3.1.2 Haltung und Fütterung

Bevorzugt wurden die Milchkühe in Laufställen mit Liegeboxen gehalten. Lediglich in vier Betrieben wurden die Tiere im Winter in Anbindeställen aufgestallt. Im Sommer wurde auf diesen Betrieben Weidehaltung praktiziert. In den Laufstallbetrieben wurde den Tieren, je nach Größe des angrenzenden Weidelandes, Weidegang während des Sommers gewährt. Die verwendeten Futtermittel während der Stallperiode sind in Tabelle 3.2 aufgelistet. Aus den dort aufgelisteten Futtermitteln setzten sich auch die Sommerrationen zusammen, die zusätzlich zum Weidegang gefüttert wurden.

Tab. 3.2: Verwendete Futtermittel

Grundfuttermittel	Milchleistungsfutter	Ergänzungsfuttermittel
- Maissilage	- Kraftfutter Energiestufe III	- Laktationsmineralfutter
- Grassilage	Rohproteingehalt 16 – 22%	- Trockensteher-
- Heu	Rohprotein, z.T. geschützt	mineralfutter
- Stroh	- Sojaschrot	- Natriumbicarbonat
	- Rapsschrot	

Die beschriebenen Komponenten wurden entweder als Einzelkomponenten über Futtermittelwagen oder als TMR über Futtermischwagen verfüttert.

## 3.2 Arbeitsplan der klinischen Untersuchung

### 3.2.1 Beschreibung des zu untersuchenden Präparates

In der klinischen Untersuchung sollte die Wirksamkeit eines oral zu verabreichenden Calcium-Phosphor-Präparates untersucht werden. Es wird in Plastikflaschen zu 500 ml vertrieben. Nach Anweisung des Herstellers ist der Inhalt einer Flasche im Anschluss an die Calciuminfusion zur Absicherung der Infusionstherapie oral zu verabreichen. In einer Flasche mit 500 ml Gel sind 55 Gramm Calcium und 45 Gramm Phosphor enthalten. Die Inhaltsstoffe (Tab. 3.3) liegen als Monocalciumphosphat, Dicalciumphosphat und Dinatriumphosphat in Gelform vor. Zur Eindickung und um ein Entmischen der Substanzen zu verhindern, sind unter anderem Propionsäure und Xanthan in der Lösung enthalten. Während Dicalciumphosphat und Dinatriumphosphat alkalisch sind, handelt es sich bei Mononatriumphosphat und Propionsäure um saure Substanzen. Da die Zutaten in einem bestimmten Mischungsverhältnis enthalten sind, hat das Gel puffernde Eigenschaften.

Dadurch wird der pH-Wert im Pansen konstant gehalten. Die Resorption findet im Pansen bzw. im Labmagen (Dicalciumphosphat und Dinatriumphosphat) statt.

Tab. 3.3: Inhaltsstoffe (g/v) des oralen Calcium-Phosphor-Präparates laut Deklaration des Herstellers:

Inhaltsstoff	Anteil ( g/v )
Calcium	11,00%
Phosphor	9,00%
Natrium	0,20%
Wasser	89,80%

### 3.2.2 Zeitplan der klinischen Untersuchung

Der Zeitrahmen der klinischen Untersuchung wurde vor Beginn der Arbeit auf ein Jahr festgelegt. Der klinische Teil der Arbeit wurde vom 24. März 2000 bis 24. März 2001 durchgeführt.

### 3.2.3 Auswahl der Patienten

Die Untersuchungen erfolgten an Tieren, die in enger zeitlicher Beziehung zum Kalbetermin zum Festliegen gekommen waren oder andere Symptome einer hypocalcämischen Gebärparese aufwiesen. Die Verdachtsdiagnose wurde unter Berücksichtigung der Anamnese gestellt, wenn der Tierbesitzer Symptome beobachtet hatte, die eine Gebärparese vermuten ließen (zum Beispiel unsicherer Gang oder Erkalten der Körperoberfläche unmittelbar post partum).

Die Zuordnung der Patienten zu den zwei Therapiegruppen erfolgte zufällig. So erhielt jeder zweite Patient zusätzlich zu einer Standardtherapie (Kontrollgruppe) im Anschluss an die Infusionsbehandlung eine Flasche à 500 ml Calcium-Phosphor-Gel oral verabreicht (Versuchsgruppe). Hierbei fanden Schweregrad der Erkrankung, vermutete Ursache und Dauer der Erkrankung keine Berücksichtigung. Die Reihenfolge konnte nur dann nicht eingehalten werden, wenn die Tierbesitzer die Eingabe des Calcium-Phosphor-Gels aus Furcht vor einer Eingusspneumonie kategorisch ablehnten oder ausdrücklich die Eingabe verlangten. In diesem Fall verschob sich die Zuordnung um ein Tier nach hinten.

In die Untersuchung wurden auch Tiere einbezogen, bei denen aufgrund des klinischen Bildes eine Störung des Calcium-Phosphor-Haushaltes zu vermuten war, die aber noch nicht zum Festliegen gekommen waren.

#### **3.2.4 Erfassung relevanter Daten**

Die Erfassung und Dokumentation der relevanten Daten erfolgte mit Hilfe eines Erfassungsbogens (Abbildung 1). Dieser wurde im Anschluss an die Behandlung in Zusammenarbeit mit dem Tierbesitzer im Bestand ausgefüllt.

## Abbildung 1: Erfassungsbogen zur Promotion über festliegende Kühe

**Datum:**.....

**Name des Besitzers:**.....

### Signalement des Tieres:

Herdbuchnummer:.....

### Angaben zum Tier:

Alter des Tieres:.....

Anzahl Laktationen:.....

Durchschnittliche Jahresleistung:.....Liter

Kondition:.....

Kalbezeitpunkt:.....

Kalbeverlauf / Geburtskomplikationen:.....

.....

Nachgeburtsverhaltung: ja..... nein.....

Erkrankungszeitpunkt:.....

Behandlungszeitpunkt:.....

Vorbehandlungen:.....

### Klinisches Bild

Körperinnentemperatur in °C:.....

Oberflächentemperatur: normal ..... erkaltet.....

wo erkaltet: Ohren.....Rücken.....Kruppe.....

Sensorium: erhalten..... gestört.....

Festliegen in: Brustlage .....

Seitenlage .....

mit abgespreizten Vorder- und Hintergliedmaßen .....

mit unter den Leib geschobenen Hintergliedmaßen ( Froschlage ).....

mit stark seitlich abgespreizten Hintergliedmaßen in Brustlage.....

Aufstehversuche: ja..... nein.....

**Verdachtsdiagnose:**.....

**Differentialdiagnosen:**.....

**Angewendete Therapien:**

1. Zeitpunkt:.....

    Probennummer:.....

    Angewendete Therapie / verwendete Medikamente:.....

    .....

    Behandlungserfolg: ja.....  nein.....

2. Zeitpunkt:.....

    Probennummer:.....

    Angewendete Therapie / verwendete Medikamente:.....

    .....

    Behandlungserfolg: ja.....  nein.....

3. Zeitpunkt:.....

    Probennummer:.....

    Angewendete Therapie / verwendete Medikamente:.....

    .....

    Behandlungserfolg: ja.....  nein.....

    Euthanasie: ja.....  nein.....

**Ergebnisse der Blutuntersuchung:**

    Vor der Erstbehandlung: Ca:.....

                                    P:.....

    Andere Parameter:.....

    Weitere Blutentnahmen: Ca:.....

                                    P:.....

    Weitere Parameter:.....

    Nach Abschluß der Behandlung: Ca:.....

                                    P:.....

    Weitere Parameter:.....

**Endgültige Diagnose:.....**

### 3.2.5 Durchführung der Behandlung

Vor der Erstbehandlung wurde bei jedem Patienten eine Blutprobe entnommen. Dabei wurden Serumröhrchen mit Kaolinzusatz verwendet. Anschließend wurde die Infusionsbehandlung durchgeführt. Abschließend wurde jedem Tier der Versuchsgruppe eine Flasche Calcium-Phosphor-Gel oral verabreicht.

### 3.2.6 Standardtherapie

Die Standardtherapie (Infusionsbehandlung) wurde mit den in Tabelle 3.4 aufgeführten Medikamenten durchgeführt.

Tab. 3.4: In der Erstbehandlung verwendete Medikamente

Medikament	Hersteller	Dosierung	Applikationsform	Wirkstoff
C-B-Gluconat-Lösung N®	Bela-Pharm GmbH & Co. KG	500 ml	intravenös	Calciumgluconat
Dexamethason-Injektionslösung ad us. vet.®	Medistar GmbH	15 ml	intravenös	Dexamethason-21-Dihydrogenphosphat-Dinatrium
Laptovet P.I.N.®	Atarost GmbH & Co.	30 ml	intravenös	Calciumglycerophosphat

Alternativ zur Applikation von 30 ml Laptovet P.I.N.® wurden auf Wunsch des Tierbesitzers folgende Medikamente eingesetzt:

Catosal® (Hersteller: Bayer Vital; Wirkstoff: Butafosfan); Dosierung: 100 ml intravenös oder Tonophosphan comp. ad us. vet.® (Hersteller: Intervet International GmbH; Wirkstoff: Toldimfos-Natrium); Dosierung: 100 ml intravenös.

Trat während der folgenden sechs Stunden kein Behandlungserfolg ein, wurde nach telefonischer Meldung des Tierbesitzers eine Folgebehandlung durchgeführt. Die dabei verwendeten Medikamente sind in Tabelle 3.5 aufgeführt. Vor der Behandlung wurde eine weitere Blutprobe entnommen.

Tab. 3.5: In der Zweitbehandlung eingesetzte Medikamente

Medikament	Hersteller	Dosierung	Applikationsform	Wirkstoff
C-B-Gluconat-Lsg. N®	Bela-Pharm GmbH & Co. KG	500 ml	intravenös	Calcium-gluconat
Glucose-Sorbit-Lävulose-Lsg.®	Atarost GmbH & Co.	500 ml	intravenös	Glucose-Monohydrat, Sorbit, Fructose (Lävulose)
Catosal® oder Tonophosphan comp.®	Bayer Vital GmbH  Intervet International GmbH	100 ml  100 ml	intravenös  intravenös	Butafosfan  Toldimfos-Natrium

Bei der Zweitbehandlung erhielten die Tiere der Versuchsgruppe weitere 500 ml des Calcium-Phosphor-Gels oral. Blieb der Behandlungserfolg auch nach der Zweitbehandlung aus, erfolgten weitere Behandlungen nach Absprache mit dem Tierbesitzer. Hierbei wurden die oben genannten Medikamente nach Ermessen des Tierarztes eingesetzt. Eine weitere Behandlung mit dem Calcium-Phosphor-Gel erfolgte nicht. Die Inhaltsstoffe der in Kapitel 3.2.6 aufgeführten Medikamente sind dem Anhang zu entnehmen.

### 3.2.7 Blutentnahmen

Eine Blutentnahme erfolgte vor der Erstbehandlung und vor jeder weiteren Behandlung. Außerdem wurde nach Möglichkeit eine Blutprobe von den Patienten entnommen, die geheilt waren. Da sich die Patienten häufig zu diesem Zeitpunkt auf der Weide oder im Laufstall befanden, war dies nur bei einer kleineren Anzahl von Tieren möglich.

### 3.2.8 Aufbereitung der Blutproben

Die entnommenen Blutproben wurden am gleichen Tag frühestens eine Stunde nach der Entnahme, spätestens am Morgen des darauffolgenden Tages fünf Minuten bei 4000 U/min zentrifugiert. Zwei bis drei Milliliter des so gewonnenen Serums wurden in Probenröhrchen überführt und bis zur Bestimmung der zu untersuchenden Parameter bei  $-17\text{ °C}$  tiefgefroren.

### 3.2.9 Analyse der Blutproben

In der Klinik für Kleintiere der Freien Universität Berlin erfolgten die labordiagnostischen Bestimmungen der in Tabelle 3.6 aufgelisteten Parameter mit den in der Tabelle aufgeführten Methoden.

Tab. 3.6: Normalwerte der untersuchten Parameter und Bedeutung von Veränderungen\*

Parameter	Bestimmungsverfahren	Normalwert	Bedeutung einer Veränderung
Natrium (Na)	AAS**	130 – 150 mmol/l	↓ bei Natriummangel, Enteritis
Kalium (K)	AAS	4,0 – 5,0 mmol/l	↑ bei Acidose
Calcium (Ca)	AAS	2,0 – 3,0 mmol/l	↓ bei Gebärparese, Tetanie
Magnesium (Mg)	photometrisch	0,6 – 1,3 mmol/l	↓ bei Hypomagnesämie Tetanie
Phosphor (P)	photometrisch	1,3 – 2,2 mmol/l	↓ bei atypischer Gebärparese
Gamma GT (Gamma-Glutamyl-Transaminase)	photometrisch	bis 27 U/l	↑ bei Gallenstau, akutem Leberschaden
CK (Creatininkinase)	photometrisch	bis 60 U/l	↑ bei Muskelschäden, Festliegen, Krämpfen
GLDH (Glutamat-Dehydrogenase)	photometrisch	bis 7,0 U/l	↑ bei Leberfunktionsstörungen
Glucose	photometrisch	4,8 – 6,0 mmol/l	↓ bei Hypoglycämie, Ketose
Harnstoff	photometrisch	bis 8,0 mmol/l	↑ bei Nierenfunktionsstörungen, Eiweißüberfütterung
Bilirubin	photometrisch	bis 8,5 µmol/l	↑ bei Leberfunktionsstörungen
β-Hydroxybuttersäure	kinetisch-enzymatisch	ab 1,0 mmol/l ab 1,5 mmol/l	Ketoseverdacht klinische Ketose
AST	photometrisch	bis 100 U/l	↑ Leber-, Herz-, Skelettmuskelschäden

\*Quelle: W. Hofmann: Rinderkrankheiten Band 1 (Verlag Ulmer);\*\*Atomabsorptionsspektrometer

### 3.2.10 Bestimmung der Ursache des Festliegens nach Laborergebnissen

Die Ursache für das Festliegen eines Rindes wurde anhand der Blutprobe, die vor der Erstbehandlung entnommen wurde, sowie der Folgeblutproben ermittelt. Als Grenzwerte dienten die in Tabelle 3.6 aufgeführten Werte. Lagen zwei oder mehr mögliche Ursachen gleichzeitig vor, wurde dem Calcium-Phosphor-Mangel die erste Priorität eingeräumt. Als Diagnosen und Differentialdiagnosen wurden die in der Tabelle 3.7 aufgeführten Erkrankungen verwendet.

Tab. 3.7: Diagnosen nach den klinisch-chemischen Untersuchungen bei festliegenden Kühen

1. Calciummangel und/oder Phosphormangel 1.1 gleichzeitiger Calcium- und Phosphormangel 1.2 alleiniger Calciummangel 1.3 alleiniger Phosphormangel
2. Störung der Leberfunktion
3. Schäden am Bewegungsapparat
4. sonstige Ursachen

Eine Einordnung in Gruppe 2 erfolgte, wenn der Calcium-Phosphor-Haushalt ungestört und wenigstens einer der fünf untersuchten Leberparameter unphysiologisch hoch waren. In Gruppe 3 wurden Tiere mit Calcium-Phosphor-Werten und Leberwerten im physiologischen Bereich und erhöhten Muskelenzymwerten eingeordnet.

War nach den Blutergebnissen keine Diagnose zu stellen, fanden Vorbericht und klinisches Bild Berücksichtigung. Ließen alle genannten Untersuchungen keinen Schluss auf die Ursache des Festliegens zu, wurden die entsprechenden Tiere dem Punkt 4 „sonstige Ursachen“ zugeordnet.

### **3.2.11 Statistische Auswertungen**

Für die statistische Auswertung von zwei miteinander zu vergleichenden Parametern fand der T-Test Anwendung. Waren mehr als zwei Parameter statistisch auszuwerten, wurde eine einfache Anova mit anschließendem Duncantest durchgeführt. Die statistische Beurteilung des Behandlungserfolges wurde mit dem Chi<sup>2</sup>-Test durchgeführt. Der p-Wert wurde auf  $p = 0,05$  festgelegt. Alle Tests wurden mit dem Programm SPSS, Version 14.0 durchgeführt.

### **3.2.12 Behandlungserfolg**

Als Behandlungserfolg wurde angesehen, wenn ein festliegendes Tier nach der Behandlung eigenständig aufstand und ein ungestörtes Allgemeinbefinden zeigte. Bei Tieren, die noch nicht zum Festliegen gekommen waren, wurde das Verschwinden der klinischen Symptome als Behandlungserfolg gewertet. Die Feststellung des Behandlungserfolges erfolgte nach Rücksprache mit dem Tierbesitzer oder durch eigene Nachkontrolle.