

**Aus der
Klinik für Klauentiere
Fachbereich Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

**Untersuchungen zur peripartalen Hypokalzämie
und der Gebärparese der Milchkuh**

**Habilitationsschrift
zur Erlangung der Venia legendi
für die Fächer
Rinderkrankheiten und Bestandsbetreuung**

**eingereicht am
Fachbereich Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

**durch
Dr. Carl-Christian Gelfert
Tierarzt aus Marl**

Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der Abkürzungen

Einleitung 1

1. Teil Untersuchungen zur Klinik, Therapie der peripartalen Hypokalzämie und der
Gebärparese der Milchkuh und der Prophylaxe mittels saurer Salze 3

1.1. Die Gebärparese der Rindes 4

1.1.1 Definition..... 4

1.1.1.1 Gebärparese des Rindes 4

1.1.1.2. Hypokalzämie 4

1.1.1.3. Downer Cow 4

1.1.1.4. Festliegen der Milchkuh im peripartalen Zeitraum..... 4

1.1.2. Wirtschaftliche Bedeutung 5

1.1.3. Ätiologie und Pathogenese 5

1.1.3.1. Kalziumhaushalt im peripartalen Zeitraum 5

1.1.3.2. Hormonelle Regulation 7

1.1.3.2.1. Parathormon (PTH) 7

1.1.3.2.2. Calcitonin (CT)..... 8

1.1.3.2.3. 1,25-(OH)₂-Cholecalciferol (1,25-(OH)₂D₃) 8

1.1.3.3. Prädisponierende Faktoren..... 9

1.1.3.3.1. Rasse 9

1.1.3.3.2. Alter 10

1.1.3.3.3. Fütterung 11

1.1.3.3.3.1. Kalzium, Phosphor, Magnesium 11

1.1.4. Gebärparesetypen (GP)..... 12

1.1.5. Klinisches Bild der Gebärparese..... 15

1.1.6 Diagnostik der Gebärparese 16

1.1.6.1. Diagnostik mittels klinischer Untersuchung und Laborprofilen..... 16

1.1.6.1.1. Lage der Kuh 17

1.1.6.1.2. Getrübtes Sensorium 17

1.1.6.1.3. Innere Körpertemperatur..... 18

1.1.6.1.4. Oberflächentemperatur 18

1.1.6.2. Laboruntersuchungen festliegender Kühe..... 18

1.1.7. Differentialdiagnosen 19

1.1.7.1. Hypophosphatämie..... 19

1.1.7.2. Muskeltraumen 21

1.1.8.	Prognose festliegender Kühe im peripartalen Zeitraum.....	22
1.1.9.	Therapie der peripartal festliegenden Kuh	24
1.1.9.1.	Kalziumlösungen	24
1.1.9.1.1.	Nebenwirkungen.....	25
1.1.10.	Zusammenfassung	25
1.2.	Die Prophylaxe der peripartalen Hypokalzämie	26
1.2.1.	Das DCAD-Konzept zur Prophylaxe der peripartalen Hypokalzämie.....	27
1.2.1.1.	Wirkung der sauren Salze auf den Säure-Basen-Haushalt (SBH).....	30
1.2.1.1.1.	Nachweis der Wirkung der sauren Salze auf den SBH	31
1.2.1.2.	Wirkung der sauren Salze auf den Kalziumstoffwechsel	32
1.2.1.2.1.	Nachweis der Wirkung auf den Kalziumhaushalt	33
1.2.1.2.2.	Nachweis der Wirkung anhand biochemischer Knochenmarker.....	33
1.2.1.3.	Wirkungsunterschiede von Chloridsalzen und Sulfatsalzen	34
1.2.1.4.	Dosis der Salze.....	35
1.2.1.5.	Dauer der Salzgabe.....	35
1.2.1.6.	Faktoren, die die Wirkung der sauren Salze beeinflussen.....	36
1.2.1.6.1.	Sensorik der Salze.....	36
1.2.1.6.2.	Energiegehalt der Ration	37
1.2.1.6.3.	Kalziumgehalt der Ration beim Einsatz saurer Salze	37
1.2.1.6.4.	Gleichzeitiger Einsatz von Pansenpuffern.....	38
1.2.1.6.5.	Häufigkeit der Salzgabe.....	39
1.3.	Derzeitige Empfehlungen zum Einsatz saurer Salze.....	39
1.3.1.	Futtermittelanalyse	40
1.3.2.	Kalkulation der Vorbereiterration und Berechnung der DCAD.....	40
1.3.3.	Auswahl und Mengenermittlung der sauren Salze	40
1.3.4.	Mengen- und Spurenelemente, Vitamine	41
1.3.5.	Erfolgskontrolle	41
1.4.	Ausblick zukünftiger Forschung	42
1.5.	Zusammenfassung	43
1.6.	Summary	45
1.7.	Literaturverzeichnis.....	47

2. Teil	Zusammenstellung der bereits erschienenen eigenen wissenschaftlichen Beiträge	61
2.1.	Anteile des Habilitanden an den Studien	62
2.2.	Untersuchungen zum Auftreten der Gebärparese in verschiedenen Regionen Deutschlands und zum Einsatz unterschiedlicher Therapien im Vergleich zur Kalziuminfusion - 1. Klinische Symptome und Verhalten der Mengenelemente	65
2.3	Untersuchungen zum Auftreten der Gebärparese in verschiedenen Regionen Deutschlands und zum Einsatz unterschiedlicher Therapien im Vergleich zur Kalziuminfusion - 2. Differentialdiagnosen und Heilungserfolg	79
2.4.	Factors affecting the success rate of treatment in parturient dairy cows suffering from hypocalcaemia	95
2.5.	The impact of dietary cation anion balance (DCAD) on the acid-base balance and calcium metabolism of dairy cows fed equal amounts of different anionic salts	107
2.6.	Comparison of the impact of different anionic salts on the acid-base status and calcium metabolism in non-lactating, non-pregnant dairy cows	123
2.7.	The effect of various anionic salts on ruminal pH and short-chain fatty acids in non-pregnant and non-lactating cows	135
2.8.	Impact of a prolonged period of feeding anionic salts on the acid-base-balance and calcium metabolism of dairy cows	143
2.9.	The impact of energy deficiency on the effects of anionic salts on the acid-base status of dairy cows	155
2.10.	Experimental studies on the impact of an increased dose of anionic salts on the metabolism of dairy cows.....	163
2.11.	Auswirkungen einer gleichzeitigen Gabe von sauren Salzen und Pansenpuffern auf den Säure-Basen-Haushalt und Mineralstoffwechsel von Milchkühen.....	175
2.12.	Duration of the effects of anionic salts on the acid base status in cows fed different anionic salts only once daily	185
Danksagung.....		193

Verzeichnis der Abkürzungen

ASAT	Aspartat-Aminotransferase
BE	Base Excess
C	Kohlenstoff
Ca	Kalzium
CK	Creatinkinase
Cl	Chlor
CT	Calcitonin
DCAD	Dietary Cation-Anion Difference
FV	Fleckvieh
g	Gramm
ggr.	geringradig
GP	Gebärpareseform
H	Wasserstoff
[HCO ₃ ⁻]	Bikarbonatkonzentration
HF	Holstein-Friesian
hgr.	hochgradig
K	Kalium
kg	Kilogramm
mEq	Milliequivalent
Mg	Magnesium
mg	Milligramm
mmol	Millimol
l	Liter
Na	Natrium
NSBA	Netto-Säuren-Basen-Ausscheidung
O	Sauerstoff
Parathormon	PTH
S	Schwefel
SO ₄ ²⁻	Sulfat
TS	Trockensubstanz
U	Units
μmol	Mikromol
1,25-(OH) ₂ D ₃	1,25-Dihydroxycholecalciferol

Einleitung

Die Gebärparese ist nach wie vor eine der Haupterkrankungen der Milchkuh im peripartalen Zeitraum. Mit der Erkenntnis, dass als Ursache eine Störung im Kalziumstoffwechsel vorliegt, wurden entsprechende Therapien entwickelt und mit Erfolg etabliert. Doch immer gab es gleichzeitig aber Berichte über ein Versagen der Therapie und über eine Veränderung der klinischen Symptome. Weiter gehende Untersuchungen ergaben zum einen, dass sich das klinische Bild mit der Zeit gewandelt hat, und zum anderen Hinweise auf eine mögliche Beteiligung des Phosphors. Dies führte zumindest im deutschsprachigen Raum zu einer Unterscheidung in die klassische Gebärparese infolge eines Kalziummangels und der atypischen Gebärparese infolge eines Phosphormangels. In neuerer Zeit wurden Zweifel dahingehend geäußert, dass die erniedrigten Phosphorspiegel ursächlich zum Festliegen der Kuh führen. Eher könnte der Abfall in den Phosphorkonzentrationen eine Begleiterscheinung darstellen, die sich aufgrund der verminderten Resorption infolge der Hypomotilität der Verdauungsorgane einstellt.

Die hier vorgestellten Untersuchungen beschäftigen sich daher mit den Ursachen des Festliegens von Milchkuhen im peripartalen Zeitraum. Dabei stehen klinische und serologische Fragestellungen im Vordergrund. Parallel dazu wird die klassische Therapie der Gebärparese mittels intravenöser Kalziuminfusion erweiterten Therapieformen gegenübergestellt.

Zur Vorbeugung der peripartalen Hypokalzämie werden im zunehmenden Maße saure Salze eingesetzt. Diese induzieren ante partum durch die von ihnen hervorgerufene leichte metabolische Azidose eine erhöhte Aktivität des Kalziumstoffwechsels. Diese Methode, die sich vor allem in den großen Milchviehbetrieben der neuen Bundesländer verbreitete, zeigte zunehmend Schwächen auf. Berichte aus der Praxis über eine ausbleibende Wirkung der sauren Salze oder sogar einen das Krankheitsgeschehen verstärkenden Effekt waren der Anlass, einzelnen Faktoren des Managements hinsichtlich ihres Einflusses auf die Wirkung der sauren Salze nachzugehen.

Dies erfolgte durch Fütterungsversuche an pansenfistulierten Kühen. Die standardisierten Versuchsbedingungen waren die Voraussetzung, um in den einzelnen Versuchen den Einfluss jeweils eines Faktors auf die Wirkung der sauren Salze im Tier zu untersuchen.

In einem ersten Versuch wurden die einzelnen chemischen Verbindungen, die als saures Salz in der Prophylaxe der Gebärparese eingesetzt werden, hinsichtlich ihres Vermögens, den Säure-Basen-Haushalt und die Kalziumausscheidung über den Harn zu beeinflussen, getestet. Damit sollte geklärt werden, ob es gravierende Unterschiede gibt, die dann bei der Auswahl der Salze zu berücksichtigen sind.

In den weiteren Versuchen wurde dann überprüft, inwieweit weitere Faktoren wie die Zeitdauer, die Dosis oder Energiegehalt der Ration die Wirkung der sauren Salze verändern können.

Aus den Ergebnissen der Untersuchungen und denen der Literatur werden Empfehlungen zum Einsatz der sauren Salze zur Vorbeugung einer peripartalen Hypokalzämie in Milchviehherden abgeleitet. Mit diesen Empfehlungen werden auch deutlich die Grenzen des Einsatzes saurer Salze aufgezeigt,

1. Teil

Untersuchungen zur Klinik, Therapie der peripartalen Hypokalzämie und der Gebärparese der Milchkuh und der Prophylaxe mittels saurer Salze

1.1. Die Gebärpause des Rindes

1.1.1 Definition

1.1.1.1 Gebärpause des Rindes

Die Gebärpause des Rindes ist eine akut bis perakut verlaufende Störung des Kalziumhaushaltes (Ahlers et al. 1987). Sie ist charakterisiert durch eine Hypokalzämie und mit einer bis zum Festliegen reichenden Lähmung der quergestreiften und glatten Muskulatur verbunden (Martig 2002). In schweren Fällen führt sie zum Koma des Tieres und bei Nichtbehandlung zum Tod. Sie tritt im peripartalen Zeitraum mit einem Schwerpunkt in den ersten beiden Tagen nach der Kalbung auf.

1.1.1.2. Hypokalzämie

Eine Hypokalzämie liegt vor, wenn im Blut die Konzentration des Gesamtkalziumgehalts unter die derzeit physiologischen Grenzen von 2,3-3 mmol/l abgefallen ist. Ist die Hypokalzämie nicht mit klinischen Symptomen verbunden, spricht man von einer subklinischen Hypokalzämie. Im peripartalen Zeitraum gilt eine Untergrenze von 2,0 mmol/l (Kraft und Dürr 2005).

1.1.1.3. Downer Cow

Downer cow bezeichnet eine festliegende Kuh, die trotz zweimaliger Kalziuminfusion innerhalb von 24 Stunden ihr Stehvermögen nicht wiedererlangt hat (Jönsson und Pherson 1969, Dirksen 2002).

1.1.1.4. Festliegen der Milchkuh im peripartalen Zeitraum

Das Festliegen bezeichnet „einen Zustand, bei dem das Rind nicht in der Lage oder nicht willens ist, sich zu erheben“ (Dirksen 2002). Damit stellt es ein klinisches Symptom und keine eigenständige Erkrankung dar. Die Ursachen für das Festliegen einer Milchkuh sind vielfältig und lassen sich folgendermaßen aufgliedern (Dirksen 2002):

Metabolische Störungen: Hypokalzämie, Hypokaliämie, Hypophosphatämie.

Schädigung der Bewegungsorgane: infolge einer vorangegangenen Stoffwechselstörung, durch Traumen im Zusammenhang mit der Kalbung oder durch Unfälle.

Psychogene Immobilität: Unwillen, Angst, Unsicherheit.

Sonstige Ursachen: starker Blutverlust, Leberkoma, Mastitis paralytica, generalisierte Peritonitis, Labmagenverlagerung, schwere Klauenleiden.

1.1.2. Wirtschaftliche Bedeutung

Die Gebärparese des Rindes ist trotz genauer Kenntnisse der Ätiologie immer noch eine der Haupterkrankungen der Milchkuh im peripartalen Zeitraum (Fürll et al. 1996, Rajala und Gröhn 1998, Gröhn et al. 2003). Die Angaben schwanken zwischen 3 % (Hansen et al. 2007), 6-10 % (Malz und Meyer 1992) und 14 % (Esslemont und Kossaibati 1996). In einzelnen Herden können bis zu 30 % der Tiere betroffen sein (Houe et al. 2001). Mit der Steigerung der Milchleistung kam es zu einer Steigerung der Erkrankungshäufigkeit der Gebärparese (Malz und Meyer 1992). Kühe, die einmal an Gebärparese erkrankt sind, haben ein deutlich erhöhtes Risiko, bei der folgenden Laktation wieder daran zu erkranken. Die Angaben aus der Literatur liegen zwischen 46 % (Schültken und Moll 1998) und 50 % (Meyer und Dahms 1969).

Die wirtschaftliche Bedeutung der Gebärparese ist sehr hoch, da nicht nur die Behandlungskosten den Landwirt belasten, sondern weitere Folgekosten durch Fruchtbarkeitsstörungen (Goff et al. 1987, Whiteford und Sheldon 2005) und das erhöhte Risiko von Folgeerkrankungen wie Nachgeburtsverhaltungen, Ketose, Labmagenverlagerung entstehen (Curtis et al. 1984, Massey et al. 1993). Zudem besteht eine größere Wahrscheinlichkeit, dass die Kuh vorzeitig aus der Herde ausscheidet (Schültken und Moll 1998). Nach Horst et al. (1997) belaufen sich die Verluste durch jeden klinischen Fall einer Hypokalzämie auf \$ 334.

1.1.3. Ätiologie und Pathogenese

1.1.3.1. Kalziumhaushalt im peripartalen Zeitraum

In der Trockenstehphase liegt der Gesamtbedarf an Kalzium einer 500 kg schweren hochtragenden Kuh bei 31 g (Goff et al. 1991a). Übliche Futterrationen, die den Transitkühen in den letzten zwei bis drei Wochen vor dem Kalben angeboten werden, enthalten in den Regel deutlich mehr Kalzium durch den hohen Anteil an Grassilage oder Luzerne.

Kalzium wird vor allem in Dünndarm (Sklan und Hurwitz 1985, Goff et al 1991b, Scharrer und Wolfram 2000), aber auch im Pansen resorbiert (Kolb 1989, Leonhard-Marek et al. 2007).

In vitro-Versuche beim kleinen Wiederkäuer (Höller et al. 1988) und beim Rind (Ricken 2005) belegten, dass im Pansen aktive Transportsysteme die passive Resorption in Richtung des chemischen Gradienten ergänzen. Ricken (2005) geht aber davon aus, dass die aktive Kalziumresorption im Pansen nur eine untergeordnete Rolle spielt. Auch im Dünndarm existieren mehrere Möglichkeiten des aktiven und passiven Kalziumtransports. Der passive erfolgt zum einen über die Tight Junctions (Hoenderop et al. 2005) und ist an ein Konzentrationsgefälle von mindestens 1:5 zwischen Blut und Darmlumen gebunden (Goff 1999). Daneben kann Kalzium passiv mittels des „Solvent-drag“-Phänomens aus dem Darm

1.1 Die Gebärdparese des Rindes

aufgenommen werden, wenn Wasser aufgrund eines osmotischen Gradienten vom Lumen in den Intrazellulärraum fließt und die darin gelösten Ca^{2+} -Ionen mitnimmt.

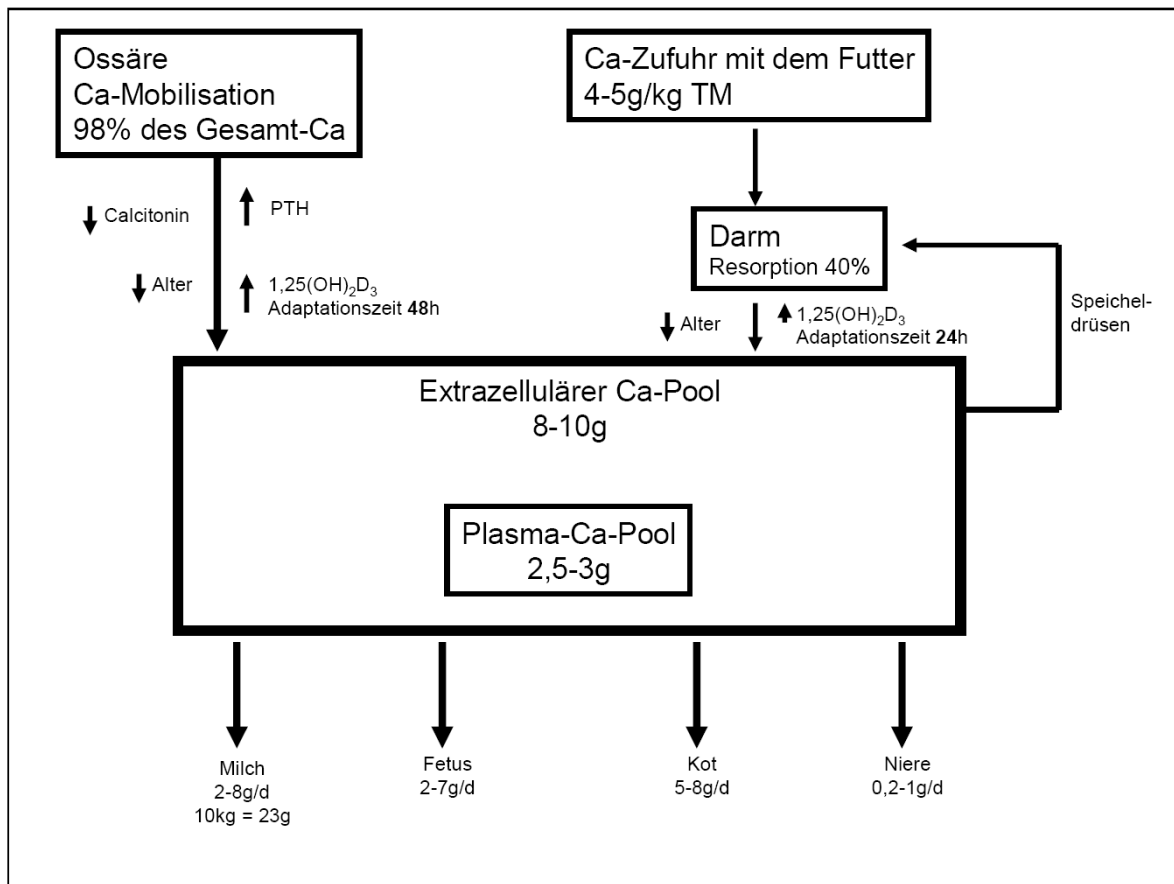


Abb. 1: Kalziumhomöostase während der peripartalen Phase (nach Goff et al. 1991b)

Wenn Kühe eine Ration mit einem hohem Kalziumgehalt (>100 g) erhalten, wird 50 % des Kalziums über die passiven Wege absorbiert (Horst et al. 1994). Aufgrund der Diskrepanz zwischen dem niedrigen Bedarf der Milchkuh in den letzten Wochen vor der Kalbung (im Vergleich zu einer laktierenden Kuh in der Früh-laktation) und der mehr als genügenden Zufuhr an Kalzium besteht für die Kuh kein Anlass, sich um eine aktive Kalziumabsorption zu bemühen. Mit der Kalbung steigt der Kalziumbedarf auf ein Vielfaches an (Bostedt und Bless 1993, Horst et al. 1997). Der Kalziumgehalt des Kolostrums liegt zwischen 1,4-2,5 g/l (Blum und Fischer 1974, Goff et al. 1987, Reinhardt et al. 1988). Je nach Milchleistung werden der Kuh beim ersten Melken 25-35 g Kalzium entzogen (Goff et al. 1987, Radostits et al. 2000), welches einem Vielfachen des endogenen Kalziumpools entspricht (Goff et al. 1987) und den Gesamtkalziumbedarf der Kuh von einem zum anderen Tag verdoppelt (Abbildung 1). Die Mengen an sofort verfügbarem Kalzium im Plasmapool (2-3 g) und Intrazellulärraum (7-8 g) reichen nun nicht aus, um den Mehrbedarf zu decken. Der erhöhte Bedarf an Kalzium ist nur durch die zusätzliche aktive Absorption (Horst et al. 1997) zu decken, und die Kuh muss sowohl ihre Kalziumspeicher in den Knochen mobilisieren, als auch die Kalziumabsorption im Darm steigern. Diese aktiven Mobilisierungsprozesse, die einer strengen hormonellen

Regulation unterliegen (Hartmann und Brand, 2000) laufen erst an, wenn es zu einem Abfall der Kalziumkonzentrationen im Blut kommt. Es besteht daher bei jeder Kuh nach dem Kalben ein gewisser Zeitraum, in welchem sich im Organismus ein zunächst subklinischer Kalziummangel einstellt. Man könnte diesen Zustand auch als physiologische Hypokalzämie bezeichnen. Versagt in diesem Stadium die hormonelle Regulation (Hallgren 1963, Schröder und Breves 2007), entsteht aus der subklinischen Hypokalzämie eine klinische Hypokalzämie, welche sich als Gebärpause des Rindes darstellt (Robertson et al. 1956, Horst 1986). Der Kalziumverlust über die Milch ist bei nicht-festliegenden Kühen nicht geringer als bei den Kühen, die eine Gebärpause entwickeln (Blum und Fischer 1974).

1.1.3.2. Hormonelle Regulation

Der Kalziumhaushalt wird hauptsächlich durch das Zusammenspiel von drei Hormonen geregelt (Hoenderop und Bindels 2005): Parathormon (PTH), Calcitonin (CT) und 1,25-Dihydroxycholecalciferol ($1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$).

1.1.3.2.1. Parathormon (PTH)

Das PTH wird über die Kalziumkonzentration im Extrazellularraum gesteuert. Wenn diese sinkt, wird die PTH-Sekretion gesteigert, im umgekehrten Falle wird sie gehemmt (Reinhardt et al. 1988, Horst et al. 1994, Goff 2000). Der Regulator dafür ist der Kalzium-sensitive Rezeptor in der Nebenschilddrüse, welcher je nach Kalziumgehalt im Blut die Bildung und Sekretion von PTH aktiviert oder hemmt. Beides geschieht innerhalb von Sekunden und führt immer zu einer maximalen Reaktion (Blum et al. 1974). Dies ist sinnvoll, damit schon kleineren Abweichungen im Kalziumgehalt begegnet werden kann. PTH führt am Knochen durch eine Aktivierung der Osteoklasten zur Osteolyse (Goff 2000) mit der Folge eines Anstiegs der Kalzium- und Phosphatkonzentrationen im Blut. Damit das Löslichkeitsprodukt beider Ionen im Blut nicht überschritten wird, steigert PTH gleichzeitig die Phosphatausscheidung über die Nieren (Hesters und Fleming 2002, Martig 2002). Des Weiteren steigert PTH die Kalziumreabsorption aus dem Harn (Goff 2000). Die Synthese von $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ wird angeregt (Reinhardt et al. 1988, Horst et al. 1994, Goff 2000). Die Kalziumabsorption im Darm wird gesteigert. Im Falle eines Magnesiummangels unterbleibt die PTH-Antwort oder erfolgt nur reduziert (Goff 2004).

Nach der derzeit gültigen Hypothese bedingt eine alkalische Futterration, verursacht durch einen erhöhten Gehalt an Kalium und Natrium, eine verminderte Wirkung des PTH, da aufgrund von Konformationsänderungen am Rezeptor die Zielgewebe durch PTH nicht aktiviert werden können (Goff 2008). Die Folgen sind dann eine verminderte Aktivierung des $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ und reduzierte Freisetzung von Kalzium aus dem Knochen.

1.1.3.2.2. Calcitonin (CT)

Calcitonin (CT) ist der Gegenspieler des PTH und seine Aktivierung geschieht wie beim PTH über den Kalzium-sensitiven Rezeptor. Entsprechend erhöht sich die Sekretion, wenn der Kalziumspiegel im Blut ansteigt (Reinhardt et al. 1988). Als Gegenspieler des PTH hemmt CT die Osteoklastentätigkeit, die Freisetzung von Kalzium aus dem Knochen geht zurück, und der Kalziumspiegel im Blut sinkt (Goff 2000). Die Kalziumausscheidung über die Niere wird ebenso gesteigert wie die des Phosphats, bei letzterem wirkt CT synergistisch mit PTH (Goff 2000). CT ist kein ätiologischer Faktor der Gebärpause, da bei solchen Kühen keine anormal erhöhten Calcitoninwerte vorliegen (Mayer et al. 1975, Shappell et al. 1987).

1.1.3.2.3. 1,25-(OH)₂-Cholecalciferol (1,25-(OH)₂D₃)

Das 1,25-(OH)₂D₃ stellt die aktive Form des Vitamin D dar, welches im chemischen Sinne kein Vitamin, sondern ein Pro-Steroidhormon darstellt (Horst et al. 1994). Wie bei allen Hormonen ist auch beim 1,25-(OH)₂D₃ ein Rezeptor in den Zielzellen notwendig, damit es seine Wirkung entfalten kann. Dieser Vitamin-D-Rezeptor (VDR) führt nach Aktivierung durch 1,25-(OH)₂D₃ über weitere Rezeptoren (Retinoid-X Rezeptor, Vitamin-D-Response-Element) eine Aktivierung der Zielgene (Reinhardt et al. 1988) und damit eine Synthese spezifischer Kalziumkanäle und des Calbindins (Reinhardt et al. 1988, Horst et al. 1997). Für eine ausreichende aktive Kalziumabsorption ist neben der Konzentration des Vitamin D₃ auch die Anzahl der VDR im Zielgewebe entscheidend. Für die Versorgung des Organismus mit Vitamin D kann die Milchkuh auf endogene und exogene Quellen zurückgreifen. Das exogene Vitamin D wird über die Nahrung in Form von Vitamin D₂ und D₃ als Vorformen aufgenommen. Zusätzlich kann in der Haut photochemisch aus 7-Dehydrocholesterol Vitamin D₃ gebildet werden. Beide Vitamine werden zur Leber transportiert und in den Hepatozyten zu 25-(OH)-D₃ bzw. 25-(OH)-D₂ mittels der 25-Hydroxylase umgewandelt (Horst 1986, Goff 2000). Die zweite Hydroxilierung am C1 findet in der Niere statt und ist hormonell gesteuert, bei einem Kalziummangel aktiviert PTH die 1 α -Hydroxylase. Eine Hypophosphatämie steigert die Enzymaktivität (Kichura et al. 1982) ebenso wie Östrogen und Prolactin (Horst 1986). Hohe Kalzium- oder Phosphatspiegel vermindern dagegen die Enzymaktivität. Darüber hinaus besteht eine negative Rückkopplung durch den Anstieg des 1,25-(OH)₂D im Blut.

1,25-(OH)₂D ergänzt in seiner Wirkung das PTH. Wie PTH steigert auch 1,25-(OH)₂D die Freisetzung des Kalziums und Phosphats aus den Knochen (Reinhardt et al. 1988, Horst et al. 1997). Ebenso steigt die intestinale Absorption des Phosphats. Im Antagonismus zum PTH kommt es unter 1,25-(OH)₂D₃-Wirkung auch zu einer gesteigerten Rückresorption von Phosphat aus dem Harn. Die Bildungsrate des 1,25-(OH)₂D₃ ist bei Kühen, die an Gebärpause erkranken, gegenüber gesunden Kühen nicht herabgesetzt (Horst et al. 1977).

Mit zunehmendem Alter der Tiere sinkt aber die Zahl der $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ -Rezeptoren im Dünndarm. Um den Geburtszeitpunkt verringert sich die Zahl zusätzlich (Goff et al. 1989). Beide Prozesse führen zu einem erhöhten Erkrankungsrisiko für die Gebärparese der Milchkuh (Goff et al. 1991b). Bei Kühen, die nach erfolgreicher Therapie erneut zum Festliegen kommen, wird eine sowohl verlangsamte als auch verminderte $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ -Aktivierung als Ursache vermutet (Goff et al. 1989, 1991b). Da die PTH-Konzentrationen bei solchen Kühen nicht vermindert sind, scheint die Niere nicht auf PTH anzusprechen (Goff et al. 1995).

1.1.3.3. Prädisponierende Faktoren

1.1.3.3.1. Rasse

Aufgrund der höheren Milchleistung und dem daraus resultierenden höherem Kalziumbedarf haben reine Milchviehassen ein deutlich höheres Erkrankungsrisiko als Fleischrassen (Meyer und Dahms 1969). Zwischen den Milchrassen sind aber ebenfalls Unterschiede in der Erkrankungshäufigkeit festgestellt worden (Meyer und Dahms 1969, Horst et al. 1997). So erkranken Braunviehkühe deutlich seltener als Schwarzbunte oder Angler. Kein Rasseunterschied besteht nach Distl (1992) zwischen Braunvieh und Fleckvieh (FV). Goff et al. (1995) stellten fest, dass Jersey-Kühe weniger Rezeptoren für $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ im Darm aufweisen als Holstein-Friesian (HF), was die Entstehung der Gebärparese begünstigt. Nach den Ergebnissen von **Gelfert et al. (2005, 2006b)** wiesen Holstein-Friesian Kühe signifikant häufiger eine herabgesetzte Körperoberflächentemperatur ($p=0,01$) und eine herabgesetzte Körperinnentemperatur ($p=0,0035$) als Fleckviehkühe auf. Die festliegenden HF-Kühe hatten zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung signifikant niedrigere Kalzium- ($p=0,001$) und Phosphatkonzentrationen ($p=0,015$) im Serum. Kam eine HF-Kuh aufgrund eines Kalziummangels zum Festliegen, so waren im Gegensatz zu den FV-Kühen signifikant häufiger auch die Phosphatwerte im Blut erniedrigt ($p=0,006$). Ein Drittel der FV-Kühe (34,8 %) lag in dieser Studie nicht aufgrund eines Kalziummangels fest, dieser Anteil war deutlich höher als bei den HF-Kühen derselben Praxis und bei HF-Kühen aus anderen Regionen (**Gelfert et al. 2006b**). FV-Kühe, die aufgrund einer Hypokalzämie festliegen, wiesen öfter Anzeichen für eine Myopathie auf, und die CK-Werte lagen mit einer höheren Wahrscheinlichkeit $>1000\text{U/l}$ als bei HF-Kühen (**Gelfert et al. 2007a**). Keine Rasseunterschiede bestanden zwischen der Gesamtheilungsrate und der Anzahl der notwendigen Behandlungen (**Gelfert et al. 2006b**). Insgesamt ist der Einfluss der Rasse auf die Wahrscheinlichkeit, an einer Gebärparese zu erkranken, gegenüber anderen Faktoren wie das Alter und die Fütterung weiterhin als gering einzuschätzen.

1.1.3.3.2. Alter

Mit steigendem Alter nimmt die Anfälligkeit für die Erkrankung zu (Robertson et al. 1956, Curtis et al. 1984, Distl 1992). So steigt die Gebärparese-Inzidenz von 0,5 % bei Kühen, die zum zweiten Mal kalben, auf 20 % bei denen, die zum neunten Mal kalben. Bei den älteren Tieren kommt es zum Zeitpunkt der Kalbung zu einem stärkeren Abfall der Kalziumkonzentrationen im Blut als bei Erstlaktierenden. Dieser Abfall betrifft sowohl das Gesamtkalzium als auch die ionisierte Fraktion (Zepperitz 1990). Der Hauptgrund für die Altersabhängigkeit der Erkrankungshäufigkeit liegt in der mit zunehmendem Alter abnehmenden Fähigkeit der Kuh, schnell und ausreichend auf den erhöhten Kalziumbedarf zu reagieren. Es kommt sowohl zu einer Abnahme der Vitamin-D₃-Rezeptoren im Darm (Horst et al. 1990) als auch zu einer Abnahme des Anteils mobilisierbaren Kalziums im Knochen (Horst et al. 1994). Interessanterweise hat aber das Durchschnittsalter festliegender Kühe in den letzten Jahren kontinuierlich abgenommen. In den Untersuchungen von Meyer und Dahms (1969) waren über 50 % der Kühe älter als 11 Jahre. Stolla et al. (2000) ermittelten ein Durchschnittsalter von 6,4 Jahren. In einer Studie von Metzner und Klee (2005) lag der Erkrankungsschwerpunkt mit 26,5 % bei Kühen in der vierten Laktation, was den Daten von Stolla et al. (2000) entspricht. In der multizentrischen Studie von **Gelfert et al. (2005)** lag die Laktationsnummer der Mehrheit der festliegenden Kühe bei 3-5 Laktationen. Bei Färsen tritt die Erkrankung weiterhin sehr selten auf (**Gelfert et al. 2005, 2006b**). Der Prozentsatz festliegender Färsen zum Kalbezeitpunkt lag zwischen 0,5 % und 10,2 %. Bei diesen Tieren war nur in sehr wenigen Einzelfällen eine Hypokalzämie im Blut nachweisbar. In der Regel waren Muskelschäden, Ketosen oder andere Erkrankungen für das Festliegen der Färsen verantwortlich (**Gelfert et al. 2006b**). Somit kommt bei Färsen der Hypokalzämie als Ursache des Festliegens nach wie vor keine Bedeutung zu. Der Anteil an Kühen mit mehr als fünf Laktationen lag praxisabhängig nur noch zwischen 17,0 und 26,8 % und damit deutlich unter dem Wert von Meyer und Dahms (1969). Kühe, die ihr zweites Kalb bekamen, waren bis zu 10 % im Patientengut vertreten, dies ist weiterhin ein niedriger Wert, er weist aber auch eine deutliche Steigerung gegenüber den früheren Untersuchungen von Meyer und Dahms (1969) auf. Dieser Rückgang des Erkrankungsalters hat seine Ursache zum einen in der anhaltenden Steigerung der Milchleistung der Kühe (Zepperitz 1990, Fleischer et al. 2001) und zum anderen im Rückgang des Durchschnittsalters der Herden. Aufgrund der zunehmenden Milchleistung steigen die Einsatzleistung der Milchkühe und der damit verbundene höhere Kalziumbedarf der Kuh. Die Kuh muss entsprechend der höheren Einsatzleistung mehr Kalzium mobilisieren. Damit erhöht sich die Wahrscheinlichkeit für eine ungenügende Kompensation und eine klinische Hypokalzämie (Horst et al. 1997) bei Kühen, die erst die zweite oder dritte Laktation beginnen (**Gelfert et al. 2005**). Da auch in Zukunft eine Steigerung der

Milchleistung zu erwarten ist, wird das Risiko für eine Gebärparese bei jüngeren Kühen zunehmen.

1.1.3.3.3. Fütterung

Die Zusammensetzung der Ration für trockenstehende Kühe in den letzten drei Wochen vor dem Abkalben beeinflusst durch den Gehalt der Mengenelemente das Risiko für eine Gebärparese (Tucker et al. 1992, Goff und Horst 1997). An dieser Stelle werden der Einfluss der Elemente Kalzium, Magnesium und Phosphor dargestellt. Der Einfluss der Elemente Kalium, Natrium, Chlor und Schwefel wird dann ausführlich im Kapitel 1.2.1. (DCAD-Konzept) besprochen. Entsprechend ihres Mineralstoffgehalts beeinflussen die Futtermittel das Gebärparese-Risiko. So erhöhen alle kaliumreichen Futtermittel das Risiko (1.2.1) und kaliumärmere Futtermittel verringern es. Kalziumreiche Futtermittel beeinflussen die Regulation des Kalziumstoffwechsels hinsichtlich einer Gebärparese-Prophylaxe negativ, Das Wissen um die Wirkung der einzelnen Mengenelemente beeinflusst also die Auswahl der Futtermittel. Dabei darf natürlich nicht vergessen werden, dass die Energie- und Eiweißversorgung und der Rohfasergehalt ebenfalls wichtige Kennwerte der Ration sind, die einzuhalten sind.

1.1.3.3.3.1. Kalzium, Phosphor, Magnesium

Liegt der Kalziumgehalt deutlich über dem Erhaltungsbedarf (31 g), so kommt es zu einer Hemmung der aktiven Kalziumresorption im Darm (Boda und Cole 1956, Allen und Davies 1981). Metaanalysen ergaben darüber hinaus, dass das Risiko der Gebärparese sich non-linear zum Kalziumgehalt verhält. Nach einer Analyse von Oetzel (1991) steigt das Risiko bis zu einer Konzentration von 11,6 g/kg Trockensubstanz (TS) an und fällt dann wieder ab. Eine deutliche Reduzierung der Erkrankungshäufigkeit ergab sich aber erst bei extrem niedrigen oder extrem hohen Kalziumgehalten. Neueste Metaanalysen von Lean et al. (2006) bestätigen die Befunde von Oetzel (1991). Nach den Ergebnissen von Lean et al. (2006) sollte der Kalziumgehalt entweder unter 5 g/kg TS oder über 15 g/kg TS liegen. Der Abfall des Erkrankungsrisikos bei sehr hohen Kalziumgehalten hängt mit der erhöhten passiven Kalziumabsorption im Darm und Pansen zusammen, die schlicht einem Konzentrationsgefälle folgt (Hartmann und Bandt 2000, Hartmann et al. 2001, Leonhard-Marek et al. 2007). Um die Regulation des Kalziumstoffwechsel allein aufgrund des zu niedrigen Gehalts an Kalzium in der Ration anzuregen, muss der Kalziumgehalt deutlich unter dem Erhaltungsbedarf (31 g) liegen. Green et al. (1981) zeigten in ihrer Studie, dass erst bei einem Gesamtkalziumgehalt von 20g signifikant höhere PTH-Konzentrationen zu messen waren. Allen und Davies (1981) weisen allerdings darauf hin, dass es sehr schwierig

1.1 Die Gebärparese des Rindes

und kostenaufwendig ist, unter Feldbedingungen eine solche kalziumarme Ration herzustellen.

Der Phosphatgehalt der Vorbereiterration sollte bei 4 g/kg TS liegen. Nach neueren Untersuchungen (Peterson et al. 2005) haben niedrigere Phosphatgehalte keinen negativen Einfluss auf die Futteraufnahme und die Inzidenz einer peripartalen Hypokalzämie. Nach den Ergebnissen der Studie kann der Phosphatgehalt auf 2,1 g/kg TS gesenkt werden. Ein deutlich erhöhter Phosphatgehalt (>80 g) in der Ration erhöht dagegen das Risiko einer postpartalen Hypokalzämie (Goff et al. 1987, Goff et al. 1991b), da aufgrund der gesteigerten Phosphorabsorption die Vitamin-D₃-Aktivierung in der Niere gehemmt wird (Horst 1986, Goff et al. 1991b).

Ein erhöhter Magnesiumgehalt in der Ration hat nach Aussage von Wang und Beede (1992) keinen Einfluss auf den Kalziumstoffwechsel. Andere Autoren weisen auf die Notwendigkeit einer ausreichenden Versorgung der Transitzühe mit diesem Element hin. Nach ihren Untersuchungen ist Magnesium ein entscheidender Faktor für die Wirkung von PTH. Ein zu niedriger Magnesiumgehalt im Futter führt trotz einer Aktivierung des PTH zu einer verminderten Aktivierungsantwort der Kuh und damit zu einer länger andauernden Hypokalzämie (Contreras et al. 1982, Beardsworth et al. 1987, Reinhardt et al. 1988, Ram et al. 1998). PTH kann zwar am Rezeptor der Zielzelle binden, doch kann die Aktivierung von cAMP in der Zelle nicht erfolgen, da der Adenylat-Cyclase-Komplex im Rezeptor selber magnesiumabhängig ist (Goff 2008).

1.1.4. Gebärparesetypen (GP)

Die Einführung der Mengenelementbestimmungen und die Beobachtung, dass das klinische Bild festliegender Kühe sich gewandelt hat, führte zu einer Einteilung der Gebärparese in unterschiedliche Typen (Tabelle 1) gemäß den Serumkonzentrationen von Kalzium, Phosphat und Magnesium (Hofmann und El Amrousi 1970, Bostedt 1973a,b, Bostedt et al. 1979).

Tabelle 1: Literaturübersicht zur Einteilung der Gebärparese-Typen anhand der Kalzium-, Phosphat- und Magnesiumkonzentrationen

Gebärparese-Typ	Ca	P	Mg	Literaturquelle			
				Bostedt et al. 1979	Hofmann und El Amrousi 1970	Stolla et al. 2000	Abele und Wolf 2000
				Häufigkeiten in %			
Typ I	↓	↓	→	52,6	49,4	64,4	48,0
Typ II	↓	→	→	12,1	4,9	1,0	21,0
Typ III	→	↓	→	13,7	21,0	28,7	26,0
Typ IV	→	→	↓	14,9	- ¹	- ¹	- ¹
Typ V	→	→	→	6,7	24,7	5,9	5,0

↓: erniedrigt; →: im Normalbereich; ¹: Magnesiumkonzentrationen wurden nicht berücksichtigt.

Je nachdem ob die Magnesiumkonzentrationen bei der Einteilung der GP Berücksichtigung fanden, werden je nach Untersucher vier oder fünf Formen der GP unterschieden. Ähnliche Untersuchungen wurden in den darauffolgenden Jahren immer wieder durchgeführt, um die Häufigkeiten der Ursachen des Festliegens von Milchkühen im peripartalen Zeitraum zu erforschen (Stolla et al. 2000, Metzner und Klee 2005, Gelfert et al. 2004a). Dabei kam es teils regional bedingt, teils aufgrund des unterschiedlichen Tiermaterials und teils aufgrund der ausgewählten Referenzbereiche zu unterschiedlichen Häufigkeiten der in dieser Zeit diskutierten verschiedenen GP (Tabelle 1). Der Anteil an Kühen, die nur einen verminderten Kalziumgehalt aufwiesen (GP-Typ II), lag in den verschiedenen Untersuchungen zwischen 1 % und 21 %. Bei der Mehrheit der festliegenden Tiere lag in allen Studien ein kombinierter Kalzium- und Phosphatmangel im Blut vor (Typ I). Die Studie von Bostedt et al. (1979) beruht auf 334 Serumproben von festliegenden Kühen aus Praxen im süddeutschen Raum. Angaben zum Zeitraum, in dem die Proben gesammelt wurden, fehlen. Stolla et al. (2000) werteten retrospektiv die Daten der Ambulatorischen Tierklinik der Universität München über einen Zeitraum von sechs Jahren aus (595 Fälle), Siegwart und Niederer (2005) über zwei Jahre (121 Fälle). Abele und Wolf (2000) beziehen sich in ihren Untersuchungen auf Ergebnisse von 80 Blutproben, die in zwei Jahren an einen Tiergesundheitsdienst geschickt wurden. Die Unterschiedlichkeit des Tiermaterials schränkt die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ein. So ist im Falle der Blutproben von Abele und Wolf (2000) von einer Bias der Stichprobe auszugehen, da in der Regel nur von unklaren Erkrankungsfällen Proben an ein Labor eingesandt werden. Die Unterschiede in den Häufigkeiten der verschiedenen Gebärparese-Typen beruhen daher auch auf der Verschiedenheit der Zusammensetzung der Stichprobe in den zitierten Untersuchungen.

In den aktuellen Untersuchungen in vier Praxisgebieten in Westdeutschland (**Gelfert et al. 2005, 2006b**) wurde eine prospektive und einheitliche Vorgehensweise gewählt. Alle Kühe, die im jeweiligen Praxisgebiet im Zeitraum eines Jahres als „Festliegend im peripartalen Zeitraum“ vorgestellt wurden, fanden Eingang in die jeweilige Untersuchungsgruppe. Vor jeder Therapie wurde eine Serumblutprobe genommen und die Konzentrationen von Kalzium, Phosphat und Magnesium und weiterer Parameter (s. Tabelle 2) bestimmt.

Im regionalen Vergleich konnte über alle vier Praxen hinweg bei den meisten festliegenden Kühen ein Kalziummangel festgestellt (GP-Typen I, II) und damit die Untersuchungen von Gelfert et al. (2004a) bestätigt werden. Je nach Praxis und Rasse schwankte der Anteil festliegender Kühe mit einer nachgewiesenen Hypokalzämie zwischen 65 % und 85 %. Auffällig war dabei der in Praxis A signifikant niedrigere Anteil an festliegenden Fleckviehkühen mit einer Hypokalzämie gegenüber festliegenden HF-Kühen mit Kalziummangel (Tabelle 3).

1.1 Die Gebärparese des Rindes

Tabelle 2: Enzyme und Stoffwechselmetaboliten des Laborprofils festliegender Milchkühe (^aRossow et al. 1989; ^bKraft und Dürr, 2005; ^cSitzenstock 2003)

Mengenelemente	Normalbereich	peripartaler Zeitraum
Kalzium	2,3-3,0 mmol/l	>2,00 mmol/l
Phosphat	1,6-2,3 mmol/l	> 1,25 mmol/l
Magnesium	0,8-1,3 mmol/l	0,8-1,3 mmol/l
Enzyme		
AST	< 50 U/l ^a	< 50 U/l ^a
CK	< 150 U/l ^u	< 300 U/l ^c
GLDH	< 25 U/l ^u	< 25 U/l ^u
Stoffwechselmetaboliten		
Bilirubin	< 6,8 µmol/l ^a	< 6,8 µmol/l ^a
β-Hydroxybuttersäure	< 1000 µmol/l ^a	< 1000 µmol/l ^a
Harnstoff	3,3—5,0 mmol/l ^u	3,3—5,0 mmol/l ^u

Wie in den früheren Studien waren nur sehr wenige Kühe an einer alleinigen Hypokalzämie erkrankt. Die überwiegende Mehrheit wies mit dem verminderten Kalziumgehalt auch eine Hypophosphatämie auf (**Gelfert et al. 2005**). Welchen Einfluss der Kalzium- und Phosphatgehalt auf die Prognose der festliegenden Kuh hat wird unter 1.1.9. diskutiert. Unter Berücksichtigung der Definition der Gebärparese (1.1.1.1.) muss festgehalten werden, dass die Unterteilung in vier bis fünf GP-Typen der Definition widerspricht und daher nicht mehr benutzt werden sollte. Die Gebärparese wird durch eine Hypokalzämie verursacht, die häufig mit einer Hypophosphatämie verbunden ist. Bei anderen in der Literatur diskutierten GP-Typen (III bis V) handelt es sich nicht um Formen der Gebärparese, sondern um andere eigenständige Erkrankungen, die zum Festliegen der Kuh führen.

Tabelle 3: Vorkommen der Gebärparese und der wichtigsten Differentialdiagnosen in den vier Praxisgebieten (**Gelfert et al. 2005**)

Gebärparese-Typ	A in %	B	C	D
Hypokalzämie (mit/ohne Hypophosphatämie)	FV: 56,2 ^a	80,0	84,0	75,7
	HF: 79,1 ^b			
Magnesiummangel	FV: 5,1	3,5	2,8	3,5
	HF: 1,5			
Hypophosphatämie ^c	FV: 19,5	2,0	6,1	8,6
	HF: 10,4			
kein Mengenelementmangel ^c	FV: 10,2	14,5	7,2	12,1
	HF: 9,0			

^{a,b}: Anteile zwischen den Rassen unterscheiden sich ($p < 0,05$) ^c: die GP-Typen III, IV und V sind nach der Definition der Gebärparese keine GP-Typen, da bei ihnen keine Hypokalzämie vorliegt. Daher wird in der Tabelle von der Verwendung dieser Begriffe abgesehen.

1.1.5. **Klinisches Bild der Gebärparese**

Das erste Stadium der Gebärparese dauert 1 bis 6 Stunden. Das früheste Krankheitszeichen ist ein Rückgang der Futteraufnahme (Blum u. Fischer 1974, Radostits et al. 2000). Die Kühe sind unruhig und nervös und zeigen im Stand ein unsicheres Trippeln (Allen und Davies 1981) bzw. ständiges Hin- und Hertreten (Martig 2002). Die Körperhaltung ist leicht verkrampft, die Hintergliedmaßen sind steil gestellt. Die erhöhte Muskelaktivität führt zu einer geringgradigen Hyperthermie (Radostits et al. 2000). Dieser Phase der Hyperästhesie folgt ein Zustand der allgemeinen Schwäche und Trägheit (Martig 2002). Das Gangbild der Kühe ist insgesamt unkoordiniert, die Kühe bewegen sich steif und schwankend und weisen darüber hinaus eine allgemeine Bewegungsunlust auf. Weitere abnorme Gliedmaßenstellungen sind eine mäßige Abduktion der Hinterhand und ein Überköten in den Fesselgelenken mit einer deutlichen Beugung der Sprunggelenke. Trotz der Nachhandschwäche versuchen die Tiere stehen zu bleiben (Martig 2002). Die Vormagentätigkeit ist herabgesetzt (Radostits et al. 2000), Kot- und Harnabsatz sistieren (Allen u. Davies 1981). Aufgrund der kurzen Zeitdauer dieses Stadiums wird es häufig übersehen. Die zunehmende Kenntnis der Ätiologie auch seitens der Landwirte führte in jüngster Zeit dazu, dass der Anteil an Patienten im ersten Stadium der Gebärparese angestiegen ist (**Gelfert et al. 2005**). So war in der multizentrischen Studie in zwei der vier Praxen bei einem Fünftel der Kühe das Stehvermögen zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung noch erhalten. Die Kühe hatten aber nachweislich eine Hypokalzämie (1.1.6.2. und Tabelle 5). Das Kardinalsymptom des zweiten Stadiums der Erkrankung ist das Festliegen der Kuh in Brust-Bauch-Lage (Allen und Davies 1981, Radostits et al. 2000). Der Kopf ist in der Regel seitwärts eingeschlagen. Das Sensorium der Kühe ist in Abhängigkeit vom Erkrankungsgrad ungestört oder gestört (**Gelfert et al. 2005**). Die Extremitäten oder die gesamte Körperoberfläche fühlen sich zumeist kühl an (Radostits et al. 2000). Die Rektumsampulle ist mit einem trockenen Kot gefüllt (Radostits et al. 2000). Der Blutdruck sinkt, der Herzschlag ist schwach und frequent. Das zweite Stadium dauert 2-12 Stunden (Oetzel 1988). Kühe mit klinischer Hypokalzämie werden am häufigsten in diesem Stadium angetroffen (**Gelfert et al. 2005**). In drei der vier Praxisgebiete lagen zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung nahezu drei Viertel der Kühe in Brust-Bauch-Lage fest und zeigten keine Beeinträchtigung des Sensoriums.

Im dritten Stadium liegen die Kühe in Seitenlage fest (Allen und Davies 1981), der Kopf ist opisthotonisch zurückgeschlagen. Das Bewusstsein ist zunehmend getrübt, es treten komatöse Zustände auf (Radostits et al. 2000). Durch den Blutdruckabfall wird die Peripherie weniger durchblutet, das Resultat ist eine verminderte Körperoberflächentemperatur (Oetzel 1988). Auch die innere Körpertemperatur ist herabgesetzt. Ohne Behandlung führt dieses Stadium der Erkrankung nach wenigen Stunden zum Tod (Oetzel 1988, Horst et al. 1997).

1.1 Die Gebärparese des Rindes

Dieses Stadium war in einer der Praxen die häufigste Form (**Gelfert et al. 2005**). Anhand dieser Ergebnisse wird deutlich, dass das Management und Wissen des Landwirts einen zunehmenden und signifikanten Einfluss auf die Häufigkeit haben, mit der Kühe im ersten Stadium der Gebärparese erkannt werden.

Tabelle 4: Häufigkeit klinischer Symptome festliegender Kühe in den vier Praxisgebieten A bis D (**Gelfert et al. 2005**)

Lage der Kuh	A	B	C	D
	in %			
Stehvermögen				
erhalten	FV: 2,5 ^a HF: 20,9 ^b	13,0	19,7	0
nicht erhalten	FV: 97,5 ^a HF: 79,1 ^b	87,0	80,3	100
Lage der festliegenden Kuh				
Brustlage	70,2	44,8	61,6	81,2
Seitenlage	29,8	54,0	13,6	17,6
anderes	0	1,2	5,1	1,2
Sensorium				
erhalten	82,7	12,0	84,8	79,0
getrübt	17,3	62,5 ggr. getrübt 25,0 hgr. getrübt	15,2	21,0
IKT				
< 38,0°C	FV: 7,6 HF: 19,4	40,0	7,9	15,4
38,0 ≤ x ≤ 39,0	FV: 76,6 HF: 59,7	59,0	80,3	73,4
> 39,0°C	FV: 17,8 HF: 20,9	1,0	11,8	11,2
Körperoberflächen-Temperatur				
normal	FV: 59,3 HF: 34,3	n.u. ¹	30,9	29,0
herabgesetzt	FV: 40,7 HF: 65,7	n.u.	69,1	71,0

^{a,b}: Die Unterschiede in den Häufigkeiten zwischen den beiden Rinderrassen sind signifikant ($p < 0,05$), ¹: n.u. nicht untersucht

1.1.6 Diagnostik der Gebärparese

1.1.6.1 Diagnostik mittels klinischer Untersuchung und Laborprofilen

Die klinische Untersuchung der festliegenden Kuh folgt wie bei jeder anderen Erkrankung nach der Anamnese und steht vor jeglicher Therapie. Laboruntersuchungen bestätigen die klinische Diagnose bzw. schließen möglich Differentialdiagnosen aus. Um die wichtigsten, durch Laboruntersuchungen erfassbaren Differentialdiagnosen einzuschließen, empfiehlt sich das in Tabelle 2 aufgeführte Laborprofil. Dabei ist bei Kalzium, Phosphat und der Creatinkinase (CK) zu beachten, dass im peripartalen Zeitraum andere Grenzwerte gelten als bei laktierenden Kühen. Da eine sehr gute Korrelation zwischen dem Gesamtkalziumgehalt und der Konzentration der ionisierten Kalziumfraktion besteht (Blum et al. 1972), genügt die Bestimmung des Gesamtkalziumgehalts. Die Bestimmung der Ca^{2+} ist zudem aufwendiger. Im Folgenden werden die wichtigsten klinischen Symptome der Gebärparese und das Verhalten der Laborparameter besprochen.

Ergänzend sei erwähnt, dass mit Hilfe semiquantitativer Schnelltests der Kalziumgehalt einer festliegenden Kuh schnell und vor Ort ermittelt werden kann. Dabei kann nur ermittelt werden, ob der Kalziumgehalt im Blut über oder unter einem vom System vorgegebenen Wert liegt. Für ein umfassendes Serumprofil wie in Tabelle 2 angegeben ist man aber auf die Untersuchung im Labor angewiesen.

1.1.6.1.1. Lage der Kuh

Wie unter 1.1.5. beschrieben, ändert sich die Lage der Kuh mit dem Fortdauern der Erkrankung. In den aktuellen Untersuchungen lagen die Kühe mit Gebärparese entweder in Brust-Bauch- oder in Seitenlage fest (Tabelle 4). Andere Stellungen kamen nur zu einem sehr geringen Prozentsatz vor (**Gelfert et al. 2005**). In zwei der vier Praxen war bei einem Fünftel der Kühe das Stehvermögen zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung noch erhalten. Mit der Lage der Kuh korrelierten die Häufigkeiten anderer klinischer Symptome (**Gelfert et al. 2005**). So wiesen Kühe, die ihr Stehvermögen noch erhalten haben, in der Regel auch ein ungestörtes Sensorium auf, und Tiere, die in Seitenlage vorgefunden wurden, hatten ein getrübttes Sensorium. Mit der Verschlechterung der Lageposition verringerten sich die Kalzium- und Phosphatwerte (**Gelfert et al. 2005**). Bei den Kühen in Brust-Bauch-Lage waren sowohl die Kalzium- als auch Phosphatkonzentrationen im Serum deutlich erniedrigt, bei den Kühen in Seitenlage waren beide Mineralstoffkonzentrationen noch weiter abgesunken (Tabelle 5). In welcher Position der behandelnde Tierarzt eine Kuh mit klinischer Hypokalzämie bei der Erstuntersuchung vorfindet, hängt vor allem davon ab, wie schnell der Landwirt die an Gebärparese erkrankte Kuh erkennt. Ein gutes Management und Wissen des Landwirts haben einen zunehmenden und signifikanten Einfluss auf die Häufigkeit, mit der Kühe im ersten Stadium der Gebärparese erkannt werden.

1.1.6.1.2. Getrübttes Sensorium

Neben dem Festliegen an sich galt ein getrübttes Sensorium als sicheres, diagnostisches Kriterium für ein hypokalzämisches Festliegen (Hofmann und El Amrousi 1971). Doch schon in den fünfziger Jahren gab es Berichte darüber, dass dieses Symptom weniger häufig bei festliegenden Kühen erkennbar war (Hallgren 1955, Robertson et al. 1956). Jüngere Beobachtungen aus der Praxis bestätigen, dass dieses Symptom sowohl in seiner Ausprägung abnimmt als auch weniger häufig auftritt (Stolla et al. 2000, Gelfert et al. 2004a). In der multizentrischen Studie von **Gelfert et al. (2005)** ist auffallend, dass in einer Praxis der Anteil der Kühe mit einem mindestens geringgradig gestörten Sensorium 88 % betrug und damit deutlich höher als in den anderen drei Praxen war (Tabelle 4). Dieser Wert ist vergleichbar mit dem aus früheren Untersuchungen in Niedersachsen, in denen auch 80 % der Tiere mindestens ein geringgradig gestörtes Sensorium aufwiesen (Malz und Meyer

1992) und steht im Widerspruch zu einer anderen aktuelleren Studie aus Norddeutschland, in der nur 19 % der festliegenden Tiere ein gestörtes Sensorium aufwiesen (Gelfert et al. 2004a). Inwieweit der Faktor Mensch als Beurteiler des Sensoriums für die Unterschiede verantwortlich ist, lässt sich anhand der durchgeführten Untersuchungen nicht sagen, da immer nur ein Untersucher die Befunde erhoben hat. Trotz einer intensiven Einweisung der an der Studie Beteiligten kann ein solcher Einfluss *a priori* nicht ausgeschlossen werden.

Ein gestörtes Sensorium tritt in der Regel bei in Seitenlage festliegenden Kühen auf, es kann aber auch schon im zweiten klinischen Stadium sichtbar werden, wenn die Kühe noch in Brust-Bauch-Lage festliegen (**Gelfert et al. 2005**). Die Häufigkeit, mit der dieses klinische Symptom festgestellt wird, hängt somit auch davon ab, wie schnell der Landwirt die hypokalzämische Kuh als solche erkennt. Festliegende Kühe mit einem gestörtem Sensorium weisen signifikant niedrigere Kalzium- ($p < 0,002$) und Phosphatwerte auf ($p < 0,032$) (Zepperitz 1990, Gelfert et al. 2004a, **Gelfert et al. 2005**) als solche mit ungetrübtem Sensorium (Tabelle 5). Diese Entwicklung der Kalzium- und Phosphorkonzentrationen war ebenso als Trend in den Untersuchungen von Fenwick (1988) festzustellen.

1.1.6.1.3. Innere Körpertemperatur

Nach den aktuellen Untersuchungen (Tabelle 4) schwankt der Anteil an Kühen mit Hypothermie zwischen 7,6 und 40 % (**Gelfert et al. 2005**). Der hohe Anteil an Kühen mit Hypothermie der Praxis B korreliert mit dem erhöhten Vorkommen an Tieren mit gestörtem Sensorium. Mit der Temperatur sinkt der Kalziumgehalt signifikant (Tabelle 5). Dies steht im Widerspruch zu den Ergebnissen von Larsson et al. (1983), nach denen der Grad der Hypokalzämie nicht mit der inneren Körpertemperatur korreliert.

1.1.6.1.4. Oberflächentemperatur

In den aktuellen Untersuchungen (**Gelfert et al. 2005**) war neben der Lage der untersuchten Kuh dies das Merkmal, welches am häufigsten bei den festliegenden HF-Kühen über alle Praxen festgestellt wurde. Nahezu zwei Drittel der Tiere wiesen eine kühle Körperoberfläche auf. Kühe mit kühler Körperoberfläche hatten signifikant niedrigere Kalzium- und Phosphatkonzentrationen im Serum (Tabelle 5).

1.1.6.2. Laboruntersuchungen festliegender Kühe

In der multizentrischen Studie von **Gelfert et al. (2005, 2006b)** wurde gezeigt, dass 80 % der HF-Kühe und 65 % der FV-Kühe aufgrund eines nachgewiesenen Kalziummangels festlagen. Von diesen Tieren wiesen bei 41,5 bis 67,8 % die Laborergebnisse auf weitere Erkrankungen hin. Zusätzliche Muskeltraumen wurden in 31,8-42,9 % der Fälle nachgewiesen, Ketosen oder Hepatosen bei 7,6-19,7 % der Patienten. Bei 1,9-14,5 % der Tiere

waren alle drei Erkrankungen nachweisbar. Nur in wenigen Fällen (2- 6 %) konnte anhand der klinischen und der Laboruntersuchung keine Diagnose gestellt werden (**Gelfert et al. 2006b**). Bei diesen Kühen waren die Ursache des Festliegens Erkrankungen wie Nervenlähmungen, Knochenschäden oder schwere Mastitiden, die durch Laboruntersuchungen nicht zuverlässig zu erfassen sind.

Tabelle 5: Kalzium- und Phosphatkonzentrationen im Serum festliegender Kühe aus den vier Praxisgebieten A bis D in Abhängigkeit ausgewählter klinischer Symptome (**Gelfert et al. 2005**)

	A		B		C		D	
	Ca (mmol/l)	P (mmol/l)	Ca (mmol/l)	P (mmol/l)	Ca (mmol/l)	P (mmol/l)	Ca (mmol/l)	P (mmol/l)
gesamt	1,59	0,73	1,33	1,14	1,42	0,91	1,47	0,82
Lage								
Kuh steht	1,49	0,77	2,15 ^a	1,87 ^a	1,60 ^a	1,30 ^a	-	-
Brust-Bauch-Lage	1,66	0,90	1,48 ^u	1,29 ^u	1,37 ^u	0,79 ^u	1,50	0,81
Seitenlage	1,54	0,80	0,60 ^c	0,81 ^c	1,02 ^c	0,96 ^{ad}	1,59	0,96
Sensorium								
ungetrübt	1,69 ^a	0,91 ^a	1,90 ^a	1,71 ^a	1,45 ^a	0,89	1,50	0,81
ggr. getrübt ¹	1,25 ^d	0,64 ^d	1,36 ^d	1,15 ^d	1,03 ^d	0,83	1,38	0,85
hgr. getrübt			0,89 ^c	0,78 ^c				
Oberfläche								
normal	1,74 ^a	0,98 ^a	n.u.	n.u.	1,58 ^a	1,02	1,54	0,92
temperiert								
kühl	1,49 ^d	0,75 ^d	n.u.	n.u.	1,36 ^d	0,87	1,45	0,77
IKT								
erniedrigt	1,43	0,94	0,89 ^a	0,73 ^a	1,10 ^a	0,63 ^a	1,33	0,77 ^a
normal	1,59	0,80	1,58 ^u	1,36 ^u	1,40 ^a	0,89 ^a	1,47	0,77 ^a
erhöht	1,79	1,07	2,33 ^c	2,95 ^c	1,67 ^d	1,11 ^d	1,65	1,13 ^d

n.u.: nicht untersucht, ¹: nur in Praxis B fand eine Unterscheidung in gering- und hochgradig gestörtes Sensorium statt, ^{a,b,c}: die Werte in einer Spalte unterscheiden sich zwischen den Untergruppen eines Merkmals (p < 0,05)

1.1.7. Differentialdiagnosen

1.1.7.1. Hypophosphatämie

Die Beobachtung, dass festliegende Kühe immer weniger häufig die klassische Symptomatik aufwiesen, führte zu weitergehenden Blutuntersuchungen und zur Etablierung der atypischen Gebärparese aufgrund eines Phosphatmangels (Hofmann und El Amrousi 1970, Baumgartner und Gattinger 1982). Der Anteil solcher Kühe schwankte in den Untersuchungen zwischen 13,7 % und 28,7 % (Tabelle 1). Die aktuellen Untersuchungen in vier Praxisgebieten in Westdeutschland ergaben, dass eine alleinige Hypophosphatämie (Tabelle 3) nur in einem geringen Maße bei festliegenden Kühen im peripartalen Zeitraum zu finden ist (**Gelfert et al. 2005**). Nur bei den FV-Kühen der Praxis A wurde häufiger eine alleinige Hypophosphatämie festgestellt.

Ein entscheidender Grund für die unterschiedlichen Häufigkeiten von Kühen mit Hypophosphatämie liegt in der Wahl der Grenzwerte. In früheren Studien (Abele und Wolf 2000, Stolla et al. 2000) lagen die Grenzwerte für Phosphat (1,50 mmol/l) über und die für Kalzium (1,70 mmol/l) unter denen der Studie von **Gelfert et al. (2005)**. Damit verringerte sich der Quadrant der Punktwolke, in welchem sich die Tiere mit einem alleinigen

Phosphatmangel befinden. Die Übertragung der Grenzwerte von Abele und Wolf (2000) und Stolla et al. (2000) auf die Ergebnisse der Untersuchungen von **Gelfert et al. (2005)** würde aber nur in der süddeutschen Praxis (A) zu einem deutlich höheren Anteil an Kühen mit einer alleinigen Hypophosphatämie (27,6 %) führen, welcher dann ähnlich den Ergebnissen der beiden oben erwähnten Untersuchungen wäre, welche ebenfalls in Süddeutschland und überwiegend an FV-Kühen stattfanden. Anhand dieser Rechenbeispiele ist zu erkennen, dass durch die Wahl der Grenzwerte der Anteil an Tieren mit einem separaten Phosphatmangel deutlich zu beeinflussen ist. Alle verwendeten Grenzwerte sind durch Angaben aus Lehrbüchern belegbar (Dirksen 1990, Kraft und Dürr 2005). Allein durch die Absenkung des Phosphatgrenzwertes auf 1,25 mmol/l sank somit der Anteil an Tieren mit alleiniger Hypophosphatämie deutlich. Damit ist aber die Frage der Ursache einer Hypophosphatämie natürlich nicht gelöst.

Bei den Kühen mit einem alleinigen Phosphatmangel konnte anhand der Laborergebnisse bei über 60 % der Tiere das Vorliegen weiterer Erkrankungen nachgewiesen werden, Myopathien stellten hierbei die häufigste Begleiterkrankung dar (**Gelfert et al. 2006b**), gefolgt von Ketosen und Leberschädigungen. Eine mögliche Beziehung des Phosphats zur neuromuskulären Dysfunktion ist derzeit nicht bekannt bzw. wird nur diskutiert (Dirksen 2002). Der Phosphatspiegel muss sehr stark abfallen ($<0,67$ mmol/l), um eine hormonelle Gegenregulierung zu erreichen (Goff 1999). Bei Fleischrindern können aufgrund einer chronischen Mangelversorgung mit Phosphat Serumwerte zwischen 0,6-1,1 mmol/l gefunden werden, ohne dass die Tiere festliegen (Goff 1999). Milchkühen wurde über einen Zeitraum von 2 Jahren nur zwei Drittel des Phosphatbedarfs gefüttert. Keines der Tiere kam zum Festliegen oder zeigte Störungen im Muskelstoffwechsel (Valk et al. 1999). In einem anderen Fütterungsversuch mit extrem phosphorarmen Rationen war es auch nicht möglich, Festliegen bei Kühen auszulösen (Rodehutschord et al. 1994). Bei den Tieren fanden sich aber extrem niedrige Phosphatwerte im Serum. Hypophosphatämien finden sich zudem häufig bei Kühen mit unterschiedlichen Primärerkrankungen wie Ketose, Labmagenverlagerung oder Klauenerkrankungen, ohne dass diese Tiere festliegen (Grünberg et al. 2005). Wenn ein Abfall des Phosphatspiegels im Blut nicht automatisch zum Festliegen der Kuh führt, sind die in der Studie von **Gelfert et al. (2005, 2006b)** gefundenen Hypophosphatämien als Begleiterkrankung einzustufen. Die Hypophosphatämie entsteht aufgrund der durch den Kalziummangel erhöhten PTH-Aktivität. Es kommt zu einer gesteigerten Speichelsekretion und erhöhten Phosphatexkretion über die Niere. Durch den vermehrten Speichelfluss steigt der Phosphatgehalt im Pansen, welcher wegen des Kalziummangels und der damit verbundenen verminderten Motilität des Verdauungstraktes nicht dem Organismus zur Verfügung steht. Unterstrichen wird dies durch die Tatsache, dass die Phosphatkonzentrationen auch bei Kühen mit erhaltenem Stehvermögen deutlich

abgesunken waren (Tabelle 5) (**Gelfert et al. 2005**). Bei den Kühen, die nur eine Hypophosphatämie aufwiesen, wurden in der Regel andere Erkrankungen (Muskelschäden, schwere Ketosen und Leberschäden) nachgewiesen, welche die eigentliche ätiologische Ursache des Festliegens darstellten (**Gelfert et al. 2006b**). So lag in der Praxis A bei den FV-Kühen mit alleiniger Hypophosphatämie die Aspartat-Aminotransferase (ASAT) signifikant höher als bei anderen festliegenden Kühen mit einer Hypokalzämie. Nach diesen Ergebnissen (**Gelfert et al. 2005, 2006b**) und denen aus der Literatur (Rodehutsord et al. 1994, Valk et al. 1999) ist die Hypophosphatämie als ätiologische Ursache des Festliegens abzulehnen. Die peripartale Hypophosphatämie stellt sich sekundär ein, da aufgrund des Primärleidens die Regulation des Phosphorstoffwechsels nicht mehr optimal abläuft.

1.1.7.2. Muskeltraumen

Anhand von Daten aus fünf Praxen in Westdeutschland wurde die Prävalenz und der Einfluss von Muskelschäden auf den Therapieerfolg von festliegenden Kühen im peripartalen Zeitraum überprüft (**Gelfert et al. 2007a**). Die Blutproben waren bei der Erstuntersuchung vor jeglicher Therapie entnommen worden. Bei Erstlaktierenden waren Muskelerkrankungen die Hauptursache des Festliegens und Hypokalzämien kaum nachzuweisen. Bei allen anderen Altersklassen stellten Muskelschäden in allen Praxisgebieten die häufigste Differentialdiagnose (6-15 %) und die häufigste Begleiterkrankung (25,8-65,6 %) in vier der fünf Praxisgebiete dar. Im fünften Praxisgebiet steht die Ketose an zweiter Stelle der Erkrankungen nach der Hypokalzämie und ist auf die sehr schlechte Energieversorgung in vielen Herden im Untersuchungszeitraum zurückzuführen.

Die FV-Kühe in Praxis A lagen signifikant häufiger wegen eines alleinigen Muskelschadens fest als die HF-Kühe derselben Praxis und aus den anderen Regionen (**Gelfert et al. 2007a**). In allen Fällen lagen die nachgewiesenen Enzymaktivitäten der CK innerhalb der ersten 6 Stunden nach Erkrankungsbeginn deutlich über dem gewählten Grenzwert von 300U/l, um auszuschließen, dass die gefundenen Werte allein durch das Liegen zustande gekommen sind (Cox et al. 1982). Auch andere Ursachen wie Schweregeburten (Sitzenstock 2003) und Herzmuskelerkrankungen (Frahm et al. 1977) konnten sowohl aufgrund der fehlenden klinischen Symptome als auch durch den gewählten Grenzwert ausgeschlossen werden. Die Muskelschäden hatten einen signifikanten aber auch praxisabhängigen Einfluss auf den Therapieerfolg, wenn die CK-Aktivitäten im Serum über 1000 U/l lagen (Tabelle 6). So konnten in Praxis B noch 80 % der Kühe mit deutlich erhöhten CK-Werten geheilt werden, in Praxis C waren es nur 57 % (**Gelfert et al. 2007a**). Mittels der Receiver-Operating-Characteristic wurden Grenzwerte für ASAT und CK berechnet, um die prognostische Aussagekraft erhöhter Aktivitäten der beiden Enzyme zu testen. Bisherige Studien, welche die Enzymaktivitäten als prognostischen Faktor untersucht hatten, waren retrospektiv und die

Studiengruppen wiesen eine große Spannweite hinsichtlich der Dauer des Festliegens (Clark et al. 1987), der ätiologischen Ursache (Shpigel et al. 2003) und des Laktationsstadiums (Clark et al. 1987, Shpigel et al. 2003) auf. Die positiven Vorhersagewerte auf einen Misserfolg der Therapie bei Überschreiten des berechneten Schwellenwerts waren nur sehr gering und damit für die praktische Arbeit nicht verwertbar (Tabelle 7). Dies lag zum einen an der sehr hohen Gesamtheilungsrate in den beteiligten Praxen und zum anderen daran, dass gerade die Kühe mit den jeweils höchsten CK- oder ASAT-Aktivitäten im Serum geheilt werden konnten. Anhand dieser Ergebnisse lässt sich sicher belegen, dass die Laborwerte der CK und ASAT zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung festliegender Kühe nur Hinweise auf das Vorliegen von Muskelschäden geben (**Gelfert et al. 2007a**). Sichere Aussagen zum Ausmaß der Schäden und zur Prognose der Therapie des jeweiligen Einzeltieres lassen sich daraus nicht ableiten (s. 1.1.9.).

1.1.8. Prognose festliegender Kühe im peripartalen Zeitraum

Bei einer Aussage zu Prognose muss zwischen den einzelnen ätiologischen Ursachen des Festliegens unterschieden werden. So sind die Heilungschancen bei Kühen mit schweren Muskelschäden deutlich niedriger als bei Kühen, die allein aufgrund einer Hypokalzämie festliegen. In den Untersuchungen von **Gelfert et al. (2006b)** konnten je nach Praxis mindestens 90 % aller festliegenden Tiere mit einer nachgewiesenen Hypokalzämie geheilt werden. Die Heilungsrate nach der Ersttherapie lag zwischen 60,4 % und 83,5 % (Tabelle 6) und die Gesamtheilungsrate zwischen 90,6 % und 95,4 %. Damit sind die Heilungsaussichten für eine Kuh mit klinischer Hypokalzämie nach wie vor als sehr gut einzustufen. Lag nur eine Hypokalzämie vor, konnten sogar 100 %ige Heilungsraten erzielt werden (Tabelle 6). Der Kalziumgehalt hatte bis auf eine Praxis keinen signifikanten Einfluss auf den Heilungserfolg (**Gelfert et al. 2006b**). In dieser Praxis lag der Kalziumgehalt der geheilten Tiere niedriger als der der nicht-geheilten und in beiden Gruppen unterhalb der Normalbereiche. Damit ist es für den Behandlungserfolg von untergeordneter Bedeutung, wie tief die Kalziumkonzentration im Blut abgesunken ist. Entsprechende Ergebnisse fehlen in früheren Untersuchungen. In diesen finden sich nur Angaben, inwieweit die Kalziumkonzentration die Erstheilungsrate beeinflusst (Bostedt, 1973a, Malz und Meyer 1992). In den Untersuchungen von **Gelfert et al. (2005, 2006b)** war bei den festliegenden Kühen neben der Kalziumkonzentration ein sehr viel deutlicher Unterschied in den Serumaktivitäten der ASAT, CK und GLDH festzustellen. Liegen Muskelschäden größeren Ausmaßes vor, so verringert sich der Therapieerfolg signifikant (**Gelfert et al. 2007a**). So lag die Gesamtheilungsrate nur noch zwischen 50 % und 84 %, wenn der CK-Wert der Erstuntersuchung über 1000 U/l lag. Wie unter 1.8.1.2. beschrieben, waren die Absolutwerte der CK oder ASAT nicht für eine Prognose des Einzeltieres zu verwenden. Der Tierbesitzer

ist beim Vorliegen von Muskeltraumen auf die verschlechterte Prognose hinzuweisen und in die begleitenden Therapiemaßnahmen einzuweisen.

Tabelle 6: Ersttherapie- und Gesamttherapieerfolg festliegender Kühe mit Hypokalzämie und unterschiedlichen CK-Werten bei der Erstuntersuchung (n=461) (**Gelfert et al. 2006b**)

Praxis	Anzahl	Ersttherapieerfolg (%)	Gesamtheilungsrate (%)
Praxis A FV	n=63	n=38 (60.4 %)	n= 59 (93.7 %)
CK< 300 U/l	27	70.4 % ^a	100 % ^a
CK 300<x<1000 U/l	22	63.6 % ^a	100 % ^a
CK> 1000 U/l	14	35.7 % ^b	71.4 % ^b
		p=0.012	p=0.002
Praxis A HF	n=40	n=30 (75.0 %)	n=36 (90.0 %)
CK< 300 U/l	24	87.5 % ^a	95.8 % ^a
CK 300<x<1000 U/l	12	58.3 % ^b	91.7 % ^a
CK> 1000 U/l	4	50.0 % ^b	50.0 % ^b
		p=0.027	p=0.058
Praxis B	n=162	n=134 (82.7 %)	n=156 (92.3 %)
CK< 300 U/l	81	88.8 % ^a	97.5 % ^a
CK 300<x<1000 U/l	65	78.5 % ^a	98.5 % ^a
CK> 1000 U/l	16	68.8 % ^b	81.3 % ^b
		p=0.010	p=0.030
Praxis C	n=87	n=69 (79.3 %)	n=81 (93.1 %)
CK< 300 U/l	56	85.7 % ^a	96.4 % ^a
CK 300<x<1000 U/l	24	70.8 % ^a	95.8 % ^a
CK> 1000 U/l	7	57.1 % ^a	57.1 % ^b
		p=0.083	p=0.007
Praxis D	n=109	n=91 (83.5 %)	n=104 (95.4 %)
CK< 300 U/l	46	93.5 % ^a	100 % ^a
CK 300<x<1000 U/l	39	82.1 % ^a	97.4 % ^a
CK> 1000 U/l	24	66.7 % ^b	83.3 % ^b
		p=0.017	p=0.004

^{a, b}: Heilungsraten mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant.

In zwei Praxen lag die Phosphatkonzentration der geheilten Tiere signifikant niedriger als die der Verstorbenen. Auch bei diesen Tieren gab es deutlichere und hochsignifikante Unterschiede bei der ASAT und CK (**Gelfert et al. 2006b**). Erneut wird somit der Einfluss von Muskeltraumen auf den Heilungsverlauf deutlich. Der Magnesiumgehalt zeigte in keiner der Praxen einen Einfluss auf den Therapieverlauf. Kühe, die nach der Ersttherapie ihr Stehvermögen noch nicht wieder erlangt haben, sollten erneut klinisch untersucht werden, und anhand einer Blutprobe muss vor allem das Vorliegen von größeren Muskelschäden abgeklärt werden. Diese sind trotz sorgfältiger klinischer Untersuchung nicht immer festzustellen oder bedürfen ergänzender Maßnahmen wie das Hochheben der Kuh mittels geeigneter mechanischer Mittel (Martig 2002). Durch zusätzliche pflegerische Maßnahmen ist zu vermeiden, dass sich durch das längere Festliegen weitere Schäden an den Nerven und der Muskulatur ergeben, die den Therapieerfolg negativ beeinflussen (Dirksen 2002).

In allen Praxen lag der Gesamtheilungserfolg aller festliegenden Kühe geringgradig unter dem der hypokalzämischen Kühe. Da in den einzelnen Praxen die Hypokalzämie die mit weitem Abstand häufigste Ursache des Festliegens darstellte, war dies zu erwarten gewesen. Interessanterweise konnte in den einzelnen Praxen auch die überwiegende Mehrheit der festliegenden Patienten ohne Hypokalzämie geheilt werden.

1.1 Die Gebärpause des Rindes

Tabelle 7: Schwellenwerte der Aktivitäten von ASAT und CK zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung für die Prognose einer erfolglosen Therapie festliegender Kühe (n=593) (**Gelfert et al. 2007a**)

	ASAT U/l					CK U/l				
Praxis	Schwellenwert	SE	SP	PPV	NPV	Threshold	SE	SP	PPV	NPV
A	65	1.000	0.831	0.286	1.000	2128	1.000	0.898	0.400	1.000
FV (63)	p=0.007					p=0.006				
A	38.5	-	-	-	-	408.5	-	-	-	-
HF (40)	p=0.279					p=0.131				
B	144	0.800	0.846	0.172	0.993	358	0.800	0.705	0.080	0.982
HF(162)	p=0.001					p=0.028				
C	104.5	0.667	0.827	0.222	0.971	531.5	-	-	-	-
HF(87)	p=0.027					p=0.056				
D	118.5	1.000	0.721	0.147	1.000	1075	0.800	0.923	0.174	0.988
HF(109)	p=0.007					p=0.001				
E	74.5	0.714	0.822	0.323	0.960	241	0.857	0.771	0.308	0.979
HF(132)	p<0.001					p<0.001				

SE: Sensitivität; SP: Spezifität; PPV: positiver Vorhersagewert; NPV: negativer Vorhersagewert

1.1.9. Therapie der peripartal festliegenden Kuh

1.1.9.1. Kalziumlösungen

Die genaue Erforschung der Ätiologie des Festliegens führte mit der Entdeckung der Rolle des Kalziums schnell zur Therapie mittels Kalziumlösungen. Dabei gingen Dryerre und Greig (1928) noch davon aus, dass die Euterinsufflation nicht durch die intravenöse Kalziumgabe ersetzt werden kann. Sjollemma (1929) dagegen empfiehlt als Therapie 300-400 ml einer 10% CaCl₂-Lösung und weist schon darauf hin, dass die Infusion langsam erfolgen muss. Der Nachteil dieser Kalziumverbindung bestand in der Gefahr einer Reizung des die Vene umgebenden Gewebes und setzte damit eine strenge intravenöse Injektion voraus. Daher enthalten heutige Kalziumlösungen zur intravenösen Injektion die organischen Verbindungen Kalziumglukonat oder Kalziumborogluconat (Goff 1999). Der Zusatz von Borsäure stabilisiert die Lösung. Weitere Kalziumverbindungen, die zur Therapie eingesetzt werden, sind: Kalziumpropionat, -laktat, -levulinat, -format und -oxid (Goff 1999). Zur Therapie einer Hypokalzämie sollten mindestens 4 g Kalzium verabreicht werden. Damit wird aber nur das bestehende Defizit ausgeglichen. Daher ist es besser, höhere Mengen zu verabreichen. Nach einer Studie von Alanko et al. (1975) haben 9 g Kalzium den besten therapeutischen Effekt. Noch höhere Gaben erbringen keinen weiteren Vorteil. Bei den festliegenden Kühen mit nachgewiesenem Kalziummangel konnten nach der Kalziumgabe mindestens 60 % der Tiere ihr Stehvermögen wiedererlangen. Der Gesamttherapieerfolg der Studie von **Gelfert et al. (2006b)** lag über 90 %. Der Kalziumgehalt hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Anzahl der benötigten Behandlungen. Eine Infusion organischer Kalziumlösungen stellt somit weiterhin das Mittel der Wahl für eine aufgrund einer Hypokalzämie festliegenden Kuh im peripartalen Zeitraum dar.

Die intravenöse Kalziumzufuhr führt aufgrund der hormonellen Gegenregulation nachfolgend zu einer Erhöhung der Phosphatspiegel im Blut. Eine zusätzliche Gabe phosphathaltiger Medikamente ist nicht nötig. Es konnte keine höhere Heilungsrate erzielt werden (Gelfert et al. 2004a). Derzeit verfügbare Phosphorpräparate enthalten zudem nur sehr geringe Mengen Phosphor, die somit eine therapeutische Wirkung in Frage stellen (**Gelfert et al. 2006b**). Eine gleichzeitige Gabe von Vitamin D₃ führt nicht zu einer besseren Heilungschance (**Gelfert et al. 2006b**).

1.1.9.1.1. Nebenwirkungen

Toxische Serumkonzentrationen des Kalziums (>40mg/100ml Serum) werden bei langsamer Infusionsgeschwindigkeit nicht erreicht (Hapke 1974). Sie treten erst bei kürzeren Infusionszeiten (unter sechs Minuten) auf, da die Eliminierung des Kalziums ins Gewebe nicht mit der Zuführung des Kalziums über die Infusion mithalten kann. Dabei wirken organische Kalziumverbindungen weniger toxisch, da sie langsamer in die ionisierte Form übergehen wie anorganische Verbindungen (z.B. CaCl₂). Eine Überinfusion führt zu toxischen Wirkungen am Herzen und in der quergestreiften Muskulatur. Erstere treten schon während der Infusion oder kurz danach auf (Hapke et al. 1994). Die sich zuerst einstellende Bradykardie wird im weiteren Verlauf von einer Tachykardie und Herzflimmern abgelöst. Weitere klinische Symptome sind Unruhe, Schweißausbrüche, Muskelzittern und ein Blutdruckabfall. Muskelschäden sind erst nach 24 bis 48 Stunden nachzuweisen. Es kommt dann zu einem deutlichen Anstieg der Creatinkinase. Die Kalziumkonzentrationen liegen zu diesem Zeitpunkt wieder in der Norm (Hapke et al. 1994).

1.1.10. Zusammenfassung

Durch die klinische Untersuchung eines im peripartalen Zeitraum festliegenden Rindes kann das Vorliegen einer Gebärpause und das Stadium der Erkrankung mit hoher Sicherheit diagnostiziert werden (Martig 2002). Wenn eine Färsse festliegt, kann davon ausgegangen werden, dass eher Muskeltraumen die Ursache sind. Hypokalzämien treten bei dieser Altersstufe weiterhin nur in Ausnahmefällen auf (**Gelfert et al. 2006b**). Der Anteil Kühe mit beginnender zweiter Laktation ist in den letzten Jahren angestiegen. Trotzdem ist das Risiko festzuliegen für eine Kuh dieses Alters weiterhin gering. Wenn sie festliegt, dann kann mit hoher Wahrscheinlichkeit davon ausgegangen werden, dass eine Hypokalzämie vorliegt. Letzteres trifft auch für alle älteren Kühe zu. Das Krankheitsbild wird von der Stärke des Abfalls der Kalziumkonzentration im Blut bestimmt. Parallel dazu sinken in den meisten Fällen auch die Phosphatkonzentrationen. Daher kann nicht vom einen klinischen Symptom auf das Vorliegen einer Hypophosphatämie geschlossen werden. Myopathien unterschiedlichen Ausmaßes stellen die häufigste Begleiterkrankung und die wichtigste

Differentialdiagnose dar. Sie beeinflussen das Krankheitsgeschehen und den Therapieverlauf (s. 1.1.8.2.). Zusätzliche Laboruntersuchungen sind in den Fällen angezeigt, in denen die Therapie nicht den gewünschten Erfolg zeigt oder anhand der klinischen Untersuchung nicht eindeutig zwischen den verschiedenen Ursachen unterschieden werden kann.

1.2. Die Prophylaxe der peripartalen Hypokalzämie

Aufgrund der wirtschaftlichen Bedeutung der peripartalen Hypokalzämie wurden verschiedene Verfahren entwickelt, um die klinischen Erscheinungen zu vermeiden (DeGaris und Lean 2008). Diese sind: eine kalziumarme Ration (Goings et al. 1974, Green et al. 1981), antepartale Gaben von Vitamin D₃ (Gürtler et al. 1977, Horst et al. 1997), orale Gaben von Kalziumlösungen um den Geburtszeitpunkt (Goff und Horst 1993) und die Beeinflussung (Staufenbiel 2000, Oetzel 2002) des Verhältnisses von Kationen und Anionen in der Ration (Dietary Cation-Anion Difference = DCAD). Jede dieser Methoden hat ihre Vorteile und Nachteile und unterliegt bestimmten Voraussetzungen, die erfüllt sein müssen, damit sich der prophylaktische Effekt einstellt.

So stellt die kalziumarme Fütterung die Methode dar, bei der die physiologische Regulation (s. 1.1.3.) ohne eine weitere medikamentelle Beeinflussung von außen aktiviert wird. Die Unterversorgung mit Kalzium führt zu einer Aktivierung von PTH und 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃. Es ist aber sehr schwierig bzw. nur mit steigendem Aufwand und hohen Kosten möglich, eine solche Ration zu gestalten (Allen und Davies 1981), da der Kalziumgehalt der Gesamtration deutlich unter 30g liegen muss (Goff et al. 1991b). Eine Variante der kalziumarmen Fütterung ist die Zugabe von Zeolite, welches im Pansen Kalzium bindet und damit den resorbierbaren Anteils des Kalziums in der Ration künstlich senkt (Thilsing-Hansen und Jorgensen 2001, Thilsing et al. 2007, Pallensen et al. 2008).

Erhöhte Gaben von Vitamin D₃ führen durch den erhöhten Spiegel des Hormons im Blut zu einer gesteigerten Kalziumabsorption (Gürtler et al. 1977, Oetzel et al. 1977, Zepperitz und Schäfer 1991, Horst et al. 1994). Dabei werden am achten Tag vor dem errechneten Kalbetermin 10 Mio. I.E. Vitamin D₃ intramuskulär verabreicht. Aufgrund der Gabe großer Mengen Vitamin D₃, die den Bedarf um das 1000fache überschreiten, erfolgt eine Umwandlung des Vitamin D₃ in die hormonell aktive Form auch ohne die Aktivität von PTH und auch bei normaler Kalziumversorgung über das Futter. Damit wird die Kalziumabsorption im Darm schon antepartal gesteigert. Alternativ könnten auch Metaboliten des Vitamin D₃ verabreicht werden (Bar et al. 1985, Zepperitz und Grün 1993, Zepperitz et al. 1994, Okura et al. 2007, Taylor et al. 2008). Dabei ist zu bedenken, dass die endogene Bildung des 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃ verhindert wird, und trotz der Vitamin-Gabe die Kühe postpartal festliegen (Littledike und Horst 1980). Ein weiterer Nachteil dieser Methode liegt in

der Schwierigkeit, den Kalbetermin exakt vorauszusagen. Wenn die Kuh nicht bis zum achten Tag nach der Injektion gekalbt hat, muss die Injektion mit Vitamin D₃ wiederholt werden. Mehrfachinjektionen steigern das Risiko für eine Verkalkung der Gefäße und inneren Organe (Littledike und Horst 1982).

Die dritte Methode besteht in der oralen Verabreichung hoher Dosen Kalzium in organischer oder anorganischer Bindung (Goff 2008). Damit wird die Kalziumkonzentration im Darm derart gesteigert, dass eine passive Absorption möglich ist (s. 1.1.3.) Je nach Präparat soll die erste Kalziumgabe schon 24 Stunden vor der Kalbung erfolgen. Dies erfordert eine gute Tierbeobachtung durch den Landwirt. Die Kalziumgaben sind, ebenfalls präparateabhängig, zwei- bis dreimal zu wiederholen. Organischen Kalziumverbindungen sollte der Vorzug gegeben werden, da die anorganischen Verbindungen auf die Schleimhäute reizend wirken können und im Falle des Kalziumchlorids eine metabolische Azidose auslösen können, die postpartal nicht erwünscht ist.

Die vierte Methode beruht auf der Tatsache, dass eine alkalische Ration das Auftreten der Gebärparese fördert. Die daraufhin entwickelte Methode, durch die Fütterung der sogenannten sauren Salze (DCAD-Konzept) war das zweite Thema dieser Arbeit. Unter unterschiedlichen Bedingungen wurde die Wirkung der Salze überprüft, um den Einsatz derselben in der Praxis durch wissenschaftliche Ergebnisse zu untermauern. Dabei wurden in den Studien auch Situationen aus der Praxis nachgestellt, um die Bedeutung der dort gemachten Beobachtungen zu überprüfen.

1.2.1. Das DCAD-Konzept zur Prophylaxe der peripartalen Hypokalzämie

Ender et al. (1962) machten erste Überlegungen, dass neben dem Kalziumgehalt in der Ration auch der Gehalt von Kalium und Natrium einen entscheidenden Faktor in der Pathogenese der postpartalen Hypokalzämie darstellt. In experimentellen Untersuchungen wiesen sie nach, dass ein hoher Kalziumgehalt in der Ration nicht das Auftreten der Gebärparese fördert, wenn gleichzeitig eine saure Ration gefüttert wird. Sie düngten die Silagen mit CaCl₂ und senkten damit die Gebärparese-Inzidenz signifikant. Penner et al. (2008) und Goff et al. (2007) bestätigen die Ergebnisse. Vagg und Payne (1970) versetzten die Ration von Ziegen mit Ammoniumchlorid und konnten einen Anstieg der ionisierten Kalziumfraktion nachweisen. Zeitgleich wurde weniger Kalzium in die Knochen eingelagert. Eine gesteigerte Kalziumresorption aus dem Darm konnte nur bei einem Teil der Tiere beobachtet werden. Ender et al. (1971) zeigten, dass bei einer kaliumreichen Fütterung die Kühe postpartal eine negative Kalziumbilanz aufwiesen, die sich in deutlich erniedrigten Kalziumwerten im Serum widerspiegelte.

Aus den Ergebnissen und Erkenntnissen von Ender et al. (1971) und dem von Dishington (1975) geprägten Begriff der „Alkali-alkalinity“ wurde im Zuge der weiteren Forschung die

„Dietary Cation-Anion Difference“ (DCAD). Beide Begriffe spiegeln das Verhältnis von starken Kationen zu Anionen in der Ration wieder. Die DCAD einer Ration gibt damit die Richtung an, in die sich der Säure-Basen-Haushalt (SBH) einer Kuh, die eine solche Ration frisst, entwickelt (Block 1994). Eine 1:1-Umsetzung der Wirkung ist aufgrund der komplexen Interaktionen im Organismus nicht zu erwarten. Zuerst wurden bei der Berechnung nur die Elemente Kalium, Natrium und Chlorid berücksichtigt (Escobosa et al. 1984). Zunehmende Forschung ergab, dass auch der Schwefelgehalt einer Ration einen nicht zu vernachlässigenden Einfluss hat (Oetzel 1991, Tucker et al. 1991a). Nach der Metaanalyse von Oetzel (1991) hat von den vier Elementen der Schwefelgehalt den größten Einfluss auf die Gebärparese-Inzidenz. Mit steigendem Schwefelgehalt sinkt die Erkrankungshäufigkeit. Dies wurde durch aktuelle Metaanalysen bestätigt (Lean et al. 2006). Die DCAD wird berechnet, indem die durch Analyse der Futtermittel ermittelten Mengen der Kationen (Kalium und Natrium) addiert und von ihnen die Menge der Anionen (Chlorid und Schwefel) subtrahiert werden. Würden alle Kationen und Anionen im Futter berücksichtigt werden, dann wäre aufgrund der Elektroneutralität aller lebenden Organismen die DCAD immer = 0. Da für diese Formel aber nur die stark pH-wirksamen Ionen ausgewählt werden, kann die DCAD von 0 ausgehend verschiedene Werte annehmen. Entsprechend führt ein Übergewicht der Kationen zu einer positiven DCAD, ein Übergewicht der Anionen zu einer negativen DCAD (Block 1994, Horst et al. 1994). Bei der Analyse ergibt sich für Schwefel die Besonderheit, dass der Gesamtschwefelgehalt gemessen wird, im Organismus aber nur der als Sulfat vorliegende Schwefel stoffwechselwirksam ist. Dies führt dazu, dass bei der Berechnung der DCAD unterschiedliche Formeln angewandt werden. Die Formel, die in den Studien zur DCAD am häufigsten eingesetzt wird, berücksichtigt gleichwertig die Mengen der vier Elemente: $DCAD = (K^+ + Na^+) - (Cl^- + SO_4^{2-})$. In einer aktuellen Metaanalyse stellten Charbonneau et al. (2006) fest, dass die Formel mit einem Korrekturfaktor für Sulfat [$DCAD = (K^+ + Na^+) - (Cl^- + 0,6 \cdot SO_4^{2-})$] die oben erwähnte Diskrepanz zwischen Schwefel- und Sulfatkonzentration berücksichtigt und hinsichtlich der Vorhersage des Blut-pH-Wertes am genauesten ist. Um die DCAD abzusenken, müssen der Ration chloridhaltige oder sulfathaltige Salze zugesetzt werden. Das begleitende Kation ist Kalzium, Magnesium oder Ammonium. Alle drei Kationen werden in der Berechnung der DCAD nicht berücksichtigt. Kochsalz (NaCl) ist nach dem DCAD Konzept ein neutrales Salz. Die Verfütterung größerer Mengen Kochsalz (> 100 g/Kuh und Tag) führt zu minimalen, wenn auch signifikanten Veränderungen im SBH. Es kommt aber dabei nicht zu der für die Prophylaxe entscheidenden Mobilisierung des Kalziumstoffwechsels (**Gelfert et al. 2009c**). Damit kann NaCl nicht als saures Salz im Sinne der Prophylaxe der peripartalen Hypokalzämie eingesetzt werden. Die Zufütterung der reinen Säure wäre ebenso denkbar (Goff und Horst 1998), zumal Salzsäure den stärksten ansäuernden Effekt in Kühen aufweist (Goff et al.

2004). Allerdings birgt der Umgang mit reiner Salzsäure ein gewisses Gefahrenrisiko für Mensch und Tier (Goff und Horst 1998, Goff et al. 2004). Neue Technologien ermöglichen den Einsatz der Salzsäure, da diese künstlich ummantelt wird (Prilling = Sprühkristallisation) und damit die schädliche Ätzwirkung ausbleibt (Goff 2007). Schwefelsäure dagegen hat nur einen sehr geringen ansäuernden Effekt und ist daher nach den Ergebnissen von Goff et al. (2004) nicht geeignet, zur Ansäuerung einer Ration zur Prophylaxe der Hypokalzämie.

Nach Erhöhung der Anionenkonzentration durch die sauren Salze sollte die DCAD zwischen -100 und -150 mEq/kg TS liegen (Wilde 2006). Delaquis und Block (1995) stellten allerdings fest, dass auch eine schon geringe Absenkung der DCAD zu Effekten im SBH führt. Nach den Ergebnissen von Roche et al. (2003) genügt es, die DCAD auf Werte unter +160 mEq/kg TS abzusenken, um eine ausreichende Wirkung im Tier zu erzeugen. **Gelfert et al. (2007b)** untersuchten die Wirkung verschiedener sauren Salze bei unterschiedlicher DCAD während einer 14-tägigen Fütterungsperiode. Bei einer immer noch hohen DCAD (239 mEq/kg TS) waren Effekte auf den SBH nur im Harn festzustellen. Diese bestanden aber nur in der ersten Woche der Salzfütterung (**Gelfert et al. 2007b**). In der zweiten Woche waren keine signifikanten Veränderungen mehr nachzuweisen. Die Kompensationsmechanismen des Organismus führten zu einer vollständigen Neutralisierung der sauren Salze. Lag die DCAD hingegen deutlich unter 150 mEq/kg TS war die ansäuernde Wirkung im SBH über die gesamte Fütterungsperiode im Harn nachweisbar. Dabei nahm die Stärke der Auslenkung im SBH reziprok zur Höhe der DCAD zu (**Gelfert et al. 2007b**). Im Blut kam es ebenfalls zu Veränderungen der Parameter in Richtung Azidose, welche nicht an allen Tagen signifikant von den Werten am Tag Null vor der sauren Salz-Fütterung abwichen. Der Blut-pH reagierte erst in der Gruppe mit der niedrigsten DCAD (**Gelfert et al. 2007b**). Durch die Metaanalyse von Lean et al. (2006) wird bestätigt, dass das Risiko für die Gebärparese linear mit der Abnahme der DCAD zurückgeht. Somit kann auch bei einer schwach positiven DCAD die Inzidenz der Gebärparese sehr niedrig sein.

In vielfältigen Studien wurde die Wirkung der unterschiedlichen sauren Salze untersucht. Dabei wurden sowohl Einzelsalze (Greupner et al. 1977, Tucker et al. 1988a,b, 1991b, Wang und Beede 1992, Goff et al. 2004, **Gelfert et al. 2007b**) als auch Salzkombinationen miteinander getestet (Oetzel et al. 1988, 1991, **Gelfert et al. 2007b**). Die Studien wurden teils an nicht-tragenden, nicht-laktierenden (Tucker et al. 1991b, Vagnoni und Oetzel 1998, Goff et al. 2004, **Gelfert et al. 2007b**) und teils an tragenden Tieren in den letzten Wochen vor dem Kalben durchgeführt (Oetzel et al. 1988, Tucker et al. 1992). Die Ergebnisse sind sehr unterschiedlich, was mitunter auch auf die unterschiedlichen Versuchsmodelle zurückzuführen ist. Bezogen auf die Wirkung der sauren Salze auf den SBH kann generell gesagt werden, dass die Wirkung sich bei trockenstehenden, nicht-tragenden Kühen und

trockenstehenden, trächtigen Kühen nur im Ausmaß, aber nicht in der Richtung unterscheidet (Schonewille et al. 1994).

1.2.1.1. Wirkung der sauren Salze auf den Säure-Basen-Haushalt (SBH)

Die Absenkung der DCAD führt zu einer metabolischen Azidose im Organismus, da die Anionen aus den sauren Salzen gegenüber den begleitenden Kationen in einem deutlich höheren Maße absorbiert werden. Damit kommt es zu einem Überschuss von Anionen im Organismus und zur Aufrechterhaltung der Elektroneutralität zu einer Verschiebung des Dissoziationsgleichgewichts von H^+ und OH^- (Stewart 1978). Verbunden damit ist ein Anstieg der H^+ -Ionen, welche zu einem Abfall der Bikarbonatkonzentrationen $[HCO_3^-]$ und des Base Exzess (BE) führt. Der pH-Wert im Blut sinkt erst, wenn die Pufferkapazitäten erschöpft sind (Oetzel et al. 1991, **Gelfert et al. 2007b**). Zeitgleich werden in der Niere die überschüssigen Anionen ausgeschieden (Delaquis und Block 1995) und die Rückresorption von $[HCO_3^-]$ wird gesteigert (Delaquis und Block 1995, **Gelfert et al. 2007b**). Dies ist schon einen Tag nach Beginn der Fütterung von sauren Salzen anhand des signifikanten Rückgangs des Basengehalts im Urin nachweisbar (**Gelfert et al. 2006c**). Zur weiteren Kompensation der gestiegenen H^+ -Konzentration wird in der Niere aktiv Ammonium gebildet, welches beim Rind den Hauptpuffer in diesem Organ darstellt (Lotspeich 1967, Dobson 1980, Block 1994). Diese Veränderungen in der Zusammensetzung des Harns werden sehr gut durch die fraktionierte Netto-Säuren-Basen-Ausscheidung (NSBA) wiedergegeben (Bender et al. 2001, 2003, **Gelfert et al. 2007b**). Kutas (1965) etablierte diese relativ einfache Methode, mittels Titration in einer Probe die alkalischen und sauren Komponenten des Urins zu bestimmen, um damit die Belastung des SBH mittels der Harnanalyse nachzuweisen. Lachmann (1981) entwickelte die Methode weiter, sodass nicht nur die NSBA, sondern auch der Basen-, Säuren- und Ammoniumgehalt ermittelt werden konnte (fraktionierte NSBA). Der physiologische Bereich der NSBA liegt zwischen 103-197 mmol/l (Rossow et al. 1989). Ein Anstieg der NSBA über den Referenzbereich spiegelt somit eine alkalische (Bender et al. 2001), ein Abfall eine saure Stoffwechsellage wider (Bender et al. 2003). Im letzteren Fall kann die NSBA sogar negative Werte annehmen. Für die Reaktion der Niere ist die Herkunft der azidotischen Effekte (saure Salze, Pansenazidose, Energiemangel) ohne Bedeutung. Ausschlaggebend ist die Summe aller Einflussgrößen auf den SBH. Dies ist bei der Interpretation der Werte und der Ursachenfindung zu berücksichtigen. So kann die Ansäuerung des Urins aufgrund einer zu hohen Salzmenge oder einer zusätzlichen bestehenden Pansenazidose erfolgt sein (Gelfert et al. 2004b).

Keinerlei Auswirkungen haben die sauren Salze auf den pH-Wert im Pansensaft und die Bildung der kurzkettigen flüchtigen Fettsäuren im Pansen (**Gelfert et al. 2009a**). Die Untersuchungen zeigten, dass der pH im Pansensaft über die Zeit und zwischen den

verschiedenen getesteten sauren Salzen keine signifikanten Unterschiede aufwies und immer im physiologischen Bereich lag. Die Gesamtmenge der kurzkettigen, flüchtigen Fettsäuren war ebenso unverändert wie das Verteilungsmuster der einzelnen Fettsäuren. Dies steht zum einen im Widerspruch zu früheren Untersuchungen (Vagnoni und Oetzel 1998), zum anderen stellen die beiden Autoren die klinische Relevanz ihrer Befunde in Frage. Somit kann davon ausgegangen werden, dass die Verfütterung saurer Salze keinen signifikanten Einfluss auf den Säuren-Basen-Status im Pansen und die Produktion der kurzkettigen, flüchtigen Fettsäuren hat.

1.2.1.1.1. Nachweis der Wirkung der sauren Salze auf den SBH

Da die sauren Salze eine metabolische Azidose auslösen, wären sowohl Blut- als auch Harnuntersuchungen denkbar, um die ausreichende Wirkung nachzuweisen. Neben der Tatsache, dass Blutgasuntersuchungen eine aufwendige Apparatur benötigen, haben sie auch den Nachteil, dass im Falle einer kompensierten Azidose, wie sie im Falle der sauren Salze vorliegen soll, die Veränderungen im Blut nur marginal sind und sich damit einer eindeutigen Interpretation entziehen (**Gelfert et al. 2006c, 2007b**).

Die Harnanalyse gibt dagegen sehr gut jede azidotische Belastung der Kuh wieder (**Gelfert et al. 2006d**) und zeigt darüber hinaus sehr gut an, wie stark diese Belastung ist. Im Falle geringgradiger Azidosen erfolgt eine mäßige Absenkung der NSBA, der Harn-pH-Wert dagegen verbleibt im physiologischen Bereich (**Gelfert et al. 2006c**). Liegen hingegen hochgradige Azidosen vor, sinkt die NSBA deutlich und in den negativen Bereich ab, und auch der Harn-pH weist pathologische Werte auf (**Gelfert et al. 2006d**). Für die Routinearbeit im Rahmen der Herdenkontrolle durch den Herdenmanager wird die Messung des Harn-pH-Wertes empfohlen (Jardon 1995, Seifi et al. 2004). Als Probanden müssen Kühe ausgesucht werden, die die Anionenration mindestens seit 5 Tagen fressen (**Gelfert et al. 2006c**). Für die Messungen sind Spontanharnproben geeignet, oder der Harnabsatz wird durch Reiben oberhalb des Euteransatzes stimuliert. Im Falle des Einsatzes saurer Salze sollte der pH-Wert zwischen 6 und 7 liegen (Goff 2007). Andere Autoren geben Bereiche zwischen 5,5 und 6,2 (Horst et al. 1997) oder zwischen 7,3 und 7,8 (Gelfert et al. 2009b) an, um eine ausreichende Wirkung der sauren Salze zu belegen. Ein Harn-pH im physiologischen Bereich (7,8-8,4) steht für eine mangelhafte Ansäuerung. Nach den Untersuchungen von Bender et al. (2001) reagiert der Harn-pH-Wert überhaupt nicht auf die Zufütterung der sauren Salze und ist daher nicht geeignet, den Einsatz der sauren Salze wiederzugeben. In den Studien von **Gelfert et al. (2006c, 2006d, 2007b)** reagierten dagegen die NSBA und der pH-Wert im Harn gleichwertig auf die sauren Salze. Die Studie von Bender et al. (2001) ist eine Feldstudie, sodass die Ergebnisse unter dieser Maßgabe zu interpretieren sind. Es besteht bei Felduntersuchungen immer die Möglichkeit, dass

unentdeckte Faktoren die Ergebnisse beeinflussen (Gelfert et al. 2004b). Aus dem Abfall des Harn-pHs lässt sich nur schwer ablesen, ob die Azidose im Blut vollständig kompensiert ist oder eine klinische Azidose vorliegt. Ein Rückgang der Futteraufnahme ist hier ein erster Hinweis. Ein exakter Nachweis ist nur mittels Blutgasanalyse möglich. So unterschieden sich die Kühe, die aufgrund einer klinischen Azidose die Futteraufnahme einstellten von den Tieren, die weiter fraßen, nur im Blut-pH und nicht in den Harnparametern (**Gelfert et al. 2006d**).

1.2.1.2. Wirkung der sauren Salze auf den Kalziumstoffwechsel

Der Kalziumstoffwechsel wird aufgrund der durch die sauren Salze erzeugten metabolischen Azidose angeregt (Block 1984). Zum einen verdrängen die H^+ -Ionen das Kalzium aus der Proteinbindung im Blut und führen so zu einer Erhöhung der Ca^{2+} -Konzentration (Moore 1970). Außerdem wird aus dem Knochen $[HCO_3^-]$ mobilisiert und dabei auch Kalzium freigesetzt (Lunn und McGuirk 1990). Aufgrund des Anstiegs der Ca^{2+} -Konzentration wird bei der trockenstehenden Kuh über die Niere vermehrt Kalzium ausgeschieden. Dieser erhöhte Kalziumverlust über den Harn führt zu einer Aktivierung von PTH. Dieses vermindert die Kalziumausscheidung über die Niere und fördert die Bildung von $1,25-(OH)_2$ -Vitamin D_3 . Damit kommt es zu einer erhöhten Kalziumfreisetzung aus dem Knochen und Kalziumabsorption im Darm (Blum und Fischer 1974, Goff et al. 1991a). Interessanterweise erhöht die Zufuhr von Anionen nur die Austauschgeschwindigkeit zwischen den einzelnen Kompartimenten des Kalziumhaushaltes bei gleicher Menge an austauschbarem Kalzium (Fredeen et al. 1988, Takagi und Block 1991). Der Anstieg des ionisierten Kalzium Ca^{2+} und der Kalziumausscheidung über die Niere dient zur Aufrechterhaltung eines hohen Kalziumumsatzes. Im Falle eines erhöhten Kalziumbedarfs, wie im Falle des Laktationsbeginns, wird die Kalziumausscheidung über die Niere sofort gestoppt (Schonewille et al. 1994). Der Anstieg des Ca^{2+} ist von der DCAD abhängig. Liegt die DCAD deutlich über 200 mEq/kg TS, ändert sich die Ca^{2+} -Konzentration trotz der sauren Salze nicht signifikant. Liegt sie unter 100 mEq/kg TS, steigt die Ca^{2+} -Konzentration signifikant an. Demgegenüber zeigen sich keinerlei Veränderungen im Gesamtkalziumgehalt (**Gelfert et al. (2007b)**).

Die Zufuhr saurer Salze führt also zu einer Aktivierung des Kalziumstoffwechsels ante partum. Zum Geburtszeitpunkt weisen solche Kühe höhere Kalziumwerte auf (Block 1984, Giesy et al. 1997). Der physiologische Abfall der Kalziumkonzentrationen in dieser Zeit wird vermindert. Dies ist unter anderem darauf zurückzuführen, dass die Aktivierung des $1,25-(OH)_2D_3$ in der Niere schneller abläuft (Goff et al. 1991a). Ebenso wird mehr Kalzium aus dem Knochen mobilisiert (Vagg und Payne 1970, Block 1984). Durch die azidotische Stoffwechsellage scheinen die Zielgewebe schneller auf PTH zu reagieren, wohingegen sich

die Menge an gebildetem PTH in Kühen, die saure Salze erhielten und solchen, die keine erhielten, nicht unterschied (Goff et al. 1991a)

1.2.1.2.1. Nachweis der Wirkung auf den Kalziumhaushalt

Eine erhöhte Harnkalziumkonzentration ist die Folge der durch die sauren Salze erzeugten metabolischen Azidose. Die gewünschte Aktivierung des Kalziumstoffwechsels geht mit einer erhöhten Verfügbarkeit an Kalzium einher. Bei den nicht-laktierenden Kühen in der Vorbereitungsperiode wird ein Teil dieses Kalziums über die Nieren ausgeschieden und so als erhöhte Harnkalziumkonzentration erfasst (**Gelfert et al. 2007b, 2006c,d**). Optimal sind Harnkalziumkonzentrationen zwischen 7 und 15 mmol/l. Zu niedrige Werte sprechen für eine ungenügende Aktivierung des Kalziumstoffwechsels (**Gelfert et al. 2007b**). So kam es in der Gruppe mit der höchsten DCAD (239 mEq/kg TS) aufgrund der schwachen Azidose nur zu sehr marginalen Veränderungen der Kalziumkonzentration im Harn. Solche schwachen Anstiege der Kalziumkonzentration im Harn sind Ausdruck der Regulierung der Kalziumversorgung im Falle einer hohen passiven Kalziumabsorption (**Gelfert et al. 2007b**). Zu hohe Werte sprechen dagegen für eine sehr starke azidotische Belastung, wie sie in der Studie von **Gelfert et al. (2006d)** nachgewiesen wurden.

Der Gesamtkalziumgehalt im Blut zeigt keinerlei signifikante Veränderungen. Die Wirkung der sauren Salze wird nur durch den Anstieg der Ca^{2+} -Konzentration deutlich (**Gelfert et al. 2007b**). Da die Bestimmung der ionisierten Fraktion labortechnisch aufwendig ist, empfiehlt sie sich nicht als Routinediagnostik. Da für den Nachweis der ansäuernden Wirkung der sauren Salze Harnproben das Mittel der Wahl darstellen, empfiehlt sich allein aus praktischen Gründen auch die Kalziumbestimmung im Urin.

1.2.1.2.2. Nachweis der Wirkung anhand biochemischer Knochenmarker

Neben der Überwachung der sauren Salze anhand des Säure-Basen-Haushalts und des Kalziumstoffwechsels bieten sich auch Parameter des Knochenstoffwechsels an. Osteocalcin (OC) ist ein Protein, welches beim Knochenaufbau von den Osteoblasten gebildet wird. Überschüssiges, nicht im Knochen gebundenes OC wird ins Blut abgegeben und kann dann gemessen werden (Liesegang 2000).

Biochemische Marker des Kollagenstoffwechsel (Hydroxyprolin Kollagen-Brückenproteine, aminoterminaler Telepeptid des Typ-I-Kollagens) können eine Aussage zur Knochenresorption machen und bieten, da sie im Harn nachgewiesen werden, eine nichtinvasive Möglichkeit der Probennahme (Liesegang 2000). Erste Forschungsergebnisse konnten bei Kühen mit Gebärparese keine verminderte Knochenresorption nachweisen (Liesegang et al. 1998). In weiteren Untersuchungen fanden Liesegang et al. (2007) keine

Unterschiede bezüglich des Knochenstoffwechsels bei Kühen, die saure Salze erhielten, im Vergleich zu den Kontrolltieren.

1.2.1.3. Wirkungsunterschiede von Chloridsalzen und Sulfatsalzen

Tucker et al. (1991a) wiesen als erste darauf hin, dass es zwischen den Chlorid- und Sulfatsalzen einen möglichen Wirkungsunterschied gibt. Roche et al. (2002) behaupteten, dass Sulfat einen nicht-ansäuernden, aber positiven Effekt auf den Kalziumstoffwechsel hat, weil sie keine Veränderungen im SBH feststellen konnten. Dem muss nach den Ergebnissen von **Gelfert et al. (2007b, 2009c)** widersprochen werden. Sowohl im Blut als auch im Harn ließ sich die ansäuernde Wirkung von Sulfatsalzen sicher nachweisen. Es kam zu einem deutlichen Abfall der NSBA, des Harn-pH-Wertes und der entsprechenden Parameter im Blut, wenn Sulfatsalze als saures Salz eingesetzt wurden (**Gelfert et al. 2009c**). Dies belegt aber nur den ansäuernden Effekt des Sulfats, lässt aber keine Aussage über die Gleichwertigkeit der Wirkung zu. Nach den Untersuchungen von Goff et al. (2004) wirken Chloridsalze stärker als Sulfatsalze. Diese Unterschiede traten aber erst bei der höchsten getesteten Dosis (2250 mEq) auf. In niedrigeren Dosen waren die Chloridsalze den Sulfatsalzen nicht überlegen, und es gab auch den umgekehrten Effekt, dass die Sulfatsalze stärker wirkten. **Gelfert et al. (2009c)** überprüften an fistulierten trockenstehenden, nicht-tragenden Kühen die Wirkung unterschiedlicher saurer Salze. Sie konnten Unterschiede in der Wirkung der sauren Salze bei unterschiedlicher DCAD feststellen, sie lagen aber nicht zwischen den Chlorid- und Sulfatsalzen, sondern bezogen sich auf wenige Einzelsalze (**Gelfert et al. 2009c**). So wirkten nach ihren Ergebnissen CaCl_2 am stärksten auf den SBH und die Kalziumausscheidung über die Niere. CaCl_2 reagierte stärker als alle Sulfatsalze. Die anderen Chloridsalze waren in ihrer Wirkung den Sulfatsalzen nicht überlegen. So hatte Kalziumsulfat keine signifikant schlechter ansäuernde Wirkung als Magnesiumchlorid oder Ammoniumchlorid. Auffällig war die schwache Wirkung von MgSO_4 , welche sich nicht von der des Kochsalzes unterschied (**Gelfert et al. 2009c**). Die deutlichen Differenzen in der Wirkung von CaCl_2 und MgSO_4 sind der Grund für die in anderen Studien gemachte Feststellung eines generellen Unterschieds zwischen Sulfat- und Chloridsalzen, da in diesen Studien vor allem diese beiden Salze eingesetzt wurden. Sie repräsentieren die beiden Endpunkte einer Wirkungsskala saurer Salze.

1.2.1.4. Dosis der Salze

Aranda-Osorio et al. (2005) fütterten 3000 mEq/Tag an Masttiere, ohne einen negativen Einfluss auf die Futteraufnahme festzustellen. Oetzel (2002) gab eine Obergrenze von 2000 mEq/Tag an. In einem Versuch mit steigenden Dosen saurer Salze hörten die Hälfte der Kühe auf zu fressen, wenn 3500 mEq/Tag gefüttert wurden (**Gelfert et al. 2006d**). Die DCAD betrug bei dieser Menge -358 mEq/kg TS und lag damit deutlich unter den empfohlenen Werten (1.2.1.). Die Kühe, die die Futteraufnahme einstellten, hatten eine ausgeprägte Bradykardie und einen noch stärker abgesenkten Blut-pH-Wert als die Vergleichstiere mit ungestörtem Appetit. Demgegenüber waren keine Unterschiede beim Harn-pH-Wert und der NSBA festzustellen. In dieser Studie zeigte sich außerdem, dass einzelne Kühe eine Tagesmenge von 6000 mEq aufnahmen, ohne dass klinische Anzeichen einer Azidose oder ein Rückgang der Futteraufnahme bestanden. Die DCAD der Ration lag bei -472 mEq/kg TS, der SBH wies im Blut und Harn eine ausgeprägte metabolische Azidose auf. Trotzdem zeigten die Kühe keinerlei klinische Anzeichen einer Azidose. Einschränkend muss erwähnt werden, dass die Salze über die Pansenfistel verabreicht wurden. Ob die Kühe freiwillig die hohe Dosis der sauren Salze aufgenommen hätten, bleibt unbeantwortet. Trotzdem kann von einer tierindividuellen Toleranz gegenüber hohen Dosen saurer Salze ausgegangen werden (**Gelfert et al. 2006d**). Unabhängig von der erreichten Ansäuerung der sauren Salze schränken zwei weitere Faktoren die Einsatzmenge der sauren Salze ein. Für alle Elemente, aus denen sich die sauren Salze zusammensetzen, existieren Höchstmengen in der Ration für Transitzühe. Die Überschreitung dieser Grenzen führt zu einem Rückgang der Futteraufnahme und zu einer verminderten Absorption von Spurenelementen. Vor allem ersteres ist nicht zu tolerieren, da die verminderte Futteraufnahme zu einem über das physiologische Maß hinausgehenden Energiemangel führt. Die Folgen sind Ketosen und Leberbelastungen. Außerdem werden die sauren Salze nicht aufgenommen, der gewünschte Effekt auf den Säuren-Basen-Haushalt bleibt aus.

1.2.1.5. Dauer der Salzgabe

Die sauren Salze sollen nur in der Transitperiode eingesetzt werden, die in der Regel auf drei Wochen angesetzt ist. Da das Abkalbedatum nicht auf den Tag genau vorhersehbar ist, kann es passieren, dass die Kühe länger als die geplanten drei Wochen die sauren Salze erhalten. Zwar empfehlen Horst et al. (1994) eine Fütterung der Salze bis zu 5 Wochen, eine zu lang andauernde metabolische Azidose, wie sie durch die sauren Salze erzeugt wird, kann zu schweren osteolytischen Veränderungen führen, die sich trotz einer ausreichenden Kalzium- und Phosphatversorgung einstellen (Edvi und Rossow 1976). Bisher fehlten Studien, die die Wirkung der sauren Salze über die Zeit verfolgen. Nach den Ergebnissen von **Gelfert et al. (2006c)** sind über die Zeit keine gleichbleibenden Veränderungen im SBH

zu erwarten. Vielmehr kam es nach ca. 2 Wochen zu einem Rückgang der azidotischen Veränderungen in Blut und Harn, obwohl den Kühen weiter saure Salze verabreicht wurden. Gleichzeitig war ein Anstieg der Kalziumkonzentrationen im Blut zu verzeichnen. Diesen Veränderungen lag ein intensiver Austausch von H^+ und Ca^{2+} -Ionen im Knochen zugrunde, wie es auch Goff und Horst (1998) nach Ergebnissen ihrer Studie vermuteten. Nach dieser kurzen Phase der Erholung kam infolge der weiter andauernden Fütterung zu einem erneuten Absinken des pH-Werts in Blut und Harn. Die Reaktionen waren stärker als in den ersten beiden Wochen und deuteten auf eine nicht mehr kompensierte Belastung des Organismus hin (**Gelfert et al. 2006c**). Gleichzeitig stieg die renale Kalziumexkretion an, und der Kalziumgehalt im Blut sank. Die 5 Wochen andauernde Zufuhr saurer Salze schien die Pufferkapazitäten des Organismus zu erschöpfen. Kalben dann diese Kühe, kann es passieren, dass die Tiere trotz der sauren Salze zum Festliegen kommen, da die Kalziumspeicher aus dem Knochen erschöpft sind. Beobachtungen dieser Art wurden von Phelps und House (2001) gemacht. Die Fütterung saurer Salze sollte einen Zeitraum von drei Wochen nicht überschreiten.

1.2.1.6. Faktoren, die die Wirkung der sauren Salze beeinflussen

1.2.1.6.1. Sensorik der Salze

Die Hauptnebenwirkung der sauren Salze ist die Reduktion der Futteraufnahme aufgrund des schlechten Geschmacks (Oetzel und Barmore 1993, Oetzel et al. 1991, Goff et al. 2004). Übereinstimmend berichten die Autoren, dass die sauren Salze aufgrund ihres schlechten Geschmacks von den Kühen nur ungern aufgenommen werden. In der Studie von Oetzel und Barmore (1993) nahmen die Tiere die Ration mit Magnesiumsulfat am besten auf und verweigerten die Futteraufnahme größtenteils, wenn $CaCl_2$, Ammoniumsulfat oder Ammoniumchlorid verfüttert wurde. Demgegenüber berichten Goff et al. (2004), dass die Kühe signifikant weniger fraßen, wenn Magnesiumsulfat als saures Salz zugefügt wurde. Beide Autoren weisen darauf hin, dass eine entsprechende sorgfältige Einmischung der sauren Salze in die Ration daher notwendig ist (Husband et al. 2002). Wenn die sauren Salze nicht gleichmäßig unter die Ration gemischt werden oder aufgrund sehr unterschiedlicher Struktur leicht aussortiert werden können, wird die Kuh die Aufnahme der Salze von sich aus reduzieren und die Wirkung der Salze bleibt aus. Der schlechte Geschmack führt außerdem zu einer Beschränkung der Einsatzmenge der sauren Salze. Daher ist der Einsatz der sauren Salze in Regionen mit überwiegender Grasfütterung umstritten (Roche et al. 2003). Die Verfütterung geschmacksneutraler Salze wie $CaSO_4$ kann diesem Problem entgegenwirken. Hierbei ist aber zu bedenken, dass der Zusatz von $CaSO_4$ ebenfalls begrenzt ist, da die Höchstmenge für Sulfat (max. 4 g/kg TS) in Milchviehrationen einzuhalten ist.

Die schlechte Akzeptanz der Salze führt dazu, dass in einigen Studien pansenfistulierte Kühe eingesetzt und die Salze während der Fütterungszeiten über die Fistelöffnung verabreicht wurden (Roche et al. 2007, **Gelfert et al. 2007b**, **Gelfert et al. 2009c, d**). Die Wirkung der Salze hält auch bei dieser Art der Gabe über 24 h an und zeigt keine Schwankungen über den Tag hinweg (Roche et al. 2007, **Gelfert et al. 2009c**). Der Vorteil dieser Methode liegt darin, dass die unterschiedlichen Salze hinsichtlich ihrer Wirkung ohne störende Einflüsse durch die Futteraufnahme getestet werden können (**Gelfert et al. 2006d, 2007b**).

1.2.1.6.2. Energiegehalt der Ration

Die schlechte Akzeptanz der sauren Salze beeinträchtigt die Futteraufnahme (Oetzel und Barmore 1993). Die reduzierte Futteraufnahme führt dazu, dass die Tiere nicht genügend Energie aufnehmen. Es kommt zu einer verfrühten und verstärkten negativen Energiebilanz (Moore et al. 1997). Der Energiemangel bedingt eine Mobilisierung der Körperreserven, die in einer azidotischen Belastung der Tiere resultiert (Lunn und McGuirk 1990). **Gelfert et al. (2008a)** überprüften was passiert, wenn die Fütterung saurer Salze und ein Energiemangel zusammentreffen. Mittels Strohütterung und geringer Mengen Krafffutter wurde eine energieneutrale bzw. -arme Ration gestaltet. Die DCAD lag aufgrund des Strohs nach Zulage der sauren Salze immer noch im deutlich positiven Bereich. Trotzdem war eine starke metabolische Azidose in Blut und Harn nachweisbar. Vor allem im Urin kam es zu einem deutlichen Abfall des pH-Wertes und der NSBA und einem Anstieg der NH_4^+ -Konzentration. Die Azidose war umso stärker, je weniger Energie die Kühe aufnahmen. Es kam zu einer sich gegenseitig verstärkenden Wirkung auf den SBH mit dem Ergebnis einer nicht mehr kompensierten metabolischen Azidose. Die Ergebnisse zeigen aber auch, dass die Parameter in Harn und Blut sehr sicher die metabolische Belastung anzeigen, die Ursache für die Azidose geben sie nicht wieder. Bei einem Einsatz saurer Salze ist auf eine ausreichende Energiekonzentration der Ration und eine ausreichende Futteraufnahme zu achten, um negative Nebeneffekte zu vermeiden. Im Falle einer sehr starken Azidose sind zur Ursachenfindung neben der Dosis der sauren Salze andere Möglichkeiten einer azidotischen Stoffwechselreaktion (Pansenazidose, Energiedefizit) zu berücksichtigen.

1.2.1.6.3. Kalziumgehalt der Ration beim Einsatz saurer Salze

Mit den ersten Arbeiten zum Einsatz der sauren Salze kam die Frage auf, ob und in welche Richtung der Kalziumgehalt der Ration zu verändern ist. Bis heute wird die Frage widersprüchlich beantwortet (**Gelfert und Staufenbiel 2008**). Dabei geht es vor allem darum, ob aufgrund der durch die metabolische Azidose ausgelösten Kalziummobilisierung vermehrt Kalzium über das Futter angeboten werden muss. Klarheit besteht darüber, dass

die Wirkung der sauren Salze unabhängig vom Kalziumgehalt der Ration ist (**Gelfert und Staufenbiel 2008**). Ender et al. (1971) wiesen nach, dass bei einer Fütterung einer sauren Ration die Kühe zusätzlich mit Kalzium versorgt werden sollten, damit sie eine positive Kalziumbilanz aufweisen. Nach ihren Versuchen waren die Kühe, die eine Ration mit sauren Salzen und einem erhöhten Kalziumgehalt (150 g/Tag) erhielten, post partum in einer besseren Kalziumbilanz als die Kühe, welche die sauren Salze und eine Ration mit erniedrigtem Kalziumgehalt bekamen (30 g/Tag). Bestätigt werden diese Ergebnisse durch die Untersuchungen von Lomba et al. (1978), Oetzel et al. (1988), Beening (1998) und Chan et al. (2006). Daraus resultierte die Empfehlung, saure Salze mit einem hohen Kalziumgehalt in der Ration zu kombinieren (Oetzel 1993, Byers 1994). Schonewille et al. (1994) sowie Rodriguez et al (1997) und Goff und Horst (1997) folgerten aufgrund ihrer Ergebnisse, dass bei der Verfütterung saurer Salze der Kalziumgehalt der Ration niedrig sein sollte. In beiden Studien bedeutet niedrig aber nicht unterhalb des Bedarfs der Tiere. Dies entspricht aktuellen Ergebnissen von **Gelfert und Staufenbiel (2008)**. In vielen weiteren Untersuchungen konnte kein Einfluss des Kalziumgehaltes auf die Kalziumkonzentration post partum oder den Knochenstoffwechsel nachgewiesen werden (Kamiya et al. 2005, Liesegang et al. 2007). Hier ist weiterer Forschungsbedarf vorhanden. In allen Studien gab es keine Kontrollkühe, die keine sauren Salze bei unterschiedlicher Kalziumversorgung erhalten haben. Es wäre daher möglich, dass eine erhöhte Kalziummobilisierung aus dem Knochen stattfand, diese aber unabhängig von der Kalziumversorgung ist, solange das Kalziumangebot im Darm über dem Bedarf liegt. Denkbar wäre zudem, dass im Falle eines ausreichenden Kalziumangebots diese Mengen zur Deckung des Kalziumbedarfs der Kuh genügen, ohne auf die Knochenspeicher zurückgreifen zu müssen.

Nach aktuellen Metaanalysen (Lean et al. 2006) soll der Kalziumgehalt ante partum entweder sehr niedrig gehalten (<5 g/kg TS) oder deutlich erhöht (>15 g/kg TS) werden. In diese Analyse sind aber nur 2 Studien eingegangen, die den Einsatz saurer Salze und den Kalziumgehalt der Ration kombiniert haben. Alle anderen Untersuchungen haben nur eine der beiden Komponenten geändert. Daher bleibt es offen, ob die von Lean et al. (2006) gemachte Empfehlung hinsichtlich des Kalziumgehalts auch gilt, wenn zeitgleich saure Salze gefüttert werden.

1.2.1.6.4. Gleichzeitiger Einsatz von Pansenpuffern

Da saure Salze und Pansenpuffer ihrer Natur nach in gegensätzliche Richtungen den SBH beeinflussen, kann eine gemeinsame Verfütterung nicht sinnvoll sein. Für mittelgroße Betriebe, die für Frischmelker und Transitzühe nur eine Ration vorhalten und beide prophylaktisch wirksamen Futterzusatzstoffe einsetzen wollen, wäre aber eine mögliche gemeinsame Gabe hilfreich. Fütterungsversuche haben aber deutlich gezeigt, dass im Falle

einer gleichzeitigen Gabe von sauren Salzen und Pansenpuffern eine Wirkung auf den SBH ausbleibt (**Gelfert et al. 2006a**). Es kam weder zur alkalischen noch zur azidotischen Seite hin zu Veränderungen, die im Hinblick auf die jeweilige Prophylaxe als wirksam angesehen werden kann. Eine gleichzeitige Gabe von Pansenpuffern ist somit grundsätzlich zu vermeiden, um den Effekt der sauren Salze nicht zu neutralisieren. Zu den Pansenpuffern zählen neben Natriumbikarbonat auch Natriumpropionat (Bigner et al. 1997) und Kaliumbikarbonat (**Gelfert et al. 2006a**).

1.2.1.6.5. Häufigkeit der Salzgabe

Aufgrund der unter 1.2.1.2.1. beschriebenen schlechten Sensorik der Salze ist es angesagt, die Gesamtdosis über den Tag verteilt zu füttern. Dies ist bei einer Totalen-Mischration-Fütterung und Bandfütterung leicht zu bewerkstelligen. Wird das Futter nur zwei Mal am Tag vorgelegt, wäre es denkbar, dass die Wirkung der Salze nicht von der einen zur anderen Fütterungszeit anhält. Dies ist nach den Untersuchungen von Roche et al. (2007) und **Gelfert et al. (2009c)** nicht zu befürchten. In beiden Studien wurden die sauren Salze als Bolus über die Pansenfistel verabreicht. Trotz dieser zeitlich begrenzten Aufnahme der Salze in dafür großen Mengen kam es zu einer gleichbleibenden Wirkung über den Tag. Anders ist die Situation, wenn die sauren Salze nur einmal am Tag verabreicht werden (**Gelfert et al. 2009d**). Die Kühe erhielten in dieser Studie die Gesamtmenge an Salzen einmalig über die Pansenfistel. Nach sieben Tagen wurde ein 24-Stunden-Profil erstellt. Dabei war zum einen über die 24 Stunden ein Rückgang der Wirkung festzustellen, zum anderen gab es deutliche Unterschiede zwischen den beiden getesteten Salzen Kalziumchlorid und Kalziumsulfat. Vor der Gabe der sauren Salze am Tag sieben wiesen die CaCl_2 -Kühe noch eine kompensierte, metabolische Azidose auf, währenddessen der SBH der CaSO_4 -Kühe im physiologischen Bereich war. Der Grad der Azidose, hervorgerufen durch die Verabreichung der Tagesdosis auf ein Mal, war bei den CaCl_2 -Kühen stärker und lang anhaltender als bei den CaSO_4 -Kühen. Nach zwölf Stunden war ein Wirkungsrückgang bei beiden sauren Salzen festzustellen. Dieser führte vor allem bei den CaSO_4 -Kühen zu einem völligen Rückgang der Azidose. Eine einmalige Gabe saurer Salze kann nach den vorliegenden Ergebnissen nur für CaCl_2 empfohlen werden (**Gelfert et al. 2009d**).

1.3. Derzeitige Empfehlungen zum Einsatz saurer Salze

Die angeführten Einflüsse auf die Wirkung der sauren Salze machen deutlich wie entscheidend ein gutes Fütterungsmanagement und das Wissen des Landwirts um die physiologischen Zusammenhänge sind. Beschwerden über eine Nichtwirkung der sauren Salze oder eine krankmachende Wirkung (klinische Azidose) lassen sich in der Regel auf Fehler bei der Verfütterung der Salze oder auf das Fehlen der Voraussetzungen für ihren

Einsatz zurückführen. Der Einsatz saurer Salze bietet klare Vorteile, hat aber auch deutliche Grenzen. Ein pauschaler Einsatz ist daher nachdrücklich abzulehnen. Im Folgenden sind die einzelnen Schritte für eine erfolgreiche Umsetzung des DCAD-Konzepts in der Prophylaxe der peripartalen Hypokalzämie dargestellt.

1.3.1. Futtermittelanalyse

An erster Stelle steht die Ermittlung der DCAD-Werte (K, Na, Cl, S) und der Gehaltswerte an Ca, P und Mg in den Grobfuttermitteln oder in der totalen Mischration. Tabellenwerte sind zu pauschal und damit ungeeignet. Das betrifft vor allem die Kalium-, Sulfat- und Chloridgehalte der Grobfuttermittel. Die Ermittlung der DCAD-Werte der anderen Futtermittel (Krafffutter, Getreide) wird aus Kostengründen den Tabellen entnommen.

1.3.2. Kalkulation der Vorbereiterration und Berechnung der DCAD

Nach den bekannten Kennwerten wird eine Vorbereiterration aus den zur Verfügung stehenden Futtermitteln zusammengestellt. Dabei ist auf einen maximalen Gesamtkaliumgehalt von 15 g/kg TS zu achten. Kaliumarme Grobfuttermittel sind extensiv produzierte Anwelksilage, Maissilage und Futterstroh. Dabei sind die Anforderungen an die Energiekonzentration, an die Rohfaserversorgung, die Proteinversorgung sowie Vitamin- und Spurenelementversorgung sorgfältig einzuhalten. Die Ausgangs-DCAD sollte 250 mEq/kg TS nicht wesentlich überschreiten. Kann die DCAD nicht unter diesen Wert gesenkt werden, ist nach den vorliegenden Untersuchungen eine andere Methode der Gebärparese-Prophylaxe auszuwählen. An dieser Stelle wird deutlich, dass dem Einsatz der sauren Salze Grenzen gesetzt sind. In Regionen, in denen Gras (als Silage, Heu oder frisch) den Hauptbestandteil der Ration stellt (Süddeutschland, Bergregionen Mitteldeutschlands) sind die Kaliumgehalte der Ration natürlicherweise sehr hoch. Wenn dann keine Ausgleichsfuttermittel zur Verfügung stehen, die den Kaliumgehalt der Vorbereiterration senken, können saure Salze nicht eingesetzt werden.

1.3.3. Auswahl und Mengenermittlung der sauren Salze

Die Auswahl des sauren Salzes und die Mengenermittlung erfolgt auf Grundlage des Gesamtgehaltes der Ration an Chlorid und Sulfat. Zum Einsatz sollten ausschließlich Kalziumsulfat und Kalziumchlorid (mikroverkapselt) kommen. 86 g Kalziumsulfat ($\text{CaSO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$) bzw. 73 g Kalziumchlorid ($\text{CaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$) entsprechen einem Äquivalent an saurem Salz. 10 g Kalziumsulfat pro kg TS senken die DCAD um 116 mEq/kg TS, 10 g Kalziumchlorid pro kg TS um 137 mEq/kg TS. Unter Beachtung der nicht zu überschreitenden Konzentrationen an S (4 g/kg TS) und Cl (10 g/kg TS) in der Gesamtration können anhand dieser Zahlen die maximal zu ergänzenden Mengen der beiden Salze berechnet werden.

Eine Überschreitung der Schwefelkonzentrationen in der Ration führt zu einem Rückgang der Futteraufnahme mit den bekannten negativen Folgen.

1.3.4. Mengen- und Spurenelemente, Vitamine

Für die sichere Wirkung einer Anionenration ist die Einhaltung des Kalziumgehaltes um 10 g Ca/kg TS von großer Bedeutung. Deshalb muss auch die Kalziumbilanz genau kalkuliert werden. Je nach den eingesetzten Grundfuttermitteln kann die Ergänzung über normale Mineralfutter erfolgen, die zugleich den Magnesium- und Phosphorbedarf ergänzen. Bei einer sehr kalziumarmen Ration kann es notwendig sein, die Ration mit Futterkalk zu ergänzen. 10 g Futterkalk (CaCO_3) pro kg TS liefern 4 g Ca/kg TS. Für eine sichere Wirkung der Anionenration sollten sich der Gehalt von Phosphor und Magnesium um 4 g/kg TS und der von Natrium um 1,2 g/kg TS bewegen. Für Magnesium stellen die 4 g/kg TS gleichzeitig die Obergrenze dar, um Negativeffekte zu vermeiden. Neben den sauren Salzen und Futterkalk muss den Anionenrationen wie allen Vorbereiterrationen ein hochwertiges Mineralstoffgemisch zur Deckung des Bedarfes an Vitaminen und Spurenelementen zugesetzt werden. Über dieses Mineralstoffgemisch wird die aufgezeigte Versorgung mit P, Mg und Na abgesichert.

1.3.5. Erfolgskontrolle

Für einen erfolgreichen Einsatz spricht eine Häufigkeit von Gebärparesen unter 3 % der Abkalbungen der Mehrkalbskühe und eine Häufigkeit von Nachgeburtsverhaltungen unter 5 % der Abkalbungen. Da man natürlich nicht auf den Ausgang der Kalbungen warten kann, ist es erforderlich während des Einsatzes der sauren Salze durch verschiedene Methoden die erwünschte Wirkung abzusichern.

Die Rationsanalyse der Vorbereiterration liefert eine unverzichtbare Aussage zum Einhalten der Kennwerte einer Anionenration. Darüber hinaus sollten die Analysenwerte auch mit den kalkulierten Werten verglichen werden. Im Falle einer TMR sind dadurch Aussagen zur Mischgenauigkeit möglich. Die TMR-Analyse sollte in größeren Abständen, aber zumindest nach einem Silagewechsel immer wieder neu durchgeführt werden.

Die Futteraufnahme der Vorbereiter muss erfasst werden, da die schlechte Sensorik der Salze (1.2.1.2.1.) oder eine Überdosierung der Salze (1.2.1.1.1.) das Fressverhalten der Tiere negativ beeinflussen. Wenn die DCAD der Ration mit sauren Salzen im derzeit gültigen Zielbereich liegt und eine ausreichende Futteraufnahme besteht, kann auf weitere Proben verzichtet werden. In allen anderen Fällen sind Harn- oder Blutproben von den Transitkühen zu nehmen, um die metabolische Azidose und damit die Wirkung der sauren Salze im Tier nachzuweisen.

Der Nachweis der erfolgten Ansäuerung erfolgt am besten und einfachsten über Harnproben. Diese können mittels Stimulation des Harnabsatzes durch Reiben oberhalb des Euteransatzes gewonnen werden. Auch Spontanharnproben sind geeignet. Es sollte nach Möglichkeit Mittelstrahlurin aufgefangen werden. Stark verschmutzte Schambereiche müssen vor der Harnentnahme gereinigt werden. Für eine ausreichende Wirkung der sauren Salze gelten folgende Zielbereiche für die einzelnen Parameter: Harn-pH: <7,8; NSBA: -50 - 50 mmol/l; Harnkalziumgehalt: >7,5 mmol/l.

1.4. Ausblick zukünftiger Forschung

Nach derzeitiger Lehrmeinung kann von einer Anionenration nur dann gesprochen werden, wenn die DCAD unter 0 abgesenkt wird und die Harnproben eine entsprechende Ansäuerung anzeigen (pH unter 7,8; NSBA unter 50 mmol/l). Nach den Metaanalysen von Lean et al. (2006) sinkt das Risiko für eine Gebärpause aber linear mit der DCAD. Da die Gebärpause als klinische Form der Hypokalzämie nur die Spitze des Eisberges darstellt, kann man keine Aussage machen, inwieweit auch die Häufigkeit subklinischer Hypokalzämien linear mit der DCAD sinkt. Nach den vorliegenden Ergebnissen treten ausreichende Wirkungen der Salze schon bei einer DCAD von 100 mEq/kg TS auf. Daher wäre es auch denkbar, die sauren Salze als Zusatzfuttermittel der Ration zuzusetzen mit dem Ziel, eine hohe DCAD abzusenken und die Wirkung anderer Prophylaxemaßnahmen zu verbessern. Hierzu liegen aber bisher keine Erfahrungen aus der Praxis oder Ergebnisse aus entsprechenden Experimenten vor. Denkbar wäre es, bei einer Ausgangs-DCAD über 300 mEq/kg TS Magnesiumsulfat zuzusetzen. Unter Beachtung der Obergrenzen für Sulfat und Magnesium würde die Magnesiumversorgung optimiert und die Funktion von PTH unterstützt. Gleichzeitig würde die DCAD abgesenkt und damit das Risiko einer klinischen Gebärpause vermindert werden. Des Weiteren wäre es denkbar, die Fütterung saurer Salze mit den Gaben von Vitamin D₃ zu kombinieren. Auch hier würde eine mäßige Absenkung der DCAD und die Bereitstellung großer Mengen Vitamin D₃ mögliche Synergien beinhalten.

Die letzten zwei bis drei Wochen vor der Kalbung gehen mit einer Futterumstellung einher, die zu einer höheren Energiekonzentration und höheren Anteilen leichtverdaulicher Kohlenhydrate der Ration führt. Damit verbunden ist eine Umstellung der Pansenflora, die mit einer geringgradigen Azidose verknüpft sein kann. Da auch diese Azidose eine renale Kompensation auslösen wird, stellt sich die Frage, ob dieser Prozess nicht mit der Verfütterung der sauren Salze kombiniert werden kann. Der Vorteil läge entweder in einer Reduzierung der benötigten Menge saurer Salze oder in einer ausreichenden Wirkung der Salze trotz noch deutlich positiver DCAD.

1.5. Zusammenfassung

Die Gebärpause stellt das klinische Erscheinungsbild einer peripartal bestehenden Hypokalzämie dar und ist nach wie vor die Hauptursache (>80 %) für das Festliegen der Milchkuh im peripartalen Zeitraum (**Gelfert et al. 2005**). Die in der Literatur beschriebenen Subtypen der Gebärpause sind als selbständige Erkrankungen anzusehen, sodass diese Unterteilung keine Verwendung mehr finden soll. Die Gebärpause tritt zunehmend auch bei Kühen mit niedriger Laktationszahl auf, ist bei Färsen aber weiterhin sehr selten. Vom Management des Landwirts hängt es ab, wie frühzeitig Kühe mit klinischer Hypokalzämie entdeckt werden (**Gelfert et al. 2005**). Entsprechend kann der Anteil Kühe im ersten klinischen Stadium der Gebärpause mit noch erhaltenem Stehvermögen in einem Praxisgebiet bis zu 20 % betragen. Das klinische Erscheinungsbild, in welchem der behandelnde Tierarzt die Patientin vorfindet, ist geprägt von der Stärke des Abfalls der Kalziumkonzentrationen im Blut. So weisen Kühe mit kühler Körperoberfläche, in Seitenlage oder mit gestörtem Sensorium signifikant niedrigere Kalziumwerte im Blut auf (**Gelfert et al. 2005**). Parallel zu den Kalziumkonzentrationen sinken die Phosphatkonzentrationen, sodass bei der Mehrheit der Kühe mit Gebärpause eine kombinierte Hypokalzämie und -phosphatämie vorliegt (**Gelfert et al. 2005**). Letztere ist die Folge der Hypokalzämie und stellt keine ätiologische Ursache des Festliegens dar (**Gelfert et al. 2006b**).

Für die Therapie der Gebärpause ist ohne Belang, ob ein alleiniger Kalziummangel oder ein Kalziummangel mit kombinierter Hypophosphatämie vorliegt, da die alleinige Kalziuminfusion zu sehr hohen Heilungsraten führt und weitere Therapeutika, auch solche, die Phosphor substituieren, den Heilungserfolg nicht signifikant verbessern (**Gelfert et al. 2006b**). Der Heilungsverlauf wird dagegen durch weitere Erkrankungen wie Myopathien oder Ketosen/Hepatosen, die neben der Hypokalzämie auftreten, beeinträchtigt (**Gelfert et al. 2007a**). Im Falle einer nötigen Nachbehandlung festliegender, hypokalzämischer Kühe ist es daher angezeigt, durch weitere klinische und serologische Untersuchungen das Vorliegen von Myopathien und Hepatosen abzuklären. Die Therapie der Kuh und vor allem die pflegerischen Maßnahmen sind gemäß den Ergebnissen der klinischen Untersuchung sowie der Laboruntersuchung auszurichten. Obwohl erhöhte CK- und ASAT-Aktivitäten ein sicherer Hinweis auf das Vorliegen von Muskelschäden sind und die Heilungsrate signifikant vermindern, lassen sich aus den erhöhten Werten keine verlässlichen Prognosen hinsichtlich des Therapieerfolgs ableiten (**Gelfert et al. 2007a**). Entscheidend für die Heilung sind neben der Kalziumsubstitution im Falle von Myopathien ein optimales Lager der Kuh und die entsprechende Pflege durch den Landwirt.

Bei festliegenden Kühen, die als Mengenelementmangel nur eine Hypophosphatämie aufweisen, liegt in der Regel eine andere Grunderkrankung (Muskel- oder Leberschaden) vor (**Gelfert et al. 2006b**).

Zur Prophylaxe der Hypokalzämie hat sich neben anderen Methoden die Verfütterung von sauren Salzen an Milchkühe in den letzten drei Wochen vor dem Kalben etabliert. Für einen erfolgreichen Einsatz der sauren Salze müssen bestimmte Bedingungen erfüllt sein. Komplikationen beim Einsatz saurer Salze treten fast ausschließlich dann auf, wenn im Fütterungsmanagement Fehler vorliegen. Die Folge ist eine ungerechtfertigte Ablehnung der sauren Salze.

Folgende Bedingungen müssen erfüllt sein: Die DCAD muss ausreichend abgesenkt sein, wobei nach den aktuellen Ergebnissen weiter zu untersuchen ist, ob die DCAD negativ oder auch schwach positiv sein kann. Nach den vorliegenden Untersuchungen sind ausreichende Effekte der sauren Salze auf den SBH und die Kalziumausscheidung über den Harn schon bei einer DCAD unter +150 mEq/kg TS zu erwarten (**Gelfert et al. 2007b**). Zum einen widersprechen diese Ergebnisse der geltenden Lehrmeinung, dass die DCAD unter 0 mEq/kg TS liegen muss, zum anderen eröffnen sie neue Möglichkeiten des Einsatzes der Salze in Rationen mit erhöhten Kaliumgehalten. Dies ist in zukünftigen Studien zu untersuchen.

Unabhängig von der Ausgangs-DCAD liegt die maximale Dosis der sauren Salze bei 3000 mEq/Tag. Eine höhere Dosis führt zu klinischen Azidosen und einer Verweigerung der Futteraufnahme. Die Toleranz der Kühe gegenüber sauren Salzen weist eine große tierindividuelle Streuung auf, sodass manche Tiere deutlich höhere Dosen ohne einen Rückgang der Futteraufnahme fressen (**Gelfert et al. 2006d**). Die Verfütterung saurer Salze hat keinen bedeutenden Einfluss auf den pH-Wert im Pansen und die Produktion kurzkettiger Fettsäuren (**Gelfert et al. 2009a**).

Zwischen den sauren Salzen bestehen Wirkungsunterschiede. Das am stärksten wirksame Salz ist Kalziumchlorid. Es wirkt stärker als alle Sulfatsalze. Die anderen Chloridsalze unterscheiden sich von den Sulfatsalzen hinsichtlich ihrer Wirkung auf den SBH nicht signifikant. Somit kann nicht von einem generellen Wirkungsunterschied zwischen Chlorid- und Sulfatsalzen ausgegangen werden. Magnesiumsulfat hat die geringste Wirkung auf den SBH (**Gelfert et al. 2009c**).

Die sauren Salze sollten maximal drei Wochen an die Transitzühe verfüttert werden. Längere Fütterungsperioden bergen das Risiko von klinischen Azidosen durch Überbeanspruchung der Puffer- und Kalziumspeicher (**Gelfert et al. 2006c**). Es kommt dann zu einer deutlichen Senkung des Blut-pH-Werts und zu einer Verringerung der Kalziumkonzentrationen im Blut. Die Dosis der sauren Salze sollte auf mehrere Portionen über den Tag verteilt gefüttert werden. Wenn es die Gegebenheiten auf dem Betrieb erfordern, kann die Gesamtdosis einmal am Tag verfüttert werden. In diesem Fall sollte nur Kalziumchlorid als saures Salz eingesetzt werden, da nur bei diesem Salz eine 24 Stunden andauernde und ausreichende Wirkung nachgewiesen wurde. Bei Kalziumsulfat war nach 24 Stunden keine Azidose mehr

nachweisbar (**Gelfert et al. 2009d**).

Es ist auf eine ausreichende Energiekonzentration der Ration zu achten, da es sonst zu klinischen Azidosen aufgrund der Synergie-Effekte durch die sauren Salze und den Energiemangel kommen kann (**Gelfert et al. 2008a**).

Der Kalziumgehalt der Ration sollte 10 g/kg TS nicht überschreiten. Höhere Dosen führen zu einem Rückgang der Kalziumkonzentration im Blut. Der Einsatz saurer Salze darf nicht mit einer kalziumarmen Fütterung kombiniert werden (**Gelfert und Staufenbiel 2008**).

Der zeitgleiche Einsatz von sauren Salzen und Pansenpuffern ist generell auszuschließen, da saure Salze und Pansenpuffer sich in ihrer Wirkung vollständig neutralisieren (**Gelfert et al. 2006a**).

1.6. Summary

A recumbent cow is the clinical picture of a hypocalcaemia in the peripartal period. Hypocalcaemia is still the predominant disease (>80%) for cows becoming recumbent in this time period (**Gelfert et al. 2005**). The subtypes of recumbency due to hypocalcaemia, which are described in German articles, should be considered as autonomous diseases.

Parturient paresis can be found more and more in younger cows, however, it is rarely found in heifers. The management of the farms determines the clinical stage of hypocalcaemia in which the cows are detected (**Gelfert et al. 2005**). The better the management the higher is the ratio (up to 20 %) of cows suffering from hypocalcaemia and still being able to stand. The clinical picture depends from the size of the drop of calcium concentrations in blood. Recumbent cows with a reduced temperature of the body surface, laying in lateral position or having a disturbed sensorium have significantly lower calcium concentrations (**Gelfert et al. 2005**). Parallel to the calcium concentrations there is a drop of phosphorus concentrations, so that the majority of cows with parturient paresis show a combined hypocalcaemia and hypophosphataemia (**Gelfert et al. 2005**). The latter is the result of the hypocalcaemia (**Gelfert et al. 2006b**).

For the therapy of the parturient paresis, it is not important whether there is a combined hypocalcaemia and hypophosphataemia or a sole hypocalcaemia. A single intravenous infusion of a calcium solution results in a high success rate. The use of an additional drug beside the organic calcium solution did not influence the success rate after first treatment, the overall rate of healed animals and the number of treatments needed. (**Gelfert et al. 2006b**). The success of treatment is influenced by other diseases like myopathy of ketosis/hepatosis which occur in combination with the hypocalcaemia. (**Gelfert et al. 2007a**). In the case that a second treatment is needed, it is important to look for signs of myopathy or ketosis/hepatosis by additional clinical or serological examinations. According the results of these investigations, the therapy and additional measurement has to be realigned. Increased

serum activities of CK and AST at the time of the first treatment provide hints about myopathy; however, they do not provide additional information to improve the prognosis at that time (**Gelfert et al. 2007a**). For a successful treatment it is crucial that the farmer take care of the sick animal. In case of myopathy, a box with plenteous bedding and a relocation of the cow several times a day are important.

In recumbent cows, showing only a lack of phosphorus as deficiency in major elements, the reason of recumbency can be found elsewhere (myopathy, hepatosis, ketosis, severe mastitis, nerval disorders) (**Gelfert et al. 2006b**).

To prevent parturient paresis, cows are fed anionic salts (AS) in combination with total mix rations for the last three weeks before parturition. Several conditions must be fulfilled for a successful use of AS. Complications mainly occur due to faults in feeding management. The result is an unjustified rejection of AS as method in the prevention of hypocalcaemia.

The following conditions must be fulfilled when AS are used:

The resulting Dietary Cation-Anion-Difference (DCAD) must be low. According the present results sufficient effects on acid-base-balance (ABB) and calcium metabolism can be expected if DCAD is below +150 mEq/kg dry matter (DM) (**Gelfert et al. 2007b**). These results are in contrast to the current doctrine, saying that DCAD must be below 0 mEq/kg DM. On the other hand, these results open up new possibilities in the use of AS in feed with high concentrations of potassium. This should be investigated in future studies.

Regardless the initial DCAD in the feed ratio, the maximum dosis of AS is 3000 mEq/day. A higher dosis results in clinical acidosis and a severe reduction of feed intake. The tolerance of cows towards AS has a big individual variance, so that single cows might be able to consume much higher dosis (up to 6000 mEq/kg) without any impact on feed intake (**Gelfert et al. 2006d**).

The use of AS does not influence significantly the pH in rumen fluid and the productions of short-chain fatty acids (**Gelfert et al. 2009a**). There are no differences between chloride and sulfate salts in the impact of ruminal pH.

The impact of the various AS on ABB differs. CaCl_2 has the greatest impact on ABS in blood and urine and MgSO_4 has the weakest impact. When using AS for the prevention of hypocalcaemia, the salts with the greatest effect are preferred. After minimising the concentration of potassium as much as possible, CaCl_2 is the first choice because of its strong acidifying effects. The maximum concentration of chloride (8 g/kg DM) in the diet must be met. CaSO_4 is the second choice because it has the smallest side effects on feed intake and can be added up to the maximum permissible quantities of sulfate (4 g/kg DM) (**Gelfert et al. 2009c**).

AS should be fed for a period of 2 or 3 weeks to guarantee the activation of the calcium metabolism. A longer feeding time may induce severe metabolic acidosis and hypocalcaemia (**Gelfert et al. 2006c**).

The total dosis of AS should be fed in several small portions during the day. As the feeding management demands the total amount of AS can be fed once daily. In this case, feeding AS once daily confined the risk of an interrupted effect of the anionic salts on the acid–base status as well as calcium metabolism after 12 h if other salts instead of calcium chloride are used (**Gelfert et al. 2009d**).

Feeding AS in combination with an energy-deficient diet causes severe non-compensated metabolic acidosis (**Gelfert et al. 2008a**).

When AS are used the dietary calcium concentration should be between 9 g and 12 g/kg DM (**Gelfert und Staufenbiel 2008**). The use of AS is not possible in diets low in calcium.

Simultaneous application of AS and rumen buffer results in a loss of effectivity of AS. Neither an adequate acidification of blood nor an activation of calcium metabolism occurred. In feed ration for cows in the last weeks of pregnancy, rumen buffer are not allowed, if AS are given for prevention of parturient paresis. (**Gelfert et al. 2006a**).

1.7. Literaturverzeichnis

Abele U, Wolf F (2000) Gebärparese - ein neues Therapiekonzept. Veterinärspiegel 2000/, 197-201.

Ahlers D, Pickel M, Zaremba W (1987) Verenden einer an Gebärparese erkrankten Kuh nach wiederholter Kalziuminfusion (Tierärztliches Gutachten). Dtsch. Tierärztl. Wschr. **94**, 552-554.

Alanko M, Cederquist B, Jonsgard K, Jönsson G, Nurmio P, Pehrson B, Simesen MG (1975) The effect of different calcium doses in milk fever therapy. A comparative internordic study. Nord. Vet. Med. **27**, 616-626.

Allen WM, Davies DC (1981) Milk fever, hypomagnesaemia and the "downer cow" syndrome. Br. Vet. J. **137**, 435-441.

Aranda-Osorio G, Van Kessel A, Oikowski AA, McAllister TA, McKinnon JJ (2005) Effect of dietary Ca manipulation, anionic salts and supplemental vitamin D3 on calcium homeostasis of finishing steers. Can. J. Anim. Sci **85**, 521-231.

Bar A, Perlamn R, Sachs M (1985) Observation on the use of 1 α -hydroxyvitamin D3 in the prevention of bovine parturient paresis: the effect of a single injection on plasma 1 α -hydroxyvitamin D3, 1,25-dihydroxyvitamin D3, calcium, and hydroxyproline. J. Dairy Sci. **69**, 1952-1958.

Baumgartner W, Gattinger G (1982) Ein Beitrag zum hypophosphatämischen Festliegen der Milchkuh. Wien. Tierärztl. Mschr. **69**, 315-318.

- Beardsworth LJ, Beardsworth PM, Care AD** (1987) The effect of increased potassium concentration on the absorption of magnesium from the reticulo-rumen of conscious sheep. *J. Phys.* **386**, 89P.
- Beening S** (1998) Untersuchungen zu den Effekten einer Veränderung des Kationen-Anionen-Verhältnisses (DCAB) in Wiederkäuerrationen auf Parameter des Säuren-Basen-Status und auf die Mineralstoffbilanz. Dissertation Tierärztliche Hochschule Hannover.
- Bender S, Gelfert CC, Staufenbiel R** (2001) Einflüsse bestimmter Futterkomponenten in Milchkuhrationen auf diagnostische Parameter in Harnproben I. Säure-Basen-Haushalt. *Tierärztl. Umschau* **56**, 639-644.
- Bender S, Gelfert CC, Staufenbiel R** (2003) Einsatz der Harnuntersuchung zur Beurteilung des Säure-Basen-Haushaltes in der Bestandsbetreuung von Milchviehherden. *Tierärztl. Praxis* **31**, 132-142.
- Bigner DR, Goff JP, Faust MA, Työer HD, Horst RL** (1997) Comparison of oral sodium compounds for the correction of acidosis. *J. Dairy Sci.* **80**, 2162-2166.
- Block E** (1984) Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. *J. Dairy Sci.* **67**, 2939-2948.
- Block E** (1994) Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally related production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows. *J. Dairy Sci.* **77**, 1437-1450.
- Blum J W, Fischer JA** (1974) Ätiologie, Pathophysiologie und Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärpärese des Rindes - eine Übersicht. *Schweiz. Arch. Tierheik.* **116**, 603-628.
- Blum JW, Mayer GP, Potts Jr. JT** (1974) Parathyroid hormone response during spontaneous hypocalcemia and induced hypercalcemia in cows. *Endocrinology* **95**, 84-92.
- Blum JW, Ramberg CF, Johnson KG, Kronfeld DS** (1972) Calcium (ionized and total), Magnesium, Phosphorus and Glucose in plasma from parturient cows. *Am. J. Vet. Res.* **33**, 51-56.
- Boda JM, Cole HH** (1956) Calcium metabolism with special reference to parturient paresis (milk fever) in dairy cattle: a review. *J. Dairy Sci.* **39**, 1027-1054.
- Bostedt H** (1973a) Blutserumuntersuchungen bei festliegenden Rindern in der frühpuerperalen Periode. 1. Mitteilung: Untersuchungen über den Gehalt an Ca, anorganischen P und Mg im Blutserum festliegender Rinder. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* **86**, 344-349.
- Bostedt H** (1973b) Blutserumuntersuchungen bei festliegenden Rindern in der frühpuerperalen Periode. 2. Mitteilung: Untersuchungen über den Serumenzymgehalt festliegender Rinder. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* **86**, 387-392.
- Bostedt H, Bless S** (1993) Überprüfung einiger Verfahren zur Prophylaxe der Gebärpärese beim Rind. *Tierärztl. Umschau* **48**, 424-431.
- Bostedt H, Wendt V, Prinzen R** (1979) Zum Festliegen des Milchrindes im perpartalen Zeitraum - klinische und biochemische Aspekte. *Prakt. Tierarzt* **60**, 18-34.

- Bronner F** (1987) Intestinal calcium absorption: mechanisms and applications. *J. Nutr.* **117**, 1347-1352.
- Byers DI** (1994) Management considerations for successful use of anionic salts in dry-cow diets. *Comp. Cont. Education* **16**, 237-240.
- Chan PS, West JW, Bernard JK** (2006) Effect of prepartum dietary calcium on intake and serum and urinary mineral concentrations of cows. *J. Dairy Sci.* **89**, 704-713.
- Charbonneau E, Pellerin D, Oetzel GR** (2006) Impact of lowering dietary cation-anion difference in nonlactating dairy cows: a meta-analysis. *J. Dairy Sci.* **89**, 537-548.
- Clark RG, Henderson HV, Hoggard GK, Ellison RS, Young BJ** (1987) Ability of biochemical and haematological tests to predict recovery in periparturient recumbent cows. *New Zealand Vet. J.* **35**, 126-133.
- Contreras PA, Manston R, Samsom BF** (1982) Calcium mobilisation in hypomagnesaemic cattle. *Res. Vet. Sci.* **33**, 10-16.
- Cox VS, McGrath CJ, Jorgensen SE** (1982) The role of pressure damage in pathogenesis of the downer cow syndrome. *Am. J. Vet. Res.* **43**, 26-31.
- Curtis CR, Erb HN, Sniffen CJ, Smith RD** (1984) Epidemiology of parturient paresis: predisposing factors with emphasis to dry cow feeding and management. *J. Dairy Sci.* **67**, 817.
- DeGaris P, Lean IJ** (2008) Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. *Vet. J.* **176**, 58-69.
- Delaquis AM, Block E** (1995) Dietary cation-anion difference, acid base status, mineral metabolism, renal function, and milk production of lactating cows. *J. Dairy Sci.* **78**, 2259-2284.
- Dirksen G** (1990) Untersuchung festliegender Rinder. In: *Die klinische Untersuchung des Rindes*. Dirksen G, Gründer HD, Stöber M, (Eds.). Parey Verlag, Berlin, Hamburg, 585-588.
- Dirksen G** (2002) Festliegen. In: *Dirksen G, Gründer HD, Stöber M (Eds.), Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*, Blackwell Verlag GmbH, Berlin, Wien, 863-871.
- Dishinton IW** (1975) Prevention of milk fever (hypocalcemic paresis puerperalis) by dietary salt supplements. *Acta vet. Scand.* **16**, 503-512.
- Distl O** (1992) Genetische Analyse von Krankheitshäufigkeiten mit dem Schwellenmodell bei südbayerischen Milchviehherden. *Züchtungskunde* **64**, 1-19.
- Dobson A** (1980) Acid-Base balance in animals. In: Phillipson AT, Hall LW, Pritchard WR (Eds.), *Scientific Foundations of Veterinary Medicine*, William Heinemann Med. Books, London, UK, 112-125
- Dryerre H, Greig R** (1928) Further studies in the in the etiology of milk fever. *Vet. Rec.* **8**, 721-726.
- Edvi P, Rossow N** (1976) Kalzium-, Phosphat- und Skelettstoffwechsel bei der latenten alimentären metabolischen Azidose des Schafes. *Mh. Vet.-Med.* **31**, 410-414.

- Ender F, Dishington IW, Helge-Bostad A** (1971) Calcium balance studies in dairy cows under experimental induction and prevention of hypocalcaemic paresis puerperalis. The solution of the aetiology and the prevention of milk fevers by dietary means. *Zeitschr. Tierphys. Tierernährg. Futtermittelkde.* **28**, 233-256.
- Ender F, Dishington IW, Helge-Bostad A, Martinsons E** (1962) Parturient paresis and related forms of hypocalcaemic disorders induced experimentally in dairy cows. 2. studies on the etiological importance of feeding prepartal diets high in calcium and lower normal in phosphorus in relation to development of milk fever. *Acta. Vet. Scand.* **3 (Suppl. 1)**, 52.
- Escobosa A, Coppock CE, Rowe LD, Jenkins WL, Gates CE** (1984) Effects of dietary sodium bicarbonate and calcium chloride on physiological response of lactating dairy cows in hot weather. *J. Dairy Sci.* **67**, 574-584.
- Esslemont RJ, Kossaibati MA** (1996) Incidence of production diseases and other health problems in a group of dairy herds in England. *Vet. Rec.* **139**, 486-490.
- Fenwick DC** (1988) The relationship between certain blood cations in cows with milk fever and both the state of consciousness and position of cows when attended. *Aust. Vet. J.* **65**, 374-375.
- Fleischer P, Metzner M, Beyerbach M, Hoedemaker M, Klee W** (2001) The relationship between milk yield and the incidence of some diseases in dairy cows. *J. Dairy Sci.* **84**, 2025-2035.
- Frahm K, Graf F, Krausslich H** (1977) Enzymaktivitäten in Rinderorganen. *Zbl. Vet. Med. A*, **24**, 81-87
- Fredeen AH, DePeters EJ, Baldwin RL** (1988) Characterization of acid-base disturbances and effects on calcium and phosphorus balances of dietary fixed ions in pregnant or lactating does. *J. Anim. Sci.* **66**, 159-173.
- Fromm M, Hierholzer K** (2000) Niere: Calcium und Magnesium, Phosphat und Sulfat. in: Engelhardt WV, Breves G (Hrsg.): *Physiologie der Haustiere* 1. Auflage, Enke Verlag Stuttgart, 270-271.
- Fürll M, Jäkel L, Bauerfeld J, Groppe B** (1996) Gebärpareseprophylaxe mit "Anionenrationen". *Prakt. Tierarzt Coll. Vet.* **XXVI 77**, 31-34.
- Gelfert CC, Alpers I, Dallmeyer M, Decker M, Hüting A, Lesch S, Baumgartner W, Staufenbiel, R.** (2007a) Factors affecting the success rate of treatment in parturient dairy cows suffering from hypocalcaemia. *J. Vet. Med. A* **54**, 191-198.
- Gelfert CC, Dallmeyer M, Staufenbiel R** (2004a) Effekte einer zusätzlichen oralen Phosphorgabe auf den Behandlungserfolg festliegender Milchkuhe. *Prakt. Tierarzt* **85**, 116-124.
- Gelfert CC, Engel M, Männer K, Staufenbiel R** (2009a) Experimental studies on the effect of various anionic salts on ruminal fermentation of rumen-fistulated non-lactating non-pregnant cows. *New Zealand Vet. J.*, in press
- Gelfert CC, Goebbels M, Staufenbiel R** (2009b) Der Harn-pH-Wert aus Einzel- und Poolproben zur Überwachung des Einsatzes saurer Salze in Milchviehherden. *Tierärztl. Umschau* **64**, 231-235

- Gelfert CC, Hauser S, Löptien A, Montag N, Passmann M, Baumgartner W, Staufenbiel R** (2006a) Auswirkungen einer gleichzeitigen Gabe von sauren Salzen und Pansenpuffern auf den Säuren-Basen-Haushalt und Mineralstoffwechsel von Milchkühen. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. **119**, 244-250.
- Gelfert CC, Lesch S, Alpers I, Decker M, Hüting A, Baumgartner W, Staufenbiel R** (2005) Untersuchungen zum Auftreten der Gebärparese in verschiedenen Regionen Deutschlands und zum Einsatz unterschiedlicher Therapien im Vergleich zur Kalziuminfusion. 1. Klinische Symptome und Verhalten der Mengenelemente. Tierärztl. Praxis **33**, 411-418.
- Gelfert CC, Lesch S, Alpers I, Decker M, Hüting A, Baumgartner W, Staufenbiel R.** (2006b) Untersuchungen zum Auftreten der Gebärparese in verschiedenen Regionen Deutschlands und zum Einsatz unterschiedlicher Therapien im Vergleich zur Kalziuminfusion. 2. Differentialdiagnosen und Heilungserfolg. Tierärztl. Praxis **34 (G)**, 357-367.
- Gelfert CC, Loeffler SL, Frömer S, Engel M, Hartmann H, Männer K, Baumgartner W, Staufenbiel R** (2007b) The impact of dietary cation anion balance (DCAD) on the acid-base balance and calcium metabolism of dairy cows fed equal amounts of different anionic salts.. J. Dairy Res. **74**, 311-322.
- Gelfert CC, Loeffler SL, Frömer S, Engel M, Hartmann H, Männer K, Baumgartner W, Staufenbiel R** (2009c) Comparison of the impact of different anionic salts on the acid-base status and calcium metabolism in non-lactating, non-pregnant dairy cows. Vet. J. doi:10.1016/j.tvjl.2009.06.013
- Gelfert CC, Löptien A, Montag N, Baumgartner W, Staufenbiel R** (2006c) Influence of a prolonged period of feeding anionic salts on metabolism of dairy cows. Wien. Tierärztl. Mschr. **93**, 304-310.
- Gelfert CC, Löptien A, Montag N, Passmann M, Staufenbiel R** (2008a) Influence of energy content on acid-base balance in dairy cows fed anionic salts. Wien. Tierärztl. Mschr. **95**, 184-189
- Gelfert CC, Löptien A, Montag N, Staufenbiel R** (2009d) Duration of the effects of anionic salts on the acid base status in cows fed different anionic salts only once daily. Res. Vet. Sci. **86**, 529-532
- Gelfert CC, Passfeld M, Löptien A, Montag N, Staufenbiel R** (2006d) Experimental studies on the impact of an increased dose of anionic salts on the metabolism of dairy cows. Vet. Quart. **28**, 130-139.
- Gelfert CC, Staufenbiel R** (2008) The role of dietary calcium concentration in the use of anionic salts to prevent parturient paresis in dairy cows. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. **121**, 256-262.
- Gelfert CC, Zarrath M, Eustermann S, Staufenbiel R** (2004b) Überwachung des Einsatzes saurer Salze in Milchviehherden durch Futter- und Harnuntersuchungen. Prakt. Tierarzt **85**, 422-430.
- Giesy JG, Sanchez WK, McGuire MA, Higgins JJ, Griffel LA, Guy MA** (1997) Quantifying the relationship of dietary cation anion difference to blood calcium in cows during hypocalcemia. J. Dairy Sci. **80 (Suppl I)**, 142.

- Goff JP** (1999) Treatment of calcium, phosphorus, and magnesium balance disorders. *Vet. Clinics of North America: Food Anim. Pract.* **15**, 619-639.
- Goff JP** (2000) Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. *Vet. Clinics of North America: Food Anim. Pract.* **16**, 319-337.
- Goff JP** (2004) Macromineral disorders of the transition cow. *Vet. Clinics of North America: Food Anim. Pract.* **20**, 471-494.
- Goff JP (2007)** The etiology and prevention of milk fever and subclinical hypocalcemia. Proceedings of 13th International Conference "Production diseases in farm animals", Leipzig, 29.07-04.08.2007, 247-258.
- Goff JP** (2008) The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Vet. J.* **176**, 50-57.
- Goff JP, Horst RL** (1993) Oral administration of calcium salts for treatment of hypocalcaemia in cattle. *J. Dairy Sci.* **76**, 101-108.
- Goff J P, Horst RL** (1997) Effects of the addition of potassium or sodium but not calcium to prepartum rations on milk fever in dairy cows. *J. Dairy Sci.* **80**, 176-186.
- Goff JP, Horst RL** (1998) Use of hydrochloric acid as a source of anions for prevention of milk fever. *J. Dairy Sci.* **81**, 2874-2880.
- Goff JP, Brummer EC, Henning SJ, Doorenbos RK, Horst RL** (2007) Effect of application of ammonium chloride and calcium chloride on alfalfa cation-anion content and yield. *J. Dairy Sci.* **90**, 5159-5164.
- Goff JP, Horst RL, Mueller FJ, Miller JK, Kiess GA, Dowlen HH** (1991a) Addition of chloride to a prepartal diet high in cations increases 1,25-Dihydroxyvitamin D response to hypocalcaemia preventing milk fever. *J. Dairy Sci.* **74**, 3863-3871.
- Goff JP, Horst RL, Reinhardt TA** (1987) The pathophysiology and prevention of milk fever. *Vet. Med.* **82**, 943-950.
- Goff JP, Reinhardt TA, Horst RL** (1989) Recurring hypocalcemia of bovine parturient paresis is associated with failure to produce 1,25-dihydroxyvitamin D. *Endocrinology* **125**, 49-53.
- Goff JP, Reinhardt TA, Horst RL** (1991b) Enzymes and factors controlling vitamin D metabolism and action in normal and milk fever cows. *J. Dairy Sci.* **74**, 4022-4032.
- Goff JP, Reinhardt TA, Horst RL** (1995) Milk fever and dietary cation-anion-balance effects on concentration of vitamin D receptor in tissue of periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* **78**, 2388-2394.
- Goff JP, Ruiz R, Horst RL** (2004) Relative acidifying activity of anionic salts commonly used to prevent milk fever. *J. Dairy Sci.* **87**, 1245-1255.
- Goings RL, Jacobson NL, Beitz CD, Littledike ET, Wiggers KD** (1974) Prevention of parturient paresis by a prepartum, calcium-deficient diet. *J. Dairy Sci.* **57**, 1184-1187.

- Green HB, Horst RL, Beitz DC, Littledike ET** (1981) Vitamin D metabolites in plasma of cows fed a prepartum low-calcium diet for prevention of parturient hypocalcemia. *J. Dairy Sci.* **64**, 217-226.
- Greupner H, Rossow N, Goldstein S, Jacobi U, Kirchner K, Bethe W** (1977) Gebärpareseprophylaxe mit Ammoniumchlorid. *Mh. Vet.-Med.* **32**, 528-532.
- Gröhn YT, Rajala-Schultz PJ, Allore HG, DeLorenzo MA, Hertl JA, Gallican DT** (2003) Optimizing replacement of dairy cows: modeling the effects of diseases. *Prev. Vet. Med.* **61**, 27-43.
- Grünberg W, Constable P, Schröder U, Staufenbiel R, Morin D, Rohn M** (2005) Phosphorus homeostasis in dairy cows with abomasal displacement or abomasal volvulus. *J. Vet. Intern. Med.* **19**, 894-898.
- Gürtler H, Seidel H, Liebaug E** (1977) Prophylaxe der Gebärparese der Milchkuh durch Verabreichung hoher Dosen Vitamin D3. *Mh. Vet.-Med.* **32**, 664-668.
- Hallgren W** (1955) Studies on parturient paresis in dairy cows. *Nord. Vet. Med.* **7**, 433-463.
- Hallgren W** (1963) Das Problem "Gebärparese". *Wien. Tierärztl. Mschr.* **50**, 965-971.
- Hansen SS, Ersboll AK, Blom JY, Jorgensen RJ** (2007) Preventive strategies and risk factors for milk fever in Danish dairy herds: a questionnaire survey. *Prev. Vet. Med.* **80**, 271-286.
- Hapke HJ** (1974) Akute Störwirkungen der Kalzium-Therapie bei Rindern. *Tierärztl. Praxis* **2**, 257-262.
- Hapke HJ, Dubowy M, Frank I** (1994) verzögerte Kalziumwirkungen. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* **101**, 138-187.
- Hartmann H, Bandt C** (2000) Pathophysiologische Mechanismen der Kalzium- und Magnesiumhomöostase sowie Bedeutung der renalen Exkretion für die Diagnostik von Elektrolytimbalancen beim Rind. *Tierärztl. Praxis* **28 (G)**, 190-198.
- Hartmann H, Bandt C, Glatzel S** (2001) Einfluss wechselnder oraler Mineralstoffzufuhr auf die Nierenfunktion einschließlich renaler fraktioneller Exkretion von Ca, Mg und Phosphat bei Kühen. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* **117**, 267-272.
- Hesters NL, Fleming SA** (2002) Calcium and phosphorus homeostasis. In: Bradford P. Smith Large animal internal medicine 1. Aufl., Mosby, Inc, London, New York, 1248-1254.
- Hierholzer K, Fromm M** (1987) Physiologie der Niere - Wasser- und Elektrolythaushalt. in: Scheunert A, Trautmann A (Hrsg.): Lehrbuch der Physiologie 7. Auflage, Parey Verlag Berlin Hamburg, 408-140.
- Hoenderop JGJ, Bindels RJM** (2007) Calcitropic and magnesiotropic TRP channels. *Physiology* **23**, 32-40.
- Hofmann W, El Amrousi S** (1970) Untersuchungen über das Festliegen der Rinder 2. Mitteilung: Klinik und blutchemische Befunde festliegender Kühe. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* **77**, 73-76.

- Hofmann W, El Amrousi S** (1971) Untersuchungen über das Festliegen der Rinder 5. Mitteilung: Versuch einer medikamentösen Beeinflussung der Hypophosphatämie und des Festliegens bei atypischer Gebärdparese. Dtsch. Tierärztl. Wschr. **78**, 156-159.
- Höller H, Breves G, Kocabatmaz M, Gerdes H** (1988) Flux of calcium across the sheep rumen wall in vivo and in vitro. Q. J. Exp. Physiol. **73**, 603-618.
- Horst RL** (1986) Regulation of calcium and phosphorus homeostatics in the dairy cow. J. Dairy Sci. **69**, 604-616.
- Horst RL, Eisman JA, Jorgensen NA, DeLuca HF** (1977) Adequate response of plasma 1,25-dihydroxyvitamin D to parturition in paretic (milk fever) dairy cows. Science **196**, 662.
- Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA** (1990) Advancing age results in reduction of intestinal and bone 1,25-dihydroxyvitamin D receptor. Endocrinology **126**, 1053-.
- Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA** (1994) Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow. J. Dairy Sci. **77**, 1936-1951.
- Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA, Buxton DR** (1997) Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. J. Dairy Sci. **80**, 1269-1280.
- Houe H, Ostergaard S, Thilising-Hansen T, Jorgensen RJ, Larsen T, Sorensen JT, Agger JF, Blom JY** (2001) Milk fever and subclinical hypocalcaemia - an evaluation of parameters on incidence risk, diagnosis, risk factors and biological effects as input for a decision support system for disease control. Acta vet. Scand. **42**, 1-29.
- Husband JA, Green MJ, Jonsson NN** (2002) The effect of feeding anionic salts on urine pH. Cattle Pract. **10**, 113-117.
- Jardon PW** (1995) Using urine pH to monitor anionic salt programs. Comp. Cont. Education, **17**, 860-862.
- Jönsson G, Pherson B** (1969) Studies on the Downer Syndrome in Dairy Cows. Zbl. Vet. Med. A **16**, 757-784.
- Kamiya Y, Kamiya M, Tanaka M, Shioya S** (2005) Effects of calcium intake and parity on plasma minerals and bone turnover around parturition. Anim. Sci. J. **76**, 325-330.
- Kichura TS, Horst RL, Beitz DC, Littledike ET** (1982) Relationship between prepartal calcium and phosphorus, vitamin D metabolism and parturient paresis in dairy cows. J. Nutr. **112**, 480-487.
- Kolb E** (1989) Physiologie der Haustiere. Gustav Fischer Verlag Jena **1. Auflage**, 567-570.
- Kraft W, Dürr UM** (2005) Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. Schattauer Verlag, Stuttgart.
- Kutas F** (1965) Determination of net-acid-base excretion in the urine of cattle. Acta vet. Acad. Sci. Hung. **15**, 147-153.
- Lachmann G** (1981) Ätiologie, Pathogenese, Diagnostik, Therapie und Prophylaxe der alimentären Azidose des Rinder. Dissertation zur Promotion B, Universität Leipzig

- Larsson L, Björnsell KA, Kwart C, Öhmann S** (1983) Clinical signs and serum ionized calcium in parturient paretic cows. *Zdl. Vet. Med.* **A 30**, 401-409.
- Lean IJ, DeGaris PJ, McNeil DM, Block E** (2006) Hypocalcemia in dairy cows: Meta-analysis and dietary cation anion difference theory revisited. *J. Dairy Sci.* **89**, 669-684.
- Leonhard-Marek S, Becker G, Breves G, Schröder B** (2007) Chloride, gluconate, sulfate, and short-chain fatty acids affect calcium flux rates across the sheep forestomach epithelium. *J. Dairy Sci.* **90**, 1516-1526.
- Liesegang A** (2000) Anwendung von Knochenmarkern in der Veterinärmedizin. Schweiz. Arch. Tierheilk. **142**, 613-623
- Liesegang A, Chiappi C, Ristelli J, Kessler J, Hess HD** (2007) Influence of different calcium contents in diets supplemented with anionic salts on bone metabolism in periparturient dairy cows. *J. Anim. Physiology and Anim. Nutrition* **91**, 102-129.
- Liesegang A, Sassi ML, Ristelli J, Eicher L, Wanner M, Riond JL** (1998) Comparison of bone resorption markers during hypocalcaemia in dairy cows. *J. Dairy Sci.* **81**, 2614-2622.
- Little WL, Mattick ECV** (1933) The calcium content of cows blood II (a) calcium in the blood of parturient heifers. (b) Effect of injection of parathyroid extract, irradiation etc. (c) Some case reports of milk fever. *Vet. Rec.* **13**, 1091-1097.
- Littledike ET, Horst RL** (1980) Problems with Vitamin-D injections for prevention of milk fever - toxicity of large doses and increased incidence with small doses. *J. Dairy Sci.* **63**, Suppl. 89-89.
- Littledike ET, Horst RL** (1982) Vitamin D₃ toxicity in dairy cows. *J Dairy Sci* **65**, 749-759.
- Lomba F, Chauvaux G, Teller E, Lengele L, Bienfet V** (1978) Calcium digestibility in cows as influenced by the excess of alkaline ions over stable acid ions in their diet. *Br. J. Nutr.* **39**, 425-429.
- Lotspeich WD** (1967) Metabolic aspects of acid-base change. *Science* **155**, 1066-1075.
- Lunn DP, McGuirk SM** (1990) Renal regulation of electrolyte and acid-base balance in ruminants. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* **6**, 1-28.
- Malz C, Meyer C** (1992) Neue Aspekte zur Pathogenese und Therapie der hypocalcämischen Gebärgparese. *Prakt. Tierarzt* **73**, 507-515.
- Martig J** (2002) Hypokalzämische Gebärlähmung.. In: G. Dirksen; H. D. Gründer u. M. Stöber (Hrsg.): *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*, 4. Aufl. Blackwell Verlag Berlin, Wien, 1245-1254.
- Massey DC, Wang C, Donovan GA, Beede DK** (1993) Hypocalcemia at parturition as a risk factor for left displacement of the abomasum in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **203**, 822-883.
- Mayer GP, Blum JW, Deftos LJ** (1975) Diminished prepartal calcitonin concentration in cows developing parturient hypocalcemia. *Endocrinology* **96**, 1478-1485.

Metzner M, Klee W (2005) Klinische Befunde und Serumparameter bei festliegenden Kühen unter besonderer Berücksichtigung der Serumphosphorkonzentrationen. *Tierärztl. Umschau* **60**, 13-22.

Meyer H, Dahms L (1969) Statistische Erhebungen zum Vorkommen der hypokalzämischen Gebärlähmung in deutschen Rinderrassen. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* **76**, 504-509.

Moore EW (1970) Ionized calcium in normal serum, ultrafiltrates, and whole blood determined by ion-exchange electrodes. *J. clin. Invest.* **49**, 318-334.

Moore S J, van de Haar MJ, Sharma BK, Pilbeam TE, Beede DK, Bucholtz HF, Liesman JS, Horst RL, Goff JP (1997) Varying dietary cation anion difference (DCAD) for cattle before calving. *J. Dairy Sci.* **80 (Suppl I)**, 170.

Oetzel GR (1988) Parturient paresis and hypocalcemia in ruminant livestock. *Vet. Clinics of North America: Food Anim. Pract.* **4**, 351-364.

Oetzel GR (1991) Meta-Analysis of nutritional risk factors for milk fever in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* **74**, 3900-3912.

Oetzel GR (1993) Use of anionicsalts for prevention of milk fever in dairy cattle. *Comp. Cont. Education* **15**, 1138-1147.

Oetzel GR (2002) The dietary cation-anion difference concept in dairy cattle nutrition: possibilities and pitfalls. Recent developments and perspectives in bovine medicine. Kaske M, Schloz H. Höltershinken M. (Eds.). Hildesheim, 198-208.

Oetzel GR, Barmore JA (1993) Intake of a concentrate mixture containing various anionic salts fed to pregnant, non lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* **76**, 1617-1623.

Oetzel GR, Fettman MJ, Hamar DW, Olson JD (1991) Screening of anionic salts for palatability, effect on acid-base-status, and urinary calcium excretion in dairy cows. *J. Dairy Sci.* **74**, 965-971.

Oetzel H, Liebetrau R, Schröter J, Seidel H, Steitz G (1977) Verlaufsuntersuchungen bei akuten Mineralstoffwechselstörungen der Milchkuh nach der Therapie mit Kalzium- und Magnesium-Infusionslösungen sowie nach Einsatz von Vitamin D3. *Mh. Vet.-Med.* **32**, 661-664.

Oetzel GR, Olson JD, Curtis CR, Fettman MJ (1988) Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* **71**, 3302-3309.

Okura N, Yamagishi N, Naito Y, Koiwa M (2007) Dose response to vaginal administration of 1,25-dihydroxyvitamin D3 to cows. *Vet. J.* **174**, 203-205.

Pallesen A, Pallesen F, Jorgensen RJ, Thilsing T (2008) Effect of pre-calving zeolite, magnesium and phosphorus supplementation on periparturient serum mineral concentrations. *Vet. J.* **175**, 234-239.

Penner GB, Tremblay GF, Dow T, Oba M (2008) Timothy hay with a low dietary cation-anion difference improves calcium homeostasis in periparturient Holstein cows. *J. Dairy Sci.* **91**, 1959-1968.

Peterson AB, Orth MW, Goff JP, Beede DK (2005) Periparturient responses of multiparous Holstein cows fed different dietary phosphorus concentrations prepartum. *J. Dairy Sci.* **88**, 3582-3594.

Phelps M, House J (2001) The other side of DCAD: health problems associated with feeding anionic rations. *Proc. 19th ACVIM*, 315-317.

Radostits OM, Gay CG, Blood DC, Hinchcliff KW (2000) Parturient paresis (milk fever).. In: Radostits. O. M., Gay, C. G., Blood, D. C., Hinchcliff, K. W. *Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses.* 9th Ed. W.B. Saunders, London, 1420-1435.

Rajala PJ, Gröhn YT (1998) Disease occurrence and risk factors analysis in Finnish Ayrshire cows. *Acta vet. Scand.* **39**, 1-13.

Ram L, Schonewille JT, Martens H, Van't Klooster AT, Beynen AC (1998) Magnesium absorption by wethers fed potassium bicarbonate in combination with different dietary magnesium concentrations. *J. Dairy Sci.* **81**, 2485-2492.

Reinhardt TA, Horst RL, Goff JP (1988) Calcium, phosphorus, and magnesium homeostasis in ruminants. *Vet. Clinics of North America: Food Anim. Pract.* **4**, 331-350.

Robertson A, Marr A, Moodie EW (1956) Milk fever. *Vet. Rec.* **68**, 173-180.

Roche JR, Dailey D, Moate P, Grainger C, Rath M, O'Mara F (2003) Dietary Cation-Anion Difference and the health and production of pasture-fed dairy cows. 2. Nonlactating periparturient cows. *J. Dairy Sci.* **86**, 979-987.

Roche JR, Dalley DE, O'Mara FP (2007) Effect of a metabolically created systemic acidosis on calcium homeostasis and the diurnal variation in urine pH in the non-lactating dairy cow. *J. Dairy Res.* **74**, 34-39.

Roche JR, Morton J, Kolver ES (2002) Sulfur and chlorine play a non-acid role in periparturient calcium homeostasis. *J. Dairy Sci.* **85**, 3444-3453.

Rodehutsord MA, Pauen A, Windhausen P, Brintrup R, Pfeffer E. (1994) Effects of drastic changes in P intake on P concentrations in blood and rumen fluid of lactating ruminants. *J. Vet. Med. A*, **41**, 61-69.

Rodriguez LA, Pilbeam TE, Beede DK (1997) Effects of dietary anion source and calcium concentration on dry matter intake and acid-base status of nonlactating, nonpregnant Holstein cows. *J. Dairy Sci.* **80** (Suppl I), 241.

Rossow N, Ehrentraut W, Furcht G (1989) Stoffwechselüberwachung bei landwirtschaftlichen Nutztieren - Stand und Perspektiven in der DDR. *Mh. Vet.-Med.* **44**, 145-148.

Scharrer E, Wolfram S (2000) Funktionen des Dünndarms und seiner Anhangsdrüsen. in: Engelhardt WV, Breves G (Hrsg.): *Physiologie der Haustiere* 1. Auflage, Enke Verlag Stuttgart, 369-393.

Schonewille JT, van't Klooster AT, Beynen AC (1994) The addition of extra calcium to a chloride rich ration does not affect the absolute amount of calcium absorbed by non-pregnant, dry cows. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* **72**, 272-280.

- Schröder B, Breves G** (2007) Mechanisms and regulation of calcium absorption from the gastrointestinal tract in pigs and ruminants: comparative aspects with special emphasis on hypocalcaemia in dairy cows. *Anim. Health Res. Rev.* **7**, 31-41.
- Schültken A, Moll G** (1998) Effizienz einer oralen Prophylaxe der hypocalcämischen Gebärparese mit der CaCl₂-Öl-Emulsion Calol® in der Praxis. *Prakt. Tierarzt* **79**, 150-161.
- Seifi HA, Mohri M, Zadeh JK** (2004) Use of prepartum urine pH to predict the risk of milk fever in dairy cows. *Vet. J.* **167**, 281-285.
- Shappell NW, Herbein MH, Deftos LJ et al.** (1987) Effects of dietary calcium and age on parathyroid hormone, calcitonin and serum and milk minerals in the periparturient dairy cow. *J. Nutr.* **117**, 201-207.
- Shpigel NY, Avidar Y, Bogin E** (2003) Value of measurements of the serum activities of creatine phosphokinase, aspartate aminotransferase and lactate dehydrogenase for predicting whether recumbent dairy cows will recover. *Vet. Rec.* **152**, 773-776.
- Siegwart N, Niederer K** (2005) Retrospektive Studie über den Einfluss des Kalzium- und Phosphatblutwertes auf den Therapieerfolg bei festliegenden Kühen. *Tierärztl. Umschau* **60**, 352-355.
- Sitzenstock A** (2003) Auswirkungen eines differenten Geburtsgeschehen bei Fleischrindern auf partalrelevante Parameter im peripheren Blut. Dissertation, Justus-Liebig-Universität Giessen
- Sjollema B** (1929) Wesen und Therapie der Paresis puerperalis und der Symptomengruppe, die damit verwandt ist. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* **37**, 17-24.
- Sklan D, Hurwitz S** (1985) Movement and absorption of major minerals and water in ovine gastrointestinal tract. *J. Dairy Sci.* **68**, 1659-1666.
- Staufenbiel R** (2000) Prophylaxe der Gebärparese Teil II. *Veterinärspiegel* **2000/1**, 58-61.
- Stewart PA** (1978) Independent and dependent variables of acid-base control. *Respiration Physiology* **33**, 9-26.
- Stolla R, Schulz H, Martin R** (2000) Veränderungen im Krankheitsbild des peripartalen Festliegens beim Rind. *Tierärztl. Umschau* **55**, 295-299.
- Takagi H, Block E** (1991) Effects of reducing dietary cation-anion balance on calcium kinetics in sheep. *J. Dairy Sci.* **74**, 4225-4237.
- Taylor MS, Knowlton KF, McGillard ML, Seymour WM, Herbein JH** (2008) Blood mineral, hormone, and osteocalcin responses of multiparous jersey cows to an oral dose of 25-hydroxyvitamin D₃ or vitamin D₃ before parturition. *J. Dairy Sci.* **91**, 2408-2416.
- Thilsing T, Larsen T, Jorgensen RJ, Houe H** (2007) The effect of dietary calcium and phosphorus supplementation in Zeolite A treated dry cows on periparturient calcium and phosphorus homeostasis. *J. Vet. Med. A* **54**, 82-91.
- Thilsing-Hansen T, Jorgensen RJ** (2001) Hot topic: prevention of parturient paresis and subclinical hypocalcemia in dairy cows by Zeolite A administration in the dry period. *J. Dairy Sci.* **84**, 691-693.

- Tucker WB, Harrison GA, Hemken RW** (1988a) Influence of dietary cation-anion balance on milk, blood, urea and rumen fluid in lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.* **71**, 346-354.
- Tucker WB, Hogue JF, Adams GD, Aslam M, Stim IS, Morgan G** (1992) Influence of dietary cation-anion balance during the dry period on the occurrence of parturient paresis in cows fed excess calcium. *J. Anim. Sci.* **70**, 1238-1250.
- Tucker WB, Hogue JF, Waterman DF, Swenson TS, Xin Z, Hemken RW, Jackson JA, Adams GD, Spicer LJ** (1991a) Role of sulfur or chloride in the dietary cation-anion balance equation for lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.* **69**, 1205-1213.
- Tucker WR, Xin Z, Hemken RW** (1988b) Influence of dietary calcium chloride on adaptive changes in acid-base status and mineral metabolism in lactating dairy cows fed a diet high in sodium bicarbonate. *J. Dairy Sci.* **71**, 1587-1597.
- Tucker WR, Xin Z, Hemken RW** (1991b) Influence of calcium chloride on systemic acid-base status and calcium metabolism in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* **74**, 1401-1407.
- Vagg MJ, Payne JM** (1970) The effect of ammonium chloride induced acidosis on calcium metabolism in ruminants. *Br. Vet. J.* **126**, 531-537.
- Vagnoni DB, Oetzel GR** (1998) Effects of dietary cation-anion difference on the acid-base status of dry cows. *J. Dairy Sci.* **81**, 1643-1652.
- Valk H, Sebek LBJ, Van't Klooster AT, Jonblood AW** (1999) Clinical aspects of feeding low dietary phosphorus levels to high yielding dairy cows. *Vet. Rec.* **145**, 673-674.
- Wang C, Beede DK** (1992) Effects of diet magnesium on acid-base status and calcium metabolism of dry cows fed acidogenic salts. *J. Dairy Sci.* **75**, 829-836.
- Whiteford LC, Sheldon IM** (2005) Association between clinical hypocalcaemia and postpartum endometritis. *Vet. Rec.* **157**, 202-204.
- Wilde D** (2006) Influence of macro and micro minerals in the peri-parturient period on fertility in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* **96**, 240-249.
- Zepperitz H** (1990) Untersuchungen zur klinischen und klinisch-chemischen Diagnostik der Gebärparese. *Mh. Vet.-Med.* **45**, 859-864.
- Zepperitz H, Grün E** (1993) Hat die Verabreichung von Derivaten des Vitamin D an hochträchtige Milchkühe zur Prophylaxe der Gebärparese Auswirkungen auf den maternal-fetalen Mineralstoffwechsel? *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* **106**, 189-194.
- Zepperitz H, Gürtler H, Schäfer M, Glatzel E** (1994) Einfluss einer Prophylaxe der Gebärparese mit 1 α -Hydroxycholecalciferol auf die Konzentrationen an ionisiertem Calcium im Blut und weiteren Mineralstoffen im Blutplasma bei der Milchkuh. *Mh. Vet.-Med.* **49**, 13-21.
- Zepperitz H, Schäfer M** (1991) Vergleichende Untersuchungen zur Prophylaxe der Gebärparese mit Vitamin D₃ und unterschiedlichen Dosen von 1- α -Hydroxycholecalciferol allein oder in Kombination mit 25-Hydroxycholecalciferol. *Mh. Vet.-Med.* **46**, 395-401.

2. Teil

Zusammenstellung der bereits publizierten eigenen wissenschaftlichen Beiträge

2.1. Anteile des Habilitanden an den Studien

Gelfert CC, Lesch S, Alpers I, Decker M, Hüting A, Baumgartner W, Staufenbiel R

(2005) Untersuchungen zum Auftreten der Gebärpause in verschiedenen Regionen Deutschlands und zum Einsatz unterschiedlicher Therapien im Vergleich zur Kalziuminfusion. 1. Klinische Symptome und Verhalten der Mengenelemente. Tierärztl. Praxis **33**, 411-418.

Idee und Versuchsplanung: Gelfert

Versuchsdurchführung: Gelfert, Alpers, Decker, Hüting, Lesch

Auswertung: Gelfert

Manuskript: Gelfert

Gelfert CC, Lesch S, Alpers I, Decker M, Hüting A, Baumgartner W, Staufenbiel R

(2006) Untersuchungen zum Auftreten der Gebärpause in verschiedenen Regionen Deutschlands und zum Einsatz unterschiedlicher Therapien im Vergleich zur Kalziuminfusion. 2. Differentialdiagnosen und Heilungserfolg. Tierärztl. Praxis **34 (G)**, 357-367.

Idee und Versuchsplanung: Gelfert

Versuchsdurchführung: Gelfert, Alpers, Decker, Hüting, Lesch

Auswertung: Gelfert

Manuskript: Gelfert

Gelfert CC, Alpers I, Dallmeyer M, Decker M, Hüting A, Lesch S, Baumgartner W, Staufenbiel R

(2007) Factors affecting the success rate of treatment in parturient dairy cows suffering from hypocalcaemia. J. Vet. Med. A **54**, 191-198.

Idee und Versuchsplanung: Gelfert

Versuchsdurchführung: Gelfert, Alpers, Dallmeyer, Decker, Hüting, Lesch

Auswertung: Gelfert

Manuskript: Gelfert

Gelfert CC, Loeffler SL, Frömer S, Engel M, Hartmann H, Männer K, Baumgartner W, Staufenbiel R (2007) The impact of dietary cation anion balance (DCAD) on the acid-base balance and calcium metabolism of dairy cows fed equal amounts of different anionic salts. *J. Dairy Res.* **74**, 311-322.

Idee und Versuchsplanung: Gelfert, Staufenbiel, Hartmann, Männer
Versuchsdurchführung: Engel, Loeffler, Frömer
Auswertung: Gelfert
Manuskript: Gelfert

Gelfert CC, Loeffler SL, Frömer S, Engel M, Männer K, Baumgartner W, Staufenbiel R (2009) Comparison of the impact of different anionic salts on the acid-base status and calcium metabolism in non-lactating, non-pregnant dairy cows.

Vet. J. 185, 305-309

Idee und Versuchsplanung: Gelfert, Staufenbiel, Hartmann, Männer
Versuchsdurchführung: Engel, Loeffler, Frömer
Auswertung: Gelfert
Manuskript: Gelfert

Gelfert CC, Engel M, Männer K, Staufenbiel R (2009)

The effect of various anionic salts on ruminal pH and short-chain fatty acids in non-pregnant and non-lactating cows.

New Zealand Vet. J. 57, 225-228

Idee und Versuchsplanung: Gelfert, Staufenbiel, Männer
Versuchsdurchführung: Engel, Loeffler, Frömer
Auswertung: Gelfert
Manuskript: Gelfert

Gelfert CC, Löptien A, Montag N, Baumgartner W, Staufenbiel R (2006) Impact of a prolonged period of feeding anionic salts on metabolism of dairy cows. *Wien. Tierärztl. Mschr.* **93**, 304-310.

Idee und Versuchsplanung: Gelfert, Staufenbiel
Versuchsdurchführung: Löptien, Montag, Passfeld
Auswertung: Gelfert
Manuskript: Gelfert

Gelfert CC, Löptien A, Montag N, Passmann M, Staufenbiel R (2008) The impact of energy deficiency on the effects of anionic salts on the acid-base status of dairy cows. Wien. Tierärztl. Mschr. **95**, 184-189

Idee und Versuchsplanung: Gelfert, Staufenbiel
Versuchsdurchführung: Löptien, Montag, Passfeld
Auswertung: Gelfert
Manuskript: Gelfert

Gelfert CC, Passfeld M, Löptien A, Montag N, Staufenbiel R (2006) Experimental studies on the impact of an increased dose of anionic salts on the metabolism of dairy cows. Vet. Quart. **28**, 130-139.

Idee und Versuchsplanung: Gelfert, Staufenbiel
Versuchsdurchführung: Löptien, Montag, Passfeld
Auswertung: Gelfert
Manuskript: Gelfert

Gelfert CC, Hauser S, Löptien A, Montag N, Passmann M, Baumgartner W, Staufenbiel R (2006) Auswirkungen einer gleichzeitigen Gabe von sauren Salzen und Pansenpuffern auf den Säuren-Basen-Haushalt und Mineralstoffwechsel von Milchkühen. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. **119**, 244-250.

Idee und Versuchsplanung: Gelfert, Staufenbiel
Versuchsdurchführung: Löptien, Montag, Passmann
Auswertung: Gelfert
Manuskript: Gelfert, Hauser

Gelfert CC, Löptien A, Montag N, Staufenbiel R (2009) Duration of the effects of anionic salts on the acid base status in cows fed different anionic salts only once daily. Res. Vet. Sci. **86**, 529-532.

Idee und Versuchsplanung: Gelfert, Staufenbiel
Versuchsdurchführung: Löptien, Montag
Auswertung: Gelfert
Manuskript: Gelfert

2.2.

Untersuchungen zum Auftreten der Gebärparese in verschiedenen Regionen
Deutschlands und zum Einsatz unterschiedlicher Therapien
im Vergleich zur Kalziuminfusion

1. Klinische Symptome und Verhalten der Mengenelemente

Gelfert, Carl-Christian, Stefanie Lesch, Ingo Alpers, Mareike Decker, André Hüting,
Walter Baumgartner und Rudolf Staufenberg

Erschienen in:

Tierärztliche Praxis 33 (G), 411-418 (2005)

Dieser Artikel ist nicht genau identisch mit dem Original, das in (Tierärztl. Praxis **33**)
veröffentlicht wurde. Die überarbeitete und veröffentlichte Version von
(Schattauer Verlag 2005, Tierärztl. Praxis **33**, 411-418) ist online unter
(www.schattauer.de/de/magazine/uebersicht/zeitschriften-a-z/tieraerztliche-praxis-grosstiere.html)
erhältlich.

Zusammenfassung

Mit der Studie wurde das Auftreten der Gebärparese bei Milchkühen in verschiedenen Regionen Deutschlands untersucht. Im jeweiligen Einzugsgebiet von vier Tierarztpraxen (A - D) wurde für ein Jahr das Auftreten der Gebärparese bei Milchkühen beobachtet. Nach einer eingehenden Anamnese wurde jede festliegende Kuh klinisch untersucht. Vor jeder Therapie wurden eine Serumblutprobe genommen und die Konzentrationen von Kalzium, Phosphor und Magnesium bestimmt. Die Gebärparese trat in allen Regionen bei Kühen ab einem Alter von vier Jahren auf und bestätigt den Trend in der Altersentwicklung früherer Untersuchungen. In Praxis B in Nordniedersachsen gab es auffallend mehr Tiere mit einem gestörten Sensorium (88,0%) als in den anderen Praxen (15,2-21,0%). Entsprechend traten in dieser Praxis auch mehr festliegende Tiere mit Untertemperatur auf (40,0%). In Praxis A in Baden-Württemberg unterschieden sich die Fleckviehkühe (FV) von den Holstein-Friesian-Kühen (HF). Bei HF-Kühen waren vermehrt eine Untertemperatur ($p=0,0035$) und eine kühlere Körperoberfläche ($p=0,001$) festzustellen als bei FV-Kühen. HF-Kühe (74,6%) hatten häufiger ($p=0,006$) einen kombinierten Abfall der Kalzium- und Phosphorkonzentrationen im Serum als FV-Kühe (54,2%). Außerdem wiesen in dieser Praxis HF-Kühe statistisch gesichert niedrigere Kalzium- ($p=0,001$) und Phosphorwerte ($p=0,015$) auf. Festliegende Kühe, die nur einen erniedrigten Phosphorspiegel aufwiesen, waren in den drei norddeutschen Praxen (B-D) in weit geringerem Ausmaße zu finden als in Praxis A. Die Gebärparese tritt zunehmend bei jüngeren Tieren auf. Dies kann auf die züchterische Fixierung auf eine hohe Milchleistung zurückzuführen sein. Bei 80 % aller Kühe konnte ein deutlich verminderter Kalziumspiegel festgestellt werden. Damit ist eine Hypokalzämie immer noch die Hauptursache für das Festliegen von Milchkühen im peripartalen Zeitraum.

Summary

The aim of the study was to investigate the occurrence of parturient paresis (PP) in different regions in Germany. In four veterinary practices (A-D) in different regions of Germany, all cows which became recumbent around parturition were included in the study for a period of one year. After recording the case history all animals were clinically examined. Before treatment a blood serum sample was taken from the jugular vein to measure the concentrations of calcium, phosphorus and magnesium. In any of the involved regions, PP occurred mainly in cattle aged four to six years. This confirmed the results of previous studies, that more and more young cows run the risk of PP. In practice B in North-Lower-Saxony, the majority of the recumbent cows (80%) had a disturbed sensorium, which was contrary to the other practices (15.2-21%). In practice B, more cows (40%) had a low body temperature than in the other practises (7.6-19.4%). In practice A, the frequency of some clinical symptoms differed between Holstein-Friesian (HF) cows and Simmental (S) cows. More HF-cows had a low body temperature and a reduced temperature of the body surface than S-cows. In HF-cows, calcium- ($p=0,001$) and phosphorus-concentrations ($p=0,015$) in serum were lower than in S-Cows. Therefore more HF-Cows suffered from PP-Type I (low calcium- and phosphorus-levels) than S-cows ($p=0,006$). Compared to the practices B-D more cows were found which had only reduced phosphorus levels in practice A. PP occurred more and more in younger cows which might be a result of the increased milk yield due to breeding programmes. In 80% of all cows, a low calcium level was found. Hypocalcaemia is still the major cause that dairy cows become recumbent in peripartal period.

Einleitung

Die Gebärparese ist nach wie vor eine der Haupterkrankungen der Milchkuh im peripartalen Zeitraum (9, 22, 30). Die ihr zugrunde liegende Störung im Kalziumstoffwechsel führt zu einer Minderversorgung der glatten und quergestreiften Muskulatur, infolgedessen die Kuh ihr Stehvermögen verliert. Weitere klinische Erscheinungen sind eine herabgesetzte Verdauung und ein gestörtes Sensorium, welches in seiner Ausprägung bis zum Koma reichen kann. Nachdem als Ursache eine Störung im Kalziumstoffwechsel erkannt wurde, konnten entsprechende Therapien entwickelt und mit Erfolg etabliert werden (23). Andererseits gab es immer wieder Berichte über ein Versagen der Therapie und über eine Veränderung der klinischen Symptome (5, 6, 28). Gemeinsam war diesen Berichten, dass die Kühe bei ungestörtem Allgemeinbefinden festlagen, die Fresslust erhalten und das Sensorium nicht gestört waren (13). Bei solchen Patienten war in der Mehrheit der Fälle eine einmalige Kalziuminfusion zur Heilung des Tieres nicht ausreichend (6). Blutuntersuchungen ergaben, dass bei solchen Tieren der Phosphorgehalt unter den Normwerten lag (3, 5, 6, 13, 23). Dies führte zur Einteilung der Gebärparese in die typische Form (Kalziummangel) und die atypische Form (Phosphormangel). Weitere Untersuchungen (6) führten zu einer Einteilung festliegender Tiere in fünf Gebärparese-Typen (GP-Typ) entsprechend der vorgefundenen Veränderungen in den Kalzium-, Phosphor- und Magnesiumkonzentrationen (Tabelle 1).

Daneben besteht im englischsprachigen Raum eine Einteilung der Gebärparese in drei klinische Stadien (21). Bei dieser Einteilung ist es weniger entscheidend, ob die Konzentrationen an Phosphor und Kalzium im Blut vermindert sind. Es wird vielmehr davon ausgegangen, dass mit Zunahme der klinischen Erscheinungen der Abfall in den Serumkonzentrationen der beiden Elemente umso stärker ausfällt (16). Die unterschiedlichen Formen der Gebärparese nur anhand der klinischen Symptome zu unterscheiden, gelingt trotz einer sorgfältigen klinischen Untersuchung oft nicht (6). Ebenso ist es nicht immer möglich, die wichtigsten Differentialdiagnosen nur anhand des klinischen Bildes auszuschließen. So bleibt für den Praktiker das Problem, dass er anhand des klinischen Bildes nur eine Verdachtsdiagnose stellen kann, die er aufgrund eines Therapieerfolges oder durch Blutuntersuchungen nachfolgend bestätigt.

Die Novellierung des Arzneimittelgesetzes führte zu einer strikteren Handhabung von Arzneien beim Lebensmittel liefernden Tier und zu Engpässen in der Therapie z.B. einer Hypophosphatämie beim Rind. Wirksame Verfahren sind nicht mehr erlaubt oder führen jetzt durch Umwidmung zu Wartezeiten auf Milch und Fleisch, die vorher nicht bestanden haben. Für das Rind zugelassene Präparate enthalten Phosphor in nur geringen Mengen oder in für das Tier nicht verwertbaren chemischen Verbindungen (14, 25, 26). Aufkommende Zweifel hinsichtlich der pathophysiologischen Rolle des Phosphors beim Festliegen führten zu neuerlichen Untersuchungen zum Auftreten der Gebärparese in ihren verschiedenen Formen (12). Es stellte sich heraus, dass ein zu testendes Phosphorpräparat keine Verbesserung des Therapieerfolges gegenüber einer alleinigen Kalziuminfusion brachte. Dies traf selbst auf die festliegenden Kühe zu, bei denen nur die Phosphorkonzentrationen im Blut erniedrigt waren. Da solche Untersuchungen in der Praxis die Gefahr der „regionalen Spezialität“ mit sich führen, wurden weitergehende Projekte durchgeführt, die in verschiedenen Teilen Deutschlands stattfanden. Mit ihnen sollte überprüft werden, welche Faktoren zum Festliegen der Kuh führen und wie sich die Kalzium- und Phosphorkonzentrationen im Blut verhalten.

2.2. Untersuchungen zum Auftreten der Gebärparese in verschiedenen Regionen ...

Tabelle 1: Einteilung der Gebärparese-Typen anhand der Kalzium-, Phosphor- und Magnesiumkonzentrationen (6)

Gebärparese-Typ	Ca	P	Mg	6	Literaturquelle		
					13	28	1
Häufigkeiten in %							
Typ I	↓	↓	→	52,6	48,5	64,4	48,0
Typ II	↓	→	→	12,1	4,9	1,0	21,0
Typ III	→	↓	→	13,7	21,0	28,7	26,0
Typ IV	→	→	↓	14,9			
Typ V	→	→	→	6,7	24,7 ¹	5,9 ¹	5,0 ¹

↓: erniedrigt; →: im Normalbereich; ¹: Magnesiumkonzentrationen wurden nicht gemessen

In einem zweiten Untersuchungsansatz wurden verschiedene Therapieformen der klassischen Therapie einer Kalziuminfusion gegenüber gestellt. Hierbei stand vor allem die Phosphorversorgung der Milchkuh im Vordergrund, um eine bessere Aussage zur Rolle des Phosphors in der Gebärparese zu erhalten. Im ersten Teil dieser Artikelserie werden die erhobenen klinischen und serologischen Befunde von festliegenden Kühen in den vier Regionen Deutschlands dargestellt. Der zweite Teil behandelt die Differentialdiagnosen und die Faktoren, welche den Heilungserfolg beeinflussen.

Material und Methoden

Die Untersuchungen fanden im Einzugsbereich von vier Praxen in Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen und Baden-Württemberg statt. Der Untersuchungszeitraum war jeweils auf ein Jahr beschränkt. Die Vorgehensweise war auf allen Betrieben gleich. Innerhalb eines Jahres wurden alle Tiere, welche im peripartalen Zeitraum festlagen, in die Untersuchung einbezogen. Anhand eines einheitlichen Fragebogens wurde eine eingehende Anamnese erhoben und eine klinische Untersuchung des Tieres durchgeführt (2, 8). Wurde anhand der erhobenen Befunde die Verdachtsdiagnose „Festliegen aufgrund einer Hypokalzämie oder Hypophosphatämie“ gestellt, wurden die Tiere entsprechend behandelt. Vor der Ersttherapie und vor jeder Nachbehandlung wurde eine Serumblutprobe entnommen. In der Serumprobe wurden die Konzentrationen von Kalzium, Phosphor und Magnesium bestimmt (Vet-Med. Labor Ludwigsburg) (Tabelle 2). Weiterhin wurden die Aktivitäten der ASAT, der GLDH und der Creatinkinase und die Gehalte der Stoffwechselmetaboliten Bilirubin, Harnstoff und β -Hydroxybuttersäure bestimmt. Diese Parameter dienen dem Nachweis oder Ausschluss der wichtigsten Differentialdiagnosen der Gebärparese. Die Auswertung dieser Daten erfolgt im zweiten Teil der Arbeit.

Die statistischen Auswertungen (SPSS 11.0, SPSS Inc, Chicago, USA) erfolgten für jede Praxis getrennt, da Merkmale stärker zwischen Teilpopulationen als innerhalb einer Teilpopulation variieren (7). Für die Gruppenvergleiche zwischen den Rassen in Praxis A wurde bei nominalen Parametern der χ^2 -Test verwendet, bei ordinal skalierten der MU-Test. Die gemessenen Konzentrationen der Mengenelemente im Serum wurden mittels einer einfachen ANOVA verglichen. Unterschiede wurden ab einem p-Wert kleiner 0,05 als statistisch gesichert betrachtet. Der absolute p-Wert wird zur Abschätzung der Bedeutung der gefundenen Unterschiede für die Gesamtpopulation herangezogen (27).

Tabelle 2: Referenzbereiche für Mengenelemente im Rinderserum (17)

Mengenelement	Methode	physiologischer Bereich
Magnesium	Atomabsorptionsspektrometrie	0,8-1,3 mmol/l
Kalzium		> 2,00 mmol/l ¹
Phosphor	Endpunktmethode mit Proben-leerwert	> 1,25 mmol/l ¹

¹: Diese Untergrenzen gelten nur für Kühe im peripartalen Zeitraum (1 d a.p. bis 2 d p.p.)

Ergebnisse

Die regionalen Unterschiede zeigten sich als erstes in der Rassenverteilung der in die Untersuchung aufgenommenen Kühe (Tabelle 3). Während in den Praxisgebieten in Norddeutschland überwiegend bzw. ausnahmslos Holstein-Friesian-Kühe (HF-Kühe) standen, waren in der Praxis in Baden-Württemberg mehr Fleckviehkühe (FV-Kühe) im Patientengut vertreten. Im Praxisgebiet D in Nordrhein-Westfalen, stellten HF-Kühe die Hälfte des Patientenguts und Kühe der Rasse Deutsch-Rotbunt ein Drittel. Der Rest waren Kreuzungskühe.

Die Altersverteilung der Kühe zeigt Tabelle 3. Die Mehrzahl der Kühe war mindestens vier Jahre alt. Die Häufigkeiten schwankten wenig zwischen den vier Praxen. Allerdings war in der Praxis D im Gegensatz zu den anderen Praxen mehr als Hälfte der Kühe (63,8 %) über sechs Jahre alt. In der Praxis A war das Durchschnittsalter der Fleckviehkühe nicht verschieden von dem der HF-Kühe. Nur wenige Tiere (0,5 -6,5 %) hatten zum ersten Mal gekalbt. Die Geburt verlief in den meisten Fällen ohne oder nur mit leichter Zughilfe (Tabelle 3). Antepartal lagen 3,8 % bis 6,3 % der Kühe fest. Die große Mehrheit der Patienten (63,2 – 85,5 %) kam nach der Kalbung innerhalb der ersten 24 h p.p. zum Festliegen (Tabelle 4). Ein Teil der Tiere (2,5 -20,9 %) konnte beim Erstbesuch noch stehen, wies aber klinische Anzeichen einer Hypokalzämie wie eine kühle Hautoberfläche oder einen schwankenden Gang auf (Tabelle 5). Unter diesen Tieren waren in der Praxis A statistisch gesichert mehr HF-Kühe als FV-Kühe vertreten ($p < 0,001$). Im Patientengut der Praxis D lagen alle Kühe bei der Erstuntersuchung fest. Von den festliegenden Kühen lagen in drei Praxen die meisten (70,2 -81,2 %) in Brust-Bauch-Lage fest. In der Praxis B wurden die meisten Kühe (54,0 %) in Seitenlage festliegend angetroffen.

Das Sensorium war bei 15,2 -88,0 % der Kühe gestört (Tabelle 6). Der hohe Anteil an Kühen mit gestörtem Sensorium in Praxis B spaltet sich auf in Tiere mit einem geringgradig gestörtem Sensorium (62,5 %) und solchen mit einem hochgradig gestörtem Sensorium (25,5 %). Auch dieser Anteil ist höher als in den anderen drei Praxen. Dabei ergab sich eine Abhängigkeit der Häufigkeit von der Lage der Kuh. Die Mehrheit dieser Tiere lag in allen Praxisgebieten in Seitenlage fest. Weitere klinische Symptome und Befunde sind in Tabelle 6 aufgelistet. In der Praxis B gab es mehr Kühe (40,0 %) mit erniedrigter Körpertemperatur als in den anderen Praxen (7,9 - 19,4 %). In der Praxis A wiesen HF-Kühe häufiger ($p=0,001$) eine Untertemperatur (19,4 %) auf als FV-Kühe (7,6 %). Entsprechend war auch die Körperoberfläche bei den HF Kühen (65,7 %) häufiger ($p=0,017$) herabgesetzt als bei den FV-Kühen (40,7 %). In den Praxen C und D waren Kühe mit einer kalten Oberfläche ähnlich häufig vertreten wie die HF-Kühe in Praxis A. Aus der Praxis B liegen dazu keine Werte vor.

In allen Praxen lagen bei der Mehrheit der Patienten die Kalzium- und Phosphorkonzentrationen im Serum deutlich unter den physiologischen Grenzwerten (Tabelle 8). Zur Bewertung der gemessenen Konzentrationen wurden die in der Tabelle 2 aufgeführten Grenzwerte herangezogen. Dabei wurde

2.2. Untersuchungen zum Auftreten der Gebärpause in verschiedenen Regionen ...

Tabelle 3: Rassenverteilung, Durchschnittsalter und Geburtsverlauf bei festliegenden Kühen in den vier Praxisgebieten A bis D

	A	B	C	D
Anzahl	195	200	190	199
Rasse	FV 63 % HF 37 %	HF 100 %	HF 99,7 % DRB 0,3 %	HF: 57,4 % DRB: 34,1 % Sonst: 8,5 %
Alter				
< 4 Jahre	6,5 %	0,5 %	2,9 %	1,6 %
4-6 Jahre	56,8 %	53,5 %	56,9 %	34,6 %
> 6 Jahre	36,7 %	46 %	40,2 %	63,8 %
Geburtsverlauf				
ante partum	3,8 %	5,0 %	3,9 %	6,3 %
Spontangeburt	50,0 %	63,0 %	54,5 %	80,3 %
leichte Geburtshilfe	41,6 %	29,5 %	36,0 %	11,4 %
≥ schwere Geburtshilfe	8,4 %	2,5 %	5,6 %	2,0 %

ein physiologischer Abfall der Kalzium- und Phosphorkonzentrationen am ersten Tag post partum bei der Festsetzung des unteren Grenzwertes berücksichtigt. Entsprechend trat der GP-Typ I in allen untersuchten Regionen am häufigsten auf (Tabelle 7). Kühe, die nur einen erniedrigten Phosphorspiegel aufwiesen, waren im jeweiligen Patientengut mit 2,0 % bis 19,5 % vertreten. Hierbei gab es deutliche regionale Unterschiede. In der Praxis A in Baden-Württemberg trat der GP-Typ III häufiger auf. In den Praxisgebieten in Niedersachsen war dieser Typ kaum vertreten. Beim GP-Typ IV fällt auf, dass neben den erniedrigten Magnesiumwerten in Blut, auch die Kalzium- und Phosphorkonzentrationen im Mittel deutlich unter den Grenzwerten lagen. Addiert man die Anteile der GP-Typen I, II und IV, so hatten in den vier Praxen nahezu 80 % der Tiere erniedrigte Kalziumwerte, welche mit erniedrigten Phosphorwerten und in deutlich geringerem Ausmaß mit erniedrigten Magnesiumwerten kombiniert waren. Nur bei den FV-Kühen in Praxis A lag der Anteil an Kühen mit erniedrigten Kalziumkonzentrationen mit 67,9 % niedriger als bei den HF-Kühen aller Praxen. Dies zeigt sich auch darin, dass in der Praxis A statistisch gesichert mehr HF-Kühe den GP-Typ I aufwiesen als FV-Kühe ($p=0,006$). In der Praxis A gab es deutliche Unterschiede im Abfall der Serumspiegel. Holsteinkühe hatten signifikant niedrigere Kalzium- ($p=0,001$) und Phosphorkonzentrationen ($p=0,015$) als Fleckviehkühe. Die Veränderungen in den Konzentrationen der Mengenelemente zeigten in allen vier Praxisgebieten Beziehungen zu den erhobenen klinischen Befunden (Tabelle 8). So hatten Kühe mit einem gestörten Sensorium statistisch gesichert niedrigere Kalzium- ($p<0,002$) und Phosphorwerte ($p<0,032$). Ebenso hatten Kühe mit einer kalten Körperoberfläche oder einer erniedrigten Körpertemperatur statistisch gesichert niedrigere Kalziumkonzentrationen ($p<0,001$) im Blut als festliegende Tiere mit Normothermie. Diese Beobachtungen war aber nicht in allen Praxisgebieten zu machen (Tabelle 8). Die meisten statistisch abzusichernden Unterschiede traten in den beiden nördlichsten Praxen (B und C) auf. In diesen beiden Gebieten war auch ein Zusammenhang zwischen der Lage der festliegenden Kuh und den Kalziumkonzentrationen festzustellen ($p<0,009$). Ganz aus dem Rahmen fällt die Praxis D. Hier lagen die Mittelwerte in allen gebildeten Untergruppen sehr dicht beieinander, so dass sich bis auf eine Ausnahme keine statistisch nachweisbaren Unterschiede ergaben (Tabelle 8).

2.2. Untersuchungen zum Auftreten der Gebärpause in verschiedenen Regionen ...

Tabelle 4: Auftreten des Festliegens in Relation zum Kalbezeitpunkt in den vier Praxisgebieten A bis D

	A	B	C	D
	in %			
ante partum	3,8	5,0	7,9	6,3
≤ 6 h p.p.	29,2	24,5	24,9	30,5
6 < x ≤ 24 h p.p.	44,9	61,0	42,0	48,4
24 < x ≤ 72 h p.p.	18,4	6,5	10,1	13,6
> 72 h p.p.	3,8	3,0	5,1	1,2

Tabelle 5: Stehvermögen und die Lage festliegender Kühe in den vier Praxisgebieten A bis D

Lage der Kuh	A	B	C	D
	in %			
Stehvermögen				
erhalten	FV: 2,5 ^a HF: 20,9 ^b	13,0	19,7	0
nicht erhalten	FV: 97,5 ^a HF: 79,1 ^b	87,0	80,3	100
Lage der festliegenden Kuh				
Brustlage	70,2	44,8	61,6	81,2
Seitenlage	29,8	54,0	13,6	17,6
anderes	0	1,2	5,1	1,2

^{a,b}: Die Unterschiede in den Häufigkeiten zwischen den beiden Rinderrassen sind signifikant (p < 0,05).

Tabelle 6: Sensorium, Oberflächen- und innere Körpertemperatur bei festliegenden Kühen aus den vier Praxisgebieten A bis D

	A	B	C	D
	in %			
Sensorium				
erhalten	82,7	12,0	84,8	79
getrübt	17,3	62,5 ggr. getrübt 25,0 hgr. getrübt	15,2	21
IKT				
< 38,0°C	FV: 7,6 HF: 19,4	40,0	7,9	15,4
38,0 ≤ x ≤ 39,0	FV: 76,6 HF: 59,7	59,0	80,3	73,4
> 39,0°C	FV: 17,8 HF: 20,9	1,0	11,8	11,2
Körperoberflächen-Temperatur				
normal	FV: 59,3 HF: 34,3	n.u. ¹	30,9	29
herabgesetzt	FV: 40,7 HF: 65,7	n.u.	69,1	71

¹: n.u. nicht untersucht, ggr: geringgradig, hgr. hochgradig, IKT: innere Körpertemperatur

Die Milchleistung hat nach den vorliegenden Ergebnissen keinen Einfluss. Weder ergaben sich statistisch gesicherte Korrelationen zwischen der 305-Tage-Leistung der Vorlaktation und den Kalzium- und Phosphorkonzentrationen, noch unterschieden sich die Kühe mit einer bestimmten Symptomatik (z. Bsp. gestörtes Sensorium) hinsichtlich der Milchleistung von den Kühen ohne dasselbe klinische Kriterium.

Diskussion

Seitdem erkannt worden ist, dass ein Abfall im Kalziumspiegel für das Festliegen der Kühe im Puerperium einen Hauptfaktor darstellt (23), ist die Gebärpause Thema klinischer Studien und Untersuchungen. Dabei traten schon früh Zweifel an der alleinigen Rolle des Kalziums auf (23). Klinische und serologische Untersuchungen ergaben zum einen, dass sich das klinische Bild mit der Zeit gewandelt hat (7, 28), und zum anderen Hinweise auf eine mögliche Beteiligung des Phosphors (3, 13). Entsprechend dieser Beobachtungen wurde zwischen der klassischen Gebärpause infolge eines Kalziummangels und der atypischen Gebärpause infolge eines Phosphormangels unterschieden. In neuerer Zeit wurden Zweifel dahingehend geäußert, dass die erniedrigten Phosphorspiegel ursächlich zum Festliegen der Kuh führen (12, 20). Eher könnte der Abfall in den Phosphorkonzentrationen eine Begleiterscheinung darstellen, die sich aufgrund der verminderten Resorption infolge der Hypomotilität der Verdauungsorgane einstellt.

Die vorliegenden Untersuchungen in vier verschiedenen Regionen Deutschlands wurden durchgeführt, um aktuell zu den Ursachen für das Festliegen von Milchkühen im peripartalen Zeitraum eine Aussage machen zu können. Die einheitliche und nahezu gleichzeitige Vorgehensweise ermöglicht einen Vergleich der Befunde über die Regionen hinweg. Die Art der Analyse in Form von Clustern birgt die Schwierigkeit, dass die untersuchten Merkmale eher zwischen solchen Clustern sich unterscheiden als innerhalb eines Clusters. Daher erfolgten statistische Auswertungen nur innerhalb einer Praxis und nicht über alle vier Praxisgebiete hinweg.

In allen vier Praxisgebieten kamen überwiegend Kühe im Alter von vier bis sechs Jahren zum Festliegen. Nur in der Praxis D stellten die über sechs Jahre alten Kühe die Mehrheit im Patientengut. Erstkalbinnen waren nach den vorliegenden Ergebnissen nur einem geringen Risiko ausgesetzt, postpartal festzuliegen. Diese Tiere machten in allen vier Praxisgebieten nur einen sehr geringen Anteil aus. Andererseits sind die Kühe, die an einer Gebärpause erkranken, deutlich jünger geworden. In drei der vier Praxen lagen Kühe der zweiten oder dritten Laktation am häufigsten postpartal fest. In früheren Untersuchungen wurde schon ein entsprechender Trend in der Altersstruktur der an Gebärpause erkrankten Kühe festgestellt (28). Während nach ihren Angaben im Jahr 1979 noch 80 % der festliegenden Tiere über 6 Jahre alt waren, waren es in derselben Region zwanzig Jahre später nur noch 69,9 %. Diesen Trend würden die Befunde aus den vorliegenden Untersuchungen bestätigen. Andererseits stehen diese Ergebnisse im Widerspruch zu aktuellen Erhebungen in Bayern (20). Tierärzte im Einzugsgebiet der tiermedizinischen Fakultät in München waren aufgerufen worden, Daten und Proben von festliegenden Kühen einzusenden. Kühe der zweiten bis vierten Laktation waren nur zu einem kleinen Teil in diesem Patientengut auszumachen. Diese unterschiedlichen Befunde in der Altersstruktur können in der regionalen landwirtschaftlichen Struktur begründet sein. In den Milchviehbetrieben in Norddeutschland fand eine stärkere Selektion auf eine hohe Milchleistung statt. Diese

führte zu einem zu einer Senkung des Durchschnittsalters in den Herden aufgrund einer gestiegenen Remontierungsrate. Zum anderen erhöhte sich der Kalziumbedarf der Milchkuh mit der gestiegenen Milchleistung und vergrößerte damit zeitgleich das Risiko, dass die Mobilitätsmechanismen nicht ausreichend greifen können (11, 21), um die Kuh vor einem pathologischen Abfall der Kalziumspiegel zu bewahren. Eine statistisch gesicherte Beziehung zwischen der 305-Tage-Leistung der Vorlaktation und dem Auftreten bestimmter Symptome war nicht nachweisbar. Für eine exakte Bewertung der Milchleistung wären die Daten der nicht-erkrankten Kühe nötig gewesen. Diese waren nicht erhoben worden. Bei der überwiegenden Mehrheit der Tiere traten die klinischen Anzeichen einer Hypokalzämie am ersten Tag p.p. auf, was den derzeitigen Angaben aus der Literatur (6, 16, 28) und mit den aktuellen Erhebungen aus Bayern übereinstimmt (20).

Der Anteil Kühe, welcher beim Erstbesuch noch stehen konnte, schwankte in den vier Praxen zwischen 0 % und 20,9 %. Der höchste Wert stammt aus der Praxis B in Nordniedersachsen. In einer anderen Feldstudie in Norddeutschland konnten nach Autorenangaben noch 30,0 % der Tiere stehen (19). Neben diesen regionalen Unterschieden waren in der Praxis A auch deutliche Unterschiede zwischen den Rassen HF und FV auszumachen. HF-Kühe wurden häufiger stehend angetroffen als FV-Kühe. Der je nach Praxis recht hohe Anteil an Kühen, die frühzeitig wegen einer Hypokalzämie vorgestellt werden und damit bei der Erstuntersuchung noch stehen konnten, hängt mit den besseren Kenntnissen und der entsprechenden Aufmerksamkeit des Landwirtes zusammen. Natürlich ist das frühe Bemerkten wünschenswert, um durch eine rechtzeitige Therapie, das Festliegen der Kuh noch verhindern zu können. Festliegende Kühe wurden am häufigsten in Brust-Bauch-Lage angetroffen. Eine Ausnahme bildet die Praxis B, in welcher die Mehrheit der Patienten in Seitenlage festlag. In dieser Praxis lag auch der Anteil der Kühe mit einem mindestens geringgradig gestörten Sensorium bei 88 % und damit deutlich höher als in den anderen drei Praxen. Dieser Wert ist vergleichbar mit dem aus früheren Untersuchungen in Niedersachsen, in denen auch 80 % der Tiere mindestens ein geringgradig gestörtes Sensorium aufwiesen (19). Demgegenüber stehen andere Ergebnisse aus Norddeutschland, in denen nur 19 % der festliegenden Tiere ein gestörtes Sensorium aufwiesen (12). Andere Autoren geben die Anteile von Kühen mit gestörtem Sensorium mit 6,4 % (28) und 24,4 % (20) an. In der Praxis B wiesen 25,5 % der Tiere ein hochgradig gestörtes Sensorium auf. Dieser Wert ist mit dem aus der Erhebung in Bayern vergleichbar, liegt aber immer noch über den Werten der anderen drei Praxen. In wie weit der Faktor Mensch als Beurteiler des Sensoriums für die Unterschiede verantwortlich ist, kann nicht gesagt werden. Ein Einfluss auf die Häufigkeit, mit der der klinische Befund „gestörtes Sensorium“ erhoben wurde, kann aber a priori nicht ausgeschlossen werden.

Während beim Symptom „gestörtes Sensorium“ in der Praxis A keine Unterschiede zwischen den Rassen festgestellt werden konnten, wurden solche Unterschiede für die Körperoberflächen- und Körperinnentemperatur gefunden. HF-Kühe hatten häufiger eine herabgesetzte innere Körpertemperatur (IKT) und öfters eine kühle Körperoberfläche. Dabei stimmen die Häufigkeiten, mit denen die beiden klinischen Befunde bei HF-Kühen erhoben wurden, gut mit denen aus den anderen drei Praxisgebieten überein, in denen überwiegend HF-Kühe das Patientengut stellten. Die prozentualen Anteile der FV-Kühe mit gestörter Temperaturregelung lagen in einem Bereich, der in anderen Untersuchungen mit FV-Kühen ermittelt wurde (20, 28).

Tabelle 7: Kalzium, Phosphor- und Magnesiumkonzentrationen im Serum festliegender Kühe aus den vier Praxisgebieten A bis D in Abhängigkeit ausgewählter klinischer Symptome

	A			B			C			D		
	Ca (mmol/l)	P (mmol/l)	Mg (mmol/l)	Ca (mmol/l)	P (mmol/l)	Mg (mmol/l)	Ca (mmol/l)	P (mmol/l)	Mg (mmol/l)	Ca (mmol/l)	P (mmol/l)	Mg (mmol/l)
gesamt	1,59	0,73	1,09	1,33	1,14	0,95	1,42	0,91	0,98	1,47	0,82	0,96
Lage												
Kuh steht	1,49	0,77	1,19	2,15 ^a	1,87 ^a	0,89	1,60 ^a	1,30 ^a	0,96	-	-	-
Brust-Bauch-Lage	1,66	0,90	1,07	1,48 ^b	1,29 ^b	0,95	1,37 ^b	0,79 ^b	0,98	1,50	0,81	0,96
Seitenlage	1,54	0,80	1,09	0,6 ^c	0,81 ^c	0,97	1,02 ^c	0,96 ^{ab}	1,00	1,59	0,96	1,00
Sensorium												
ungetrückt	1,69 ^a	0,91 ^a	1,08	1,90 ^a	1,71 ^a	0,99	1,45 ^a	0,89	0,98	1,50	0,81	0,96
ggr. getrückt ¹	1,25 ^b	0,64 ^b	1,12	1,36 ^b	1,15 ^b	0,93	1,03 ^b	0,83	0,99	1,38	0,85	0,98
hgr. getrückt				0,89 ^c	0,78 ^c	0,98						
Oberfläche												
normal	1,74 ^a	0,98 ^a	1,02 ^a	n.u.	n.u.	n.u.	1,58 ^a	1,02	0,98	1,54	0,92	0,99
temperiert												
kühl	1,49 ^b	0,75 ^b	1,15 ^b	n.u.	n.u.	n.u.	1,36 ^b	0,87	0,98	1,45	0,77	0,95
IKT												
erniedrigt	1,43	0,94	1,20	0,89 ^a	0,73 ^a	0,96	1,10 ^a	0,63 ^a	1,02	1,33	0,77 ^a	1,06
normal	1,59	0,80	1,09	1,58 ^b	1,36 ^b	0,95	1,40 ^a	0,89 ^a	0,94	1,47	0,77 ^a	0,93
erhöht	1,79	1,07	1,01	2,33 ^c	2,95 ^c	0,96	1,67 ^b	1,11 ^b	1,05	1,65	1,13 ^b	1,02

n.u.: nicht untersucht, ¹: nur in Praxis B fand eine Unterscheidung in gering- und hochgradig gestörtes Sensorium, ^{a,b,c}: die Werte in einer Zeile unterscheiden sich zwischen den Untergruppen (p < 0,05)

2.2. Untersuchungen zum Auftreten der Gebärpause in verschiedenen Regionen ...

Tabelle 8: Vorkommen der unterschiedlichen Gebärpause-Typen (6) in den vier Praxisgebieten

Gebärpauses-Typ		A	B	C	D
		in %			
Typ I	FV: 59,3 ^a HF: 74,6 ^b		65,5	72,4	71,7
Typ II	FV: 5,9 HF: 4,5		14,5	11,6	4,0
Typ III	FV: 19,5 HF: 10,4		2,0	6,1	8,6
Typ IV	FV: 5,1 HF: 1,5		3,5	2,8	3,5
Typ V	FV: 10,2 HF: 9,0		14,5	7,2	12,1

FV: Fleckvieh HF: Holstein-Friesian ^{a,b}: Anteile zwischen den Rassen unterscheiden sich (p<0,05)

Die erhobenen klinischen Befunde hatten auch Auswirkungen auf die Kalzium- und Phosphorkonzentrationen. Bis auf die Patienten der Praxis D hatten Kühe mit einer gestörten Temperaturregelung und/oder einem gestörtem Sensorium niedrigere Kalzium- und teilweise auch Phosphorkonzentrationen im Blut. Ähnliche Beobachtungen sind auch in der aktuellen Literatur beschrieben (20). Wie in den vorliegenden Untersuchungen fanden die Autoren bei Kühen mit kalter Körperoberfläche oder gestörtem Sensorium niedrigere Gehalte an Calcium und Phosphor. Aber auch bei den festliegenden Tieren ohne diese klinischen Symptome lagen die Kalzium- und Phosphorwerte deutlich unter den physiologischen Grenzwerten, was mit den vorliegenden Ergebnissen gut übereinstimmt. Auch andere Autoren weisen darauf hin, dass vor allem der komatöse Zustand festliegender Rinder eine Folge des sehr stark abgefallenen Kalziumspiegels im Blut ist (4, 18, 31). Es gibt aber auch Untersuchungen, bei denen keine statistisch nachweisbaren Unterschiede im Kalziumgehalt zwischen Kühen mit und ohne gestörtes Sensorium gefunden wurden (10), was den Befunden aus Praxis D entsprechen würde. Weniger eindeutig ist es nach den vorliegenden Ergebnissen, ob von der Lage der Kuh auf einen bestimmten Abfall in den Kalzium- und Phosphorkonzentrationen geschlossen werden kann. Nur in den Praxisgebieten B und C waren statistisch gesicherte Unterschiede nachweisbar. Auch die Angaben in der Literatur sind widersprüchlich (10, 20). Eine mögliche Ursache für die unterschiedlichen Befunde in den vier Praxen könnte darin begründet sein, dass sich in den Praxen B und C die meisten Kühe mit einem gestörtem Sensorium auch in Seitenlage befanden und damit mehrheitlich nur einer Lageposition zugeordnet waren als in den Praxen A und D. Damit könnte der Faktor „gestörtes Sensorium“ als Confounder gewirkt haben.

Die Aufteilung der Kühe gemäß der gemessenen Kalzium-, Phosphor- und Magnesiumkonzentrationen auf die fünf GP-Typen ergab, dass der GP-Typ I am häufigsten in allen vier Praxisgebieten auftrat. Dies stimmt mit den Befunden anderer Autoren überein (6, 28). In der Praxis A trat der GP-Typ I bei HF-Kühen deutlich häufiger auf als bei den FV-Kühen. Für die anderen GP-Typen ergaben sich keine statistisch nachweisbaren Rasseunterschiede. Bei den GP-Typen II bis V traten regional unterschiedliche Häufigkeiten auf. So waren in den norddeutschen Praxisgebieten der GP-Typ II häufiger vertreten als in den anderen beiden Praxen und der GP-Typ III war kaum zu finden. Die Häufigkeiten der GP-Typen schwankten auch in früheren Untersuchungen. So wurden für den GP-Typ II (alleiniger Kalziummangel) Häufigkeiten zwischen 1,0 und 21,0 % ermittelt (1, 6, 13, 28). Für den GP-Typ III (alleiniger Phosphormangel) schwanken die Angaben in der Literatur zwischen 13,0 und 28,7 % und

liegen damit deutlich über den jeweiligen Anteilen der Praxen B, C und D, in welchen mehrheitlich HF-Kühe untersucht worden sind. Der Anteil der FV Kühe mit GP-Typ III in Praxis A liegt mit 19,5 % im Bereich früherer Untersuchungen (1, 6 13, 28). Da in diesen auch überwiegend FV-Kühe das Patientengut stellten, bestätigen die aktuellen Befunde die Ergebnisse aus der Literatur.

Dies wirft natürlich die Frage auf, ob FV-Kühe ein höheres Risiko haben, aufgrund eines alleinigen Phosphormangels festzuliegen als HF-Kühe. Diese Frage wird zudem vor dem Hintergrund interessant, dass aktuelle Untersuchungen eine ursächliche Beteiligung des Phosphors deutlich bezweifeln (12, 20, 26). Fütterungsversuche mit phosphorarmen Rationen führten nur zu einer reduzierten Milchleistung, aber nicht zum Festliegen der Tiere (24, 29). Gleichzeitig wiesen diese Kühe deutlich erniedrigte Phosphorspiegel auf. Klinische Studien zur Wirksamkeit von Phosphorpräparaten sind widersprüchlich in ihren Aussagen (1, 12, 15). Bei den FV-Kühen der Praxis A mit GP-Typ III war auffällig, dass die ASAT statistisch gesichert höher lag als in den anderen Gruppen. Auch die Creatinkinase lag im Mittel in dieser Gruppe deutlich höher als in den anderen Gruppen, die starke Streuung der Werte in allen Gruppen ließ einen statistisch nachweisbaren Unterschied nicht zu. Als Ursache für das Festliegen dieser Kühe sind umfangreiche Muskelschäden nicht auszuschließen. Der Abfall der Phosphorkonzentrationen wäre dann wieder nur eine Folgeerscheinung. Im zweiten Teil der Arbeit wird eingehend auf die verschiedenen Differentialdiagnosen eingegangen.

Fazit für die Praxis

Die Untersuchungen in den vier verschiedenen Regionen Deutschland erbrachten trotz mancher regionaler Besonderheiten viele Gemeinsamkeiten zum Festliegen der Kuh. Das Risiko, an einer Gebärparese zu erkranken, ist nach den vorliegenden Ergebnissen auch für Kühe der zweiten und dritten Laktation sehr hoch. Dies steht im Widerspruch zu anderen Untersuchungen. Die Hauptursache für das Festliegen der Kuh im peripartalen Zeitraum stellt mit 80 % der Abfall der Kalziumkonzentrationen im Blut. Dieser kann im unterschiedlichen Maße von einem Abfall der Phosphorkonzentrationen begleitet sein. Die Höhe des Abfalls der Kalziumwerte im Blut bestimmt das Auftreten klinischer Symptome wie ein gestörtes Sensorium oder eine kühle Körperoberfläche. Damit können diese Symptome zur Einschätzung der Stärke des Kalziumabfalls dienen, zur Unterscheidung der einzelnen Gebärparese-Typen sind sie nicht geeignet.

References

1. Abele U, Wolf F. Gebärparese - ein neues Therapiekonzept. *Veterinärspiegel* 2000; 197-201.
2. Baumgartner W, Hrsg. *Klinische Propädeutik der inneren Krankheiten und Hautkrankheiten der Haus- und Heimtiere*. Berlin: Parey 2002.
3. Baumgartner W, Gattinger G. Ein Beitrag zum hypophosphatämischen Festliegen der Milchkuh. *Wien Tierärztl Mschr* 1982; 69: 315-8.
4. Blum, J. Zur Regulation des Calcium-Stoffwechsels beim Wiederkäuer. *Der Tierzüchter* 1982; 34: 211-3.
5. Bostedt H. Blutserumuntersuchungen bei festliegenden Rindern in der frühperipartalen Periode. 1. Mitteilung: Untersuchungen über den Gehalt an Ca, anorganischen P und Mg im Blutserum festliegender Rinder. *Berl Münch Tierärztl Wschr* 1973; 86: 344-9.
6. Bostedt H, Wendt V, Prinzen R. Zum Festliegen des Milchrindes im peripartalen Zeitraum - klinische und biochemische Aspekte. *Prakt Tierarzt* 1979; 60: 18-34.
7. Cannon RM, Roe RT, Hrsg. *Livestock disease surveys: a field manual for veterinarians*. Austr Bureau of Animal Health 1982.
8. Dirksen G. Untersuchung festliegender Rinder. In: *Die klinische Untersuchung des Rindes* Dirksen G, Gründer HD, Stöber M, eds. Berlin, Hamburg: Paul Parey 1990; 585-8.
9. Erb HN, Gröhn YT. Epidemiology of metabolic disorders in periparturient dairy cow. *J Dairy Sci* 1988; 71: 2557-71.
10. Fenwick DC. The relationship between certain blood cations in cows with milk fever and both the state of consciousness and position of cows when attended. *Aust Vet J* 1988; 65: 374-5.
11. Fleischer P, Metzner M, Beyerbach M, Hoedemaker M, Klee W. The relationship between milk yield and the incidence of some diseases in dairy cows. *J Dairy Sci* 2001; 84: 2025-35.
12. Gelfert CC, Dallmeyer M, Staufenbiel R. Effekte einer zusätzlichen oralen Phosphorgabe auf den Behandlungserfolg festliegender Milchkuhe. *Prakt Tierarzt* 2004; 85: 116-24.
13. Hofmann W, El Amrousi S. Untersuchungen über das Festliegen der Rinder 2. Mitteilung: Klinik und blutchemische Befunde festliegender Kühe. *Dtsch Tierärztl Wschr* 1970; 77: 73-6.
14. Horner S, Staufenbiel R. Über die Wirksamkeit oraler und subkutaner Phosphorsubstitutionen beim Rind. *Prakt Tierarzt* 2004; 85: 761-7.
15. Hospes R, Wehrend A, Bostedt H. Differenzierung des atypischen Festliegens beim Rind und neue therapeutische Konzepte. *Kongressband, 2. Leipziger Tierärztekongress, 17.-19.1.2002*, 284-7.
16. Hunt E, Blackwelder JT. Bovine parturient paresis (milk fever, hypocalcemia). In: *Large animal internal medicine* BP Smith eds. St. Louis, Baltimore, Philadelphia, Toronto: Mosby, Inc 2002, 1248-54.
17. Kraft W, Dürr UM Hrsg. *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. Stuttgart, New York: Schattauer 1999.
18. Larsson L, Björnsell KA, Kvarn C, Öhmann S. Clinical signs and serum ionized calcium in parturient paretic cows. *Zbl Vet Med* 1983; A 30: 401-9.
19. Malz, C, Meyer C. Neue Aspekte zur Pathogenese und Therapie der hypocalcämischen Gebärparese. *Prakt Tierarzt* 1992; 73: 507-15.
20. Metzner M, Klee W. Klinische Befunde und Serumparameter bei festliegenden Kühen unter besonderer Berücksichtigung der Serumphosphorkonzentrationen. *Tierärztl Umschau* 2005; 60: 13-22.
21. Radostits O M, Gay CG, Blood DC, Hinchcliff KW Hrsg. *Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. London, Philadelphia, SydneyTokyo, Toronto: Baillière Tindall 2000.
22. Rajala PJ, Gröhn YT. Disease occurrence and risk factors analysis in Finnish Ayrshire cows. *Acta vet scand* 1998; 39: 1-13.
23. Robertson A, Marr A, Moodie EW. Milk fever. *Vet Rec* 1956; 68: 173-80.
24. Rodehutsord MA, Pauen A, Windhausen P, Brintrup R, Pfeffer E. Effects of drastic changes in P intake on P concentrations in blood and rumen fluid of lactating ruminants. *J Vet Med A* 1994; 41: 61-9.
25. Staufenbiel R. Prophylaxe der Gebärparese Teil II. *Veterinärspiegel* 2000/1; 58-61.
26. Staufenbiel R, Gelfert CC. Clinical significance of hypophosphatemia in dairy cows. *XXII World Buiatrics Congress, Hannover, 2002*, 8.
27. Sterne JAC, Smith GD. Shifting the evidence - what's wrong with significance tests? *Br Med J* 2001; 322: 226-31.
28. Stolla R, Schulz H, Martin R. Veränderungen im Krankheitsbild des peripartalen Festliegens beim Rind. *Tierärztl Umschau* 2000; 55: 295-9.
29. Valk H Sebek LBJ, Van't Klooster AT, Jonblood AW. Clinical aspects of feeding low dietary phosphorus levels to high yielding dairy cows. *Vet Rec* 1999; 145: 673-4.
30. Whitaker DA, Kelly JM, Smith S. Disposal and disease rates in 340 British dairy herds. *Vet Rec* 2000; 146: 363-7.
31. Zepperitz, H. Untersuchungen zur klinischen und klinisch-chemischen Diagnostik der Gebärparese. *Mh Vet Med* 1990; 45: 859-64.

2.3.

Untersuchungen zum Auftreten der Gebärparese in verschiedenen Regionen
Deutschlands und zum Einsatz unterschiedlicher Therapien
im Vergleich zur Kalziuminfusion

2. Differentialdiagnosen und Heilungserfolg

Gelfert, Carl-Christian, Stefanie Lesch, Ingo Alpers, Mareike Decker, André Hüting,
Walter Baumgartner und Rudolf Staufenberg

Erschienen in:

Tierärztliche Praxis 34 (G), 357-367 (2006)

Dieser Artikel ist nicht genau identisch mit dem Original, das in (Tierärztl. Praxis **34**)
veröffentlicht wurde. Die überarbeitete und veröffentlichte Version von
(Schattauer Verlag 2006, Tierärztl. Praxis **34 (G)**, 357-367) ist online unter
(www.schattauer.de/de/magazine/uebersicht/zeitschriften-a-z/tieraerztliche-praxis-grosstiere.html)
erhältlich.

Zusammenfassung

Mit Hilfe der Studie sollten die Häufigkeiten der unterschiedlichen ätiologischen Ursachen für das Festliegen von Kühen im peripartalen Zeitraum in verschiedenen Regionen Deutschlands ermittelt und deren therapeutische Beeinflussbarkeit untersucht werden. Im jeweiligen Einzugsgebiet von vier Tierarztpraxen (A - D) wurden für die einjährige Untersuchung 764 Milchkühen, die peripartal festlagen, in die Studie aufgenommen. Auf eine eingehende Anamnese folgte die klinische Untersuchung. Vor jeder Therapie wurde eine Blutprobe genommen und die Konzentrationen von Kalzium, Phosphor, Magnesium, Bilirubin, β -Hydroxybuttersäure, Harnstoff, Cholesterol und die Aktivitäten der ASAT, CK und GLDH bestimmt. In den Praxen B-D bestand die Standardtherapie aus der intravenösen Infusion einer organischen Kalziumlösung, welche bei jeder zweiten Kuh (Versuchsgruppe) um ein weiteres zu testendes Medikament (B: Vitamin D₃; C: Toldimfos, D: Dexamethason) erweitert wurde. In Praxis A enthielt die Kalziumlösung der Standardtherapie einen deutlich geringeren Phosphorgehalt als die der Versuchstherapie. Für den Vergleich der Therapieerfolge wurden nur die Tiere berücksichtigt, die nachweislich eine Hypokalzämie aufwiesen. Unabhängig von der Region waren bei ab der 2. Laktation Hypokalzämien die Hauptursache für das Festliegen. In der Mehrheit der Fälle bestand gleichzeitig eine Hypophosphatämie. Muskelschäden waren die zweithäufigste Krankheitsursache und traten vermehrt parallel zur Hypokalzämie auf. Bei den Kühen mit einer Hypokalzämie hatte die zusätzliche Verabreichung der Medikamente zur Kalziuminfusionslösung keinen statistisch nachweisbaren Einfluss auf den Ersttherapieerfolg, die Gesamtheilungsrate und die Anzahl benötigter Behandlungen. Der Ersttherapieerfolg lag zwischen 70,7 und 84,2%, die Gesamtheilungsrate zwischen 87,5% und 95,2%. Kühe, die nicht geheilt werden konnten, hatten schon vor der Ersttherapie statistisch gesichert höhere Aktivitäten der CK ($p < 0,020$) und ASAT ($p < 0,003$) im Serum. Bei Färsen waren nach den Serumwerten Muskelschäden die Hauptdiagnose. Ob diese Schäden Folge von Schweregeburten oder nervalen Schädigungen waren, konnte anhand des klinischen Bildes nur in sehr wenigen Einzelfällen geklärt werden. Bei Kühen ab der 2. Laktation sind Hypokalzämien die Hauptursache für das Festliegen im peripartalen Zeitraum. Damit ist bei solchen Tieren eine intravenöse Infusion von organischen Kalziumlösungen die Therapie der Wahl. Weitere Therapeutika erhöhen den Therapieerfolg nicht. Myopathien treten gehäuft als Begleiterkrankung auf und können den Therapieverlauf ungünstig beeinflussen. Bei Färsen sind sie die Hauptursache für das Festliegen.

Summary

The aim of the study was to investigate the rate of the different causes of parturient paresis in dairy cows in different regions of Germany. In four veterinary practices (A-D) in different regions of Germany, 764 cows which became recumbent around parturition were included in the study for a period of one year. After recording the case history all animals were clinically examined. Before any treatment serum samples were taken from the jugular vein to measure the concentrations of calcium, phosphorus, magnesium, bilirubin, β -hydroxybutyrate, cholesterol, urea and the activities of ASAT, GLDH and CK. In each practice the control therapy consisted of the intravenous infusion of an organic calcium solution, which was supplemented in every second cow (test group) with another drug (B: Vitamin D₃; C: Toldimfos; D: Dexamethason). In Practice A, the calcium solution was replaced by another which contained additional 1.2 g phosphorus. Independent of the region, hypocalcaemia was found to be the

major cause of parturient cows of the second lactation or elder. The majority of these cows had also a hypophosphataemia. Muscle damage was the second frequent diagnose in parturient cows and the major concomitant disease in cows with hypocalcaemia. The use of an additional drug beside the organic calcium solution did not influence the success rate after first treatment, the overall rate of healed animals and the number of treatments needed. The success rate after first treatment ranged between 70.7 and 84.2%, and the overall rate ranged between 87.5 and 95.2%. Cows which could not be healed had significantly higher serum activities of CK ($p < 0,020$) and ASAT ($p < 0.003$) before the first treatment. In contrary to elder cows, muscle damage was the major cause of recumbency in heifers. It could not have been clarified in each case whether these damages were the result of dystocia or neural lesions. From the second lactation on, hypocalcaemia is the major cause of parturient cows in the peripartal period. Therefore an intravenous infusion of an organic calcium solution is the choice therapy. Additional drugs are not needful. Muscle damages are a frequent concomitant disease and may have a negative stake in the success of therapy. In heifers, instead of elder cows, muscle damage is the major cause for recumbency.

Einleitung

In der Diagnostik und Therapie erkrankter Milchkühe kommt der klinischen Untersuchung der Patienten große Bedeutung zu (2, 10). Nur dann ist es möglich, die verschiedenen Erkrankungsursachen mit größtmöglicher Sicherheit voneinander zu unterscheiden und damit die klinische Diagnose über den Status der bloßen Verdachtsdiagnose zu heben (31). In der Literatur zur Gebärparese (GP) des Rindes finden sich immer wieder Berichte über einen Wandel im klinischen Bild und die damit verbundenen Schwierigkeiten, die verschiedenen GP-Typen, aber auch die weiteren Differentialdiagnosen, die nicht auf einer Mineralstoffstörung beruhen, voneinander zu unterscheiden (4, 16, 25). Eine der gleich lautenden Beobachtungen über die Jahrzehnte lautet, dass die festliegenden Tiere weniger ein gestörtes Sensorium zeigten, sondern in wachem Zustand in Brustlage festlagen (4, 25, 32). Eine weitere Beobachtung betraf den Behandlungserfolg solcher Kühe. Die bis dahin allgemein gültige Therapie in Form einer intravenösen Kalziuminfusion führte bei diesen Patienten nicht oder nur verzögert zum Erfolg (4, 25, 32). Mehr Nachbehandlungen waren notwendig als bei Kühen mit der klassischen Symptomatik einer festliegenden Kuh. Die serologischen Untersuchungen führten zu einer Einteilung festliegender Kühe gemäß der veränderten Kalzium-, Phosphor- und Magnesiumkonzentrationen im Serum in fünf GP-Typen (7). Die GP-Typen I und II sind vor allem durch die Hypokalzämie gekennzeichnet, die bei GP-Typ I von einer Hypophosphatämie begleitet wird. Beim GP-Typ IV ist auch der Magnesiumgehalt im Blut vermindert, Kühe des GP-Typs V weisen bei allen drei Elementen physiologische Konzentrationen auf. Der GP-Typ III (nur Hypophosphatämie) fand in der weiteren klinischen Forschung erhöhte Aufmerksamkeit. Untersuchungen zum Einsatz phosphorhaltiger Medikamente in der Therapie solcher Kühe führten zu unterschiedlichen Ergebnissen (1, 7, 16). Während in einer Studie von einer Verbesserung des Therapieerfolges berichtet wird (1), konnte in den anderen Studien dies nicht beobachtet werden (7, 16). Schwierigkeiten bereitete es auch, geeignete Therapeutika zu entwickeln, die das Phosphor in ausreichender Menge und in verwertbarer Form enthalten (9, 27). Aktuelle Untersuchungen zum Einsatz oraler Phosphorlösungen (1, 11, 18) sind widersprüchlich hinsichtlich des Nutzens solcher Präparate. Zeitgleich kamen Zweifel an der ursächlichen Rolle des

Tabelle 1: Häufigkeit der nach den Laborbefunden gestellten Diagnosen und Differentialdiagnosen bei festliegenden Kühen in den vier Praxen

Labordiagnose	A		B		C		D	
	FV (n=118)	HF (n=67)	n=200	n=181	n=154 (85,1%)	n=152 (76,8%)		
Hypokalzämie (GP-Typ I und II)	n=77 (65,3%)	n=53 (79,1%)	n=162 (81%)	n=154 (85,1%)	n=152 (76,8%)			
nur Hypokalzämie	32 (41,6%)	31 (58,5%)	63 (38,9%)	67 (43,5%)	49 (32,2%)			
mit Myopathie	33 (42,9%)	17 (32,1%)	62 (38,3%)	49 (31,8%)	51 (33,6%)			
mit Ketose/Hepatose	8 (10,4%)	4 (7,6%)	27 (16,7%)	17 (11,0%)	30 (19,7%)			
mit Myopathie und Ketose/Hepatose	4 (5,2%)	1 (1,9%)	10 (6,2%)	21 (13,6%)	22 (14,5%)			
anderer Mineralmangel (GP-Typ III und IV)	n=29 (24,6%)	n=8 (11,9%)	n=9 (4,5%)	n=14 (7,7%)	n=26 (13,1%)			
nur Mineralmangel	11 (37,9%)	2 (25%)	3 (33,3%)	4 (28,6%)	9 (34,6%)			
mit Myopathie	15 (51,7%)	4 (50%)	3 (33,3%)	8 (57,1%)	7 (26,9%)			
mit Ketose/Hepatose	-	2 (25%)	1 (11,1%)	2 (14,3%)	7 (26,9%)			
mit Myopathie und Ketose/Hepatose	3 (10,3%)	-	2 (22,2%)	-	3 (11,5%)			
kein Mineralmangel (GP-Typ V)	n=12 (10,2%)	n=6 (9,0%)	n=29 (14,5%)	n=13 (7,2%)	n=20 (10,1%)			
keine Labordiagnose	4 (33,3%)	3 (50%)	12 (41,4%)	5 (38,5%)	4 (20%)			
Myopathie	8 (66,7%)	3 (50%)	9 (31,0%)	6 (46,2%)	15 (75%)			
Ketose/Hepatose	-	-	8 (27,6%)	2 (15,4%)	1 (5%)			

- Zelle nicht belegt, FV: Fleckvieh, HF: Holstein-Friesian

Tabelle 3: Referenzbereiche für Mengenelemente im Rinderserum (20)

Parameter	Methode	physiologischer Bereich
Magnesium	Quantitative Messung mittels vollautomatischer photometrischer Bestimmung	0,8-1,3 mmol/l
Kalzium	Photometrische Messung mittels Endpunktbestimmung unter Berücksichtigung des Probenleerwertes	> 2,00 mmol/l ¹
Phosphor	Photometrische Messung mittels Endpunktbestimmung unter Berücksichtigung des Probenleerwertes	> 1,25 mmol/l ¹
Aspartat-Amino-Transferase	Enzymkinetische Bestimmung der Aktivität über die Änderung des spektralen Absorptionsmaßes zwischen ausgewählten Messpunkten	< 50 U/l
Glutamat-Dehydrogenase	Enzymkinetische Bestimmung der Aktivität über die Änderung des spektralen Absorptionsmaßes zwischen ausgewählten Messpunkten	< 25 U/l
Kreatinkinase	Enzymkinetische Bestimmung der Aktivität über die Änderung des spektralen Absorptionsmaßes zwischen ausgewählten Messpunkten	< 300 U/l
Bilirubin	Photometrische Messung mittels Endpunktbestimmung	< 6,8µmol/l
β-Hydroxybuttersäure	unter Berücksichtigung des Probenleerwertes	< 1000 µmol/l
Cholesterol	Quantitative Messung mittels vollautomatischer photometrischer Bestimmung	2,0-4,5 mmol/l
Harnstoff	Quantitative enzymatische Bestimmung mittels Urease/Glutamat-Dehydrogenase	3,3 –5,0 mmol/l

¹: Die Untergrenze gilt für Kühe im peripartalen Zeitraum (20)

Phosphors für das Festliegen der Kühe auf (28). Eine Gegenthese besagt, dass die niedrigen Phosphorkonzentrationen eher eine Folge der herabgesetzten Motilität des Verdauungstraktes und damit verbundener verminderter Phosphorresorption sind (15, 29). Diese widersprüchlichen Ergebnisse waren Anlass für eine regional übergreifende Untersuchung zu den Ursachen für das Festliegen von Milchkühen im peripartalen Zeitraum. In vier Praxisgebieten in Deutschland wurden während eines Jahres nach Möglichkeit alle festliegenden Kühe erfasst. Die klinischen und serologischen Untersuchungen erbrachten, dass unabhängig von der Region bei den Holstein-Friesian-(HF)-Kühen nahezu 80% der Tiere einen Abfall in den Kalziumkonzentration im Serum und insgesamt nahezu 90% eine Störung im Mineralstoffwechsel (Ca, P, Mg) aufwiesen (12). Bei den Fleckviehkühen (FV-Kühen) der Praxis A lagen diese Anteile bei 65,3% und 89,9% (Tabelle 1). Kühe, die nur einen Phosphormangel aufwiesen, fanden sich am häufigsten bei den FV-Kühen der Praxis A (19,5%) und am wenigsten in Praxis B (2,0%). Ungefähr 10% aller Kühe wiesen keine erniedrigten Kalzium- oder Phosphorkonzentrationen auf. Zu den als Hauptursache für das Festliegen geltenden Mineralstoffstörungen können weitere Erkrankungen wie Muskeltraumen, Nervenschädigungen, Ketose oder Leberbelastungen dazukommen. Diese müssen nicht immer klinische Symptome hervorrufen, beeinflussen aber das Heilungsgeschehen oft entscheidend. Im zweiten Teil dieser Untersuchungen werden nun das Vorkommen dieser Erkrankungen und andere Einflussfaktoren auf den Heilungserfolg besprochen.

Material und Methoden

Die Untersuchungen fanden im Einzugsbereich von vier Praxen in Baden-Württemberg (Praxis A), Niedersachsen (Praxen B und C) und Nordrhein-Westfalen (Praxis D) statt. Insgesamt wurden 764 Kühe in die Studie aufgenommen (Tabelle 1). In der Praxis A waren 2/3 der Patienten FV-Kühe (118) und das verbliebene 1/3 HF-Kühe (67). In den anderen Praxen waren nahezu ausschließlich HF Kühe zu finden (B: 200 Kühe; C: 181 Kühe). In der Praxis D (198 Kühe) waren 2/3 der Tiere HF-Kühe und das restliche Drittel Kreuzungstiere aus HF und FV. Die Vorgehensweise war bei allen Praxen gleich. Der Untersuchungszeitraum war jeweils auf ein Jahr beschränkt. Innerhalb dieses Jahres wurden alle Tiere, welche im peripartalen Zeitraum (1 d a.p. bis 2 d p.p.) festlagen, in die Untersuchung einbezogen. Anhand eines einheitlichen Fragebogens wurde eine eingehende Anamnese erhoben, eine klinische Untersuchung des Tieres schloss sich an (2, 10). Wurde anhand der erhobenen Befunde die Verdachtsdiagnose „Festliegen aufgrund einer Hypokalzämie oder Hypophosphatämie“ gestellt, wurden die Tiere entsprechend behandelt. In allen Praxen wurden organische Kalziumlösungen als Standardtherapie eingesetzt (Tabelle 2). Neben den Kalziumlösungen konnten praxisspezifisch weitere Medikamente gegeben werden, wenn dies im Rahmen der GP-Behandlung üblich war und dieselben gesichert bei allen Patienten eingesetzt wurden. Die Versuchstherapie bestand aus der Standardtherapie und einem weiteren zu testenden Medikament, welches von Praxis zu Praxis wechselte (Tabelle 2). In Praxis A wurden zwei Ca-Mg-P-Lösungen mit unterschiedlichem Phosphorgehalt getestet. Die jeweils eingesetzten Mengen entsprachen dabei den jeweiligen Herstellerangaben. Die Zuordnung der Kühe zu den Therapien erfolgte über die Zeit alternierend. Vor der Ersttherapie und vor jeder Nachbehandlung wurde eine Blutprobe entnommen. Im Serum wurden die Konzentrationen von Kalzium, Phosphor und Magnesium bestimmt (Vet.-Med. Labor Ludwigsburg). Außerdem wurden die Aktivitäten der ASAT, GLDH und Kreatinkinase (CK) und die

2.3. Untersuchungen zum Auftreten der Gebärpause in verschiedenen Regionen ...

Tabelle 2: Standard- und Versuchstherapie festliegender Kühe in den vier Praxen

Praxis	Standard-Therapie	Versuchstherapie
A	11,4 g Kalzium in Form von Kalziumgluconat und Kalziumborogluconat 0,33 g Phosphor^a in Form von 2-Aminoethyl-dihydrogenphosphat	10,80 Kalzium in Form von Kalziumgluconat 1,20 g Phosphor^a als Glycerolphosphorsaures Natrium
B	11,4 g Kalzium in Form von Kalziumborogluconat	Standard + 10 Mill. I.E. Vitamin D ₃
C	11,4 g Kalzium in Form von Kalziumgluconat und Kalziumborogluconat	Standard + 1,4 g Phosphor^a als Toldimfos-Natrium-Trihydrat ^a
D	11,4 g Kalzium in Form von Kalziumgluconat und Kalziumborogluconat	Standard + 10g Dexamethason als Dexamethason-21-isonicotinat

^a:die Menge an Phosphor ergibt sich bei Anwendung der vom Hersteller empfohlenen Dosis.

Konzentrationen der Stoffwechselmetaboliten Bilirubin, Cholesterol, Harnstoff und β -Hydroxybuttersäure gemessen. Anhand der Ergebnisse der Blutuntersuchungen wurden für jedes Tier eine Diagnose und gegebenenfalls Differentialdiagnosen gestellt. Dabei fanden die in der Tabelle 3 aufgeführten Grenzwerte Verwendung. Für die Verdachtsdiagnose „Leberbelastung“ mussten die Aktivitäten der GLDH und die Werte für Bilirubin deutlich erhöht sein. Eine alleinige Erhöhung des Bilirubins wurde nicht als Leberbelastung gewertet, da auch bei Inanition erhöhte Bilirubinkonzentrationen gemessen werden (20). Konnten nach den Laborbefunden unterschiedliche Diagnosen gestellt werden, wurden für die statistische Auswertung die Hypokalzämie oder Hypophosphatämie immer zur Diagnose und die anderen Erkrankungen zur Differentialdiagnose erklärt.

Die statistischen Auswertungen (SPSS 11.0, SPSS Inc., Chicago, USA) erfolgten für jede Praxis getrennt, da Merkmale stärker zwischen Teilpopulationen als innerhalb einer Teilpopulation variieren (8). Für die Gruppenvergleiche wurde bei nominalen Parametern der Chi²-Test verwendet und bei metrischen eine einfache ANOVA. Dafür wurden die Werte der CK, der ASAT und der β -Hydroxybuttersäure log₁₀-transformiert, um die Voraussetzung der Normalverteilung zu erfüllen. Für die Auswertung des Heilungserfolges wurden nur die Kühe berücksichtigt, bei denen eine Störung im Kalziumstoffwechsel (GP I und II) vorlag. Da unter den vorliegenden Praxisbedingungen in der Regel keine Verlaufsuntersuchungen an den Patienten, die nach der Erstbehandlung geheilt waren, möglich waren, ließen sich keine Aussagen zum Verhalten der Kalzium- und Phosphorkonzentrationen im Blut machen, wie sie in anderen Studien angegeben werden (4, 7, 24). Ein Vergleich von Kontroll- und Versuchstherapie in jeder Praxis erfolgte deshalb anhand des Erstbehandlungserfolges, der Gesamtheilungsrate und der Anzahl benötigter Behandlungen. Eine erfolgreiche Ersttherapie war eingetreten, wenn die Kuh innerhalb von sechs Stunden nach der Behandlung ihr Stehvermögen wieder erhalten hatte und Rezidive nicht aufgetreten waren.

Die Gesamtheilungsrate betrifft alle Kühe, die nach einer unterschiedlichen Anzahl von Behandlungen ihr Stehvermögen erlangt hatten und bei denen innerhalb einer Woche keine Rezidive auftraten. Bei allen Tests wurden Unterschiede ab einem p-Wert kleiner 0,05 als statistisch gesichert betrachtet. Der absolute p-Wert wird zur Abschätzung der Bedeutung der gefundenen Unterschiede für die Gesamtpopulation herangezogen (30).

Ergebnisse

Wie die bereits publizierten Resultate (12) zu klinischen Symptomatik und zum Verhalten der Mengenelemente zeigen, wurde praxisunabhängig bei über 75% der Patienten anhand der serologischen Untersuchungen eine Störung im Kalziumstoffwechsel (GP-Typ I und II) festgestellt (Tabelle 1). Nur bei den FV-Kühen in Praxis A war der Anteil mit 65,3% niedriger. Ein ausschließlicher Phosphor- oder Magnesiummangel trat deutlich seltener auf. Die Laboruntersuchungen zeigten weiter, dass bei den Patienten mit Hypokalzämie in 41,5% bis 67,8% der Fälle weitere Erkrankungen vorlagen (Tabelle 1). Hierbei stellten Muskelerkrankungen die größte Gruppe (31,8 bis 32,9%) dar. Ketosen oder Hepatosen traten bei 7,6 bis 19,7% der Patienten parallel zur Hypokalzämie auf. In 19,9 bis 14,5% der Fälle litten die Kühe an allen drei Haupterkrankungen. Bei Kühen mit einer anderen Mineralstoffstörung (GP III und IV) wiesen 62,1% bis 75,0% der Tiere ebenfalls weitere Erkrankungen auf. Myopathien stellten erneut die Hauptbegleiterkrankung. Eine Auswertung nach der Alterszugehörigkeit der Tiere erbrachte deutliche Unterschiede in den Häufigkeiten der Labordiagnosen (Tabelle 4). So wurde bei den Kühen, die zum ersten Mal kalbten, seltener eine Hypokalzämie diagnostiziert als bei den anderen Altersgruppen. Diese Altersgruppe war aber in jeder Praxis mit nur wenigen Tieren vertreten. Die wenigen Erstkalbinnen in allen Praxen ließen keine verallgemeinernde Aussage zu einem möglichen Einfluss des Geburtsverlaufes oder vorhandener Nervenschäden auf die Muskelschäden zu. Anhand der Einzelfälle ergab sich kein Hinweis auf einen solchen Zusammenhang. Ab der zweiten Laktation traten Hypokalzämien zunehmend häufiger auf und stellten in 2 Praxen (C und D) schon die mehrheitliche Erkrankungsursache des Festliegens. In den höchsten Altersgruppen waren mindestens $\frac{1}{4}$ der Kühe von einer Hypokalzämie betroffen (Tabelle 4). Alleinige Myopathien oder andere Mineralstoffstörungen waren in diesen Altersgruppen in deutlich geringerem Ausmaße zu verzeichnen. Bei 7,2 bis 14,5% der Kühe lagen die gemessenen Werte der drei Mengenelemente innerhalb der Referenzbereiche. Nach den Laborbefunden stellten Myopathien bei diesen Tieren die Hauptdiagnose. Die Häufigkeiten von Kühen mit Ketose oder einer Störung der Leberfunktion waren deutlich niedriger. Tiere mit einem unauffälligen Serumprofil, bezogen auf die in der Studie untersuchten Parameter, traten in allen Praxen in nur sehr geringem Maße auf (2-5%).

Für einen Vergleich der jeweiligen Kontroll- und Standardtherapien wurden nur die Kühe mit einem Kalziummangel (GP-Typ I und II) in die Auswertung einbezogen. Zuerst waren die beiden Gruppen hinsichtlich der Ausgangswerte verglichen worden. Bis auf Praxis D konnten bei den Kühen keine statistisch nachweisbaren Unterschiede bei den erhobenen Anamnesedaten und den Laborparametern der ersten Blutprobe gefunden werden. In Praxis D hatten die Kühe der Versuchsgruppe im Mittel statistisch gesichert höhere Kalzium- ($p=0,016$) und Phosphor- ($p=0,046$) und niedrigere Cholesterolkonzentrationen ($p=0,023$) im Blut. Die Unterschiede waren aber sehr gering, da die Mittelwerte von Kalzium und Phosphor zum einen sehr dicht beieinander und zum anderen jeweils deutlich unterhalb der physiologischen Grenzen lagen. Diese statistischen Unterschiede wurden daher nicht als relevant für einen Vergleich der beiden Therapien angesehen.

Zwischen den Praxen schwankten die Erstbehandlungserfolge zwischen 66,5 und 82,0% und die Gesamtheilungsraten zwischen 87,5 und 95,2% (Tabelle 5). Die jeweiligen Standard- und Kontrolltherapien waren hinsichtlich des Erstbehandlungserfolgs, der Gesamtheilungsrate und der Anzahl an Behandlungen statistisch in allen Praxen nicht verschieden voneinander ($p>0,05$). Während die Art der

Medikamente und das Alter der Tiere keinen statistisch nachweisbaren Einfluss auf den Therapieverlauf hatten, konnten bei den im Serum gemessenen Parametern deutliche Unterschiede zwischen den geheilten und nicht geheilten Kühen festgestellt werden (Tabelle 6). In allen Praxen wiesen die Tiere, die nicht erfolgreich therapiert werden konnten, schon in den Ausgangswerten deutlich höhere Aktivitäten der CK ($p < 0,05$) auf. Außerdem waren bis auf eine Ausnahme die Aktivitäten der ASAT bei den geheilten Tieren niedriger und damit im physiologischen Bereich ($p < 0,05$). Weitere statistisch nachweisbare Unterschiede in den gemessenen Serumparametern waren nur in jeweils ein oder zwei Praxen nachweisbar und betrafen die GLDH (Praxis B und D), den Harnstoff (Praxis A und C), das Bilirubin (Praxis A) und die β -Hydroxybuttersäure (Praxis A und D). Dagegen waren bis auf wenige Ausnahmen keine Unterschiede in den Kalzium- und Phosphorkonzentrationen der Ausgangsmessungen nachweisbar: Die Ausnahmen betrafen die FV-Kühe in Praxis A und die HF-Kühe in den Praxen B und C. In Praxis B lagen die Kalziumwerte bei den nicht geheilten Kühen, im Gegensatz zu den geheilten, höher und nahe an der physiologischen Untergrenze ($p < 0,05$). In den Praxis A und C waren die Phosphorkonzentrationen der nicht geheilten Patienten höher ($p < 0,05$).

Diskussion

Die vorliegenden Untersuchungen in verschiedenen Regionen Deutschlands waren initiiert worden, um die Ursachen für das Festliegen von Milchkühen im peripartalen Zeitraum zu erfassen und die Heilungsrate der derzeit etablierten Therapiekonzepte der GP zu ermitteln. Gemäß den Laboranalysen der Serumproben vor der Ersttherapie wiesen über 80% der festliegenden Tiere eine Störung im Mineralstoffwechsel und davon wiederum die überwiegende Mehrheit einen verminderten Kalziumgehalt auf. Diese Häufigkeit an Mineralstoffstörungen als Ursache für das Festliegen der Kuh im peripartalen Zeitraum deckt sich mit den Angaben früherer Untersuchungen (31). Die Autoren verweisen zwar darauf, dass ihre Zahlen nur Schätzungen darstellen, diese decken sich aber sehr gut mit den vorliegenden Untersuchungen. Auch andere Untersucher haben eine ähnlich hohe Häufigkeit ermittelt. Nach ihren Angaben litten 75% der festliegenden Kühe unter einer Mineralstoffstörung (23).

Der Anteil festliegender Kühen mit physiologischem Mineralstoffgehalt schwankte in den Praxen zwischen 9 und 16,1% und liegt damit höher als in früheren Veröffentlichungen angegeben (7, 32). Die serologischen Untersuchungen ergaben, dass bei der Mehrheit dieser Tiere deutliche Aktivitätserhöhungen der CK vorlagen und somit Myopathien unterschiedlichen Ausmaßes die Hauptursache stellten (7). Nur bei einem sehr geringen Anteil der Tiere war eine auf den Laborwerten basierende Diagnose nicht zu stellen. Die Befunde zeigen, dass eine gewisse Diskrepanz besteht zwischen der anhand der klinischen Untersuchung gestellten Verdachtsdiagnose und den Laborbefunden. Vor allem bei Kühen, die bei ungestörtem Sensorium in Brust-Bauchlage festlagen, können anhand der klinischen Erstuntersuchung mögliche Differentialdiagnosen wie Muskel- oder Nervenschäden nicht verlässlich ausgegrenzt werden, da auch diese nicht immer eindeutig zu diagnostizieren sind (10). Dies mag dazu geführt haben, dass die Verdachtsdiagnose „Hypokalzämie“ zu oft und gleichzeitige andere Erkrankungen zu wenig festgestellt wurden. Das prinzipiell hohe Vorkommen der Hypokalzämie spricht aber dafür, diese Störung als Hauptursache zu sehen.

Tabelle 4: Häufigkeit der nach den Laborbefunden gestellten Diagnosen und Differentialdiagnosen bei festliegenden Kühen in den vier Praxen in Relation zur Zahl der Laktationen

Labordiagnose	A		B	C	D
	FV (n=118)	HF (n=67)	n=200	n=181	n=198
1. Laktation	n=12 (10,2%)	n=3 (4,5%)	n=1 (0,5%)	n=2 (1,1%)	n=5 (2,5%)
Hypokalzämie	1	-	-	1	2
anderer Mineralmangel	6	1	-	-	-
Myopathie	4	2	1	1	3
Ketose	-	-	-	-	-
keine Diagnose	1	-	-	-	-
2. Laktation	n=8 (6,8%)	n=4 (6,0%)	n=4 (2%)	n=17 (9,4%)	n=8 (4,0%)
Hypokalzämie	3	1	2	9	5
anderer Mineralmangel	4	3	-	4	2
Myopathie	1	-	2	3	-
Ketose	-	-	-	1	-
keine Diagnose	-	-	-	-	1
3.-5. Laktation	n=70 (59,3%)	n=47 (70,1%)	n=161 (80,5%)	n=125 (69,1%)	n=132 (66,7%)
Hypokalzämie	52	42	130	108	103
anderer Mineralmangel	13	2	9	9	18
Myopathie	3	1	5	2	9
Ketose	-	-	6	1	1
keine Diagnose	2	2	11	5	1
> 5. Laktation	n=28 (23,7%)	n=13 (19,4%)	n=34 (17%)	n=37 (20,4%)	n=53 (26,8%)
Hypokalzämie	21	10	30	36	42
anderer Mineralmangel	6	2	-	1	6
Myopathie	-	-	1	-	3
Ketose	-	-	2	-	-
keine Diagnose	1	1	1	-	2

-: Zelle nicht belegt; FV: Fleckvieh, HF: Holstein-Friesian

Bei Erstkalbinnen stellten im Gegensatz zu den älteren Kühen Myopathien die häufigste Ursache des Festliegens dar. Außerdem war diese Altersgruppe in den vier Praxen nur mit wenigen Tieren vertreten. Beides zusammen kann als Beleg dafür gewertet werden, dass einerseits bei Kühen, die zum ersten Mal abkalben, Hypokalzämien weiterhin nur sehr selten auftreten und in der Ätiologie des Festliegens eine untergeordnete Rolle spielen. Bei diesen Tieren ist andererseits eine umfassende klinische Untersuchung in Kombination mit serologischen Untersuchungen unerlässlich, um die ätiologische Ursache zu finden.

Kühe der 2. Laktation waren auch noch in geringem Maße im Patientengut der vier Praxen zu finden, die mehrheitliche Ursache für ihr Festliegen war schon wie bei den noch älteren Kühen die Hypokalzämie. Die serologischen Untersuchungen erbrachten ferner, dass die Mehrheit der festliegenden Kühe neben der Hypokalzämie weitere Erkrankungen aufwies. Darunter waren am häufigsten Störungen im Muskelstoffwechsel zu finden, die sich in einem Aktivitätsanstieg der CK und ASAT im Serum äußerten. Auf die Bedeutung begleitender Myopathien in der Ätiologie des Festliegens bei Kühen wurde in früheren Studien hingewiesen (5, 7). Es fehlten aber bisher Angaben dazu, wie oft diese Begleiterkrankungen auftreten.

2.3. Untersuchungen zum Auftreten der Gebärpause in verschiedenen Regionen ...

Tabelle 5: Therapieerfolge nach Erstbehandlung, Gesamtheilungsrate und durchschnittliche Anzahl benötigter Behandlungen bei festliegenden Kühen mit Hypokalzämie im peripartalen Zeitraum in den vier Praxen

Praxis	Rasse / Anzahl	Therapie	Erfolg nach Ersttherapie	Gesamtheilungsrate	Ø Anzahl an Behandlungen
A	FV / 77	Standard	63,9%	94,7%	1,50
		Versuch	67,6%	94,9%	1,38
	HF / 53	Standard	70,8%	92,3%	1,42
		Versuch	91,7%	88,9%	1,13
B	HF / 162	Standard	82,7%	96,3%	1,21
		Versuch	81,5%	96,3%	1,17
C	HF / 154	Standard	82,0%	93,0%	1,16
		Versuch	77,8%	92,6%	1,23
D	HF / 152	Standard	82,3%	93,7%	1,14
		Versuch	84,9%	94,5%	1,19

Es ist bemerkenswert, dass in den vier untersuchten Praxen zwischen 41,5 und 77,8% der Patienten zusätzlich zu den Mineralstoffstörungen an weiteren Erkrankungen litten. Mit dem gewählten Grenzwert für die CK von 300 U/l wurden schon kleinere Aktivitätserhöhungen erfasst. Da diese im Serum zeitverzögert zum Auftreten des Muskelschadens erfolgen, kann aus ihnen nicht unbedingt auf die Größe der Muskelschäden geschlossen werden. Auch besteht keine Relation zwischen einer erhöhten CK-Aktivität und dem Ausmaß des funktionellen Schadens des betroffenen Muskels. Mögliche Folgeblutproben, die den weiteren Anstieg der CK belegen, konnten aufgrund des Studiendesigns nicht in einem ausreichenden Maße genommen werden, um eine statistische Auswertung zu rechtfertigen.

Bei den Tieren, die nachbehandelt werden mussten, war in der Regel in den Folgeblutproben ein weiterer Aktivitätsanstieg der CK und der ASAT festzustellen. Dieser Anstieg fiel deutlich höher aus, wenn die Therapie im Ergebnis erfolglos war. Anhand des klinischen Bildes waren das Vorliegen und das Ausmaß der Muskelschäden in den wenigsten Fällen erkennbar. Auch wurden mögliche nervale Beeinträchtigungen nur in wenigen Einzelfällen als mögliche Differentialdiagnose in Betracht gezogen. Nach den vorliegenden Ergebnissen können die Gründe für ein Festliegen von Milchkühen im peripartalen Zeitraum folgendermaßen zusammengefasst werden. Mit Ausnahme der Erstkalbinnen ist ein Abfall der Kalziumspiegel mit weitem Abstand die Hauptursache der GP. Danach folgen Schäden in der Muskulatur. Andere Erkrankungen wie schwere Leberstörungen, Mastitiden oder Knochenbrüche treten in Einzelfällen auf. Mit den Haupterkrankungen tritt häufig bei den festliegenden Kühen eine Hypophosphatämie auf.

In einer ähnlichen Studie (32) wie der vorliegenden wurden in 64,4 % der Fälle ein kombinierter Phosphor- und Kalziummangel nachgewiesen, ein Anteil, welcher den vorliegenden Ergebnissen entspricht (12). Allerdings liegt der Anteil an Kühen mit einem alleinigen Phosphormangel in dieser Studie mit 28,7% deutlich höher (32). Ähnliche Ergebnisse fanden sich auch in anderen Untersuchungen (1). Ein entscheidender Grund für die unterschiedlichen Häufigkeiten im GP-Typ III dürfte auch in der Wahl der unterschiedlichen Grenzwerte liegen. In den zitierten Studien (1, 32) lagen die Grenzwerte für Phosphor (1,50 mmol/l) über und die für Kalzium (1,70 mmol/l) unter denen der vorliegenden Studie. Damit verringert sich aber bei einer Punktwolke der Quadrant, in welchem sich die Tiere mit einem alleinigen Phosphormangel befinden. Die Anwendung der Grenzwerte (1, 32) auf die Ergebnisse der

vorliegenden Untersuchungen führt vor allem in der süddeutschen Praxis zu einem deutlich höheren Anteil an Kühen mit einer alleinigen Hypophosphatämie 27,6 % und ist damit vergleichbar mit den Ergebnissen der beiden zitierten Untersuchungen (1, 32), welche ebenfalls in Süddeutschland und überwiegend an FV-Kühen stattfanden. In den Praxen in Norddeutschland erhöht sich der Anteil an Kühen mit Phosphormangel nicht wesentlich und liegt weiterhin niedriger als in Süddeutschland (Daten nicht gezeigt). Es wäre interessant gewesen, von gesunden Vergleichskühen im peripartalen Zeitraum die Mengenelemente zu bestimmen. Ein möglicher Rasse- oder regionaler Einfluss wäre dann nachweisbar gewesen. Anhand dieser Rechenbeispiele wird sichtbar, dass durch die Wahl der Grenzwerte der Anteil an Tieren mit einem separaten Phosphormangel deutlich zu beeinflussen ist. Alle verwendeten Grenzwerte (in unserer Studie und in der Literatur) sind durch Angaben aus Lehrbüchern belegbar (10, 20). Man könnte nun behaupten, dass durch die Absenkung des Phosphorgrenzwertes auf 1,26 mmol/l der Anteil an Tieren mit alleiniger Hypophosphatämie deutlich gesenkt und das Problem der atypischen Gebärparese elegant aufgelöst wurde. Dies war keinesfalls das Bestreben der Autoren. Es finden sich zudem in der Literatur Grenzwerte für Phosphor, die noch deutlich unter 1,26 mmol/l liegen (19). Mit Anwendung dieser Grenzwerte würde der Anteil an Tieren mit alleiniger Hypophosphatämie noch weiter sinken.

Es stellt sich an dieser Stelle vor allem die Frage nach der ätiologischen Bedeutung des Phosphors. Der Phosphorspiegel muss sehr stark abfallen ($<0,67$ mmol/l), um eine hormonelle Gegenregulierung zu erreichen (14). Bei Fleischrindern können aufgrund einer chronischen Mangelversorgung mit Phosphor Serumwerte zwischen 0,6-1,1 mmol/l gefunden werden, ohne dass die Tiere festliegen (14). Milchkühen wurden über einen Zeitraum von 2 Jahren nur zwei Drittel des Phosphorbedarfs gefüttert. Keines der Tiere kam zum Festliegen oder zeigte Störungen im Muskelstoffwechsel (33). In einem anderen Fütterungsversuch mit extrem phosphorarmen Rationen war es auch nicht möglich, Festliegen bei Kühen auszulösen (26). Bei den Tieren fanden sich aber extrem niedrige Phosphorwerte im Serum. Hypophosphatämien finden sich zudem häufig bei Kühen mit unterschiedlichen Primärerkrankungen wie Ketose, Labmagenverlagerung oder Klauenerkrankungen, ohne dass diese Tiere festliegen (15, 29).

Eine Bewertung der Therapien oder möglicher Einflussfaktoren auf den Heilungserfolg fand nur anhand der Parameter Ersttherapieerfolg, Gesamtheilungsrate und Anzahl benötigter Behandlungen statt. Da alle Kühe eine Kalziuminfusion erhielten, wurden in die Auswertung nur die Tiere mit einem nachweislichen Kalziummangel aufgenommen. In den vier Praxen wurden Erstheilungsraten zwischen 70 und 85% ermittelt. Diese Werte decken sich sehr gut mit den Ergebnissen aus früheren Studien (7, 21). Die Studie aus dem Jahr 2000 gibt einen Ersttherapieerfolg von nur 43,6% an (32). Die Autoren differenzieren dabei aber nicht zwischen den Tieren mit alleiniger Hypokalzämie oder alleiniger Hypophosphatämie, so dass dieser Wert nur eingeschränkt vergleichbar ist.

In der vorliegenden Studie zeigte sich kein möglicher Einfluss des Phosphorspiegels im Serum auf den Therapieerfolg. So hatten die Kühe mit einem alleinigen Kalziummangel keine besseren Heilungsraten als die Tiere mit einem Kalzium- und Phosphormangel (Daten nicht gezeigt). Die Gesamtheilungsrate lag in den vier Praxen der vorliegenden Studie zwischen 88 und 97%, diese Werte stimmen gut mit denen anderer Studien überein (7, 21, 32). Diese hohe Erfolgsrate hängt natürlich damit zusammen, dass nur die Kühe mit einer Hypokalzämie in die Auswertung gingen

Tabelle 6: Ausgewählte Parameter im Serum festliegender Kühe mit Hypokalzämie in Abhängigkeit vom Therapieerfolg in den vier Praxen

Parameter ^b	Therapieerfolg			
	A FV (n=73/14 ^a)	B HF (n=48/5 ^a)	C (n=142/12 ^a)	D (n=143/9 ^a)
Calcium mmol/l	1,40±0,34 p=0,227 1,61±0,36	1,17±0,35 p=0,294 1,35±0,56	1,03±0,33 p=0,009 1,40±0,37	1,22±0,37 p=0,095 1,31±0,48
Phosphor mmol/l	0,66±0,39 p=0,019 1,20±1,03	0,53±0,28 p=0,526 0,62±0,44	0,93±0,50 p=0,456 1,08±0,57	0,62±0,38 p=0,402 0,73±0,46
Magnesium mmol/l	1,12±0,27 p=0,332 0,99±0,24	1,17±0,25 p=0,815 1,20±0,18	0,96±0,22 p=0,228 0,85±0,25	0,97±0,21 p=0,214 1,06±0,21
ASAT U/l	64±112 p=0,203 137±74	41±20 p<0,001 118±135	112±44 p<0,001 255±98	143±317 p=0,006 466±595
Kreatinkinase U/l	1118±3040 p=0,043 4375±3637	364±642 p=0,001 2280±3239	390±466 p<0,001 3753±6372	971±3846 p<0,001 6534±10981
GLDH U/l	7±8 p=0,984 7±7	5±2 p=0,856 4±4	18±13 p<0,001 80±68	9±5 p<0,001 27±34
Bilirubin µmol/l	7,8±5,51 p=0,423 9,9±5,8	9,7±4,9 p=0,034 15,1±8,3	6,7±3,6 p=0,335 5,3±3,1	9,7±8,2 p=0,303 6,8±3,1
Cholesteron mmol/l	1,8±0,5 p=0,164 2,0±0,7	1,6±0,5 p=0,282 2,0±1,3	2,0±0,7 p=0,006 2,9±1,7	2,0±0,7 p=0,697 2,0±0,5
Harnstoff mmol/l	5,0±1,7 p=0,003 6,6±2,5	5,5±1,8 p=0,971 5,4±1,3	6,1±1,8 p=0,066 7,5±2,3	6,1±2,0 p=0,456 5,6±1,2
β-Hydroxybuttersäure µmol/l	605±267 p<0,001 1237±1536	489±248 p=0,269 605±316	730±409 p=0,255 939±995	865±429 p<0,001 2112±2293

Fett markierte Mittelwerte unterscheiden sich statistisch signifikant zwischen den geheilten und nicht geheilten Kühen (p<0,05).^a: Die erste Zahl gibt die Anzahl der geheilten, die zweite die der nicht geheilten Kühe wider. ^b: Die Messungen erfolgten vor der Ersttherapie.

und daher die Infusion mit einer Kalziumlösung die optimale Therapie darstellte (3, 27). In allen vier Praxen hatte die Versuchstherapie keinen statistisch nachweisbaren anderen Heilungserfolg als die Standardtherapie. Auch das ist aus dem oben genannten Grund nicht verwunderlich. Aufgrund der Tatsache, dass die Untersuchungen unter Praxisbedingungen durchgeführt worden waren, konnte keine Versuchsgruppe geführt werden, die als Therapie allein das zu testende Zusatzmedikament erhielt. Dies wäre auch gar nicht sinnvoll gewesen, da die eingesetzten Therapeutika nur in Begleitung einer Kalziuminfusion eingesetzt werden sollen (27). Auch in vergleichbaren Studien wurde wie in den vorliegenden Untersuchungen verfahren (7, 11, 16, 32).

In zwei Praxen (A und C) waren als Zusatztherapie phosphorhaltige Präparate eingesetzt worden. Dabei lag der Phosphor in zwei unterschiedlichen Formulierungen vor. Die Menge des verabreichten Phosphors in den beiden Präparaten der Praxen A und C ist kritisch zu hinterfragen, entsprach aber in beiden Fällen den Herstellerangaben. Die neuen Bestimmungen des Arzneimittelgesetzes erschweren eine Umwidmung anderer Präparate aber auch eine Erhöhung der Dosis über die Herstellerangaben hinaus. Daher wurde bewusst bei der Auswahl der Präparate auf die Zulassung für die Milchkuh und die angegebene Dosierung geachtet. Beide Präparate enthalten bei Anwendung der Herstellerangaben keine ausreichenden Mengen Phosphor, die nach dem derzeitigen Wissensstand für eine Regulierung des Phosphorspiegels notwendig sind. Die Zufuhr von 1,2 g Phosphor (Praxis A) bzw. 1,4 g Phosphor (Praxis C) liegt weit unter der empfohlenen Dosis von 4,8 g (13). In Untersuchungen an klinisch gesunden Kühen konnte mit intravenös verabreichten anorganischen Phosphorverbindungen kein Anstieg des Phosphorgehaltes im Blut hervorrufen werden (17). Dieses Ergebnis stellt den Nutzen des Medikaments von Praxis C zusätzlich in Frage. Auch andere Autoren weisen darauf hin, dass es derzeit keinen bekannten Prozess gibt, mit welchem die Kuh Phosphit zu Phosphat umwandeln kann (8, 14).

Die Zufuhr ungenügender und zudem nicht verwertbarer Mengen Phosphor stellt einen Vergleich der Therapien in Frage. Da unter den vorgegebenen Praxisbedingungen keine Verlaufsuntersuchungen an den geheilten Tieren möglich waren, sind auch keine Aussagen zu den Änderungen der Phosphorspiegel im Blut möglich. Anhand der Verlaufsuntersuchungen an den Kühen, die wiederholt behandelt werden mussten, war festzustellen, dass die Phosphorkonzentrationen sich zwischen den beiden Therapiegruppen nicht unterschieden (Daten nicht gezeigt). In beiden Gruppen war ein Anstieg der Werte festzustellen, die Grenzwerte wurden aber noch nicht erreicht. Ein Anstieg der Phosphorkonzentrationen ist aufgrund der Kalziumgabe zu erwarten gewesen (3). Die intravenöse Kalziumzufuhr löst eine hormonelle Gegenregulation aus, die zu einer Erhöhung der Phosphorspiegel im Blut führt (3). Da aber die Vergleichswerte der geheilten Tiere fehlen, sind diese Werte nur ein Hinweis darauf, dass die zusätzliche Phosphorgabe keinen nachweisbaren Einfluss hatte.

Während die Art der Therapie keinen Einfluss auf den Heilungserfolg hatte, konnten dagegen Unterschiede in den serologischen Parametern zwischen den geheilten und nicht geheilten Kühen aufgezeigt werden. Schon in der Serumprobe der Erstuntersuchung lagen die Aktivitäten der CK und der ASAT bei den nicht zu heilenden Tieren statistisch gesichert höher (5). Dies war in allen vier Praxen festzustellen. Die gemessenen Werte lagen dabei deutlich über denen, die bei Kühen im Puerperium normalerweise vorliegen (6). Daneben fanden sich, regional unterschiedlich, weitere statistisch belegbare Unterschiede in den Serumwerten. Dies betraf die GLDH, den Harnstoff und die β -Hydroxybut-

tersäure. Dagegen konnten bis auf wenige Ausnahmen keine Unterschiede in den Mengenelementkonzentrationen zwischen den geheilten und nicht geheilten Tieren ermittelt werden. Bei den wenigen gefundenen Ausnahmen lag zudem der jeweilige Mineralstoffgehalt der erfolglos therapierten Kühe über dem der geheilten Tiere und hatte damit keine Bedeutung für den Heilungsverlauf. Dies widerspricht anderen Untersuchungen (4, 21, 32), in denen die Stärke des Konzentrationsabfalls von Kalzium oder Phosphor einen negativen Einfluss auf den Heilungserfolg hatte. Für eine prognostische Beurteilung einer festliegenden Kuh ist es nach den vorliegenden Ergebnissen nicht entscheidend, in welchem Maß die Kalziumkonzentration abgefallen ist. Den größeren Einfluss auf den Heilungsverlauf haben Muskelschäden. Diese Muskeltraumen erschweren oder verhindern das selbständige Aufstehen der Kühe, obwohl die Tiere wieder eine Normokalzämie zeigen. Deshalb ist es angezeigt, bei Kühen, die nach der Ersttherapie nicht aufgestanden sind, durch erneute klinische und wenn nötig serologische Untersuchungen das Vorhandensein solcher Muskelschäden oder anderer Erkrankungen abzuklären. Daraus ergeben sich dann Änderungen in der Therapie oder der Prognose. Bei Kühen, die länger als sechs Stunden festliegen, ist es zudem notwendig, den Landwirt einzuweisen, dass diese Tiere ein weiches, rutschfestes Lager bekommen und entsprechend versorgt werden, damit weitere Schäden durch Ischämie vermieden werden oder missglückte Aufstehversuche den schon eingetretenen Muskelschaden nicht vergrößern.

Aufgrund der Tatsache, dass über 80% der Kühe Hypokalzämie aufwiesen, stellt die intravenöse Infusion mit Kalziumlösungen die Therapie der Wahl dar. Dabei sollte organischen Kalziumlösungen der Vorzug gegeben werden (3, 13, 27).

Fazit für die Praxis

Die Hauptursache für das Festliegen im peripartalen Zeitraum einer Kuh ab der 2. Laktation stellt überregional mit 80% der Abfall der Kalziumkonzentrationen im Blut dar. Dieser kann im unterschiedlichen Maße von einem Abfall der Phosphorkonzentrationen begleitet sein. Entsprechend der Häufigkeit der Hypokalzämie stellt eine Infusion organischer Kalziumlösungen das Mittel der Wahl dar. Eine Gabe weiterer Therapiebegleitender Medikamente verbessert den Heilungserfolg nicht. Weitere Erkrankungen wie Myopathien oder Ketosen/Hepatosen treten vermehrt neben der Hypokalzämie auf und beeinträchtigen den Heilungsverlauf. Im Falle einer nötigen Nachbehandlung festliegender Kühe ist es angezeigt, durch weitere klinische und serologische Untersuchungen das Vorliegen von Myopathien und Hepatosen abzuklären, um nötigenfalls die Therapie zu erweitern und die Aussagekraft der Prognose zu steigern.

Erstgebärende Rinder liegen nur in Ausnahmefällen im peripartalen Zeitraum fest. In solchen Fällen sind vor allem Muskelschäden oder andere Erkrankungen wie nervale Störungen infolge von Schwergeburten als Hauptverursacher anzusehen. Hypokalzämien kommen in dieser Altersgruppe nur sehr selten vor.

References

1. Abele U, Wolf F. Gebärparese - ein neues Therapiekonzept. *Veterinärspiegel* 2000; 197-201.
2. Baumgartner W, Hrsg. *Klinische Propädeutik der inneren Krankheiten und Hautkrankheiten der Haus- und Heimtiere*. Berlin: Parey 2005.
3. Braun U, Salis F, Bleul U, Hässig M. Electrolyte concentrations after intravenous calcium infusions in cows with parturient paresis. *Vet Rec* 2004; 154: 666-8.
4. Bostedt H. Blutserumuntersuchungen bei festliegenden Rindern in der frühpuerperalen Periode. 1. Mitteilung: Untersuchungen über den Gehalt an Ca, anorganischem P und Mg im Blutserum festliegender Rinder. *Berl Münch Tierärztl Wschr* 1973; 86: 344-9.
5. Bostedt H. Blutserumuntersuchungen bei festliegenden Rindern in der frühpuerperalen Periode. 2. Mitteilung: Untersuchungen über den Serumenzymgehalt festliegender Rinder. *Berl Münch Tierärztl Wschr* 1973; 86: 387-92.
6. Bostedt H. Enzymaktivitäten im Blutserum von Rindern in der Zeit um die Geburt. *Berl Münch Tierärztl Wschr* 1974; 87: 365-71.
7. Bostedt H, Wendt V, Prinzen R. Zum Festliegen des Milchrindes im peripartalen Zeitraum - klinische und biochemische Aspekte. *Prakt Tierarzt* 1979; 60: 18-34.
8. Cannon RM, Roe RT. *Livestock disease surveys: a field manual for veterinarians*. Austr. Bureau of Animal Health 1982.
9. Cheng YH, Goff, JP, Horst RL. Restoring normal blood phosphorus concentrations in hypophosphatemic cattle with sodium phosphate. *Vet Med* 1998; 93: 383-8.
10. Dirksen G. Untersuchung festliegender Rinder. In: *Die klinische Untersuchung des Rindes*. Dirksen G, Gründer HD, Stöber M, Eds. Berlin, Hamburg: Paul Parey 1990; 585-8.
11. Gelfert CC, Dallmeyer M, Staufenbiel R. Effekte einer zusätzlichen oralen Phosphorgabe auf den Behandlungserfolg festliegender Milchkühe. *Prakt Tierarzt* 2004; 85: 116-24.
12. Gelfert CC, Lesch S, Alpers I, Decker M, Hüting A, Baumgartner W, Staufenbiel R. Untersuchungen zum Auftreten der Gebärparese in verschiedenen Regionen Deutschlands und zum Einsatz unterschiedlicher Therapien im Vergleich zur Kalziuminfusion. 1. Klinische Symptome und Verhalten der Mengenelemente. *Tierärztl. Praxis* 2005, 33 (G): 411-8
13. Goff JP. Macromineral disorders of the transition cow. *Vet. Clinics of North America: Food animal practice* 2004; 20: 471-94.
14. Goff JP. Treatment of calcium, phosphorus, and magnesium balance disorders. *Vet Clinics of North America: Food Animal practice* 1999; 15: 619-39.
15. Grünberg W, Constable P, Schröder U, Staufenbiel R, Morin D, Rohn M. Phosphorus homeostasis in dairy cows with abomasal displacement or abomasal volvulus. *J Vet Intern Med* 2005; 19:894-8.
16. Hofmann W, El Amrousi S. Untersuchungen über das Festliegen der Rinder. 5. Mitteilung: Versuch einer medikamentösen Beeinflussung der Hypophosphatämie und des Festliegens bei atypischer Gebärparese. *Dtsch Tierärztl Wschr* 1971; 78: 156-9.
17. Horner S, Staufenbiel R. Der Einfluss verschiedener therapeutisch nutzbarer Wirkstoffe zur Phosphorsubstitution auf den Phosphorgehalt im Blut. *Prakt Tierarzt* 2004; 84: 666-73.
18. Hospes R, Wehrend A, Bostedt H. Differenzierung des atypischen Festliegens beim Rind und neue therapeutische Konzepte. *Kongressband, 2. Leipziger Tierärztekongress, 17.-19.1.2002*, 284-7.
19. Hunt E, Blackwelder JT. Bovine parturient paresis (milk fever, hypocalcemia). In: *Large animal internal medicine*. Smith BP, Eds. St. Louis, Baltimore, Philadelphia, Toronto: Mosby Inc 2002, 1248-54.
20. Kraft W, Dürr UM Hrsg. *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. Stuttgart, New York: Schattauer 2005.
21. Malz, C, Meyer C. Neue Aspekte zur Pathogenese und Therapie der hypocalcämischen Gebärparese. *Prakt Tierarzt* 1992; 73: 507-15.
22. Metzner M, Klee W. Klinische Befunde und Serumparameter bei festliegenden Kühen unter besonderer Berücksichtigung der Serumphosphorkonzentrationen. *Tierärztl Umschau* 2005; 60: 13-22.
23. Mülling M. Mineralstoffmangelkrankungen beim Rind (1). *Tierärztl Praxis* 1973; 1: 283-93.
24. Oetzel H, Liebetrau R, Schröter J, Seidel H, Steitz G. Verlaufsuntersuchungen bei akuten Mineralstoffwechselstörungen der Milchkuh nach der Therapie mit Kalzium- und Magnesium-Infusionslösungen sowie nach Einsatz von Vitamin D3. *Mh Vet Med* 1977; 32: 661-4.
25. Osinga A. Diet and clinical picture of milk fever. *Tijdschr Diergeneesk* 1963; 88: 147-53.
26. Rodehutscord MA, Pauen A, Windhausen P, Brintrup R, Pfeffer E. Effects of drastic changes in P intake on P concentrations in blood and rumen fluid of lactating ruminants. *J Vet Med A* 1994; 41: 61-9.
27. Staufenbiel R. Prophylaxe der Gebärparese. Teil II. *Veterinärspiegel* 2000/1; 58-61.
28. Staufenbiel R, Dallmeyer M, Horner S. Hinweise zur Therapie des atypischen Festliegens. *Kongressband, 2. Leipziger Tierärztekongress* 2002; 288-91.
29. Staufenbiel R, Gelfert CC. Clinical significance of hypophosphataemia in dairy cows. *XXII World Buiatric Congress*, Hannover, 2002, 8.
30. Sterne JAC, Smith GD. Shifting the evidence - what's wrong with significance tests? *Br Med J* 2001; 322: 226-31.
31. Stöber M, Dirksen G. "Festliegen" des Rindes: Differentialdiagnostik und -therapie. *Prakt Tierarzt, Coll Vet* 1980; 61: 55-63.
32. Stolla R, Schulz H, Martin R. Veränderungen im Krankheitsbild des peripartalen Festliegens beim Rind. *Tierärztl Umsch* 2000; 55: 295-9.
33. Valk H, Sebek LBJ, Van't Klooster AT, Jonblood AW. Clinical aspects of feeding low dietary phosphorus levels to high yielding dairy cows. *Vet Rec* 1999; 145, 673 -4

2.4.

Factors affecting the success rate of treatment in parturient dairy cows suffering from hypocalcaemia

Gelfert, Carl-Christian, Ingo Alpers, Marc Dallmeyer, Mareike Decker, André Hüting, Stefanie Lesch, Walter Baumgartner und Rudolf Staufenbiel

Erschienen in:

Journal of Veterinary Medicine, Series A, 54, 191-198 (2007)

Doi: 10.1111/j.1439-0442.2007.00940.x

The definitive version is available at www3.interscience.wiley.com

Summary

We aimed to investigate the ratio of accompanying diseases in cows suffering from clinical hypocalcaemia and their influence on cure rate. In five veterinary practices in different regions of Germany, all recumbent cows around parturition were included in the study for a period of one year. After recording the case history a clinical examination was done and a serum sample was taken to measure the concentrations of calcium and phosphorus magnesium, β -hydroxybutyrate, total bilirubin, cholesterol, urea, and the activities of ASAT, CK, and GLDH. Only cows with hypocalcaemia entered the statistical analysis.

Hypocalcaemia was the major cause of recumbency in cows of the second lactation or elder. Muscle damage was the second frequent diagnose in recumbent cows and the major concomitant disease in hypocalcaemic cows. The overall cure rate was between 89.4 and 94.8%. Calcium and phosphorus concentrations did not have an influence on cure rate. Non-cured cows had higher serum activities of CK ($p < 0.043$) and ASAT ($p < 0.006$). Nevertheless, the activities of CK and ASAT were no good predictors of treatment failure because of their low specificity and the high cure rate of the cows in the five practices.

Introduction

Hypocalcaemia is still the major cause of dairy cows becoming recumbent in the peripartal period (Shpigel et al., 2003; Gelfert et al., 2004, 2005). The onset of lactation increases the calcium requirement (Goff and Horst, 1997). If the mobilisation of calcium from the bones and intestine fails to compensate for the loss of calcium in the milk, the plasma calcium concentrations will become too low to be able to support nerve and muscle function (Goff and Horst, 1997; Goff, 2004). It is still recommended to treat such animals with an intravenous infusion of organic calcium solutions (Staufenbiel, 1999; Martig, 2002). However, prior to the treatment of a recumbent cow, a detailed clinical examination must be made in order to exclude other possible causes of a recumbent cow. The main differential diagnoses vary from disorders of the musculoskeletal system (traumatic injuries, bone fracture), neural disorders (e.g. obturator paralysis) to metabolic diseases due to mineral deficiencies (e.g. hypomagnesaemia, hypokalaemia), energy deficiency, or hepatic failure (Dirksen, 2002). Other possible differential diagnoses are toxic metritis, toxic mastitis, ileus, and shock due to the rupturing of the intestine, abomasal ulcer, or generalised peritonitis (Dirksen, 2002, Hunt and Blackwelder, 2002). Depending on the occurrence of a disturbed sensorium or the disturbed general health of the parturient cows, the possible differential diagnoses vary. In the field, the possibilities of a detailed clinical examination are often limited, in which the symptoms are either not clearly visible or non-specific (Bostedt et al., 1979; Stolla et al., 2000). Metzner and Klee (2005) showed that clinical signs are not specific for a particular mineral deficiency (e.g. calcium or phosphorus). They also found that the classical symptom of hypocalcaemia, the disturbed sensorium, was found less severe than in previous studies (Malz and Meyer, 1992). Therefore, a given uncertainty remains after the clinical examination, in which the examining veterinarian must choose the treatment with the highest probability of success. Recent papers have reported a decreased success rate after the first treatment of the standard therapy (Meschke, 1997; Abele and Wolf, 2000; Roesch, 2000; Stolla et al., 2000). Some of them assume that the increased prevalence of recumbent cows suffering from hypophosphataemia may contribute to the

Table 1: Standardised therapy of recumbent cows with clinical diagnosis “hypocalcaemia” in the five practices

Practice	Therapy
A	500 ml Calciumborogluconate (=11.40g Ca) ¹
B	500 ml Calciumborogluconate (=10.80 g Ca) ² , 15 ml Dexamethason
C	500 ml Calciumborogluconate (=11.4g Ca) ¹ , 15 ml Dexamethason
D	500 ml Calciumborogluconate (=11.4g Ca) ¹
E	500 ml Calciumborogluconate (10.75g Ca) ³ , 15 ml Dexamethason

¹: CalciTad®25, Animedica, Senden-Boesensell, ²: C-B-Gluconate 24 plus 6®Alvetra, Neumünster,

³: C-B-Gluconat-Lösung N®, Belapharm, Vechta

impaired success rate (Abele and Wolf, 2000; Stolla et al. 2000). Stolla et al. (2000) also assumed that the high prevalence of recumbent cows with increased Creatinkinase (CK) activity may contribute to the decreased success of the first therapy, but he did not prove it. Other authors found significant differences in hypocalcaemic cows with different treatment outcomes (Gelfert et al., 2004). Unsuccessfully treated cows had higher activities of CK and aspartate-amino-transferase (ASAT) than the cured ones. It is still unknown whether such factors accompanying the hypocalcaemia have an impact on the curing rate of recumbent dairy cows suffering from hypocalcaemia.

Therefore, this multicentre study was initiated in order to analyse the curing rate of recumbent cows suffering from low calcium levels, and to find any possible factors constraining the healing process. The focus in the present study was on the peripartal period as the major period of recumbency and hypocalcaemia as the major cause of paresis at that time (Gelfert et al., 2005).

Material and methods

This multicentre study was realised in five veterinary practices in different regions of Germany. In the four practices in the northern parts of Germany (B-E) mostly Holstein-Frisian (HF)-cows were found, whereas in practice A in southern Germany, 2/3 of the cows were Simmental (FV), and 1/3 were HF-cows. In each practice, all dairy cows that became recumbent in the peripartal period (1 d a.p. – 2 d p.p.) within one year were clinically examined (Dirksen, 2002; Baumgartner, 2005). If the case history and results of the clinical examinations resulted in the diagnosis “hypocalcaemia”, the cow entered the study and underwent the same procedure. The peripartal period was chosen to increase the probability of recumbency due to hypocalcaemia. After taking the case history the animals were treated. Each cow was treated with an organic calcium solution (table 1) as calciumborogluconate (Hunt and Blackwelder, 2002; Martig, 2002). Other drugs such as glucose or dexamethason were added to this standardised therapy by the veterinarian due to his experience. It was ensured that these additional drugs were administered in the practice to all the cows included in our study. Additional calcium solutions were disallowed. Before each therapy, a serum sample was taken. In the serum, the concentrations of calcium, phosphorus, magnesium, β -hydroxybutyrate, total bilirubin, cholesterol, urea, and the activities of ASAT, CK, and glutamate-dehydrogenase (GLDH) were measured. Due to the study conditions, it was not possible to measure any indicator of acute inflammation. However, the careful clinical examination did not give any indication for the occurrence of the main acute inflammation such as mastitis or endometritis. Therefore, the possible impact of any inflammation on the curing process could be neglected in our study. Based on the results of the laboratory analysis, the clinical diagnosis was confirmed and the absence or occurrence of other possible causes such as

2.4. Factors affecting the success rate of treatment in parturient dairy cows ...

Table 2: Physiological ranges of the serum parameters of dairy cows (¹Rossow et al., 1987; ²Kraft and Dürr, 2005)

parameter	physiological range	method
calcium	> 2.00 mmol/l ²	Photometric determination, reagent Roche, modular analyzer
phosphorus	> 1.25 mmol/l ²	
magnesium	0.8-1.3 mmol/l ²	
aspartate aminotransferase (ASAT)	< 50 mmol/l ¹	Kinetic enzymatic method, reagent Ranbut, modular analyzer, 37°C
Creatinkinase (CK)	> 300 U/l ³	
glutamate dehydrogenase (GLDH)	> 30 U/l ²	
total bilirubin	< 6.8 µmol/l ¹	Quantitative photometrically determination, reagent Roche, modular analyzer
cholesterol	2.5-4.5 mmol/l ¹	Photometric determination, reagent Roche, modular analyzer
Urea	3.3-5.0 mmol/l ²	Kinetic UV assay, reagent Roche, modular analyzer
β-hydroxybutyrate	< 1000 µmol/l ¹	Kinetic enzymatic method, reagent Ranbut, modular analyzer

myopathy, ketosis, and hepatosis were proven using the threshold values shown in table 2 (Rossow et al., 1987; Kraft and Dürr, 2005). The threshold value of calcium (2.00mmol/l) was chosen to exclude cows with diminished calcium concentrations in a dimension that is typical for the peripartal period (Kraft and Dürr, 2005). The threshold value of CK was chosen to clearly exceed the area of slightly elevated CK activities found in cows with dystocia (Sitzenstock, 2003).

In all the statistical analyses using SPSS 11.0 (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA) only the cows with hypocalcaemia, which was confirmed by the laboratory analysis were included. The concentrations of the minerals and enzyme activities were compared by a simple ANOVA. ASAT and CK values were log-transformed to obtain normal distributed values. The Fishers test was chosen for the analysis of the cure rates in the different groups. The threshold values for ASAT and CK were calculated by ROC-analysis in order to support the decision as to whether to cure or to cull the recumbent cows (Greiner et al., 2000). From the curves the cut off point was chosen by using the point on the curve being the closest to the upper left corner to obtain the threshold value having the best combination of both a good sensitivity and specificity. All analyses were made for each practice separately, for parameters such as those examined in the present study are more different between the clusters than within (Cannon and Roe, 1982). Because the standard therapy did not change within one practice, no analyses were made concerning the different treatments used for the same reasons. The level of significance was fixed at p=0.05 for all the tests.

Results

In the five practices, a total of 770 cows were included in the study (table 3). In these cows, hypocalcaemia was the most probable cause of the recumbency due to the clinical examination. The clinical examination did not suggest any other cause for the recumbency in the cows. The vast majority of the cows (78.0%) became recumbent in the first 24 hours after calving, and the animals were treated the first time within six hours after the cows' recumbency. Most of the cows (68.3%) were found lying in a sternal position and the vast majority (80.0%) had an undisturbed sensorium. In all regions, cows starting their third to fifth lactations were in the majority (57.7%-80.5%). Except for practice E (11.2%)

2.4. Factors affecting the success rate of treatment in parturient dairy cows ...

Table 3: Frequency of a different diagnosis due to laboratory results of parturient cows of different age groups with the clinical diagnosis "hypocalcaemia" in five practices (n=770)

diagnosis after laboratory analysis	A	B	C	D	E	
	FV (n=97)	HF (n=50)	HF (n=200)	HF (n=102)	HF (n=134)	HF (n=187)
1 st lactation	n=12	n=3	n=1	n=2	n=5	n=21
hypocalcaemia ¹	1	-	-	1	2	12
myopathy ²	9	2	1	1	3	-
ketosis/hepatosis ³	-	-	-	-	-	1
no diagnosis ⁴	2	1	-	-	-	8
2nd lactation	n=6	n=3	n=4	n=11	n=6	n=21
hypocalcaemia	3	1	2	7	4	13
myopathy	1	1	2	3	-	6
ketosis/hepatosis	-	1	-	-	-	1
no diagnosis	2	-	-	1	2	1
3th-5th lactation	n=56	n=37	n=161	n=67	n=88	n=109
hypocalcaemia	43	34	130	58	73	85
myopathy	7	1	10	3	11	8
ketosis/hepatosis	-	1	7	1	3	2
no diagnosis	6	1	14	5	1	14
> 5th lactation	n=23	n=7	n=34	n=22	n=35	n=36
hypocalcaemia	16	5	30	21	30	22
myopathy	5	1	1	-	4	4
ketosis/hepatosis	-	-	2	1	-	3
no diagnosis	2	1	1	-	1	7

¹: clinical diagnosis hypocalcaemia confirmed by laboratory analysis: Ca<2.00mmol/l; ²: myopathy: ASAT activity or CK activity or both above the threshold values (tab. 1) and calcium concentrations in normal ranges; ³: β -hydroxybutyrate or bilirubin concentrations or GLDH activity or any combination of the three parameters above the threshold values (tab. 1) and calcium concentrations in normal ranges, ⁴: no diagnosis possible due to the laboratory results

and the FV-cows in practice A (12.4%), the proportions of cows at their first calving were very small (table 3). There was an age-dependent distribution of the diseases diagnosed, which was the same in all the regions (table 3). When heifers became recumbent, they suffered more often from other diseases than hypocalcaemia except the heifers in practice E. In this practice, hypocalcaemia was the major cause of recumbency as it was found in all other lactation groups. Of all the parturient cows, 74.3% (65.0-85.3%) suffered from hypocalcaemia (table 4). Moderate or severe muscle damage was diagnosed as the second most frequent (6.9-22.7%). Muscle damage also was the major concomitant disease (11.4-49.2%) in cows suffering from hypocalcaemia. Other than practices A-D, a higher incidence of ketosis was detectable in practice E. In this practice, ketosis was the most frequent concomitant disease (28.0%) in cows with hypocalcaemia.

The cure rate after the first treatment and the total cure rate were very high and showed similar values in all five practices (table 5). The cure rate after the first treatment was at least 72.7%, and the total rate of cured animals was at least 89.4%. As the cows suffered from hypocalcaemia only, the total curing rate was at least 95% (table 5). In comparing the laboratory results between the successfully and unsuccessfully treated cows, except for two cases, calcium and phosphorus concentrations did not differ significantly between the groups (table 6). In practice A, FV-cows had higher phosphorus concentrations if they were not cured ($p=0.021$). In practice B, non-cured cows had significantly higher calcium concentrations ($p=0.009$). Magnesium concentrations did not differ between the cured and non-cured cows in any practice ($p>0.05$). GLDH activity and concentrations of β -hydroxybutyrate,

2.4. Factors affecting the success rate of treatment in parturient dairy cows ...

Table 4: Frequency of concomitant diseases due to serum analysis of parturient cows with the clinical diagnosis "hypocalcaemia" confirmed by serum analysis in five practices (n=593)

Diagnosis	A		B	C	D	E
	FV	HF	HF	HF	HF	HF
hypocalcaemia (HC)	n=63 (65.0%)	n=40 (80.0%)	n=162 (81%)	n=87 (85.3%)	n=109 (81.3%)	132 (70.6%)
HC alone	22 (34.9%)	26 (65.0%)	57 (35.2%)	41 (47.1%)	36 (33.0%)	61 (46.2%)
myopathy ¹	31 (49.2%)	12 (30.0%)	68 (42.0%)	26 (29.9%)	33 (30.3%)	15 (11.4%)
ketosis ¹	6 (9.5%)	1 (2.5%)	24 (14.8%)	11 (12.7%)	18 (16.5%)	37 (28.0%)
myopathy and ketosis	4 (6.4%)	1 (2.5)	13 (8.0%)	9 (10.3%)	22 (20.2%)	19 (14.4%)

¹: definition see table 2

bilirubin, urea and cholesterol showed significant differences ($p < 0.05$) in a few cases only (table 7). Contrary to that, significant differences ($p < 0.004$) were detectable in the activities of ASAT and CK in all five practices (table 7). Cows that could not be healed had higher activities of both enzymes at the time of first treatment. The increased activities of CK resulted in lower cure rates of the animals in all the practices (table 5). The cure rate after the first treatment as well as the total cure rate differed significantly ($p < 0.03$) between the cows with very high CK-activities and those with normal or slightly elevated values.

Based on these results, ROC-analyses were performed for these two parameters, which showed the same significant changes in all the practices. The threshold values obtained from the calculated ROC-curves (table 8) varied between 65 U/l (practice A) and 144 U/l (practice B) for ASAT and for CK between 241 U/l (practice E) and 2128 U/l (practice A). No usable threshold values were obtained for the HF-cows of practice A. In using these threshold values, the positive predictive value (PPV) ranged between 0.147 and 0.323 for ASAT and between 0.080 and 0.400 for CK. The negative predictive values (NPV) were higher, ranging from 0.960 to 1.000 for ASAT and from 0.979 to 1.000 for CK (table 8).

Discussion

Cows becoming recumbent around parturition need expeditious therapy, and the methods of treatment should lead to a good prognosis. In recumbent cows, the clinical symptoms are sometimes insufficiently distinct to eliminate all but one possible diagnosis (Bostedt et al., 1979, Stolla et al., 2000). Therefore, the first treatment includes a degree of uncertainty of diagnosis (Martig, 2002). Recent studies revealed that hypocalcaemia is the major cause of recumbent paresis in dairy cows (Gelfert et al., 2005). But concomitant diseases such as myopathy, ketosis, or neural lesions might complicate the healing process (Jöhnsson and Pherson, 1969; Waage, 1984). There are several studies in which the use of enzyme activities as a predictor of treatment outcome was investigated (Clark et al., 1987; Shpigel et al., 2003). The disadvantages of these studies were the high variability in the duration of recumbency at first sampling (Clark et al., 1987), the high variation in the causes of recumbency (Shpigel et al., 2003), and the high variability in the occurrence of recumbency during lactation in both studies. To eliminate this variability, the focus of the present study was placed on the periparturient period (1 d a.p. – 2 d p.p.) and on hypocalcaemia, which is still the main cause of recumbency during those days (Gelfert et al., 2005). The main aspects of the present study were the possible shift in the causes

2.4. Factors affecting the success rate of treatment in parturient dairy cows ...

Table 5: Overall success rate and cure rate after the first treatment in parturient dairy cows with hypocalcaemia and different CK-activities (n=593)

practice	number	healing rate after first treatment (%)	overall treatment rate (%)
Practice A FV	n=63	n=38 (60.4%)	n= 59 (93.7%)
no muscle damage	27	70.4% ^a	100% ^a
CK 300<x<1000 U/l	22	63.6% ^a	100% ^a
CK> 1000 U/l	14	35.7% ^b	71.4% ^b
		p=0.012	p=0.002
Practice A HF	n=40	n=30 (75.0%)	n=36 (90.0%)
no muscle damage	24	87.5% ^a	95.8% ^a
CK 300<x<1000 U/l	12	58.3% ^b	91.7% ^a
CK> 1000 U/l	4	50.0% ^b	50.0% ^b
		p=0.027	p=0.058
Practice B	n=162	n=134 (82.7%)	n=156 (92.3%)
no muscle damage	81	88.8% ^a	97.5% ^a
CK 300<x<1000 U/l	65	78.5% ^a	98.5% ^a
CK> 1000 U/l	16	68.8% ^b	81.3% ^b
		p=0.010	p=0.030
Practice C	n=87	n=69 (79.3%)	n=81 (93.1%)
no muscle damage	56	85.7% ^a	96.4% ^a
CK 300<x<1000 U/l	24	70.8% ^a	95.8% ^a
CK> 1000 U/l	7	57.1% ^a	57.1% ^b
		p=0.083	p=0.007
Practice D	n=109	n=91 (83.5%)	n=104 (95.4%)
no muscle damage	46	93.5% ^a	100% ^a
CK 300<x<1000 U/l	39	82.1% ^a	97.4% ^a
CK> 1000 U/l	24	66.7% ^b	83.3% ^b
		p=0.017	p=0.004
Practice E	n=132	n=96 (72.7%)	n=118 (89.4%)
no muscle damage	98	79.6% ^a	95.9% ^a
CK 300<x<1000 U/l	23	56.5% ^a	73.9% ^a
CK> 1000 U/l	11	45.5% ^b	63.6% ^b
		p=0.002	p<0.001

^{a, b}: cure rates with different superscripts in the same column differed significantly

of recumbency, which might be the reason for the recent reports (Abele and Wolf, 2000) of the increasing failure of the standard therapy (intravenous calcium infusion), and the search for other factors that influence the therapy outcome. The standardised procedure in the five practices guaranteed a low variability of the cows included in our study.

The results obtained in the five practices involved were very similar. Cows entering their first or second lactation seem to still have a very low risk of becoming recumbent around parturition, which confirms the findings of other studies (Bostedt et al., 1979; Stolla et al., 2000; Metzner and Klee, 2005). In this age group muscle damage was the main cause of recumbency, which was opposite to the other age groups (table 3). Although the number of recumbent heifers was too small to generalise the findings, the results suggest that heifers have a minor risk of clinical hypocalcaemia. If this age group becomes recumbent, muscle damage or other health problems such as neural lesions due to dystocia are likely to be the causes. There was one practice that showed a result that was opposite to the other four practices. This fact is an indicator that the reasons of recumbency may vary from region to region. Especially in recumbent heifers, a detailed clinical examination is indispensable, in which serum analysis should be carried out to confirm the clinical diagnosis.

2.4. Factors affecting the success rate of treatment in parturient dairy cows ...

Table 6: Mean values and standard deviation of the mineral concentrations of successfully and unsuccessfully treated parturient dairy cows with hypocalcaemia prior to the first treatment

	n	calcium mmol/l	phosphorus mmol/l	magnesium mmol/l
Practice A FV	63			
cured	59	1.40±0.3 p=0.245	0.65±0.4 p=0.021	1.10±0.3 p=0.436
non-cured	4	1.61±0.4	1.20±1.0	0.99±0.2
Practice A HF	40			
cured	36	1.09±0.3 p=0.562	0.52±0.3 p=0.644	1.15±0.2 p=0.881
non-cured	4	1.19±0.5	0.46±0.3	1.13±0.1
Practice B	162			
cured	156	1.03±0.3 p=0.009	0.93±0.50 p=0.456	0.96±0.22 p=0.160
non-cured	5	1.40±0.4	1.08±0.6	0.82±0.27
Practice C	87			
cured	81	1.16±0.34 p=0.234	0.74±0.48 p=0.968	0.99±0.19 p=0.439
non-cured	6	0.99±0.4	0.75±0.3	1.05±0.3
Practice D	109			
cured	104	1.20±0.3 p=0.635	0.59±0.3 p=0.544	0.94±0.2 p=0.464
non-cured	5	1.12±0.5	0.51±0.2	1.01±0.2
Practice E	132			
cured	118	1.23±0.4 p=0.776	0.80±0.6 p=0.149	0.98±0.3 p=0.663
non-cured	14	1.20±0.4	1.06±0.8	1.0±0.3

Muscle damage was the main differential diagnosis in elder cows, which mainly suffered from hypocalcaemia in four of the five practices. Practice E again showed results against the current. The control of the feeding management revealed that the diet of the transition cows in this region had low energy content. Therefore, the cows had to mobilise their fat depots earlier and to a greater extent than normal, which is the reason for the high incidence of ketosis found in this region. However, muscle damage also occurs frequently in the cows of Practice E as it was seen in the other four practices. It might be questionable as to whether the animals suffered from muscle damage. CK is a highly specific enzyme of the muscles but also occurs in other organs such as the heart or uterus (Frahm et al., 1977; Sattler and Füll, 2004). Studies of CK activities in non-recumbent cows, having calved normally, showed that CK activities increase in the first day post partum (Bostedt, 1974; Sitzenstock, 2003). The values, however, were clearly below the threshold that we have chosen for our study. In the cows that needed obstetrics, the CK-activities were higher than in cows calved spontaneously but still below our threshold value (Sitzenstock, 2003). Cows suffering from heart diseases accompanied with elevated CK activities (Frahm et al., 1977) often showed typical clinical symptoms such as cardiac arrhythmia, muffled heart sounds, peripheral oedema, and jugular distension (Gründer, 2002; Reef and McGuirk, 2002). No indication of heart disease was shown from the clinical examination in any of the cows in the present study, in which we can conclude that the elevated CK activities are more likely the result of damage to the muscles.

The next problem to solve is whether the increased CK-activities found are only the result of the long lasting inability to rise. Cox et al. (1982) examined the development of CK-activity in the serum of experimental downer cows treated with halothane anaesthesia. They found that muscle damage occurs

2.4. Factors affecting the success rate of treatment in parturient dairy cows ...

Table 7: Mean values and standard deviation of the selected blood parameters of successfully and unsuccessfully treated parturient dairy cows with hypocalcaemia prior to the first treatment (n=593)

	n	ASAT ¹ U/l	CK ¹ U/l	Bilirubin µmol/l	GLDH U/l	β-hydroxybutyrate µmol/l	urea mmol/l	cholesterol mmol/l
Practice A	63							
FV								
Cured	59	48±2 p=0.007	343±4 p=0.002	8.1±5.5 p=0.512	7±9 p=0.984	659±288 p=0.229	4.96±1.6 p=0.049	1.68±0.4 p=0.001
non-cured	4	124±2	3483±2	9.9±5.8	7±7	482±132	6.68±3.0	2.57±0.4
Practice A	40							
HF								
cured	36	36±1 p=0.029	193±3 p=0.041	9.8±5.1 p=0.182	4±2 p=0.447	580±289 p=0.467	5.34±1.4 p=0.476	1.51±0.5 p=0.396
non-cured	4	64±3	721±8	13.7±8.9	5±4	689±177	4.81±0.9	1.25±0.2
Practice B	162							
cured	156	106±1 p<0.001	269±2 p<0.001	5.27±3.1 p=0.335	18±13 p<0.001	730±409 p=0.255	6.10±1.8 p=0.66	2.0±0.8 p=0.006
non-cured	6	235±2	1094±6	6.71±3.6	80±68	939±995	7.48±2.3	2.87±1.7
Practice C	87							
Cured	81	83±1 p=0.016	227±2 p=0.001	8.6±4.7 p=0.006	13±18 p=0.071	788±390 p=0.649	4.72±1.4 p=0.057	1.76±0.5 p=0.561
non-cured	6	123±2	811±5	14.3±7.1	25±37	864±425	5.87±1.7	1.78±0.6
Practice D	109							
cured	104	107±1 p<0.001	352±3 p<0.001	9.6±7.6 p=0.640	9±5 p<0.001	884±440 p<0.001	5.93±2.1 p=0.530	1.96±0.7 p=0.832
non-cured	5	263±3	3241±4	8.0±3.2	27±34	1926±2094	5.34±1.3	2.03±0.7
Practice E	132							
cured	118	48±2 p<0.001	127±3 p<0.001	8.4±4. p=0.145	15±21 p=0.424	1004±639 p=0.777	6.24±3.9 p=0.317	- ²
non-cured	14	91±2	613±4	10.4±7.7	19±17	954±517	7.31±2.5	-

¹: the values for ASAT and CK are the inverted-log-values. ²: not tested

regularly in recumbent cows if they lay down for more than twelve hours at a time. But up to six hours the CK-activities of these cows were still in physiological ranges and below the cut-off value (300 U/l) that we chose for the present study. The vast majority of the cows in our study were examined in-between six hours after the onset of recumbency. Therefore, the elevated CK-activities found at the time of the first treatment can be taken as an indicator for autonomous muscle damage that was not the result of a long-running inability to rise. The incidence of myopathy diagnosed by laboratory results varied between the races. In practice A, HF-cows with hypocalcaemia suffered less from myopathy than FV-cows at the same time. Additionally, the proportion of FV-cows suffering from myopathy alone was higher than that of HF-cows in all the practices. As the present study was performed under field conditions, no data were available regarding the body mass. We may assume, however, that the higher body mass of FV-cows in general might contribute to the higher risk of muscle damage, as was found to be the case in Cox et al., (1982) and Waage (1984).

The cure rates and success rates after the first treatment were sufficiently high in all five practices. After the first treatment, 72.7-94.8% of the cows were cured. The total rate of successful treatment was between 89.4% and 95.4%. Similar results were reported in previous studies (Breitenbuch, 1985; Malz and Meyer, 1992; Shpigel et al., 2003, Siegwart and Niederer, 2005). In other studies, smaller curing rates after the first treatment were reported (Meschke, 1997; Roesch, 2000; Stolla et al., 2000). The authors assume that the low phosphorus levels may influence the healing process. Analysing the

2.4. Factors affecting the success rate of treatment in parturient dairy cows ...

Table 8: Threshold values of ASAT and CK for the prognosis of unsuccessful treatment in parturient dairy cows (n=593)

Practice	Threshold	ASAT U/l				CK U/l				
		SE	SP	PPV	NPV	Threshold	SE	SP	PPV	NPV
A	65	1.000	0.831	0.286	1.000	2128	1.000	0.898	0.400	1.000
FV (63)	p=0.007					p=0.006				
A	38.5	-	-	-	-	408.5	-	-	-	-
HF (40)	p=0.279					p=0.131				
B	144	0.800	0.846	0.172	0.993	358	0.800	0.705	0.080	0.982
HF(162)	p=0.001					p=0.028				
C	104.5	0.667	0.827	0.222	0.971	531.5	-	-	-	-
HF(87)	p=0.027					p=0.056				
D	118.5	1.000	0.721	0.147	1.000	1075	0.800	0.923	0.174	0.988
HF(109)	p=0.007					p=0.001				
E	74.5	0.714	0.822	0.323	0.960	241	0.857	0.771	0.308	0.979
HF(132)	p<0.001					p<0.001				

SE: sensitivity; SP: specificity; PPV: positive predictive value; NPV: negative predictive value

serum concentrations and enzyme activities of the cured and non-cured animals, the most surprising result was that the calcium and phosphorus concentrations at the time of the first therapy did not play a major role in the outcome of treatment. In the two cases that showed significant differences, the concentrations of calcium and phosphorus were higher in the non-cured cows. This result is in agreement with the results of Siegwart and Niederer (2005), but contrary to other studies (Bostedt, 1973; Malz and Meyer, 1992; Stolla et al., 2000). The most evident results were the significantly higher activities of ASAT and CK in the non-cured cows in all five practices. The cure rate was not significantly reduced unless the CK activity exceeded 1,000 U/l, which indicates that the muscle damage had to be sufficiently severe or had to last longer in order to influence the course of disease. CK is known to have a retarded increase in serum after damage to the muscle, and a small half-life. Therefore, the slightly elevated activities of CK in the serum samples obtained at the first clinical examination did not correlate with the extent of muscle damage. It also did not correlate to the size of functional deficiency. A rupture of the Mm adductors, M. gastrocnemius, or M. fibularis tertius more likely cause an inability to stand than damage to other muscles.

Because the activities of ASAT and CK were the only parameters that differed significantly in all the practices between cured and non-cured animals, ROC-curves were calculated to obtain cut-off-points of both enzymes so as to obtain help in deciding which cow to treat. In the cows, the calculated PPV of the failure of the treatment were very low for ASAT (0.147 – 0.323) and CK (0.080-0.400). On the other hand, the NPV of both enzymes was high in all the practices. A high NPV denotes that recumbent cows with activities below the threshold values had a high probability to be cured. Two facts are responsible for the results obtained. The first fact influencing the PPV is the high levels of ASAT and CK activities in the cured cows as was found in Clark et al. (1987). In some of the practices, the highest activity measured for the single enzyme occurred in the healed animals and not in the non-healed animals (table 9).

The result of this distribution is a moderate specificity of the single threshold value. The second and more important cause is the high curing rate, in turn resulting in a small number of non-cured cows in each practice. In the case of a low prevalence of any character, any test even with a high sensitivity and specificity would result in a high number of false positive cases (table 10). This in turn results in a

2.4. Factors affecting the success rate of treatment in parturient dairy cows ...

Table 9: Maximum activities of ASAT and CK measured in recumbent cows prior to the first treatment and outcome of the therapy (n=593)

Practice	ASAT (U/l)		CK (U/l)	
	cured cows	non-cured cows	cured cows	non-cured cows
A FV-cows	894	242	17080	10108
A HF-cows	110	347	3356	7962
B	391	346	4161	16473
C	440	246	5700	3840
D	355	1065	5775	33191
E	276	592	4091	7725

low PPV as seen in the present study. In all five practices, the threshold values calculated are useful to make a good prognosis for a successful treatment when the activities of both enzymes are below the threshold values. This confirms the results from Shpigel et al. (2003) who pointed out that the PPV and NPV change with the prevalence of the failure of recovery. In the case of a high success rate of therapy as found in the five practices, the NPV is very high and the PPV very low. Therefore, the serum analysis would not help to decide whether to treat an animal, because all the cows with low activities of the enzymes would be treated due to the high NPV and all the cows with high activities would be treated due to the low PPV.

The results of our study clearly show that hypocalcaemia is still the major cause of recumbency in the periparturient period in elder cows. The standard treatment of an infusion of organic calcium solutions is still recommended. In cows suffering from hypocalcaemia only, at least 95% regained the ability to stand. In the other cows, increased activities of CK and ASAT are an indication of the prevalence of muscle damage, but are not acting as an indicator for a prognosis of the recumbent cow. However, laboratory analyses are useful to confirm the clinical diagnosis in order to explain the failure of the first therapy and to improve the future treatment of the animal.

Conclusion

For the five regions chosen in the present study it can be concluded that recumbent cows around parturition are suffering mostly from hypocalcaemia and often show other concomitant diseases such as muscle damage and ketosis. Contrary to elder cows, muscle damage is the most frequent diagnosis in heifers. Severe muscle damage is the main reason for the failure of treatment. Serum analyses at the time of the first treatment do not provide additional information to improve the prognosis at that time if there is a high curing-rate. The serum samples can, however, provide hints about concomitant diseases and can improve subsequent treatments. Serum samples are useful in recumbent heifers, for in this age, group hypocalcaemia is not the predominant cause of recumbency.

Table 10: Crosstabulation to calculate PPV and NPV in recumbent FV-cows in practice A

CK-threshold	treatment outcome		
	successfully	unsuccessfully	
< 2128	53	0	53
> 2128	6	4	10
	59	4	63

PPV: $4/(6+4)=0.400$; NPV: $53/(53+0)=1.000$

References

- Abele, U., and F. Wolf, 2000: Gebärparese - ein neues Therapiekonzept. *Veterinärspiegel* **2000/1**, 197-201.
- Baumgartner, W., 2005: Klinische Propädeutik der inneren Krankheiten und Hautkrankheiten der Haus- und Heimtiere. Parey, Stuttgart, Germany.
- Bostedt, H., 1973: Blutserumuntersuchungen bei festliegenden Rindern in der frühperipartalen Periode. 1. Mitteilung: Untersuchungen über den Gehalt an Ca, anorganischen P und Mg im Blutserum festliegender Rinder. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* **86**, 344-349.
- Bostedt, H., 1974: Enzymaktivitäten im Blutserum von Rindern in der Zeit um die Geburt. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* **87**, 365-371.
- Bostedt, H., V. Wendt, and R. Prinzen, 1979: Zum Festliegen des Milchrindes im peripartalen Zeitraum - klinische und biochemische Aspekte. *Prakt. Tierarzt* **60**, 18-34.
- Breitenbuch von A., 1985: Zur prognostischen Bedeutung in der Praxis durchgeführter Erstuntersuchungen festliegender Rinder. *Diss. vet. med.*, Tierärztliche Hochschule Hannover.
- Cannon, R.M., R.T. Roe, 1982: *Livestock disease surveys: a field manual for veterinarians*. Austr. Bureau of Animal Health, Canberra, Australia, pp. 11-14.
- Clark, R.G., H.V. Henderson, G.K. Hoggard, R.S. Ellison, and B.J. Young, 1987: Ability of biochemical and haematological tests to predict recovery in periparturient recumbent cows. *New Zealand Vet. J.* **35**, 126-133.
- Cox, V.S., C.J. McGrath, and S.E. Jorgensen, 1982: The role of pressure damage in pathogenesis of the downer cow syndrome. *Am. J. Vet. Res.* **43**, 26-31.
- Dirksen, G., 2002: Festliegen. In: Dirksen, G., Gründer, H.D., Stöber, M. (Eds.), *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*, pp. 863-871. Blackwell Verlag GmbH, Berlin, Wien.
- Frahm, K., F. Graf, H. Krausslich, 1977: Enzymaktivitäten in Rinderorganen. *Zbl. Vet. Med. A*, **24**, 81-87.
- Gelfert, C.C., S. Lesch, I. Alpers, M. Decker, A. Hüting, W. Baumgartner, and R. Staufenbiel, 2005: Untersuchungen zum Auftreten der Gebärparese in verschiedenen Regionen Deutschlands und zum Einsatz unterschiedlicher Therapien im Vergleich zur Kalziuminfusion. 1. Klinische Symptome und Verhalten der Mengenelemente. *Tierärztliche Praxis*, **33** (G), 411-418.
- Gelfert, C.C., M. Dallmeyer, and R. Staufenbiel, 2004: Effekte einer zusätzlichen oralen Phosphorgabe auf den Behandlungserfolg festliegender Milchkühe. *Prakt. Tierarzt* **85**, 116-124.
- Goff J.P., 2004: Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. *Vet. Clin. North Am.* **16**, 319-337.
- Goff J.P. and R.L. Horst, 1997: Physiological changes at parturition and their relationship zu metabolic disorders. *J. Dairy Sci.* **80**, 1260-1268.
- Greiner, M., D. Pfeiffer, and R.D. Smith, 2000: Principles and practical application of the receiver-operating characteristic analysis for diagnostic tests. *Prev. vet. med.* **45**, 23-41.
- Gründer, HD. Unspezifisch bedingte Krankheiten des Herzens. In: Dirksen, G., Gründer, H.D., Stöber, M. (Eds.), *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*, pp. 163-173. Blackwell Verlag GmbH, Berlin, Wien.
- Hunt, E., and J.T. Blackwelder, 2002. Bovine parturient paresis (milk fever, hypocalcaemia). In: Smith B.P. (Eds.), *Large animal internal medicine*, pp. 1248-1254. Mosby Inc St. Louis, Baltimore, Philadelphia, Toronto.
- Jönsson, G., and B. Pherson, 1969: Studies on the Downer Syndrome in Dairy Cows. *Zbl. Vet. Med. A* **16**, 757-784.
- Kraft, W., and U.M. Dürr, 2005: Referenzbereiche. In: Kraft, W., Dürr, U.M. (Eds.), *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*, pp. 507-514. Schattauer Verlag, Stuttgart, Germany.
- Malz, C., and C. Meyer, 1992: Neue Aspekte zur Pathogenese und Therapie der hypocalcämischen Gebärparese. *Prakt. Tierarzt* **73**, 507-515.
- Martig, J., 2002. Hypokalzämische Gebärlähmung. In: Dirksen, G., Gründer, H.D., Stöber, M. (Eds.), *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*, pp. 1245-1254. Blackwell Verlag GmbH, Berlin, Wien.
- Meschke, A., 1997: Zur Gebärparese des Rindes: über die Wirksamkeit verschiedener Behandlungsmethoden und deren Einflüsse auf ausgewählte Blutparameter. *Diss. vet. med.*, Justus-Liebig University Giessen.
- Metzner, M., and W. Klee. 2004: Klinische Befunde und Serumparameter bei festliegenden Kühen unter besonderer Berücksichtigung der Serumphosphorkonzentrationen. *Tierärztl. Umschau* **60**, 13-22.
- Reef, V.B., and S.M. McGuirk, 2002: Myocardial disease: myocarditis and cardiomyopathy. In: Smith B.P. (Eds.), *Large animal internal medicine*, pp. 460-463. Mosby Inc. St. Louis, Baltimore, Philadelphia, Toronto.
- Roesch, V., 2000: Untersuchungen zur Gebärparese bei Fleckviehkühen unter besonderer Berücksichtigung ausgewählter Parameter des Energiestoffwechsels und der Leberfunktion. *Diss. vet. med.*, Justus-Liebig University Giessen.
- Sattler, T., and M. Füll. 2004: Creatine kinase and aspartate aminotransferase in cows as indicators for endometritis. *J. Vet. Med. A* **51**, 132-137.
- Shpigel, N.Y., Y. Avidar, and E. Bogin, 2003: Value of measurements of the serum activities of creatine phosphokinase, aspartate aminotransferase and lactate dehydrogenase for predicting whether recumbent dairy cows will recover. *Vet. Rec.* **152**, 773-776.
- Sieglwart, N., and K. Niederer. 2005: Retrospektive Studie über den Einfluss des Kalzium- und Phosphorblutwertes auf den Therapieerfolg bei post partum festliegenden Kühen. *Tierärztl. Umschau* **60**, 352-355.
- Sitzenstock, A., 2003: Auswirkungen eines differierten Geburtsgeschehen bei Fleischrindern auf partialrelevante Parameter im peripheren Blut. *Diss. vet. med.*, Justus-Liebig University Giessen.
- Staufenbiel, R., 1999: Hinweise. zur Therapie der Gebärparese der Milchkuh (Teil II). *Veterinärspiegel* **1999/2**, 159-162.
- Stolla, R., H. Schulz, and R. Martin, 2000: Veränderungen im Krankheitsbild des peripartalen Festliegens beim Rind. *Tierärztl. Umschau* **55**, 295-299.
- Waage, S., 1984: Milk fever in the cow – Course of disease in relation to the serum activity of Aspartate Aminotransferase, Alanine Aminotransferase, Creatine Kinase and Gamma-Glutamyltransferase. *Nord. Vet.* **36**, 282-295.

2.5.

The impact of dietary cation anion balance (DCAD) on the acid-base balance and calcium metabolism of dairy cows fed equal amounts of different anionic salts

Gelfert, Carl-Christian, Leonie Loeffler, Sven Frömer, Maike Engel,
Helmut Hartmann, Klaus Männer, Walter Baumgartner, und Rudolf Staufenbiel

Erschienen in:

Journal of Dairy Research 74, 311-322 (2007)

J. Dairy Res. **74**, 311-322, © Cambridge University Press (CUP)

Doi: 10.1017/S0022029907002439

Acknowledgements

The authors gratefully thank Dr. Tichy from the Institute for Medical Physics and Biostatistics, at the Veterinary University of Vienna for statistical advice

Summary

We evaluated the impact of the dietary cation-anion difference (DCAD) on the influence of anionic salts (AS) on the metabolism of dairy cows using a study-design that included control of feed intake. Ten mature, non-lactating, non-pregnant, Holstein-Friesian-crossbreed cows received 2 Eq of either one of the seven anionic salts tested, two combinations of the anionic salts or water as control via a rumen cannula. Salts and controls were assigned in a 10x10 Latin square design. Whole blood, serum and urine samples were taken during treatment (TP) and washout period. Samples of whole blood were tested for pH, base-excess and bicarbonate concentrations. In urine, pH and net acid-base excretion (NABE) were analysed. Calcium was measured in serum and urine. According to the different batches of hay, five groups of DCAD were created regarding cluster analysis. Changes in urine and blood parameters were statistically analysed for each DCAD group separately. The different DCAD had an impact on the amount of change in acid-base balance (ABB) and calcium metabolism and for how long these changes lasted. In the DCAD group receiving the highest amount of AS (239mEq/kg dry matter with AS), changes of ABB were only noticeable in urine and these changes only differed from day zero in the first week of TP ($P<0.05$). In the other four groups changes of ABB were also visible in blood parameters, but only on a few days of TP did the deviations differ significantly ($P<0.05$) from day zero. Changes of ABB parameters in urine samples were more pronounced than those in blood and differed clearly from day zero ($P<0.05$). Parallel to the changes of ABB, calcium concentrations in these samples were significantly increased ($P<0.001$) in all DCAD groups. Except for the highest DCAD group, ionized calcium concentrations changed over time ($P<0.020$). However, the differences were very small and only differed from day zero on a few TP days. We conclude that the DCAD of a dairy cow's diet has an important impact on the effect of AS on ABB and calcium metabolism with respect to the duration and amount of change. The target regions of DCAD should be clearly below 100 mEq/kg dry matter to ensure the desired effect on ABB and calcium metabolism. Extremely negative DCAD should be avoided to minimize the risk of clinical acidosis induced by AS.

Introduction

To prevent parturient paresis, cows are fed anionic salts (AS) in combination with total mix rations for the last 3 weeks before parturition (Staufenbiel, 2000; Oetzel, 2002). AS activate calcium metabolism as a response to the induced metabolic acidosis (Block, 1984). To fulfill the optimal effect, a high level of feeding management is necessary. A reduction of feed intake must be avoided (Oetzel & Barmore, 1993). To calculate the amount of AS needed, the dietary cation-anion difference (DCAD) of the diet has to be determined. DCAD commonly is measured as mEq/kg dry matter (DM), comprising the amounts of the major cations, sodium and potassium, reduced by the amounts of the major anions, chloride and sulphate (Oetzel, 2002). DCAD is the common parameter to monitor the correct mixing of AS to guarantee the metabolic effect in cows (Horst et al. 1994). The DCAD of a total mix ration (TMR) including AS has to be considerably lower than zero (Kamphues, 1996), indicating a surplus of anions in the ration. Intake of AS is poor, because of their low palatability and therefore transition cows should be monitored to ensure an adequate intake of AS. Commonly, urine pH is considered as an adequate parameter for monitoring AS intake of cows (Oetzel, 2002). Urine pH values should be between 6 and 7 (Fürl et al. 1996). Recent work has shown that both DCAD and urine pH.

2.5. The impact of dietary cation anion balance (DCAD) on the acid-base balance ...

Table 1. Chemical composition of the concentrate (g/kg dry matter unless stated otherwise)

DM	881
crude ash	63
crude protein	190
crude fat	30
crude fibre	86
NEL [†] (MJ/kg DM)	6.27
Na	3.8
K	10.9
Cl	5.0
S	1.2
Ca	7.5
Mg	3.3
P	6.2

[†]: Net energy for lactation

are not appropriate parameters for monitoring the effective use of AS (Gelfert et al. 2004). In that study, although feed analysis confirmed the correct mixing of AS, DCAD did not drop below zero and urinary pH showed only marginal decreases, remaining in physiological ranges. On the other hand, net acid-base excretion (NABE) in urine of those cows was low and calcium excretion via the kidneys had increased. These findings indicate that feed, containing AS and having a positive DCAD, induces a metabolic acidosis and activates calcium mobilization as an effect of compensation. Bender et al. (2003) made similar observations previously. It should be emphasized that results of such field studies have to deal with fluctuations in the composition of feed and feed intake of cows (Goff et al. 2004) and reliable results are dependent on optimal feeding management (Husband et al. 2002). Unnoticeable acidogenic effects would result in similar effects regarding urine composition (Owens et al. 1998). Besides this problem of an undetected acidosis in field studies, there is the problem of clinical acidosis induced by feeding AS. Clinical acidosis occurs when the dosage of AS is too high or the resulting DCAD is too low (Gelfert et al. 2006a). A certain level of acidosis is necessary to activate calcium metabolism. There is discussion of whether the different AS have different impacts on ABB and calcium metabolism (Vagnoni & Oetzel, 1998; Goff et al. 2004). Vagnoni & Oetzel (1998) did not find any differences between six different AS in their impact on ABB. According to the results of their study, Goff et al. (2004) stated that chloride salts have a greater impact on ABB than sulphate salts.

Table 2. Amount of different anionic salts (AS) required to provide a daily dose of 2 Eq.

Group	Salt	amount (g/d) [†]
control	aqua dest.	-
chloride salt	CaCl ₂ ·2H ₂ O	147
	MgCl ₂ ·6H ₂ O	204
	NH ₄ Cl	107
sulfate salt	MgSO ₄ ·7H ₂ O	246
	CaSO ₄ ·2H ₂ O	172
	CaSO ₄ D10 [‡]	172
	(NH ₄) ₂ SO ₄	132
combinations	CaCl ₂ ·2H ₂ O + MgSO ₄ ·7H ₂ O [§]	196.5
	NH ₄ Cl + CaSO ₄ ·2H ₂ O [§]	139.5

[†]: amount corresponds with 2 Eq [‡]: natural Calcium sulfate with grain size = 10µm [§]: equal equivalents of both AS

The present study design was established to monitor the effect of various AS on ABB and calcium metabolism of cows. To ensure complete intake of feed and AS, rumen fistulated cows were used. During feeding, AS were administered via rumen cannula, simulating a synchronous intake of food and anionic salts and guaranteeing the complete intake of the AS. The use of dry, non-pregnant cows can be justified by the assumption that their response to the AS may only differ from that of pregnant cows in quantitative but not in qualitative terms.

Materials and Methods

Ten mature, non-lactating, non-pregnant, Holstein-Friesian crossbred cows, 5–10 years old, were used. Cows were housed individually in tie stalls at the Clinic for Ruminants and Swine of the Free University of Berlin. They were kept on a concrete floor and provided with straw bedding. After a period of adjustment, the cows received a permanent rumen fistula, according to the method by Goetze (1934). After insertion of the fistula a 4-week adaptation followed. For the entire duration of the study, the daily diet consisted of 8 kg hay and 2.5 kg of routinely used concentrate and 300 g CaCO₃. The concentrate mixture (Table 1) was formulated so that the whole diet met or exceeded the requirements of non-pregnant and non-lactating dairy cows (DLG, 2006). Addition of 300g CaCO₃ guaranteed a daily intake of 120–150g calcium to meet the needs of cattle receiving AS (Oetzel et al. 1988; Byers, 1994; Beening, 1998; Staufenbiel, 2000). Water and feed were provided individually. Eating of the straw bedding would have been possible but is unlikely to have been great enough to influence the study. For monitoring of DCAD, hay was analysed by commercial laboratories (Analytical Labor for Agriculture and Environment, Parchim, Germany) every 14 d. After the adjustment period, the cows were assigned to one of nine different batches of AS or combinations of AS. Three chloride salts, four sulphate salts and two combinations of one chloride and one sulphate salt were used (Table 2). Deionized water served as control. All sources of anions were food or reagent grade and at least 97% pure. Dehydrated CaSO₄ and dehydrated CaCl₂ were provided by Sigma-Aldrich Laborchemikalien, Seelze; all other salts by Merck KG, Darmstadt. Salts and control were assigned in a 10x10 Latin square design. This model was used to randomize the distribution and sequence of the anionic salts tested to avoid any side effects on the parameters tested due to the sequence of the AS. Amounts of AS corresponded to 2 Eq/day (Table 2). One half of the dose was given at each feeding time. All AS were diluted using 2 L twice-deionized water. Water-soluble chloride salts were applied as an infusion via rumen cannula for 1.5 h. Poorly water-soluble sulphate salts and salt combinations were applied as water-suspension via rumen cannula. Control cows received 2 L deionized water as infusion. Each treatment period (TP) lasted 14 d and was discontinued to the following TP by a washout period (WOP) of the same duration. During every TP and WOP, blood and urine samples were taken 2 h after the morning feeding. Samples were taken on day zero before the first application of AS and on days 4, 7, 11 and 14 of TP and on day 4 of WOP. A midstream urine sample was taken by provoking micturition by manually stimulating the vulva. Blood was collected anaerobically from the jugular vein into a heparinized 2-ml syringe; each syringe was capped, placed on ice and tested for Base excess (BE) bicarbonate concentrations and pH (ABL5, Radiometer, Copenhagen, Denmark). For serum analysis, blood was transported in tubes containing kaolin.

2.5. The impact of dietary cation anion balance (DCAD) on the acid-base balance ...

Table 3. Concentration (g/kg dry matter unless stated otherwise) of minerals and dietary cation-anion difference (DCAD) in the five DCAD groups before adding the anionic salts

Dietary analysis	1	2	3	4	5
NEL [†] (MJ/kg DM [†])	5.39	5.45	5.55	5.53	5.31
Na	1.89	1.84	1.83	1.18	1.06
K	22.50	19.58	16.87	12.81	10.94
Cl	5.03	4.91	4.49	3.80	6.08
S	1.06	1.34	1.58	1.61	1.62
Ca	11.80	7.36	8.83	9.30	8.56
Mg	2.32	1.99	2.49	2.72	2.23
P	3.93	4.23	4.71	3.13	3.67
DCAD (mEq/kg DM)	451	360	287	172	54
DCAD with AS (mEq/kg DM)	239	139	89	54	-155

[†] DM: dry matter

Blood was allowed to clot and was centrifuged, within 2 h, at 4000 *g* for 10 min. Then the serum was transferred into vials and stored at -20°C until the determination of macrominerals was possible. For analysis of calcium, serum was diluted 1:40 and analysed via atomic absorption spectrophotometry (ABL5, Radiometer, Copenhagen, Denmark). The same method was used for analysis of urine samples. A control serum sample and a control urine sample containing defined concentrations of minerals were used to validate the calibration. Urine samples were tested for pH using a pH-meter and the NABE was measured via titration described by Kutas (1965) and modified by Lachmann (1981). Under physiological conditions, NABE is positive with values between 107 and 193mmol/l (Rossow et al. 1987). When NABE decreases, it indicates an increased reabsorption of HCO₃⁻ due to an increased [H⁺] secretion in the case of an acidosis. An increase of NABE represents the regulative work of the kidneys in the case of an alkalosis.

Statistical analysis was performed using SPSS 11.0 (SPSS, Chicago IL, USA). In a first multivariate analysis of variance, DCAD, AS and TP-day served as independent variables. Significant interactions between DCAD and AS ($P < 0.001$) were found. Analysis of the graphs showed that ABB and calcium metabolism reacted similarly to the feeding of AS when DCAD of the single TP were similar. Therefore, DCAD of the ten periods were divided into five groups according to a cluster analysis (Table 3). All following analyses were made for these five DCAD-groups separately. A second multivariate analysis of variance was performed for each DCAD-group separately with AS and TP-day as independent variables. All blood and urine analyses showing a significant effect were used in a repeated measure ANOVA (Littell et al. 1998) to look for changes in blood and urine parameters over time, using day zero, TP-days 4, 7, 11, 14 and WOP-day 4. AS served as innersubject factor. The cows serving as control were excluded from these analyses. A post hoc Bonferroni test compared the single AS and the single treatment day. Level of significance was fixed at $P = 0.05$.

All procedures of the study including the cows used accorded with the legal regulations and were approved by Regional Authorities for Employment Protection, Health Protection and Technical Security, Berlin, Germany.

Results

The first multivariate analysis of variance showed that TP-day, AS and DCAD had significant influences on ABB and calcium metabolism. Furthermore, interactions between DCAD and AS occurred ($P < 0.001$). Since the single AS showed similar effects on ABB and calcium metabolism when DCAD were similar, a cluster analysis was performed to create homogenous groups differing in their DCAD. The DCAD of these five groups varied widely from +239mEq/kg DM to -155mEq/kg DM when anionic salts were added (Table 3). Only in one group DCAD was below zero. The repeated measures ANOVA revealed that TP-day had a significant influence on the parameters tested (Table 4). No interactions between TP-day and AS were found ($P > 0.05$). AS failed to show a significant effect in all groups ($P > 0.05$).

In DCAD group 1 (239 mEq) changes in ABB over time were only seen in urine ($P < 0.05$). However, remarkable changes were restricted to the first week of TP (Tables 5–6). In the second week, urine parameters of ABB turned back towards initial values, showing no acid load at the end of TP. Concerning time, no significant changes in blood were detectable during the entire TP ($P > 0.05$). BE, SBC and pH remained nearly unaffected and within normal ranges. In the DCAD groups 2–4, changes in urine were more pronounced than in the first group. NABE and base concentrations dropped significantly on most TP-days. In DCAD group 2 (139mEq) urine pH showed strong and significant reactions on TP-days 7 and 14 and on all TP-days in DCAD groups 3 (89mEq) and 4 (55mEq). In those three DCAD-groups a slight trend towards initial values was visible in all parameters on day 11, which was not visible anymore on TP-day 14. SBC and pH in blood showed significant changes during TP in these three groups. Changes in ABB lasted the entire TP and were more pronounced than in DCAD group 1 (239mEq). For urine parameters, changes were not as distinct on TP-day 11. Compared with the changes in urine, blood parameters varied only slightly and blood pH remained within normal ranges in DCAD groups 2, 3 and 4. In DCAD group 5 (-155mEq), parameters in urine were clearly outside the physiological ranges on all TP-days, reflecting the high acid load. At TP-day 11 the same trend was visible as in the other DCAD-groups. It also continued on TP-day 14, resulting in smaller deviations than in the first week of the TP. Blood parameters reacted significantly ($P < 0.05$) to AS applied, showing values outside the physiological ranges as well.

Comparing the five DCAD groups showed that the values of the parameters measured differed on day zero, reacting to the decreasing DCAD with signs of acidosis. Especially in DCAD group 5 (-155mEq) urine pH, NABE and ammonium concentrations were outside their physiological ranges, representing the acid load, whereas pH values in blood were at their lower limit, although no animal received AS on that day. The acidosis remained at this level during TP in the control cows (Tables 5–6). In cows receiving AS, changes in ABB parameters were more evident and the values of the single parameters were clearly outside their physiological ranges.

On WOP-day 4 all parameters returned to initial values (Tables 5–6) and no signs of acidosis were detectable in DCAD groups 1–4. In DCAD group 5 (-155mEq) NABE, ammonium concentrations and urine pH did not reach the initial values of day zero although there was a strong trend towards them. However, these differences were not significant ($P > 0.05$) compared with day zero.

2.5. The impact of dietary cation anion balance (DCAD) on the acid-base balance ...

Table 4. Test statistics of the Repeated Measure ANOVA with anionic salts (AS) as innersubject factor.

DCAD [†] -group	Parameter	Variable			
		TP-day		AS	
		F	p	F	p
239 mEq/kg DM	HCO ₃ ⁻ (mmol/l)	2.108	0.082	1.600	0.247
	BE [‡] (mmol/l)	2.118	0.081	1.520	0.271
	blood Ca ²⁺ (mmol/l)	2.096	0.083	<1	0.760
	urine pH	9.981	<0.001	<1	0.775
	NABE [§]	11.787	<0.001	<1	0.824
	base conc. (mmol/l)	16.222	<0.001	<1	0.828
	urinal Ca (mmol/l)	5.769	<0.001	1.441	0.297
139 mEq/kg DM	blood pH	10.042	<0.001	<1	0.525
	BE (mmol/l)	5.079	0.001	1.840	0.178
	HCO ₃ ⁻ (mmol/l)	4.204	0.003	1.577	0.244
	blood Ca ²⁺ (mmol/l)	14.869	<0.001	1.641	0.225
	urine pH	10.791	<0.001	<1	0.745
	NABE (mmol/l)	31.992	<0.001	<1	0.704
	base conc. (mmol/l)	25.555	<0.001	<1	0.689
	NH ₄ ⁺ (mmol/l)	8.857	<0.001	1.002	0.494
urine calcium (mmol/l)	21.683	<0.001	2.659	0.072	
89 mEq/kg DM	blood pH	5.575	<0.001	1.069	0.456
	HCO ₃ ⁻ (mmol/l)	7.525	<0.001	<1	0.724
	BE (mmol/l)	3.551	0.008	<1	0.703
	blood Ca ²⁺ (mmol/l)	8.969	<0.001	<1	0.929
	urine pH	28.314	<0.001	1.767	0.207
	NABE (mmol/l)	60.590	<0.001	1.272	0.355
	base conc. (mmol/l)	62.385	<0.001	<1	0.531
	NH ₄ ⁺ (mmol/l)	11.302	<0.001	<1	0.627
urine calcium (mmol/l)	9.221	<0.001	<1	0.562	
55 mEq/kg DM	blood pH	8.081	<0.001	<1	0.658
	HCO ₃ ⁻ (mmol/l)	2.497	0.043	<1	0.768
	BE (mmol/l)	3.551	0.008	<1	0.703
	blood Ca ²⁺ (mmol/l)	5.377	<0.001	<1	0.998
	urine pH	11.137	<0.001	<1	0.791
	NABE	20.839	<0.001	<1	0.812
	base conc. (mmol/l)	22.686	<0.001	<1	0.801
	NH ₄ ⁺ (mmol/l)	5.598	<0.001	<1	0.609
urine calcium (mmol/l)	13.817	<0.001	<1	0.793	
-155 mEq/kg DM	blood pH	18.114	<0.001	1.185	0.395
	HCO ₃ ⁻ (mmol/l)	11.635	<0.001	1.095	0.441
	BE (mmol/l)	14.716	<0.001	1.104	0.437
	blood Ca ²⁺ (mmol/l)	2.994	0.019	<1	0.624
	urine pH	19.204	<0.001	<1	0.791
	NABE (mmol/l)	13.45	<0.001	<1	0.568
	base conc. (mmol/l)	11.344	<0.001	1.036	0.474
	NH ₄ ⁺ (mmol/l)	18.275	<0.001	<1	0.579
urine calcium (mmol/l)	18.713	<0.001	<1	0.830	

In DCAD group 1 (239mEq) total calcium concentrations and Ca²⁺ concentrations did not show any significant reaction ($P > 0.05$) due to TP-day (Table 7) or intake of AS. Only on TP-day 4 the urine calcium concentrations differed significantly ($P < 0.05$) from day zero. On the remaining days of TP, urine calcium concentrations decreased steadily. No significant changes due to AS intake were detectable ($P > 0.05$). Total calcium concentrations in serum did not show any significant reactions in the remaining four groups as well. Ca²⁺ concentrations showed different reactions in DCAD groups 2–5. In DCAD group 2 (139mEq/kg) Ca²⁺ concentrations were lower on TP-days 4, 11 and 14 than on day

zero. On day zero, Ca^{2+} concentrations were very high (1.16mmol/l). In DCAD groups 3–5, Ca^{2+} increased slightly on TP-day 7 (Table 7), but it was only significantly different from day zero in group 3. Again, Ca^{2+} concentrations did not show different reactions in response to different AS ($P > 0.05$). In the DCAD groups 2–5, urine calcium concentrations increased and differed significantly from day zero ($P < 0.001$). Highest concentrations were measured on TP-day 7. The reaction of ABB on TP-day 11 was accompanied by a slight reduction of calcium concentrations in the urine. In DCAD groups 2 and 4, calcium excretion increased again on TP-day 14 whereas in the other two groups (3 and 5) the decrease continued moderately and remained at an elevated level.

On WOP-day 4, calcium concentrations in urine had returned to their initial values in all but one group. In DCAD group 5 (–155mEq), calcium excretion in urine was still elevated on WOP-day 4 although it was not significantly different from day zero ($P < 0.05$).

Discussion

Feeding AS is a common method of preventing periparturient hypocalcaemia and parturient paresis. The influence of AS on ABB in cows is controversial in the literature (Oetzel et al. 1991; Goff et al. 2004). Many authors did not observe significant changes of ABB in blood samples (Tucker et al. 1991a, 1992; Füll et al. 1994; Vagnoni & Oetzel, 1998). The main reason for this effect is the organism's immediate regulative response to any acid load, resulting in the different outcomes in such studies and the small differences between the test and control groups in some of them (Tucker et al. 1992; Vagnoni & Oetzel, 1998). Other reasons for the different observations might be the variability in AS tested, the amounts of AS fed, the study design and the feeding behaviour of the cows. In field studies, other causes of acidosis cannot be excluded completely (Gelfert et al. 2004). DCAD also seems to have an impact on the ability of AS in changing ABB. Therefore, the present trial included a controlled feeding regime in the investigation of the influence of anionic salts on the metabolism of dairy cows. Statistical analysis showed an interaction of DCAD and AS. For a better understanding of the changes induced by AS, we decided to compare the impact of the single AS in groups varying in their DCAD. During the entire experiment, the monitoring of ruminal fluid showed no ruminal acidosis (data not shown) and no other causes of metabolic acidosis were detected.

The first interesting results were the reactions of ABB and calcium metabolism after AS application even though DCAD was still and clearly positive. The reactions of ABB followed the same direction in all DCAD groups. Decreasing DCAD in the diet without AS was mainly associated with a reduction in the concentrations of potassium in the different batches of hay (Table 3). The application of AS causes a sudden change in the ratios of cations and anions. To maintain electrical neutrality the organism generates more $[\text{H}^+]$ reducing BE, SBC and provoking a compensating response of the kidneys. This reaction differed between the five DCAD groups with respect to the amplitude of parameter changes in blood and urine and the length of time the acidosis was detectable. In all DCAD groups, the strongest reactions occurred on TP-day 7. Changes were lower on TP-day 11 than on day 7. In DCAD group 1 (239mEq), these reduced reactions of the parameters continued and no acidosis was measurable on TP-day 14. Furthermore, significant changes of ABB were detectable in urine (pH, NABE, base concentrations) only. In blood, pH remained unaffected and so did the other blood parameters.

Table 5: Blood-ph, base excess and bicarbonate concentrations in cows fed different anionic salts or water in feed with varying dietary cation-anion difference (DCAD). Values are means±SD for n=10

DCAD-groups	Treatment period										Wash out period day 4	
	Water					Anionic salts					Water	Anionic salts
	Day Zero	Mean±SD	Mean±SD	TP_4	TP_7	TP_11	TP_14	Mean±SD	Mean±SD			
				pH (blood)								
451/239 [†]	7.38±0.2 ^{1a}	7.38±0.1 ¹	7.37±0.04 ¹	7.36±0.04 ^a	7.37±0.05 ^a	7.38±0.03 ^a	7.38±0.02 ^a	7.39±0.01	7.39±0.02 ^a			
360/139	7.39±0.02 ^{1a}	7.38±0.2 ¹	7.36±0.03 ²	7.36±0.02 ^{bc}	7.35±0.04 ^{bc}	7.36±0.03 ^{bc}	7.36±0.03 ^{bc}	7.38±0.03	7.39±0.02 ^{ac}			
287/89	7.38±0.03 ^{1a}	7.38±0.01 ¹	7.35±0.02 ²	7.35±0.02 ^{ab}	7.36±0.02 ^a	7.35±0.02 ^{ac}	7.35±0.03 ^a	7.37±0.01	7.38±0.03 ^{ac}			
172/55	7.38±0.02 ^{1acd}	7.38±0.01 ¹	7.37±0.03 ²	7.37±0.02 ^{abcd}	7.36±0.03 ^{bcd}	7.37±0.02 ^{bd}	7.36±0.03 ^{abc}	7.35±0.01	7.38±0.02 ^{abd}			
54/-155	7.36±0.03 ^{1ac}	7.38±0.02 ¹	7.32±0.04 ²	7.32±0.04 ^b	7.31±0.05 ^{ab}	7.33±0.05 ^{ab}	7.33±0.04 ^{ab}	7.40±0.00	7.39±0.02 ^{ac}			
				Base excess (mmol/l)								
451/239 [†]	1.45±0.95 ^{1a}	1.50±0.8 ¹	1.28±3.2 ¹	-0.22±3.3 ^a	1.11±3.9 ^a	2.33±2.7 ^a	1.89±2.0 ^a	-0.50±0.7	2.41±1 ^a			
360/139	1.40±1.6 ^{1a}	2.25±1.6 ¹	-0.65±2.5 ²	0.11±2.5 ^{ac}	-1.39±2.8 ^{bc}	-0.17±2.1 ^{ac}	-1.17±2.5 ^{ac}	2.50±0.7	2.28±2.9 ^{ac}			
287/89	0.95±1.91 ^{ac}	2.50±1.3 ¹	-0.85±2.32	-1.50±1.9 ^{ac}	-0.83±2.5 ^{ab}	-0.06±2.3 ^{ac}	-1.00±2.3 ^{ac}	2.00±0.00	2.17±2.1 ^{ac}			
172/55	1.50±2.41 ^a	1.38±2.9 ¹	0.22±2.72	0.67±3.1 ^{ac}	-1.11±2.4 ^{bc}	1.67±1.8 ^{ac}	-0.33±2.6 ^{bc}	1.50±0.7	1.83±2.3 ^{ac}			
54/-155	-0.8±3.0 ^{1ac}	0.13±1.9 ¹	-3.61±3.5 ²	-3.89±3.3 ^{ab}	-5.11±3.7 ^{ab}	-2.61±3.6 ^{ab}	-3.61±3.5 ^{ab}	2.5±3.5	2.00±2.6 ^{ac}			
				Bicarbonate concentrations (mmol/l)								
451/239 [†]	26.4±1.2 ^{1a}	26.13±1.0 ¹	26±3.1 ¹	24.61±2.9 ^a	25.72±3.5 ^a	27.39±2.9 ^a	26.28±2.3 ^a	23.5±0.7	27.06±2.1 ^a			
360/139	25.9±1.7 ^{1a}	26.88±1.5 ¹	24±2.4 ²	24.93±2.6 ^{ac}	23.33±2.4 ^{bc}	24.39±2.0 ^{ac}	23.44±2.6 ^{ac}	27±1.4	26.8±3.2 ^{ac}			
287/89	25.55±2.1 ^{1a}	27.13±1.1 ¹	23.94±2.4 ²	23.33±2.2 ^{ac}	23.94±2.5 ^{ab}	24.89±2.4 ^{ac}	23.61±2.3 ^{ac}	27.5±0.7	27.00±2.1 ^{ac}			
172/55	26.2±2.7 ^{1a}	26.00±3.6 ¹	24.96±2.8 ²	25.22±2.3 ^a	23.61±2.5 ^a	26.44±2.0 ^a	24.56±2.8 ^a	26.5±0.7	26.28±2.5 ^a			
54/-155	23.7±3.21 ^{ac}	24.25±2.0 ¹	21.33±3.2 ²	21.11±3.1 ^a	19.94±3.1 ^a	22.50±3.2 ^a	21.78±3.2 ^a	26.5±5.0	26.56±2.9 ^{bc}			

[†]: the first value is the DCAD for the control diet, the second value characterizes the DCAD dropped by the anionic salts ^{1,2}; mean values with different superscripts differed significantly (p<0.05) between day Zero and TP-days ^{a,b,c,d}; mean values with different superscripts differed significantly (p<0.05) between the single day during TP and day Zero

Table 6: Urinal pH, Net-Acid-Base-Excretion (NABE) and ammonium concentrations in cows fed different anionic salts (AS) or water in feed with varying dietary cation-anion difference (DCAD). Values are means±SD for n=10

DCAD-groups	Treatment period (TP)										Wash out period day 4	
	Water					Anionic salts					Water	Anionic salts
	Day Zero	Mean±SD	TP_4	TP_7	TP_11	TP_14	TP_11	TP_14	Mean±SD	Mean±SD		
			pH (urine)									
451/239 [†]	8.01±0.8 ^{1bcde}	8.38±0.1 ¹	7.04±1.0 ^{bcd}	7.35±1.0 ^{bcef}	7.88±0.8 ^{abcef}	8.11±0.8 ^{abdef}	7.88±0.8 ^{abcef}	8.11±0.8 ^{abdef}	7.88±0.8	8.34±0.1 ^{acdef}		
360/139	8.27±0.1 ^{1ac}	8.30±0.1 ¹	7.61±1.0 ^{abc}	6.91±1.0 ^b	7.63±0.9 ^{abc}	7.11±1.1 ^b	7.63±0.9 ^{abc}	7.11±1.1 ^b	8.33±0.1	8.22±0.2 ^{ac}		
287/89	8.16±0.3 ^{1a}	7.6±0.99 ¹	6.79±1.0 ^b	6.69±0.8 ^b	7.40±0.9 ^b	6.69±1.1 ^b	7.40±0.9 ^b	6.69±1.1 ^b	8.04±0.2	7.00±0.6 ^a		
172/55	8.39±0.3 ^{1acd}	8.27±0.1 ¹	7.24±1.2 ^{acd}	6.68±1.1 ^{bc}	7.52±1.0 ^{ad}	7.07±1.1 ^{bcd}	7.52±1.0 ^{ad}	7.07±1.1 ^{bcd}	8.24±0.01	8.23±0.3 ^{ad}		
54/-155	7.64±0.9 ^{1a}	7.37±0.9 ¹	5.86±0.4 ^b	5.96±0.6 ^b	6.02±0.5 ^b	6.26±1.0 ^b	6.02±0.5 ^b	6.26±1.0 ^b	7.75±0.8	7.48±1.0 ^a		
			Net-acid-base excretion (mmol/l)									
451/239 [†]	123±59 ^{1def}	149±49 ¹	8±75 ^{cde}	47±110 ^{cde}	100±86 ^{abce}	116±77 ^{abde}	100±86 ^{abce}	116±77 ^{abde}	88±134	174±65 ^a		
360/139	160±56 ^{1ac}	124±47 ¹	64±3 ^{bc}	10±69 ^b	58±60 ^b	17±63 ^b	58±60 ^b	17±63 ^b	173±6	142±51 ^{ac}		
287/89	98±58 ^{1a}	120±48 ¹	-3±59 ^b	-21±48 ^b	21±77 ^b	-9±50 ^b	21±77 ^b	-9±50 ^b	68±61	124±81 ^a		
172/55	207±6 ^{1acd}	159±73 ¹	46±97 ^{bcd}	-1±61 ^{bc}	52±83 ^{ad}	12±57 ^{bc}	52±83 ^{ad}	12±57 ^{bc}	155±54	122±66 ^{ad}		
54/-155	49±108 ^{1a}	25±46 ¹	-74±50 ^b	-99±69 ^b	-91±53 ^b	-51±73 ^a	-91±53 ^b	-51±73 ^a	94±140	62±113 ^a		
			Base concentrations (mmol/l)									
451/239 [†]	219±74 ^{1bcd}	239±47 ¹	178±76 ²	129±54 ^{ad}	164±79 ^{abd}	206±76 ^{abd}	215±63 ^{bd}	206±76 ^{abd}	230±113	280±67 ^{bc}		
360/139	249±60 ^{1ac}	243±35 ¹	164±59 ²	184±62 ^{bc}	144±57 ^{bd}	159±51 ^{bd}	169±61 ^{bd}	159±51 ^{bd}	263±32	239±62 ^{ac}		
287/89	195±52 ^{1a}	120±48 ¹	119±49 ²	118±53 ^b	106±41 ^b	113±49 ^b	138±51 ^b	113±49 ^b	150±50	224±67 ^a		
172/55	306±63 ^{1a}	289±65 ¹	146±66 ²	170±76 ^{bcd}	124±53 ^{bc}	129±56 ^{bc}	159±70 ^{bd}	129±56 ^{bc}	285±92	234±70 ^{ad}		
54/-155	184±93 ^{1a}	154±30 ¹	89±31 ²	90±16 ^b	86±31 ^b	91±47 ^b	88±21 ^{ac}	91±47 ^b	190±99	183±78 ^{ad}		
			NH₄⁺ (mmol/l)									
451/239 [†]	7±2 ^{1a}	5±2 ¹	17±3 ¹	22±29 ^a	24±50 ^a	8±9 ^a	13±25 ^a	8±9 ^a	15±14	6±2 ^a		
360/139	5±21 ^a	8±3 ¹	21±19 ²	17±17 ^a	26±23 ^b	23±21 ^{ab}	16±15 ^a	23±21 ^{ab}	6±4	6±2 ^a		
287/89	8±5 ^{1a}	10±7 ¹	29±32 ²	31±19 ^{bc}	33±34 ^{bc}	27±26 ^{ac}	28±40 ^{abc}	27±26 ^{ac}	29±32	9±8 ^{ad}		
172/55	6±31 ^a	7±2 ¹	21±17 ²	19±16 ^{ab}	26±19 ^b	20±15 ^b	18±19 ^{ab}	20±15 ^b	8±1	8±4 ^{ab}		
54/-155	27±45 ^{1a}	15±9 ¹	76±52 ²	68±51 ^b	96±56 ^b	58±48 ^{ab}	85±50 ^b	58±48 ^{ab}	10±10	28±44 ^a		

[†]: the first value is the DCAD for the control diet. The second value characterizes the DCAD dropped by the anionic salts ^{1,2}: mean values with different superscripts differed significantly (p<0.05) between day zero and TP-days ^{a,b,c,d,e,f}: mean values with different superscripts differed significantly (p<0.05) between the days during TP

Table 7: Concentrations of calcium and ionised calcium in serum and urine of cows fed different anionic salts or water in feed with varying varying dietary cation-anion difference (DCAD). Values are means±SD for n=10

DCAD-groups	Treatment period											
	Water					Anionic salts					Wash out period day 4	
	Day Zero	Mean±SD	TP_4	TP_7	TP_11	TP_14	Water	Mean±SD	Anionic salts	Mean±SD		
Total calcium concentrations in serum (mmol/l)												
451/239 [†]	2.26±0.3 ^{1a}	2.24±0.1 ¹	2.27±0.1 ^a	2.26±0.1 ^a	2.27±0.1 ^a	2.31±0.2 ^a	2.41±0.04	2.34±0.2 ^a	2.41±0.13	2.38±0.14 ^a		
360/139	2.48±0.1 ^{1a}	2.44±0.1 ¹	2.51±0.1 ^a	2.40±0.1 ^a	2.46±0.1 ^a	2.36±0.1 ^a	2.42±0.04	2.44±0.05 ^a	2.42±0.04	2.44±0.05 ^a		
287/89	2.28±0.1 ^{1a}	2.42±0.3 ¹	2.33±0.1 ^a	2.32±0.1 ^a	2.34±0.2 ^a	2.33±0.1 ^a	2.49±0.25	2.44±0.13 ^a	2.49±0.25	2.44±0.13 ^a		
172/55	2.36±0.1 ^{1a}	2.30±0.1 ¹	2.26±0.1 ^a	2.29±0.1 ^a	2.29±0.1 ^a	2.28±0.1 ^a	2.28±0.2	2.30±0.13 ^a	2.28±0.2	2.30±0.13 ^a		
54/-155	2.30±0.2 ^{1a}	2.29±0.2 ¹	2.19±0.2 ^a	2.26±0.2 ^a	2.21±0.1 ^a	2.37±0.1 ^a	2.41±0.13	2.38±0.14 ^a	2.41±0.13	2.38±0.14 ^a		
Blood Ca²⁺-concentrations (mmol/l)												
451/239 [†]	0.92±0.1 ^{1a}	0.94±0.1 ¹	0.92±0.09 ^a	0.89±0.10 ^a	0.87±0.10 ^a	0.93±0.10 ^a	0.93±0.22	0.85±0.14 ^a	0.93±0.22	0.85±0.14 ^a		
360/139	1.16±0.1 ^{1a}	1.00±0.1 ¹	0.94±0.06 ^b	1.06±0.10 ^a	1.06±0.10 ^b	0.96±0.06 ^b	1.00±0.04	0.95±0.08 ^b	1.00±0.04	0.95±0.08 ^b		
287/89	0.95±0.2 ^{1a}	0.98±0.1 ¹	1.05±0.08 ²	1.05±0.07 ^{ab}	1.06±0.08 ^{ab}	1.05±0.09 ^{ab}	0.87±0.33	0.92±0.21 ^a	0.87±0.33	0.92±0.21 ^a		
172/55	1.01±0.1 ^{1a}	0.92±0.04 ¹	1.00±0.07 ²	0.97±0.01 ^{ab}	0.99±0.06 ^{ac}	1.00±0.06 ^a	0.96±0.04	0.98±0.06 ^a	0.96±0.04	0.98±0.06 ^a		
54/-155	1.11±0.03 ^{1a}	1.09±0.04 ¹	1.11±0.05 ²	1.13±0.05 ^{ac}	1.09±0.04 ^a	1.12±0.05 ^a	1.08±0.01	1.09±0.07 ^a	1.08±0.01	1.09±0.07 ^a		
Urinal calcium concentrations (mmol/l)												
451/239 [†]	1.72±1.77 ^{1a}	1.79±1.2 ¹	6.82±8.9 ²	9.0±8.9 ^b	8.65±14.00 ^{ab}	5.76±4.3 ^{ab}	1.15±1.3	1.76±1.4 ^a	1.15±1.3	1.76±1.4 ^a		
360/139	2.56±2.33 ^{1a}	2.38±1.0 ¹	8.82±5.2 ²	6.12±5.0 ^{ab}	9.38±4.6 ^b	8.56±4.1 ^b	0.58±0.2	3.37±3.0 ^a	0.58±0.2	3.37±3.0 ^a		
287/89	2.80±2.6 ^{1a}	1.54±1.0 ¹	8.84±7.8 ²	9.63±5.6 ^{ab}	8.02±4.3 ^b	11.34±6.0 ^b	2.61±3.0	5.09±4.9 ^{abd}	2.61±3.0	5.09±4.9 ^{abd}		
172/55	1.51±2.3 ^{1a}	4.58±2.7 ¹	6.7±4.5 ²	4.37±5.0 ^{bd}	8.25±4.0 ^{bc}	6.79±4.4 ^{bc}	5.78±4.8	3.55±3.1 ^{ad}	5.78±4.8	3.55±3.1 ^{ad}		
54/-155	3.88±2.9 ^{1a}	11.43±5.6 ¹	18.4±7.3 ²	14.28±6.5 ^b	20.64±8.7 ^b	20.02±6.1 ^b	7.42±2.9	12.82±9.1 ^{ab}	7.42±2.9	12.82±9.1 ^{ab}		

[†]: the first value is the DCAD for the control diet; the second value characterizes the DCAD dropped by the anionic salts^{1,2}; mean values with different superscripts differed significantly (p<0.05) between day zero and TP-days^{ab,cd}; mean values with different superscripts differed significantly (p<0.05) between the days during TP

Delaquis & Block (1995) monitored changes in ABB in cows fed a diet with a high DCAD and containing AS. They found no reaction of urinary pH. On the other hand, recent studies found a definite response of ABB to AS in cows fed a diet with a positive DCAD (Bender et al. 2003; Gelfert et al. 2004). The authors describe a definite reaction of ABB and calcium mobilization, detectable through the decrease of NABE and the increase of calcium concentrations in urine. However, the authors also state that due to the field conditions of their studies other reasons for the reactions in urine parameters (e.g. subclinical rumen acidosis) could have been possible, although not detected. From the present findings, it can be concluded that the application of AS induced an acidosis regardless the DCAD value reached. This acidosis was completely compensated when DCAD was still positive. Moreover, it disappeared completely after a certain time in DCAD group 1 as if the organism had learned to deal with the supply of AS without using compensating mechanisms.

In the other four DCAD groups, the changes of ABB were more pronounced, lasting throughout the trial. Acidosis was also visible in the blood parameters. Tucker et al. (1991b) found similar results. They fed different amounts of calcium chloride to non-pregnant and non-lactating dairy cows for 3 weeks and compared the alterations of ABB among the different groups. Feeding the highest concentrations caused the lowest DCAD and the strongest effects on ABB. Roche et al. (2003a) monitored the impact of AS in a similar study. According to their results, DCAD must be lower than 160mEq/kg DM to affect ABB and calcium mobilization sufficiently, which confirms the observations seen in DCAD group 2 (139mEq) of the present study. A meta-analysis using data from 21 studies was made to predict pH in urine from the DCAD of the diet (Spanghero, 2004). Values of urinary pH measured in the studies and those calculated by the meta-analysis were similar to those obtained in the present study. However, in our study urinary pH was below seven, even when DCAD was still positive which is contrary to the calculations made by Spanghero (2004). Tucker et al. (1991b) found that the amount of AS fed must be limited to prevent detrimental effects on ABB. Our results agree with theirs for we found a very strong reaction of NABE, base and ammonium concentrations in DCAD group 5. A negative NABE is an indicator for a non-compensated acidosis (Bender et al. 2003). In that case, the risk of a breakdown of the compensating capacity and resulting clinical acidosis is increased. The cows stop eating (Gelfert et al. 2006a), which leads to a severe negative energy balance followed by an increased risk of ketosis and fatty liver.

Another interesting result of our study is the dynamic of the changes of ABB parameters in the second week of TP. On TP-day 11, effects of AS seemed to be smaller than on TP-days 7 and 14. In the study of Tucker et al. (1991b) slight reductions in $[H^+]$ concentrations in the second week of a 3-week feeding experiment could be seen in the charts but were not analysed. In another study, AS were fed for 5 weeks (Gelfert et al. 2006b). The authors also described dynamic changes in ABB in the second week of feeding AS. In dealing with the acid load, the organism generates HCO_3^- from bone (Lunn & McGuirk 1990) which is accompanied by an increased release of calcium (Delaquis & Block 1995; Goff & Horst 1998). In doing so, the organism is able to remove the increased $[H^+]$ concentration. However, this would not explain the renewed reaction of ABB on TP-day 14. Contrary to blood pH, NABE and urinary pH showed the anionic load throughout the whole TP. These inconsistent effects on ABB remain unclear and further investigations are needed. A possible adaptation of the organism to AS would inhibit the prophylactic effect and calcium metabolism would not be activated at parturition. Up

to now, similar effects are not described in the literature. The feeding periods of AS in similar studies were shorter than 14 d (Oetzel et al. 1991; Goff et al. 2004) or samples were taken only at the end of the treatment period (Tucker et al. 1991a).

Parallel to the changes of ABB, calcium metabolism also showed reactions to the feeding of AS. Through the differing results in the five DCAD groups, the present findings indicate an activation rate of calcium metabolism dependent on the level of acidosis. Accordingly, changes in calcium concentrations were lower in DCAD group 1 than in the other groups. In all five groups, no significant changes were seen in serum concentrations of total calcium, which is confirmed by other reports (Takagi & Block, 1991; Tucker et al. 1991a, 1992; Vagnoni & Oetzel, 1998; Leite et al. 2003). Due to the strong, hormonal regulation of calcium metabolism (Martens, 1995; Hartmann & Brand, 2000), the steady state of calcium concentrations in blood is not surprising. Significant changes in total calcium concentrations were only observed in studies on pregnant cows (Block, 1984; Oetzel et al. 1988; Moore et al. 2000). Takagi & Block (1991) obtained similar results in calcium concentrations by simulating a greater calcium loss by an EDTA infusion.

In all five DCAD groups, calcium concentrations in urine increased and differed significantly from day zero. On TP-day 7, concentrations reached their maximum, and following the dynamic of ABB, a slight decrease was visible on TP-day 11. The increase of calcium concentrations in urine is described by others (Freedman et al. 1988; Vagnoni & Oetzel, 1998; Bender et al. 2003; Roche et al. 2003b). Except for DCAD group 1, the calcium concentrations in urine exceeded the recommended threshold value of 5 mmol/l (Bender et al. 2003). It remains questionable what happened in DCAD group 1 in the second week of TP. Calcium concentrations in urine remained elevated although no acidosis was detected in blood and urine in spite of the AS applied. This increased calcium excretion could be a result of the oversupply due to the feeding of 300g lime to fulfill the need for calcium when AS are fed (Byers, 1994; Beening, 1998). This oversupply with calcium increases the rate of passive absorption in the intestine, resulting in an oversupply of calcium in the blood, which is regulated by the kidney (Wang & Beede, 1992; Hartmann & Bandt, 2000). This may mean that in DCAD group 1 no active mobilization of calcium occurred at this time.

Because the cows we used were not pregnant, any statement about a sufficient activation of calcium metabolism to prevent parturient paresis is not possible and was not the purpose of our study. NABE and calcium concentrations in urine met the target ranges (NABE <50mmol/l, Ca >5mmol/l) when AS were fed to dairy cows (Bender et al. 2003). However, the question remains unsolved, whether the increased excretion of calcium was the result of an activated calcium mobilization being strong enough to prevent cows from severe hypocalcaemia in the periparturient period. According to the results of Roche et al. (2003a), the DCAD reached in groups 2–4 was adequate for a sufficient activation of calcium metabolism. However, Moore et al. (2000) stated that adding AS to the cows feed must result in a DCAD below zero to lower the incidence of parturient paresis. The reduction of urine pH to 7.3 was not sufficient according to their results. Takagi & Block (1991) found that an active reabsorption of calcium in the intestine did not occur until DCAD was below zero. Translating the results of Moore et al. (2000) to our study, the changes of urine pH in DCAD groups 2–4 would not be sufficient. It remains unknown whether the changes monitored in our study were the result of an active calcium mobilization. It is possible that an activation of calcium mobilization does not occur when the acidosis is

compensated and no changes of blood pH are visible. Unfortunately, we were not able to monitor any hormones involved in the regulation of the calcium homeostasis. However, the loss of calcium via the kidneys as seen in our study in four of the five DCAD groups would itself activate PTH (Block, 1994). Further studies with pregnant cows are clearly needed.

The changes of ABB and the increase of urinary calcium concentrations did not differ between the different AS, confirming earlier findings (Oetzel et al. 1991; Vangoni & Oetzel, 1998). Others found differences in ABB between chloride and sulphate salts, with chlorides having a stronger impact on ABB than sulphates (Goff et al. 2004). However, these differences were not consistent in all feeding groups. It also occurred that ABB was more strongly affected by sulphate salts. Feeding calcium sulphate in a daily dose of 1500mEq resulted in a stronger decrease of urinary pH ($P < 0.05$) than did the same dose of calcium chloride (Goff et al. 2004). Tucker et al. (1991a) found slightly stronger reactions of ABB when chloride salts were fed, but the differences were not significant. Wang & Beede (1992) compared the impact of NH_4Cl and MgSO_4 on ABB and state that MgSO_4 is less acidogenic because of the weaker reactions of ABB monitored. Vagnoni & Oetzel (1998) tested different AS and were not able to show any significant differences in the relative changes of ABB parameters in blood and urine. The present results show that AS changed ABB significantly although DCAD was positive in four of the five DCAD groups. This confirms the statement of Block (1994) that DCAD 'does not determine the acidogenic or alkalogenic properties of feed but can affect metabolic processes in the animal by the absorption and metabolism of these ions' The purpose of our study was to screen the different AS for their potential to affect ABB under different DCAD. Further investigations should be carried out to look for the potential of AS to prevent parturient paresis in diets with a high DCAD.

Conclusions

The resulting DCAD, after adding AS to the cows' diet, is an important factor for a sufficient effect of AS on ABB. Even a high DCAD ($>200\text{mEq/kg DM}$) does not totally inhibit a reaction of ABB. However, the induced changes are compensated within 1 week, even though the feeding of AS is going on. If DCAD is $<150\text{mEq/kg DM}$, the effects of ABB are stronger and visible on all days of TP. Changes of NABE are reliable indicators for monitoring the use of AS, reflecting the induced metabolic acidosis. Urinary calcium concentrations also increased during the feeding of AS. However, it remains questionable whether this increase was the result of an active calcium mobilization in those cows fed diets including AS and having a positive DCAD. If further studies using pregnant cows confirm our results, new possibilities would arise for using AS in grassland regions, where high potassium concentrations in the feed limit the use of this preventive method. Furthermore, the use of AS in lower concentrations would reduce the risk of severe acidosis with detrimental effects on feed intake and the health of the cows. As seen in the group with the lowest DCAD (-155mEq/kg DM), the reactions of NABE show that the acid load was not fully compensated. Further investigations should be initiated to find out if the different effects of AS on ABB in diets with varying DCAD will successfully prevent severe hypocalcaemia and periparturient paresis, to minimize the risk of negative side effects from using AS in the prevention of periparturient paresis in dairy cows.

References

- Beening S** 1998 [Study on the effects of changes in dietary cation-anion balance (DCAB) in ruminant rations on acid-base status and mineral balance.] Tierärztliche Hochschule Hannover, Thesis
- Bender S, Gelfert CC & Staufenbiel R** 2003 [Use of urine samples for monitoring acid-base-equilibrium in herd health management of dairy cattle herds.] Tierärztliche Praxis **31** 132-142
- Block E** 1984 Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. Journal of Dairy Science **67** 2939-2948
- Block E** 1994 Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally related production diseases, productivity and metabolic responses of dairy cows. Journal of Dairy Science **77** 1437-1450
- Byers DI** 1994 Management considerations for successful use of anionic salts in dry-cow diets. Compendium of Continuing Education **16** 237-240
- Delaquis AM & Block E** 1995 Acid-Base status, renal function, water, and macro mineral metabolism of dry cows fed diets with differing in Cation-Anion Difference. Journal of Dairy Science **78** 604-619
- DLG** 2006 [Tables of feed values for Ruminants of the German Agricultural Society] pp. 12-17. DLG-Verlag Frankfurt, Germany
- Fredeen AH, DePeters EJ & Baldwin RL** 1988 Effects of acid-base disturbances caused by differences in dietary fixed ion balance on kinetics of calcium metabolism in ruminants with high calcium demand. Journal of Animal Science **66** 174-184
- Fürll M, Läkel LJ, Bauerfeld J & Groppel B** 1996 [Prophylaxis of parturient paresis by means of 'anion rations.]. Praktischer Tierarzt Collegium Veterinarium XXVI **77** 31-34
- Fürll M, Schäfer M, Amin M & Kirchbach H** 1994 [The influence of sodiumchloride on the acid-base balance and electrolyte metabolism in healthy cows.] Tierärztliche Umschau **49** 158-169
- Gelfert CC, Klein D, Montag N, Passmann M & Staufenbiel R** 2006a Impact of a constant raise of daily dose of anionic salts on acid-base balance and clinical parameters of dairy cows. Veterinary Quarterly **28** 130-139
- Gelfert CC, Löptien A, Montag N, Baumgartner W & Staufenbiel R** 2006b Influence of a prolonged period of feeding anionic salts on metabolism of dairy cows. Wiener Tierärztliche Monatsschrift **193** 304-310
- Gelfert CC, Zarrath M, Eustermann S & Staufenbiel R** 2004 [Monitoring the use of acidogenic salts in dairy cow herd by analysis of feed and urine.] Praktischer Tierarzt **85** 422-430
- Götze R & Aehnelt E** 1934 [A rumen fistula to correct digestive disorders in cattle.] Deutsche Tierärztliche Wochenschrift **42** 353-357, 374-379
- Goff JP & Horst RL** 1998 Use of hydrochloric acid as a source of anions for prevention of milk fever. Journal of Dairy Science **81** 2874-2880
- Goff JP, Reinhardt TA & Horst RL** 1991 Enzymes and factors controlling vitamin D metabolism and action in normal and milk fever cows. Journal of Dairy Science **74** 4022-4032
- Goff JP, Ruiz R & Horst RL** 2004 Relative acidifying activity of anionic salts commonly used to prevent milk fever. Journal of Dairy Science **87** 1245-1255
- Hartmann H & Bandt C** 2000 [Pathophysiological mechanisms of metabolism of calcium (Ca) and magnesium (Mg), and the importance of renal fractional excretion (FE) for the diagnosis of electrolyte disturbances in cattle.] Tierärztliche Praxis **28** (G) 190-198
- Horst RL, Goff JP & Reinhardt TA** 1994 Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow. Journal of Dairy Science **77** 1936-1951
- Husband JA, Green MJ & Jonsson NN** 2002 The effect of feeding anionic salts on urine pH. Cattle Practice **10** 113-117
- Kamphues J** 1996 [The DCAB concept in prevention of hypocalcemia.] Übersichten zur Tierernährung **24** 129-135
- Kutas F** 1965 Determination of net-acid-base excretion in the urine of cattle. Acta veterinaria. Academiae Scientiarum Hungariae **15** 147-153
- Lachmann G** 1981 [Aetiology, pathogenesis, diagnosis, therapy and prophylaxis of nutritional azidosis in cattle.] Dissertation zur Promotion B, Universität Leipzig.
- Leite LC, Andriquetto JL, de Paula MC & Rocha RMVM** 2003 [Decreasing dietary cation-anion balance in Holstein cows.] Revista Brasileira de Zootecnica. **21** 1259-1265
- Litell RC, Henz PR, Ammermann CB** 1998 Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. Journal of Animal Science. **76** 1216-1231
- Lunn DP & McGuirk SM** 1990 Renal regulation of electrolyte and acid-base balance in ruminants. Veterinary Clinics of North America: Food Animal practice **6** 1-28
- Martens H** 1995 [Concentrations of minerals in the blood plasma of ruminants: can these values be used for assessing mineral supply?] Tierärztliche Umschau. **50** 321-326
- Moore SJ, van de Haar MJ, Sharma BK, Pilbeam TE, Beede DK, Buchholtz HF, Liesman JS, Horst RL & Goff JP** 2000 Effects of altering dietary cation-anion-difference on calcium and energy metabolism in peripartum cows. Journal of Dairy Science **83** 2095-2104
- Oetzel GR** 2002 The dietary cation-anion difference concept in dairy cattle nutrition: possibilities and pitfalls. In: Kaske, M., H. Scholz., M. Höltershinken (ED.): Recent developments and perspectives in bovine medicine. pp 198-208. Hildesheimer Druck- und Verlags-GmbH, Hildesheim, Germany
- Oetzel GR & Barmore JA** 1993 Intake of a concentrate mixture containing various anionic salts fed to pregnant, non lactating dairy cows. Journal of Dairy Science **76** 1617-1623
- Oetzel GR, Fettman MJ, Hamar DW & Olson JD** 1991 Screening of anionic salts for palatability, effect on acid-base-status, and urinary calcium excretion in dairy cows. Journal. of Dairy Science **74** 965-971
- Oetzel GR, Olson JD, Curtis CR & Fettman MJ** 1988 Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. Journal of Dairy Science **71** 3302-3309
- Owens FN, Secrist DS, Hill WJ & Gill DR** 1998 Acidosis in cattle: a review. Journal of Animal Science **76** 275-286
- Roche JR, Dailey D, Moate P, Grainger C, Rath M & O'Mara F** 2003a Dietary Cation-Anion Difference and the health and production of pasture-fed dairy cows. 2. Nonlactating periparturient cows Journal of Dairy Science **86** 979-987
- Roche JR, Dailey D, Moate P, Grainger C, Rath M & O'Mara F** 2003b A low Dietary Cation-Anion Difference precalving and calcium supplementation post calving increase plasma calcium but not milk production in a pasture-based system. Journal of Dairy Science **86** 2658-2666
- Rosow N, Jacobi U, Schäfer M, Lippmann R, Furcht G, Slanina L, Vrzgula L & Ehrentraut W** 1987 [Monitoring metabolism in domestic animals- problems, advices and reference values.] Institut für angewandte Tierhygiene Eberswalde
- Spanghero M** 2004 Prediction of urinary and blood pH in non-lactating dairy cows fed anionic diets. Animal Feed Science and Technology **116** 83-92
- Staufenbiel R** 2000 [Prophylaxis of parturient paresis: part 2.] Veterinärspiegel **1/2000** 58-61

2.5. The impact of dietary cation anion balance (DCAD) on the acid-base balance ...

- Takagi H & Block E** 1991 Effects of reducing dietary cation-anion balance on calcium kinetics in sheep. *Journal of Dairy Science* **74** 4225-4237
- Tucker WB, Hogue JF, Adams GD, Aslam M, Stim IS & Morgan G** 1992 Influence of dietary cation-anion balance during the dry period on the occurrence of parturient paresis in cows fed excess calcium. *Journal of Animal Science* **70** 1238-1250
- Tucker WB, Hogue JF, Waterman DF, Swenson TS, Xin Z, Hemken RW, Jackson JA, Adams GD & Spicer LJ** 1991a Role of sulfur and chloride in the dietary cation-anion balance equation for lactating dairy cattle. *Journal of Animal Science* **69** 1205-1213
- Tucker WB, Xin Z & Hemken RW** 1991b Influence of calcium chloride on systemic acid-base status and calcium metabolism in dairy heifers. *Journal of Dairy Science* **74** 1401-1407
- Vagnoni DB & Oetzel GR** 1998 Effects of dietary cation-anion difference on the acid -base status of dry cows. *Journal of Dairy Science* **81** 1643-1652
- Wang C & Beede DK** 1992 Effects of ammonium chloride or ammonium sulfate on acid-base status and calcium metabolism on dry Jersey cows. *Journal of Dairy Science* **75** 820-828

2.6.

Comparison of the impact of different anionic salts on the acid-base status and calcium metabolism in non-lactating, non-pregnant dairy cows

Gelfert, Carl-Christian, Leonie Loeffler, Sven Frömer, Maike Engel, Klaus Männer,
Rudolf Staufenbiel

Erschienen in

Veterinary Journal, <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.06.013>
Vet. J. 185, 305-309, [Doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.06.013](http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.06.013)

Acknowledgements

The authors gratefully thank Dr. Tichy from the Institute for Medical Physics and Biostatistics, at the Veterinary University of Vienna for statistical advice. Furthermore, we are indebted to Michael Harlan Lyman for proofreading the text.

Abstract

Eleven mature, non-lactating, non-pregnant, Holstein-Friesian crossbred cows were given via a ruminal cannula 2,000 mEq of one of three chloride salts, four sulfate salts, two combinations of anionic salts (AS), sodium chloride (as neutral salt), or water as control. The salts and controls were assigned in an 11 x 11 Latin square and the cows were randomly distributed.

All of the AS induced a metabolic acidosis that resulted in a small reduction of blood pH, base excess, and bicarbonate ($P < 0.001$), and notable changes in urinary pH, net acid base excretion ($P < 0.001$), and urinary calcium excretion ($P < 0.001$). Only calcium chloride had a significantly greater impact on acid-base status (ABS) than the sulfate salts. The effect of other chloride salts did not differ from calcium sulfate. There was no indication that chloride salts in general have a greater impact than sulfate salts on the ABS.

Introduction

Having discovered that diet alkalinity may be significant in the aetiology of milk fever (Ender et al., 1971), Dishington (1975) fed cows in the last week of their pregnancy a diet containing a mixture of different anionic salts (AS). He firstly demonstrated that severe hypocalcaemia, which is still the major cause of parturient paresis (Gelfert et al., 2006a), could be prevented by creating a negative alkali-alkalinity, known now as the dietary cation-anion difference (DCAD). Apart from alkalinity, other factors such as the calcium, magnesium, and phosphorus concentration of the diet (Goff, 2007), the age of the cow, and the level of milk production (Gelfert et al., 2006a) have been subsequently shown also to be important. Goff and Horst (1997) found that the dietary calcium concentration had a lesser influence on the prevalence of milk fever than the alkalinity of the diet. Therefore, the prophylactic use of AS is now widespread for the prevention of hypocalcaemia around the time of calving (Charbonneau et al., 2006; Goff et al., 2004).

There are many commercial products containing one AS (or a mixture of several AS) and a possible reason for treatment failure in some herds might be the impact of the different salts used. Goff et al. (2004) found various anionic salts had different capacities for altering acid-base status (ABS) and proposed a sulfate coefficient to improve the DCAD-formula. Using this coefficient would in turn result in a more positive DCAD if sulfate salts were fed instead of chloride salts. The differences only occurred however if high amounts of AS were fed (Goff et al., 2004). In the same study, sulfate salts showed a stronger impact on ABS than chloride when fed at a lower dose. In other work, different reactions due to the use of different AS could not be shown (Vagnoni and Oetzel, 1998; Oetzel et al., 1991).

The following study was designed to monitor the effects of various AS on the metabolism of cows. A Latin square was used to provide the opportunity to compare the different impacts of time, AS, DCAD, and the animal. DCAD and time both have an impact on the changes induced by AS in that the amplitude of changes increased with decreasing DCAD (Gelfert et al. 2007). An acidosis, however, was induced by feeding anionic salts in any of the DCAD groups. To ensure the complete intake of feed and AS, ruminal fistulae were used so the complete intake of AS was ascertained and subsequently simulated the synchronous intake of food and AS. Dry, non-pregnant cows were

2.6. Comparison of the impact of different anionic salts on the acid-base status ...

employed on the assumption that their response to AS would only differ from that of pregnant cows in quantitative, but not qualitative, terms (Yamagishi et al., 2006).

Table 1: Concentrations of potassium, sodium, chloride and sulfate and calculated dietary cation-anion difference (DCAD) of the total diet with anionic salts (AS) and without (Control, NaCl, Wash-out-period) in the 11 treatment periods. Analysis of hay and concentrates used wet chemistry methods¹.

Treatment period	Amount of minerals in total diet				DCAD (mEq/kg DM)	
	Potassium	Sodium	Chloride	Sulfate	Control/NaCl	Including anionic salts
	g/kg DM					
1	15,29	1,06	3,26	0,72	+301	+86
2	20,58	0,89	2,62	0,60	+455	+242
3	15,05	0,89	3,71	0,79	+270	+59
4	24,0	0,98	5,11	1,06	+448	+236
5	18,01	1,06	6,90	0,88	+259	+50
6	12,90	1,60	10,33	0,90	+54	-155
7	12,90	1,60	10,33	0,90	+54	-155
8	17,84	1,12	5,91	0,94	+281	+72
9	20,72	0,95	5,76	0,80	+360	+139
10	20,72	0,95	5,76	0,80	+360	+139
11	14,17	1,60	7,19	0,95	+172	-42
Mean	17,47	1,16	5,99	0,85	+274	+61

¹Analytical Labor for Agriculture and Environment, Parchim, Germany

Materials and methods

Animals, feeding, and management

Eleven mature, non-lactating, non-pregnant, Holstein-Friesian crossbred cows, 5-10 years old, were used. Housing and feeding as described previously (Gelfert et al., 2007). The composition of the diet (hay, concentrate, lime) met or exceeded the requirements for non-pregnant and non-lactating dairy cows (DLG, 2006). Lime (calcium oxide) was added to guarantee an intake of 120-150 g calcium per day according to the recommendations made for cows fed AS (Wilde, 2006). To monitor DCAD, an analysis of the hay was performed by an external laboratory (Analytical Labour for Agriculture and Environment) using wet chemistry methods and DCAD calculated using the formula $(K^+ + Na^+) - (Cl^- + SO_4^{2-})$ (Lean et al., 2006). Throughout the 11 month study, the DCAD varied as different hay was used (Table 1). These changes in the hay did not occur within any treatment period (TP) and a single DCAD-value is available for each TP.

Treatment design and selected anionic salts

The cows were assigned to 1/11 different applications of salts as described previously (Gelfert et al., 2007). Three chloride salts, four sulfate salts, and two combinations of one chloride- and one sulfate salt were used (Table 2). Water and sodium chloride served as the control and neutral salt, respectively. By using a Latin-square model it was possible to randomise the distribution and sequence of the AS tested in order to avoid any effects on the parameters due to the sequence of the AS or cows. AS were fed daily over a 14 day TP. The amount of AS administered was 2,000 mEq/day. One half of the dose was administered at each feeding times, as described previously (Gelfert et al., 2007).

2.6. Comparison of the impact of different anionic salts on the acid-base status ...

Table 2: Amount (g) of the different anionic salts required to provide a daily dose of 2000 mEq.

Group	Salt	Amount (g/day) ^a
control	two-fold ionised water	-
Sodium chloride	NaCl	117
Chloride salt	CaCl ₂ ·2H ₂ O	147
	MgCl ₂ ·6H ₂ O	204
	NH ₄ Cl	107
Sulfate salt	MgSO ₄ ·7H ₂ O	246
	CaSO ₄ ·2H ₂ O	172
	CaSO ₄ D10 ^b	172
	(NH ₄) ₂ SO ₄	132
Combinations	CaCl ₂ ·2H ₂ O + MgSO ₄ ·7H ₂ O ^c	196.5
	NH ₄ Cl + CaSO ₄ ·2H ₂ O ^c	139.5

^a: amount corresponds with 2000 mEq, ^b: natural calcium sulfate with grain size = 10 µm

^c: equal equivalents of both AS

Sampling and analysis of blood and urine

At each TP, whole blood, serum, and urine samples were taken according the protocol described by Gelfert et al. (2007). Heparinised whole blood was analysed for base excess (BE) bicarbonate concentration [HCO₃⁻] and pH (ABL5, Radiometer) within 30 min of sampling. Urine samples were analysed within 30 min of sampling for pH (InoLab pH Level 1, WTW). The net acid base excretion (NABE) and ammonium concentrations (NH₄⁺) were measured via titration (Bender et al., 2003). Ionised calcium [Ca²⁺] concentrations were measured using an ionsensitive electrode (Electrolyte analyzer, NOVA Biomedical). Urine was diluted 1:40 for calcium analysis and concentrations determined using atomic absorption spectrophotometry (PU 9200 atomic absorption spectrophotometry, Philips).

Statistical analysis

All statistical analyses were performed using SPSS 14.0. The 11 x 11 Latin square meant that the means of the four measurements during each TP were chosen as a dependent variable. Two-way ANOVA was used to test for any significant differences due to an individual cow or AS. The DCAD served as a covariate, because it changed between the TP. A least significant difference (LSD) test served as a post-hoc test when a significant difference was detected due to AS. The model was:

$$Y_{ijk} = \mu + AS_i + cow_k + \sum_{ik}$$

where μ is the mean intercept, AS_i the effect due to AS_i , cow_k the effect due to cow k , and \sum is the error associated with each Y_{ik} . Significance was accepted at $P < 0.05$, using the F-test of significance.

Animal care and use

All of the procedures employed on the study cows were strictly according to the legal regulations and were approved by the Regional Authorities for employment protection, health protection, and technical security, Berlin-Germany (allowance number G 0134/01).

Results

Acid-base status (ABS) in blood

The mix model ANOVA showed that AS ($P<0.001$) and cow ($P<0.001$) significantly influenced ABS (Table 3). The individual cow effects had an impact on nearly all measures similar to that of the AS. Feeding AS caused a slight decline in blood pH ($P<0.001$), $[\text{HCO}_3^-]$ ($P<0.001$), and BE ($P<0.001$) (Table 3) to just below physiological ranges, which differed from the control cows ($P<0.05$) throughout the whole TP except in cows receiving MgSO_4 where mean BE was still positive and the decrease of $[\text{HCO}_3^-]$ was the smallest of all AS. Comparing the changes in the ABS-parameters between the cows receiving any AS and those receiving the neutral salt (NaCl) showed that only the changes induced by CaCl_2 , MgCl_2 , and CaSO_4 D10 differed significantly ($P<0.05$) from those in the NaCl-cows (Table 6). The influence of all other AS tested was not significantly stronger than that of NaCl. Within the AS, no differences in the changes of ABS were detectable ($P>0.05$) between CaCl_2 and the other chloride salts, both salt combinations, and CaSO_4 D10. No differences were detectable between the sulfate salts and MgCl_2 or NH_4Cl (Table 6) or between the sulfate salts ($P>0.05$).

ABS in urine

In urine, the changes in ABS induced by the different AS were more pronounced than in blood (Table 5). NABE decreased and $[\text{NH}_4^+]$ -concentrations increased ($P<0.05$) during the TP compared to control cows. As seen in blood, the changes induced by CaCl_2 were the strongest and differed from all of the sulfate salts, as well as the salt combination $\text{CaCl}_2/\text{MgSO}_4$, and MgCl_2 ($P<0.05$). More than MgCl_2 , CaCl_2 induced a significantly stronger decrease in NABE and a stronger increase in $[\text{NH}_4^+]$. The weakest reactions were seen in the MgSO_4 -cows, which differed significantly from the NH_4Cl -cows and MgCl_2 -cows and from the salt combination $\text{CaSO}_4/\text{NH}_4\text{Cl}$. Neither MgCl_2 nor NH_4Cl induced a significantly stronger reaction of urinary ABS than CaSO_4 , CaSO_4 D10, or $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Table 6).

Calcium metabolism

The concentration of $[\text{Ca}^{2+}]$ ($P=0.554$) showed no differences due to the different AS (Table 5). Urinary $[\text{Ca}^{2+}]$ increased sharply to between 8.6-14.3 mmol/L (Fig. 1) when AS were given, and differed from those in the control ($P<0.001$) and NaCl-cows ($P<0.05$). MgSO_4 -cows were the sole exception, as $[\text{Ca}^{2+}]$ did not differ from those in the NaCl-cows ($P>0.05$). Within the AS, CaCl_2 induced the strongest increase of calcium excretion, which differed from MgCl_2 , CaSO_4 , MgSO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, and the salt combination $\text{CaSO}_4/\text{NH}_4\text{Cl}$ ($P<0.05$). No differences in urinary $[\text{Ca}^{2+}]$ were detectable ($P>0.05$) between the other salts. Thus CaCl_2 showed the strongest impact on the ABS and urinary calcium concentration and MgSO_4 showed the weakest impact. CaCl_2 induced greater changes of ABS than most of the sulfate salts, whereas the other chloride salts failed to show a significantly different effect on ABS than the sulfate salts. The changes of ABS induced by MgSO_4 did not differ from the ABS in the control-cows.

Discussion

The aim of the present study was to compare the impact on ABS and calcium metabolism of different AS that are routinely used in the prevention of parturient paresis in dairy cows. The controlled feeding

Table 3: Mean values and SEM of acid-base status (ABS) and calcium concentrations in blood and urine during treatment period of cows fed different anionic salts, NaCl or water during treatment period ($n=11$). NABE, net acid base excretion.

salt	pH (blood)	HCO ₃ ⁻ mmol/L	Base excess mmol/L	pH (urine)	NABE mmol/L	NH ₄ ⁺ mmol/L	[Ca ²⁺] mmol/L	Calcium (urine) mmol/L
H ₂ O	7.38	26.05	+1.5	7.99	97	9	0.98	4.2
NaCl	7.37	25.16	+0.6	7.56	61	17	0.99	4.9
CaCl ₂	7.34	23.00	-2.0	6.47	-31	48	1.06	14.3
MgCl ₂	7.35	23.43	-1.2	6.87	15	28	1.00	9.8
NH ₄ Cl	7.35	24.05	-0.8	6.78	-12	40	1.02	10.5
CaSO ₄	7.36	24.52	-0.5	7.03	16	23	1.01	9.3
CaSO ₄ D10	7.35	23.59	-0.2	7.13	16	31	1.02	11.0
MgSO ₄	7.37	24.84	+0.2	7.41	46	19	1.01	8.6
(NH ₄) ₂ SO ₄	7.36	24.59	-0.1	7.22	19	39	1.01	9.5
CaCl ₂ + MgSO ₄	7.36	22.11	-0.5	7.17	23	48	1.01	10.4
CaSO ₄ + MgCl ₂	7.35	23.84	-0.9	7.08	-2	40	1.03	9.9
SEM	0.06	0.51	0.5	0.18	14	7.3	0.02	1.5
P-value ^a	0.005	0.003	0.001	<0.001	<0.001	0.004	0.554	0.001

^a Mean of AS differed significantly from water according to ANOVA

Table 4: Significant differences ($P < 0.05$) of blood (rows) and urine (columns) parameters of acid-base status and of mineral concentrations between each anionic salt (AS), sodium chloride and water in cows during the treatment period

salt	H ₂ O	NaCl	CaCl ₂	MgCl ₂	NH ₄ Cl	CaSO ₄	CaSO ₄	MgSO ₄	(NH ₄) ₂ SO ₄	CaCl ₂ + MgSO ₄	NH ₄ Cl + CaSO ₄
H ₂ O			pH, BE ^a HCO ₃ ^{-b}	pH, BE HCO ₃ ⁻	pH, BE HCO ₃ ⁻	pH, BE HCO ₃ ⁻	D10 pH, BE HCO ₃ ⁻ BE, HCO ₃ ⁻		pH, BE HCO ₃ ⁻	MgSO ₄ pH, BE HCO ₃ ⁻	NH ₄ Cl + CaSO ₄ pH, BE HCO ₃ ⁻
NaCl			pH, BE HCO ₃ ⁻	pH, BE HCO ₃ ⁻							
CaCl ₂	pH, NABE ^c , NH ₄ ⁺ , Ca	pH, NABE, NH ₄ ⁺ , Ca				pH, BE HCO ₃ ⁻		pH, BE HCO ₃ ⁻			
MgCl ₂	pH, NABE, NH ₄ ⁺ , Ca	pH, NABE, Ca	NABE, NH ₄ ⁺ , Ca								
NH ₄ Cl	pH, NABE, NH ₄ ⁺ , Ca	pH, NABE, NH ₄ ⁺ , Ca									
CaSO ₄	pH, NABE, Ca	pH, NABE, Ca	pH, NABE, NH ₄ ⁺ , Ca								
CaSO ₄ D10	pH, NABE, NH ₄ ⁺ , Ca	NABE, Ca	pH, NABE								
MgSO ₄	pH, NABE, Ca	NABE, Ca	pH, NABE, NH ₄ ⁺ , Ca	pH	pH, NABE, NH ₄ ⁺						
(NH ₄) ₂ SO ₄	pH, NABE, NH ₄ ⁺ , Ca	NABE, NH ₄ ⁺ , Ca	pH, NABE, Ca								
CaCl ₂ + MgSO ₄	pH, NABE	NABE, Ca	pH, NABE, NH ₄ ⁺								
CaSO ₄ + NH ₄ Cl	pH, NABE, NH ₄ ⁺ , Ca	NABE, NH ₄ ⁺ , Ca	pH, Ca					NABE, NH ₄ ⁺			NH ₄ ⁺

^a BE, base excess (mmol/L); ^b [HCO₃], bicarbonate concentration (mmol/L); ^c NABE, net acid base excretion (mmol/L); ^d NH₄⁺, urinary ammonium concentration (mmol/L).

regime guaranteed the complete intake of a daily dose of 2,000 mEq/cow and excluded any side effects due to incomplete consumption of AS, as in other studies (Goff et al., 2004; Oetzel and Barmore, 1993). As shown by Roche et al. (2007) feeding AS via a ruminal cannula guarantees an AS effect lasting the whole day without any significant variation.

There is still debate about the different effects of various AS with some authors finding significant differences (Goff et al., 2004) and others not (Vagnoni and Oetzel, 1998). Furthermore, the physiological mechanisms by which AS have their effect are still unclear, especially those of sulfate. Goff (2007) stated that sulfate may prevent milk fever without inducing a metabolic acidosis and refers to a study by Roche et al. (2002) who drenched cows ante partum with either magnesium chloride or magnesium sulfate. In maintaining post partum plasma calcium levels at normal levels, magnesium chloride was slightly less effective than magnesium sulfate. However, precalving urinary pH was slightly lower in the cows fed magnesium chloride, indicating a stronger acidifying effect. The urinary pH, however, was just slightly below normal ranges, indicating that the acidosis induced was fully compensated.

Gelfert et al. (2007) showed that the changes in ABS induced by AS are smaller when DCAD is still positive. The acidosis that was induced, however, was clearly apparent through changes in BE, $[\text{HCO}_3^-]$ and NABE (which all decreased significantly when AS were given) and DCAD values of 139 mEq/kg DM, similar to those of Roche et al. (2002). The high DCAD in all these diets (Gelfert et al. 2007; Roche et al. 2002) inhibited greater changes in ABS and allowed the animal to eliminate the surplus of anions easily without visible changes to pH in blood or urine.

Recent studies showed that chloride salts had a stronger impact on ABS than sulfate salts (Gelfert et al. 2008; Goff et al., 2004). Goff et al. (2004) found that these differences occurred when feeding 2,250 mEq AS, similar to the dose we used (2000mEq). With the exception of MgSO_4 , all other AS had a significant impact on ABS compared to the control cows, resulting in small but significant changes in blood pH, BE, and HCO_3^- and notable changes in urinary pH, NABE, and NH_4^+ .

The reactions induced by CaCl_2 were stronger than those induced by most of the sulfate salts and the salt combination $\text{MgSO}_4/\text{CaCl}_2$ (Figs. 2 and 3). MgCl_2 and NH_4Cl resulted in significantly lower urinary pH and NABE than MgSO_4 , but ABS in blood did not differ significantly, contrary to the findings of Goff et al. (2004) and Roche et al. (2002) but confirming those of Wang and Beede (1992). Oetzel et al. (1991) tested six anionic salts in a model that was similar to ours and found NH_4Cl produced the greatest changes in ABS in the blood and urine, which is unlike our results and those of Goff et al. (2004).

It is apparent from our study that there are differences in the impact of different AS but a clear separation of AS according to the anion seems impossible. According the results of the two-way ANOVA, it can be concluded that CaCl_2 has the greatest power to influence ABS in blood and urine. The other chloride salts have a similar effect to all sulfate salts with the exception of MgSO_4 , which induced the smallest changes in ABS that did not differ from those seen in the controls. It is unclear why MgSO_4 had a slightly weaker effect than other sulfate salts but sulfate is degraded in the rumen to sulfide and a certain amount is used by the microbes for protein synthesis (Kandyliis and Bray, 1987); this would explain the lesser effect of sulfate salts compared to CaCl_2 but does not explain the difference between CaSO_4 and MgSO_4 . Oetzel et al. (1991) assumed that any interaction between

calcium and sulfate might contribute to the differences observed in their study. Ramberg et al. (1996) assumed that the laxative effect of MgSO_4 might lead to a reduced absorption of the anions. Further research is needed to examine the metabolism of the different sulphate salts used as AS.

The calcium concentration of the diet was very high due to the recommendation that the use of AS should be combined with a high calcium concentration (Wilde 2006). There are several studies looking for the effects of the dietary calcium concentration which have been recently reviewed (Gelfert and Staufenbiel, 2008). From these studies, it can be concluded that the calcium concentration does not influence the changes in ABS induced by feeding AS. Therefore, it can be concluded that the observed changes in ABS would also occur if normal amounts of calcium had been fed. The calcium concentration also does not affect calcium excretion by the kidneys (Gelfert and Staufenbiel, 2008).

No significant changes occurred in the concentrations of $[\text{Ca}^{2+}]$, which confirms the results of other studies (Vagnoni and Oetzel, 1998; Oetzel et al., 1991; Tucker et al., 1991). This is not surprising, for the strong, hormonally controlled regulation of calcium metabolism (Hartmann and Brand, 2000) promptly corrects any $[\text{Ca}^{2+}]$ changes in blood. Contrary to the findings in blood, urinary $[\text{Ca}^{2+}]$ differed significantly in cows fed AS. During the whole TP, $[\text{Ca}^{2+}]$ in urine were elevated as has been described in other studies (Gelfert et al., 2006b, 2007). CaCl_2 -cows had significantly higher urinary $[\text{Ca}^{2+}]$ than cows receiving any sulfate salt or MgCl_2 . We also measured the creatinine concentrations of serum and urine and calculated the fractional clearance (data not shown) but this did not provide statistical results other than the absolute values measured.

At day 14 of each TP, whole urine was sampled and the volume measured. CaCl_2 -cows produced significantly more urine than the control cows; however, the volumes did not differ from cows receiving other AS and it was concluded that CaCl_2 -cows excreted more calcium via the kidneys because of the stronger acidifying effect of CaCl_2 compared to the other AS tested.

Our results show that with the exception of MgSO_4 , all other AS tested changed ABS significantly and activated calcium metabolism. CaCl_2 had the greatest potential to change ABS, and MgSO_4 caused the weakest reactions similar to NaCl . As CaCl_2 and MgSO_4 are mainly used in studies looking at the effectiveness of AS (Goff et al., 2004; Oetzel et al., 1991), the differences found between the AS (Goff et al., 2004) may be attributed to the fact that the two salts with the greatest and smallest impacts were used. These AS represent the two endpoints on a scale of anionic salt efficacy. CaSO_4 has a similar potential as CaCl_2 , but because CaSO_4 has a neutral taste, its use does not risk reduced feed intake when mixed with other feed components. In future studies, the possible role of the accompanying cation in AS should be investigated.

Conclusions

CaCl_2 has the greatest impact on ABS in blood and urine and MgSO_4 has the weakest impact. When using AS for the prevention of hypocalcaemia, the salts with the greatest effect are preferred. After minimising the concentration of potassium as much as possible, CaCl_2 is the first choice because of its strong acidifying effects. The maximum concentration of chloride (8 g/kg DM) in the diet must be met. CaSO_4 is the second choice because it has the smallest side effects on feed intake and can be added up to the maximum permissible quantities of sulfate (4 g/kg DM). In this way AS should provide a safe and effective method for preventing hypocalcaemia in the periparturient dairy cow.

References

- Bender, S., Gelfert, C.-C., Staufenbiel, R., 2003. Einsatz der Harnuntersuchung zur Beurteilung des Säure-Basen-Haushaltes in der Bestandsbetreuung von Milchviehherden. *Tierärztliche Praxis* 31, 132-142.
- Charbonneau, E., Pellerin, D., Oetzel, G.R., 2006. Impact of lowering dietary cation-anion difference in nonlactating dairy cows: a meta-analysis. *Journal of Dairy Science* 89, 537-548.
- DLG (Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft) 2006. DLG Futterwerttabellen Wiederkäuer. Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft. 8th rev. Ed. DLG-Verlag, Frankfurt, Germany.
- Dishington, I.W., 1975. Prevention of milk fever (hypocalcemic paresis puerperalis) by dietary salt supplements. *Acta Veterinaria Scandinavica* 16, 503-512.
- Ender, F., Dishington, I.W., Helge-Bostad, A., 1971. Calcium balance studies in dairy cows under experimental induction and prevention of hypo-calcaemic paresis puerperalis. The solution of the aetiology and the prevention of milk fever by dietary means. *Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde* 28, 233-256.
- Gelfert, C.-C., Lesch, S., Alpers, I., Decker, M., Hüting, A., Baumgartner, W., Staufenbiel, R., 2006a. Untersuchungen zum Auftreten der Gebärpause in verschiedenen Regionen Deutschlands und zum Einsatz unterschiedlicher Therapien im Vergleich zur Kalziuminfusion. 2. Differentialdiagnosen und Heilungserfolg. *Tierärztliche Praxis* 34 (G), 357-367.
- Gelfert, C.-C., Löffler, S.L., Frömer, S., Engel, M., Hartmann, H., Männer, K., Baumgartner, W., Staufenbiel, R., 2007. The impact of dietary cation anion balance (DCAD) on the acid-base balance and calcium metabolism of dairy cows fed equal amounts of different anionic salts. *Journal of Dairy Research* 74, 311-322.
- Gelfert, C.-C., Löptien, A., Montag, N., Staufenbiel, R. 2009. Duration of the effects of anionic salts on the acid base status in cows fed different anionic salts only once daily. *Research of Veterinary Science*, 86, 529-532.
- Gelfert, C.-C., Passfeld, M., Löptien, A., Montag, N., Baumgartner, W., Staufenbiel, R., 2006b. Experimental studies on the impact of an increased dose of anionic salts on the metabolism of dairy cows. *Veterinary Quarterly* 28, 130-139.
- Gelfert, C.-C., Staufenbiel R., 2008. The role of dietary calcium in the use of anionic salts to prevent parturient paresis in dairy cows. *Berliner und Münchner Tierärztliche Wochenschrift* 121, 256-262.
- Goff, J.P. 2007. The etiology and prevention of milk fever and subclinical hypocalcaemia. *Proceedings of 13th International Conference Production diseases in farm animals*. Leipzig, 29.07.-04.08.2007, pp247-258
- Goff, J.P., Horst, R.L., (1997). Effects of the addition of potassium or sodium but not calcium to prepartum rations on milk fever in dairy cows *Journal of Dairy Science* 80, 176-186.
- Goff, J.P., Ruiz, R., Horst R.L., 2004. Relative acidifying activity of anionic salts commonly used to prevent milk fever. *Journal of Dairy Science* 87, 1245-1255.
- Hartmann, H., Bandt, C., 2000. Pathophysiologische Mechanismen der Kalzium- und Magnesiumhomöostase sowie Bedeutung der renalen Exkretion für die Diagnostik von Elektrolytimbalancen beim Rind. *Tierärztliche Praxis* 28 (G), 190-198.
- Kandyliis, K., Bray, A.C., 1987. Effects of variation of dietary sulfur on movement of sulphur in sheep rumen. *Journal of Dairy Science* 70, 40-49.
- Lean, I.J., DeGaris, P.J., McNeil, D.M., Block E., 2006. Hypocalcemia in dairy cows: Meta-analysis and dietary cation anion difference theory revisited. *Journal of Dairy Science* 89, 669-684.
- Oetzel, G.R., Barmore, J.A., 1993. Intake of a concentrate mixture containing various anionic salts fed to pregnant, non lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 76, 1617-1623.
- Oetzel, G. R., Fettman, M. J., Hamar, D.W., Olson, J.D. 1991. Screening of anionic salts for palatability, effect on acid-base-status, and urinary calcium excretion in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 74, 965-971.
- Ramberg, C.F., Ferguson, J.D., Galligan, D.T. 1996. *Metabolic Basis of the Cation Anion Difference Concept*. cahpwww.vet.upenn.edu/pc96/cationanion.html
- Roche, J.R., Morton, J., Kolver, E.S., 2002. Sulfur and chloride play a non-acid-base role in periparturient calcium homeostasis. *Journal of Dairy Science* 85, 3444-3453.
- Roche, J.R., Dalley, J.D., O'Mara, F.P., 2007. Effect of a metabolically created systemic acidosis on calcium homeostasis and the diurnal variation in urine pH in the non-lactating dairy cow. *Journal of Dairy Research* 74, 34-39.
- Tucker, W.B., Hogue, J.F., Waterman, D.F., Swenson, T.S., Xin, Y., Hemken, R.W. Jackson, J.A., Adams, G.D., Spicer, L.J., 1991. Role of sulfur and chloride in the dietary cation-anion balance equation for lactating dairy cattle. *Journal of Animal Science* 69, 1205-1213.
- Vagnoni, D.B., Oetzel, G.R., 1998. Effects of dietary cation-anion difference on the acid -base status of dry cows. *Journal of Dairy Science* 81, 1643-1652.
- Wang, C., Beede, D.K., 1992. Effects of ammonium chloride or ammonium sulfate on acid-base status and calcium metabolism on dry Jersey cows. *Journal of Dairy Science* 75, 820-828.
- Wilde D., 2006. Influence of macro and micro minerals in the peri-parturient period on fertility in dairy cattle. *Animal Reproduction Science* 96, 240-249.
- Yamagishi, N., Miyazaki, M. Naito, Y. 2006. The expression of genes for transepithelial proteins in the bovine duodenum. *The Veterinary Journal* 171, 363-366.

Fig. 1: Mean urinary calcium concentrations in cows fed different anionic salts, water or sodium chloride ($n=11$). Using an 11 x 11 Latin square, cows received CaCl_2 , CaSO_4 , CaSO_4 D10, MgCl_2 , MgSO_4 , NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, CaCl_2 and MgSO_4 , CaSO_4 and NH_4Cl , NaCl or water. Urinary calcium concentration was measured at day zero before the first application of AS, at days 4, 7, 11 and 14 of the treatment period and at day 4 of the washout period. *— H_2O , □— NaCl , ■— CaCl_2 , ◆— CaSO_4 , ■— CaSO_4 D10, ●— MgCl_2 , ●— MgSO_4 , ▲— NH_4Cl , ▲— $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, ■— CaCl_2 and MgSO_4 , ▲— CaSO_4 and NH_4Cl ; TP, treatment period; W, washout period.

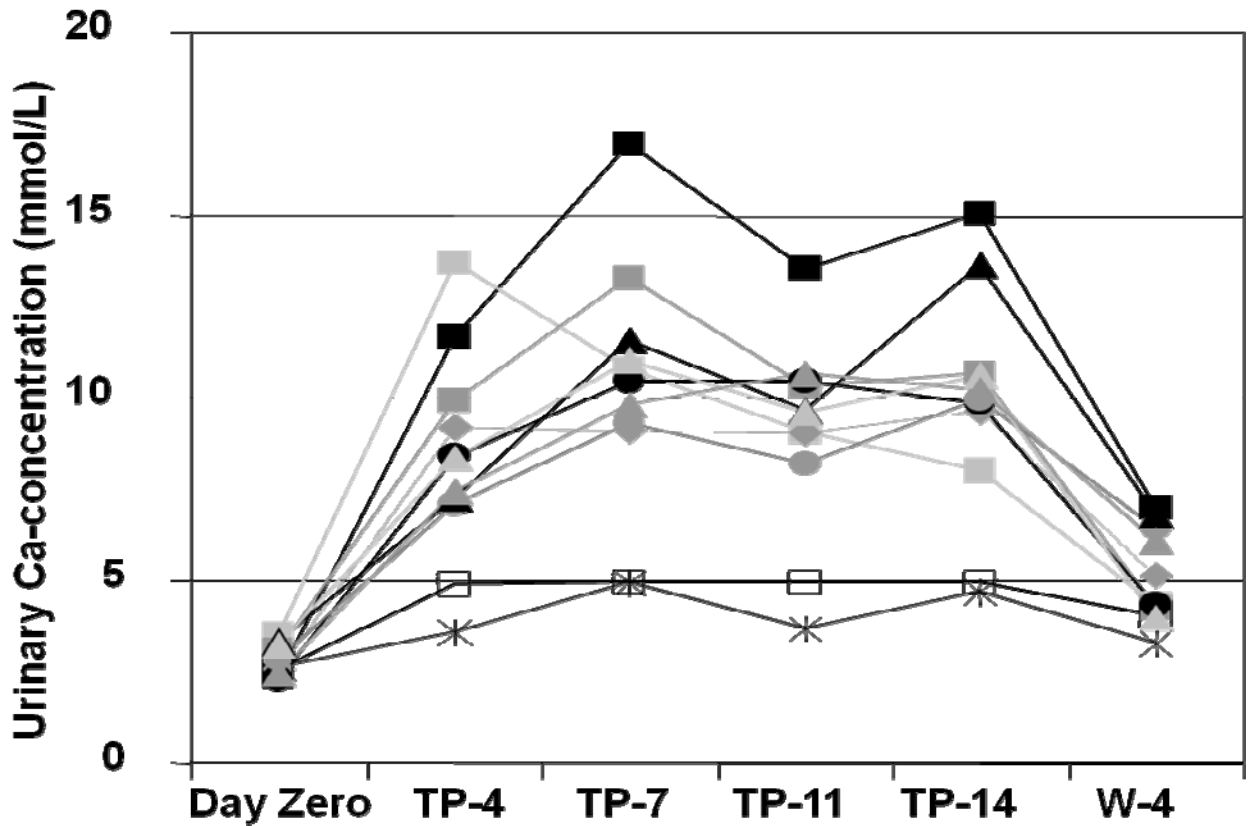


Fig. 2: Mean $[HCO_3^-]$ in cows fed different anionic salts, water or sodium chloride ($n=11$). Legend see Figure 1.

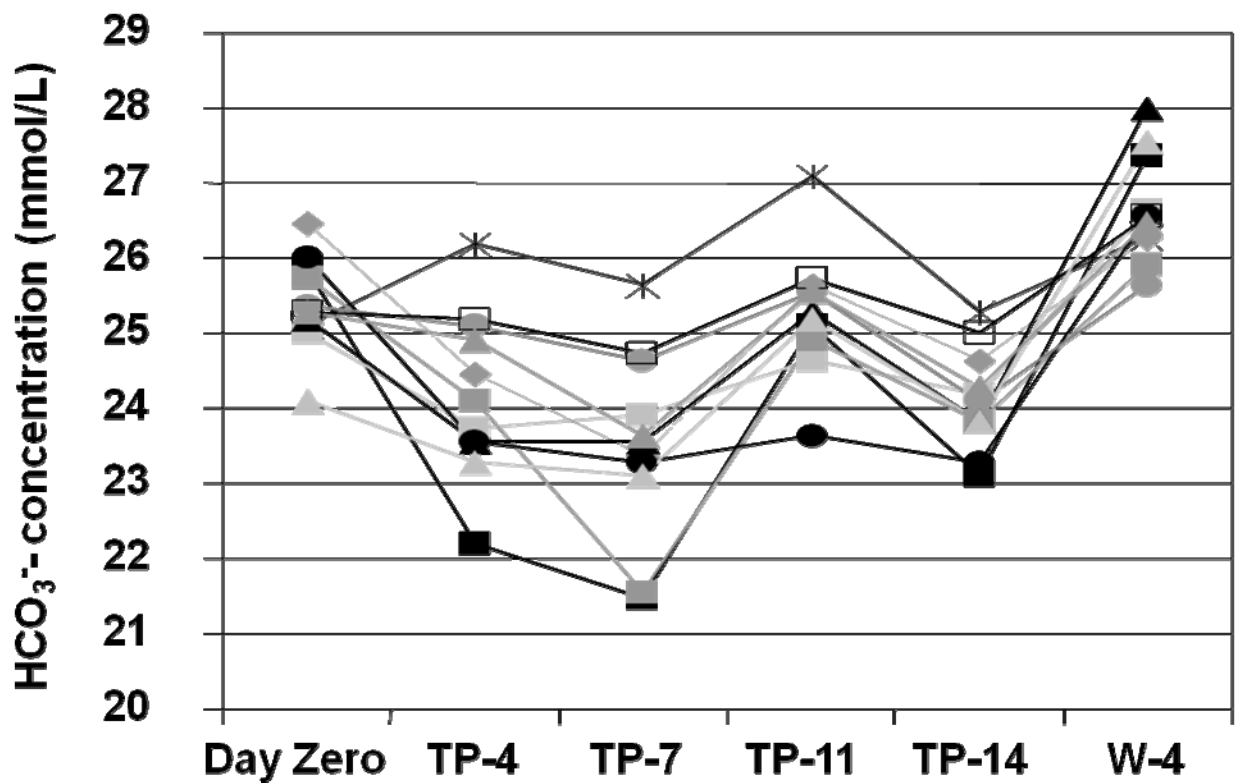
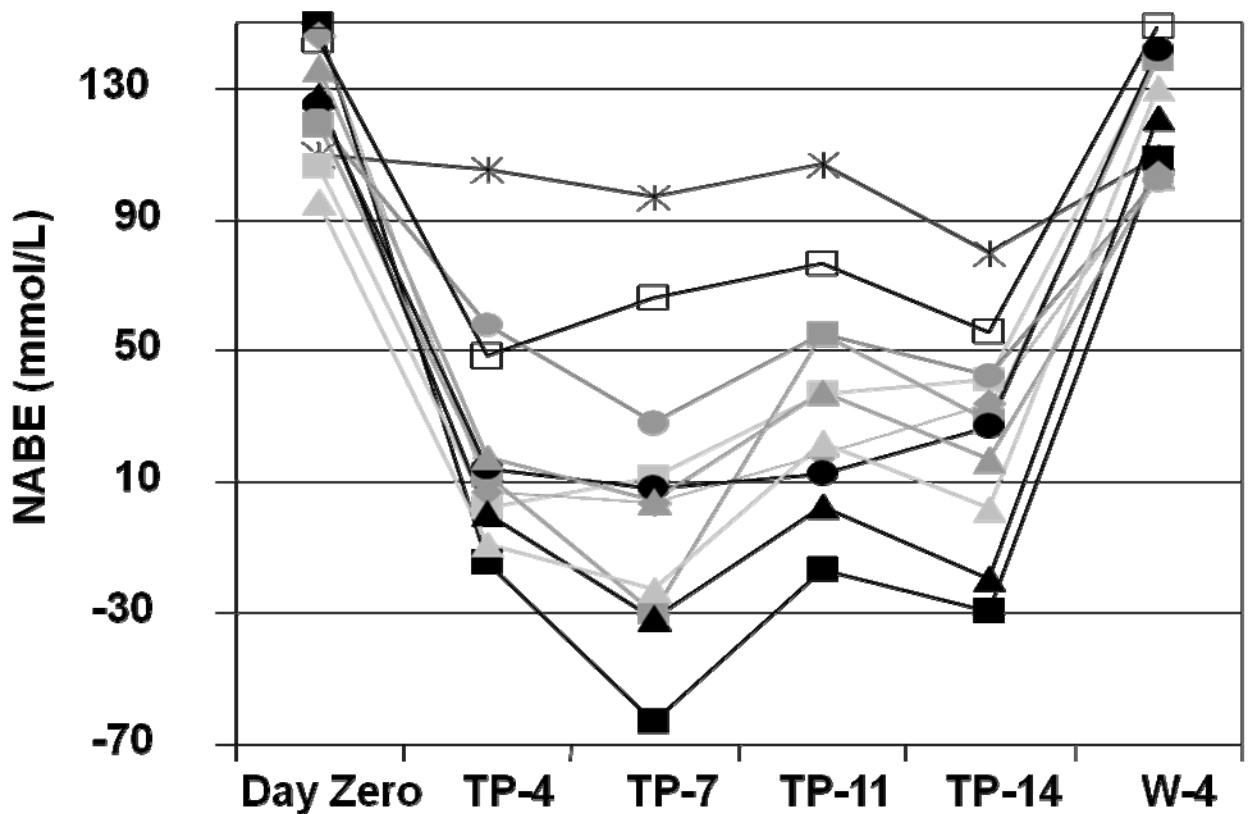


Fig. 3: Mean Net acid base excretion (NABE) in cows fed different anionic salts, water or sodium chloride ($n=11$). Legend see Figure 1.



2.7.

The effect of various anionic salts on ruminal pH and short-chain fatty acids in
non-pregnant and non-lactating cows

Gelfert, Carl-Christian, Meike Engel, Klaus Männer und Rudolf Staufenbiel

Erschienen in

New Zealand Veterinary Journal 57, 225-228 (2009)

Doi: 10.1080/00480169.2009.36906, <http://www.vetjournal.org.nz>

Abstract

AIMS: To evaluate whether the different anionic salts used in the prevention of parturient paresis have an impact on the ruminal pH and the production of short-chain fatty acids in mature non-pregnant, non-lactating cows.

METHODS: Eleven Holstein-Friesian-crossbreed cows were administered 2,000 mEq of either one of three chloride salts (CaCl_2 , MgCl_2 , or NH_4Cl), four sulphate salts (CaSO_4 , CaSO_4 D10, MgSO_4 , or $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), two combinations of anionic salts ($\text{CaCl}_2+\text{MgSO}_4$, $\text{CaSO}_4+\text{NH}_4\text{Cl}$), NaCl , or water, via a ruminal cannula. The salts and controls were assigned in an 11 x 11 Latin square, and the cows were randomly distributed. Ruminal fluid was collected four times in each treatment period for monitoring the ruminal pH, and four times a day at aDays 7 and 14 for monitoring any changes in the concentrations of short-chain fatty acids (SCFA).

RESULTS: Feeding anionic salts did not change the ruminal pH, total concentration of SCFA, or distribution pattern of the main SCFA acetic acid, propionic acid, butyric acid, or valeric acid ($p>0.05$).

CONCLUSIONS AND CLINICAL RELEVANCE: Feeding anionic salts has no negative side effect on the ruminal pH and the concentrations of SCFA in mature non-pregnant, non-lactating cattle. Impaired function of the rumen due to the feeding of anionic salts is not likely.

KEY WORDS: Cow, anionic salts, calcium, rumen, rumen fermentation, short-chain fatty acids

ABBREVIATIONS: DCAD: dietary cation-anion difference SCFA: short chain fatty acids

Introduction

Parturient paresis of dairy cows is characterised by a deficiency in ability to maintain Ca homeostasis and is the main reason for recumbency in the peripartum period (Gelfert *et al.* 2006b). Feeding anionic salts to pregnant cows, according to the dietary cation-anion difference (DCAD) concept, is one of the established methods for activating Ca metabolism by inducing a slight metabolic acidosis (Gelfert *et al.* 2007). The impact of anionic salts on the acid-base status and Ca metabolism has been extensively investigated, and the reliability of this method was thereby demonstrated (Block 1984; Oetzel *et al.* 1988; Moore *et al.* 2000). Less information, however, is available for describing the events in the rumen when a single anionic salt is fed. In a former study, an acidic diet was created by adding HCl (Fredeen *et al.* 1988). Those authors reported a significant decrease in ruminal pH when HCl was fed, but the concentrations of SCFA were unaffected. Tucker *et al.* (1988) compared a diet including a rumen buffer (NaHCO_3 or KHCO_3), or one containing CaCl_2 with a control diet. The changes in ruminal pH induced by the rumen buffer were significantly more pronounced than those effected by CaCl_2 , but it did not differ from the ruminal pH of the control cows. Vagnoni and Oetzel (1998) and Müller-Özkan (2002) used different mixtures of anionic salts instead of a single anionic salt. Oetzel *et al.* (1991) evaluated the effects of the different anionic salt on systemic acid-base balance; however, they did not look for any changes in the rumen. As CaCl_2 has a stronger impact on the acid-base equilibrium in blood and urine than other anionic salts (Goff *et al.* 2004) this anionic salt might also induce a more pronounced acidosis in the rumen than other anionic salts. Thus, the objective of the present study was to evaluate the effects of single and combined salts on the acid-base status of ruminal fluid, lowering the DCAD concept. In particular, we focus on results of the impact of the salts on the ruminal pH and concentrations of SCFA.

Table 1. Chemical composition of the concentrate (g/kg dry matter unless stated otherwise)

DM	881
Crude ash	63
Crude protein	190
Crude fat	30
Crude fiber	86
NEL ^a (MJ/kg DM)	6.27
Na	3.8
K	10.9
Cl	5.0
S	1.2
Ca	7.5
Mg	3.3
P	6.2

^a Net energy for lactation

Materials and methods

Eleven mature, non-pregnant, non-lactating, Holstein-Friesian-crossbreed cows between 5-10 years old were used for this study conducted over an 11-month period from January to November 2002. Due to the study design and the resulting time period (11 month), pregnant cows had not been used. Housing and feeding was described previously (Gelfert et al. 2007). Cows were housed indoor in separated pens (2.40 x 1.35m) ensuring that each cow consumed its allocated diet. The cows received a daily diet of 8 kg hay, 2.5 kg concentrate ("Milchviehfutter 18/3" Ruckdeschel & Söhne GmbH & CoKG, Berlin, Germany, table 1), and 130 g lime ("Futterkalk" Ruckdeschel & Söhne GmbH & CoKG, Berlin, Germany), half of which was fed at 07.00 h and the other at 14.00 h. Water was provided *ad libitum*, the consumption of water was monitored daily. The composition of the total diet (hay, concentrate, lime) met or exceeded the requirements of non-pregnant and non-lactating dairy cows (Anonymous 1997). The lime was added to guarantee an intake of 120-150 g Ca per day according to recommendations for cows being administered anionic salts (Wilde 2006) during pregnancy.

Table 2. Amount of different anionic salts (AS) administered to 11 cows over 11 treatment periods to provide a daily dose of 2000 mEq.

Group	Salt	Amount (g/day)
Control	Two-fold ionised water	-
NaCl	NaCl	117
Cl ⁻	CaCl ₂ ·2H ₂ O	147
	MgCl ₂ ·6H ₂ O	204
	NH ₄ Cl	107
SO ₄ ²⁻	MgSO ₄ ·7H ₂ O	246
	CaSO ₄ ·2H ₂ O	172
	CaSO ₄ D10 ^a	172
	(NH ₄) ₂ SO ₄	132
Combinations	CaCl ₂ ·2H ₂ O + MgSO ₄ ·7H ₂ O ^b	196.5
	NH ₄ Cl + CaSO ₄ ·2H ₂ O ^b	139.5

^a Natural calcium sulphate with grain size = 10 µm, ^b Equal equivalents of both anions (Cl⁻, SO₄²⁻)

2.7. The effect of various anionic salts on ruminal pH and short-chain fatty ...

Table 3: Concentrations (g/kg dry matter; DM) of K, Na, Cl and S of the diet and the resulting DCAD (mEq/kg DM) with and without anionic salts over eleven 14-days lasting treatment periods in which different anionic salts (daily dose: 2,000 mEq), NaCl, or water were given to non-pregnant, non-lactating cows via a ruminal cannula.

Treatment period	K g/kg DM	Na g/kg DM	Cl g/kg DM	S g/kg DM	DCAD (mEq/kg DM)	
					Control/NaCl	Anionic salts
1	15,29	1,06	3,26	0,72	+301	+86
2	20.58	0.89	2.62	0.60	+455	+242
3	15.05	0.89	3.71	0.79	+270	+59
4	24.0	0.98	5.11	1.06	+448	+236
5	18.01	1.06	6.90	0.88	+259	+50
6	12.90	1.60	10.33	0.90	+54	-155
7	12.90	1.60	10.33	0.90	+54	-155
8	17.84	1.12	5.91	0.94	+281	+72
9	20.72	0.95	5.76	0.80	+360	+139
10	20.72	0.95	5.76	0.80	+360	+139
11	14.17	1.60	7.19	0.95	+172	-42
Mean	17.47	1.16	5.99	0.85	+274	+61

The hay was analysed for DCAD by an external laboratory (Analytical Labour for Agriculture and Environment, Parchim, Germany) using wet chemistry methods meeting the standard defined in the German Textbook for chemical methods (Anonymous 2007). The DCAD was calculated using the formula $(K^+ + Na^+) - (Cl^- + SO_4^{2-})$.

A daily dose of 2,000 mEq of a single anionic salt, a combination of salts, sodium chloride (NaCl), or water (Table 2) were administered via the rumen cannula for 14 days (treatment period). Half of each dose was given at each feeding time. The animals were assigned to treatments with salts or control in an 11 x 11 Latin square, thus randomising the distribution and sequence of the anionic salts tested in order to avoid any side effects on parameters due to the sequence of administration of the anionic salts or the sequence of the cows. Each treatment period was followed by a 14-day wash-out period, to avoid any carry-over effects from one treatment period to the next.

This experiment was undertaken in accordance with German animal welfare legislation approved by the Regional Authorities for Employment Protection, Health Protection, and Technical Security, Germany.

Samples of ruminal fluid for determination of pH were collected 2.5 hours after the morning feeding (Nordlund et al. 1995) on Days 0, 4, 7, 11, and 14 of each treatment period via the ruminal cannula, from the caudo-ventral part of the rumen. Samples of ruminal fluid for measuring the concentration of SCFA were collected in the same manner four times a day (0630, 0930, 1330, 1730) on Days 7 and 14 of each treatment period. The ruminal pH was measured immediately after sampling, using a digital pH-meter (InoLab pH Level 1, WTW, Weilheim, Germany). For concentrations of SCFA, the ruminal samples were analysed using gas chromatography (Hewlett Packard Serie II 5890). The methodology of this examination is broadly described by Geissler et al. (1976).

Statistical analysis

All statistical analyses were performed using SPSS 14.0 (SPSS Inc, Chicago IL, USA). The null hypothesis was that no differences occurred between control-cows or cows receiving one of the anionic salts single or in combination. Repeated ANOVA was used to test for any significant differences in the

Table 4. Mean ruminal pH of 11 non-pregnant, non-lactating cows fed different anionic salts, NaCl or water on day Zero before any feeding of the salts and on Days 4, 7, 11, 14 of 11 treatment periods, investigating the possible impact of anionic salts on ruminal pH.

Treatment	Day 0	Day 4	Day 7	Day 11	Day 14
H ₂ O	6.85	6.69	6.69	6.84	6.73
NaCl	6.74	6.68	6.72	6.76	6.82
CaCl ₂	6.72	6.57	6.63	6.78	6.71
MgCl ₂	6.75	6.71	6.71	6.75	6.76
NH ₄ Cl	6.75	6.63	6.67	6.71	6.71
CaSO ₄	6.82	6.68	6.65	6.79	6.76
CaSO ₄ D10	6.73	6.62	6.71	6.84	6.79
MgSO ₄	6.79	6.69	6.72	6.73	6.70
(NH ₄) ₂ SO ₄	6.73	6.74	6.90	6.75	6.70
CaCl ₂ + MgSO ₄	6.88	6.64	6.71	6.89	6.75
CaSO ₄ + MgCl ₂	6.75	6.62	6.53	6.75	6.67
SEM	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08

ruminal pH due to the treatment day or anionic salt(s) administered. The DCAD served as a covariate, because it changed between treatment periods. The mean concentrations of SCFA at day 7 and 14 were calculated for each test day separately using the concentrations measured taken at each day at the four time points according the formula: $(x_1 + x_2 + x_3 + x_4)/4$. Simple ANOVA was used to evaluate the possible impact of the anionic salts separately for both test days. The level of significance was fixed at $p=0.05$.

Results

Throughout the entire study, which lasted eleven months, the DCAD changed because of the different charges of the hay that was used (Table 3). To exclude the effect of the DCAD, this parameter entered all statistic tests as covariate. The mean ruminal pH varied between 6.73 and 6.90 at Day 0. During all treatment periods, there were no significant differences ($p=0.478$) in pH due to the anionic salt on any sampling day (Table 4). The ruminal pH was within a range from 6.72 to 6.88 at day zero. On all test days the ruminal pH was within the normal range (Dirksen 1990). The total concentrations of SCFA (Table 5) on Days 7 and 14 of each treatment period did not show any significant differences ($p>0.05$) and were within normal ranges. The distribution pattern of the main SCFA also did not show any significant differences ($p>0.05$) due to administration of anionic salt(s) (Table 5)

2.7. The effect of various anionic salts on ruminal pH and short-chain fatty ...

Table 5. Mean (\pm SEM) concentrations (mmol/L) of total short-chain fatty acids (SCFA) and distribution pattern of the main SCFA in the ruminal fluid of eleven cows on Day 7 and 14 of 11 treatment periods with different anionic salts, NaCl, or water.

Treatment	SCFA		Acetic acid		Propionic acid		N-butyric acid %		Others	
	Day 7	Day 14	Day 7	Day 14	Day 7	Day 14	Day 7	Day 14	Day 7	Day 14
	mmol/l		%		%		%		%	
H ₂ O	116.3	113.9	69.1	69.4	17.3	17.3	11.0	10.8	2.6	2.5
NaCl	114.6	120.4	69.2	69.1	16.9	17.0	11.3	11.4	2.7	2.6
CaCl ₂	112.3	115.3	68.9	69.3	17.7	17.2	10.8	10.9	2.6	2.6
MgCl ₂	112.9	114.5	68.8	69.5	17.7	16.7	11.0	11.2	2.5	2.6
NH ₄ Cl	117.1	116.1	69.2	69.4	17.4	17.3	10.9	10.9	2.5	2.5
CaSO ₄	117.8	116.8	68.8	69.2	17.5	17.2	11.1	11.1	2.5	2.5
CaSO ₄ D10	116.7	116.1	68.8	69.3	17.5	16.9	11.3	11.1	2.5	2.6
MgSO ₄	122.4	116.4	69.0	69.4	16.8	16.8	11.6	11.3	2.6	2.6
(NH ₄) ₂ SO ₄	116.5	114.2	68.9	69.0	17.4	17.1	11.2	11.3	2.6	2.5
CaCl ₂ + MgSO ₄	112.3	115.9	69.6	69.6	17.1	16.9	10.8	10.9	2.5	2.6
CaSO ₄ + MgCl ₂	119.0	118.4	68.8	68.8	17.4	17.8	11.6	11.0	2.4	2.4
SEM	0.92	0.57	0.05	0.07	0.09	0.09	0.09	0.06	0.02	0.02
Normal ranges^a	60-150 mmol/L		60-70%		15-20%		10-15%		<5%	

^a Dirksen (1990); Breves and Leonhard-Marek (2004)

Discussion

This study was undertaken to evaluate whether the anionic salts currently available as a feeding product have an impact on ruminal pH and concentrations of SCFA and whether differences exist between the different salts. The use of non-pregnant, non-lactating cows in this study can be justified by the fact that changes of acid-base-status in non-pregnant cows only differ from that of pregnant cows in quantitative, but not qualitative, terms (Schonewille et al., 1994). In several studies non-pregnant cows were used for studying the effects of anionic salts in cows (Oetzel et al. 1991, Goff et al. 2004). The amounts of salts fed were sufficient to create acidosis in blood and urine (Gelfert et al. 2007) regardless the DCAD reached and represented the upper limit of anionic salts as recommended by Kamphues (1996). However, the results showed that the anionic salts had no significant impact on ruminal pH, and there were no differences were detectable between the different anionic salts. Roche et al. (2007) also did not find any significant differences in ruminal pH or diurnal variation in ruminal pH between cows that were or were not administered anionic salts. Those authors administered anionic

salts via a ruminal cannula as in the present study and in another study by Gelfert et al. (2006a). In the latter study, cows received a mixture of anionic salts and a ruminal buffer. The ruminal pH remained unchanged and was in the same range as in the present study.

Vagnoni and Oetzel (1998) found a small but significant decrease in ruminal pH in cows. Those authors assumed a selected absorption of cations or a formulation of insoluble complexes that would result in a decrease of the strong ionic difference and ruminal pH, respectively. Tucker et al. (1988) varied the DCAD of the diet by adding sodium (NaHCO_3), potassium (KHCO_3) or chloride (CaCl_2), and found small, significant changes in the rumen pH. However, they stated that the physiological significance of the changes was questionable. Fredeen et al. (1988) reported a small but significant reduction in ruminal pH in goats fed a diet including HCl. The amount of concentrates or grain, however, was much higher in those studies than in the present one. A possible subclinical acidosis induced by the high amount of concentrates might be intensified by the additional HCl (Fredeen et al. 1988) or CaCl_2 (Tucker et al. 1988). Therefore, the results of those different studies cannot be used as comparison for the study presented here, as those studies had high amounts of ruminal fermentable carbohydrates, which lowered the pH in the rumen in a physiological manner. In our study, the amount of concentrates fed was much smaller. Thus, there was no risk of an undetected, subclinical ruminal acidosis. In the study by Müller-Özkan (2002), the ruminal fermentation process was monitored *in vitro* (long-term rumen simulation technique). That author found no effects on ruminal pH if the anionic salts were added in amounts normally used according the DCAD concept. The diet in the artificial rumen consisted of hay and concentrates similar to that used in the present study. That author assumed that the high buffering capacity of the diet inhibited any effects of the anionic salts on ruminal pH. In the present study, no ruminal buffer was fed. Due to the absence of any changes of the ruminal pH in our study, we can conclude that the feeding of anionic salts did not have a significant impact on the pH of the rumen.

The distribution pattern of the main SCFA did not show any significant changes due to the feeding of anionic salts. The proportion of the single SCFA corresponded with those normally found in the rumen (Breves and Leonhard-Marek 2004, table 5). The results confirm those of previous studies (Fredeen et al. 1988; Tucker et al. 1988). In the study of Vagnoni and Oetzel (1998), a slight but significant reduction in the concentrations of SCFA was visible only in one of the three combinations of anionic salts.

In Conclusion, the results of the present study showed that the supplementation of anionic salts for preventing parturient paresis is harmless with regard to the production of SCFA and maintaining of physiological ruminal pH.

References

- Anonymous.** [DLG-Nutritional values of feedstuff, Ruminants]. Pp 12-24. DLG-Verlag, Frankfurt, Germany, 1997
- Anonymous.** [Book of methods, Volume III, Chemical analysis of feed]. Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten-Verlag, Darmstadt, Germany, 2007
- Block E.** Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. *Journal of Dairy Science* 67, 2939-48, 1984
- Breves G, Leonhard-Marek, S.** [Digestion in the forestomachs]. In: Engelhardt von W, Breves G. (eds). *Physiologie der Haustiere*. Pp 357-66, Enke Verlag, Stuttgart, Germany, 2004
- Dirksen G, Pansen** [Rumen] In: Dirksen G, Gründer HD, Stöber M (eds.) *Die klinische Untersuchung des Rindes*. Pp 312-22, Parey Verlag, Berlin Hamburg, Germany, 1990
- Fredeen AH, Depeters EJ, Baldwin RL.** Characterization of acid-base disturbances and effects on calcium and phosphorus balances of dietary fixed ions in pregnant or lactating does. *Journal of Animal Science* 66, 159-73, 1988
- Geissler C, Hoffmann M, Hickel B. [The measurement of volatile fatty acids using gas chromatography]. *Archiv für Tierernährung* 26. 123-29, 1976
- Gelfert CC, Hauser S, Löptien A, Montag N, Passmann M, Baumgartner W, Staufenbiel R.** [Impact of a simultaneous application of dietary fixed ions in rumen buffer on acid-base-balance and mineral metabolism in dairy cows]. *Berliner Münchner Tierärztliche Wochenschrift* 119, 244-50, 2006 a
- Gelfert CC, Lesch S, Alpers I, Decker M, Hüting A, Baumgartner W, Staufenbiel R.** [Survey of the occurrence of parturient paresis in dairy cows in different regions of Germany and of the use of alternative therapy forms compared to the intravenous infusion of calcium. Part 2: Differential diagnosis and success of therapy]. *Tierärztliche Praxis* 34 (G), 357-67, 2006 b
- Gelfert CC, Loeffler SL, Frömer S, Engel M, Hartmann H, Männer K, Baumgartner W, Staufenbiel R.** The impact of dietary cation anion balance (DCAD) on the acid-base balance and calcium metabolism of dairy cows fed equal amounts of different anionic salts. *Journal of Dairy Research* 74, 311-22, 2007
- Goff JP, Ruiz R, Horst RL.** Relative acidifying activity of anionic salts commonly used to prevent milk fever. *Journal of Dairy Science* 87, 1245-55, 2004
- Moore S J, van de Haar MJ, Sharma BK, Pilbeam TE, Beede DK.** Effects of altering dietary cation-anion-difference on calcium and energy metabolism in peripartum cows. *Journal of Dairy Science* 83, 2095-104, 2000
- Müller-Özkan E.** [Investigations of the effects of anion rich diets on the carbohydrate metabolism in the bovine rumen (in vitro)]. Doctorate Thesis, Tierärztliche Hochschule Hannover, Germany, 2002
- Nordlund KV, Garrett EF, Oetzel GR.** Herd-based rumenocentesis: a clinical approach to the diagnosis of subacute rumen acidosis. *Compendium of Continuing Education* 17, 48-56, 1995
- Kamphues, J.** [The DCAB concept in the prophylaxis of parturient paresis]. *Übersichten zur Tierernährung* 24, 129-35, 1996.
- Oetzel GR, Fettman MJ, Hamar DW, Olson JD.** Screening of anionic salts for palatability, effect on acid-base-status, and urinary calcium excretion in dairy cows *Journal of Dairy Science* 74, 965-71, 1991
- Oetzel GR, Olson JD, Curtis CR, Fettman MJ.** Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 71, 3302-09, 1988
- Roche JR, Dalley JD, O'Mara FP.** Effect of a metabolically created systemic acidosis on calcium homeostasis and the diurnal variation in urine pH in the non-lactating dairy cow. *Journal of Dairy Research* 74, 34-9, 2007
- Schonewille JT, van't Klooster AT, Beynen AC.** The addition of extra calcium to a chloride rich ration does not affect the absolute amount of calcium absorbed by non-pregnant, dry cows. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 72, 272-80, 1994.
- Tucker WB, Harrison GA, Hemken RW.** Influence of dietary cation-anion balance on milk, blood, urine, and rumen fluid in lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 71, 346-54, 1988
- Vagnoni DB, Oetzel GR.** Effects of dietary cation-anion difference on the acid-base status of dry cows. *Journal of Dairy Science* 81, 1643-52, 1998
- Wilde D.** Influence of macro and micro minerals in the peri-parturient period on fertility in dairy cattle. *Animal Reproduction Science* 96, 240-9, 2006

2.8.

Impact of a prolonged period of feeding anionic salts
on the acid-base-balance and calcium metabolism of dairy cows

Gelfert, Carl-Christian, Antje Löptien, Nicole Montag,
Walter Baumgartner und R. Staufenbiel

Erschienen in:

Wiener Tierärztliche Monatsschrift 93, 304-310 (2006)
Weber.creativmedia 2006, Wien. Tierärztl. Mschr. 93, 304-310, www.wtm.at

Acknowledgement

The authors gratefully thank Dr. Gisela Arndt for statistical advice.

Summary

11 non-pregnant and non-lactating Holstein-Friesian crossbred cows with a permanent rumen cannula were experimentally fed with anionic salts (AS) for a prolonged period of time. The daily diet was composed of hay, concentrate and lime. AS were applied as an infusion (calcium chloride/group A (n=5)) or a suspension (calcium sulfate/group B (n=6)) via the rumen cannula in a daily dose of 2000 mEq over a period of five weeks. Blood and urine samples were taken on the first three days of the treatment period and every three to four days during the remaining time. In the blood samples pH, Base excess and bicarbonate concentration were measured. In urine pH and Net-acid-base excretion (NABE) were measured. Additionally the concentrations of calcium and chloride were measured in serum and urine. After a fortnight wash-out period, the trial was repeated and the cows were interchanged. For the statistical analysis the results of both trials were combined. Feeding AS induced slight changes ($p < 0.05$) of acid-base balance (ABB) in blood on a few days only. Contrary to the blood parameters, urine composition showed remarkable changes. NABE and urinal pH dropped considerably ($p < 0.05$). In the middle of the treatment period blood and urinary ABB returned to initial levels, but decreased more extensively in the fifth week of the experiment ($p < 0.001$) indicating a non-compensated metabolic acidosis. In the first two weeks of the treatment period blood calcium concentrations increased slightly ($p < 0.05$). On the last day of the treatment period calcium concentrations were lower than on day Zero ($p < 0.05$) in group B. During the whole treatment period calcium concentrations in the urine were significantly increased ($p < 0.05$). No reaction of urinal calcium concentrations were visible at the end of the treatment period when calcium concentrations in serum decreased. AS should be fed for a period of two or three weeks to guarantee the activation of the calcium metabolism. A longer feeding time may induce severe metabolic acidosis and hypocalcaemia.

Zusammenfassung

An 11 nicht tragende und nicht laktierende HF-Kreuzungskühe mit einer permanenten Pansenfistel wurden über fünf Wochen saure Salze verfüttert. Die tägliche Ration bestand aus Heu, Kraftfutter und Kalk. Die sauren Salze wurden täglich in einer Dosis von 2000 mEq über die Pansenfistel als Infusion (Kalziumchlorid/Gruppe A (n=5)) oder Suspension (Kalziumsulfat/Gruppe B (n=6)) verabreicht. Blut- und Harnproben wurden in den ersten drei Tagen des Versuchszeitraums und alle drei bis vier Tagen in den verbleibenden 4 ½ Wochen genommen. In den Blutproben wurde der pH-Wert, der Base Excess und die Bikarbonatkonzentration gemessen. Im Urin wurden der pH-Wert und die Netto-Säuren-Basen-Ausscheidung (NSBA) bestimmt. Darüber hinaus wurden im Serum und Harn die Kalzium- und Chloridkonzentrationen bestimmt. Nach einer 14tägigen Wash-out Phase ohne die Zufütterung saurer Salze wurde der Versuch wiederholt und die Kühe miteinander vertauscht. Für die statistische Auswertung wurden die Ergebnisse aus beiden Durchläufen gepoolt. Die Zufuhr saurer Salze führte nur an wenigen Tagen zu kleinen ($p < 0,05$) Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt (SBH) des Blutes. Demgegenüber veränderte sich die Zusammensetzung des Harns deutlicher. NSBA und der pH-Wert sanken ab ($p < 0,05$). In der Mitte der Versuchsperiode zeigten die Werte im Blut und im Harn einen Trend in Richtung der Ausgangswerte, um dann in der fünften Woche erneut und noch stärker abzufallen ($p < 0,001$). Die Veränderungen wurden als eine nicht kompensierte, metabolische Azidose bewertet. Die Kalziumkonzentrationen stiegen in den ersten beiden Wochen leicht an ($p < 0,05$). Am letz

ten Versuchstag lagen die Kalziumwerte der Gruppe B unter den Ausgangswerten am Tag 0 ($p < 0,05$). Während der gesamten Versuchsphase waren die Kalziumkonzentrationen im Harn deutlich höher ($p < 0,05$) und zeigten keinerlei Reaktion auf das Absinken der Kalziumspiegel gegen Ende der Versuchsperiode. Saure Salze sollten zur Sicherstellung einer ausreichenden Wirkung auf den Kalziumstoffwechsel über einen Zeitraum von zwei bis drei Wochen gefüttert werden. Eine längere Zufuhr erhöht das Risiko einer schwerwiegenden metabolischen Azidose und einer Hypokalzämie.

Introduction

The addition of anionic salts (AS) to the feed of transit cows is a common method to prevent parturient paresis in dairy cows (DISHINGTON, 1975; STAUFENBIEL, 2000). The application of AS is effective because the calcium metabolism is activated when acidosis occurs in cattle (BLOCK, 1994; OETZEL, 2002). Depending on the management of the farm, the transition period lasts for two to three weeks. Since the time of parturition cannot be determined exactly, cows may remain longer in the transition period and therefore receive a larger amount of AS than intended. Though the feeding of AS was recommended for a period of up to five weeks (HORST et al., 1994), field observations revealed that metabolic problems might occur in cows fed AS for prolonged period of time. PHELPS and HOUSE (2001) described a case of hypocalcaemia and parturient paresis in heifers having received AS for more than five weeks. In most experiments examining the use of AS treatment period (TP) lasted three weeks or less (TUCKER et al., 1991ab; GOFF et al., 2004). The effects of AS were monitored by taking blood and urine samples at the end of the feeding period (TUCKER et al., 1991a; KOCABAGLI et al., 2001) but not during the experiment. In one study, AS were fed to pregnant cows 45 days before parturition but changes of the acid-base balance (ABB) were not monitored (DELAQUIS and BLOCK, 1995). GOFF and HORST (1998) fed hydrochloric acid to cows for one week. ABB in urine and blood changed significantly during the whole week compared with control cows. But in comparison with the day before first feeding hydrochloric acid differences were smaller on day 7 regarding blood pH and not significantly different concerning bicarbonate concentrations. The authors assumed that an increased release of cations from bony tissue might be responsible for the adaptation of ABB when hydrochloric acid was fed. In another study, a diet showing a DCAD of -155meq/kg dry matter was fed to cows over a six-week period and urine pH was monitored weekly (HUSBAND et al., 2002). The authors described an extensive variation in respect to the response of urine pH to AS which was dependent on time and the individual cow. Possible explanations given by the author were an incorrect mixing of the AS-containing premix, an inconsistent intake of feed because of the cows being able to separate the premix from the other feed components. Based on these results of the literature survey a study design was developed monitoring a long-time feeding of AS in dairy cows. The use of rumen-fistulated cows guaranteed the whole intake of the daily dose of AS by an infusion into the rumen, imitating the synchronous intake of the total diet per feeding time. Furthermore the impact of chloride and sulfate salts should be compared.

Material and methods

For this study eleven rumen fistulated dairy cows were used. The age of the cows varied between six and eleven years. Cows were housed individually in a tying stall of the clinic for ruminants and swine

Table 1: Composition of basal diet

Composition	Trial 1	Trial 2
Hay (kg)	8	8
Concentrate (kg)	2.5	2.5
Lime (kg)	0.3	0.3
Dietary analysis¹		
NEL (MJ/kg DM)	5.55	5.52
Na (g/kg DM)	0.48	0.40
K (g/kg DM)	19.40	20.58
Cl (g/kg DM)	2.95	3.84
S (g/kg DM)	0.80	1.04
Ca (g/kg DM)	17.33	13.72
Mg (g/kg DM)	2.32	2.18
P (g/kg DM)	3.76	3.50
DCAD (mEq/kg DM)	399	390
DCAD (mEq/kg DM) AS included	167	172

¹: Blgg Deutschland GmbH, Parchim, Germany

of Free University of Berlin, Germany. Cows were kept on concrete floor provided with straw bedding. The daily diet during the whole study consisted of 8 kg hay and 2¹/₂ kg of routinely used concentrate and lime. The mixture of concentrate was formulated to meet or exceed together with hay intake the requirements of non-pregnant and non-lactating dairy cows (Table 1). The addition of 300 g lime guaranteed an intake of 120 – 150 g calcium per day to meet the requirements of cattle receiving AS (OETZEL, 2002). Water and feed were provided on individual basis.

For monitoring DCAD analysis of hay and concentrate was performed by extern laboratories every fourteen days. The 11 cows were randomly assigned to one of two feeding groups. 5 cows received calcium chloride as AS (group A) and the remaining six cows received calcium sulfate (group B). All sources of anions were food or reagent grade and at least 97 % pure. Dihydrated CaSO₄ and dihydrated CaCl₂ were supplied by Sigma-Aldrich Laborchemikalien, Seelze, Germany. Both salts were applied in a daily dose rate of 2000 mEq/cow and were considered to be supplied by 147g CaCl₂ · 2 H₂O, or 172g CaSO₄ per day. AS were applied twice a day. Each time, half of the daily dose of AS was dissolved in two litres of twofold distilled water and applied by use of the rumen fistula during feeding time. The water-soluble calcium chloride was applied as infusion via rumen cannula for one and a half hours. The poorly water-soluble calcium sulfate was applied as a water-suspension via rumen cannula. AS were applied in the first trial for a period of five weeks. Blood and urine samples were collected on day Zero before the first application of AS, each of the first three days of the treatment period and every three to four days during the remaining time. In the following wash-out period lasting fourteen days, samples were taken on the first three days. This trial was performed a second time for the same length of time and AS were changed between the groups. All procedures in this animal experiment employed on the cow including the insertion of a rumen fistula were authorised by Regional Authorities for employment protection, health protection and technical security, Berlin-Germany.

Samples were taken two hours after the morning feeding. Jugular venous blood was collected anaerobically, and a midstream urine sample was obtained by provocation of micturition by manual stimulation of the vulva. Base excess (BE), bicarbonate and pH of whole heparinised blood samples

2.8. Impact of a prolonged period of feeding anionic salts on the ...

Table 2: Mean values of blood pH, base excess and bicarbonate concentrations at day zero and changes in ABB of cows fed calcium chloride (A) or calcium sulfate (B) for five weeks (n=11)

Day	Blood pH		Blood Base Excess (mmol/l)		Blood bicarbonate (mmol/l)	
	Mean difference		Mean		Mean	
	CaCl ₂	CaSO ₄	CaCl ₂	CaSO ₄	CaCl ₂	CaSO ₄
0	7.39 ^a	7.38 ^a	1.8 ^a	1.5 ^a	26.3 ^a	26.0 ^a
1	-0.0170	-0.0058	-2.10	-0.83	- 2.10	-0.75
2	-0.0190	-0.0108	-0.70	-0.33	- 0.40	0.083
3	-0.0220 ¹	-0.0217	-2.80 ¹	-2.08	- 3.10 ¹	-1.92
7	-0.0140	-0.0142	-1.70	-1.83	- 1.90	-1.75
10	-0.0140	-0.0125	-0.60	-1.33	- 0.40	-1.08
14	-0.0280 ²	-0.0283 ²	-1.50	-2.42	- 1.30	-2.25
17	-0.0210	-0.0067	-1.90	-1.00	- 1.90	-1.00
21	-0.0230 ¹	-0.0233	-1.30	-2.08	- 0.90	-2.00
24	-0.0200	-0.0175	-1.70	-1.42	- 1.50	-1.33
28	-0.0260 ²	-0.0200	-3.20 ²	-2.75 ²	- 3.40 ²	-2.92 ¹
31	-0.0360 ³	-0.0275 ¹	-5.20 ³	-2.92 ³	- 5.20 ³	-2.67 ¹
35	-0.0350 ³	-0.0233	-3.20 ²	-2.67 ²	- 3.00 ¹	-2.25
W1	-0.0100	-0.0075	-1.10	-1.42	- 1.10	-1.67
W2	-0.0130	-0.0075	-0.80	-0.25	- 0.70	-0.83
W3	-0.0070	-0.0050	0.00	-0.50	+ 0.01	0.83

^a: the first values are the mean value at day Zero; ^{1,2,3}: mean values differed significantly from day zero in cows fed either calcium chloride or calcium sulfate ¹ (p<0.05), ² (p<0.01), ³ (p<0.001); W1- W3: the first three days of wash-out period

were determined immediately after sampling (ABL5 Radiometer, Copenhagen, Denmark). The pH of the urine samples was analyzed using a pH-meter (WTW, Weilheim, Germany) and the Net-acid-base-excretion (NABE) via titration (KUTAS, 1965; LACHMANN, 1981; BENDER et al., 2003). After titration NABE was calculated by using the concentrations of bases, acids and ammonium as follows:

$$\text{NABE (mmol/l)} = 100 \times \text{Bases [mmol/l]} - 10 \times (\text{Acids [mmol/l]} + \text{Ammonium [mmol/l]})$$

Major mineral concentrations were determined in samples of blood serum and urine. For analysis of the cations the samples were diluted to 1:40. Samples were analyzed for calcium by means of atomic absorption spectrophotometry (AAS PU 9200, Philips, Eindhoven, Netherlands) and for chloride by potentiometry (Beckman Synchron EL-ISE 4, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA). Chloride was analysed using undiluted samples. For all mineral analyses, control serum and control urine samples with defined concentrations of minerals were used to validate the calibration.

Statistical analysis was performed using SPSS 11.0 (SPSS Inc, Chicago, Illinois). The results of both trials were combined. Parameters of ABB and mineral concentrations were evaluated by an analysis of variance for each salt tested using treatment day and cow as main effects and cow as random factor. The analysis used a two factorial mixed model with one observation per cell (WINER et al., 1970) adequate for single factor experiments with repeated measures on the same elements. Dunnett-t-test was carried out as a post-hoc-test to compare the changes of each test day with day Zero. Most of the parameters were distributed normally. Only acid concentrations and ammonium concentrations in urine had to be transformed to log-values. To compare the effects of the two AS, t-test was performed for each treatment day. A p-value <0.05 was considered significant.

2.8. Impact of a prolonged period of feeding anionic salts on the ...

Table 3: Mean values of urine pH, NABE, base and ammonium concentrations at day zero and changes in these parameters of cows fed calcium chloride or calcium sulfate for five weeks (n=11)

Day	pH in urine		NABE (mmol/l)		Base concentration (mmol/l)		Ammonium concentrations (mmol/l)	
	Mean difference	Mean difference	Mean difference	Mean difference	Mean difference	Mean difference	Mean difference	Mean difference
	CaCl ₂	CaSO ₄	CaCl ₂	CaSO ₄	CaCl ₂	CaSO ₄	CaCl ₂	CaSO ₄
0	8.20 ^a	8.25 ^a	157 ^a	153 ^a	252 ^a	242 ^a	5.9 ^a	4.9 ^a
1	-0.14	-0.15	-41	-51	-38	-54 ¹	1.90	0.08
2	-0.54	-0.28	-77 ¹	-45	-73 ²	-53 ¹	7.10	2.92
3	-0.59	-1.21 ³	-89 ²	-118 ³	-74 ²	-99 ³	9.40	12.33
7	-0.99 ²	-1.34 ²	-133 ³	-137 ³	-98 ³	-113 ³	19.60 ³	27.67 ²
10	-0.59	-0.81 ¹	-95 ²	-108 ³	-90 ³	-98 ³	7.20	10.58
14	-0.19*	-1.19 ^{3*}	-47 ¹	-106 ^{3*}	-36*	-92 ^{3*}	0.10	9.67
17	-0.39	-0.96 ²	-60	-103 ³	-63 ¹	-90 ³	4.10	10.92
21	-0.24 ¹	-1.19 ^{3*}	-75 ¹	-128 ³	-63 ¹	-100 ³	2.20	17.67
24	-0.48	-0.87 ²	-75 ¹	-96 ³	-72 ²	-87 ³	4.00	13.50
28	-0.79 ²	-1.25 ³	-107 ³	-136 ³	-80 ²	-110 ³	6.80	16.92
31	-1.11 ³	-1.21 ³	-148 ³	-127 ³	-119 ³	-97 ³	10.70 ¹	16.08
35	-1.30 ³	-1.63 ³	-152 ³	-178 ³	-122 ³	-127 ³	9.90	31.75 ²
W1	-0.11	-0.86 ²	-36	-89 ³	-16	-65 ²	0.60	17.75
W2	-0.01	-0.53	-7	-45	+4	-33	1.20	7.17
W3	+0.34	-0.14	+10	-26	+11	-37	0.30	0.50

^a: the first values are the mean value at day Zero; ^{1,2,3}: mean values differed significantly from day zero in cows fed either calcium chloride or calcium sulfate ¹ (p<0.05), ² (p<0.01), ³ (p<0.001); * Significantly different between cows fed either calcium chloride or calcium sulfate on the same test day (p<0.05). W1- W3: the first three days of wash-out period

Results

All parameters of ABB tested were significantly influenced by AS (Tables 2-3). Blood parameters changed less than those of urine. During the treatment period significant decreases of blood pH, BE and bicarbonate were found in group A (p< 0.001) and B (p=0.001). Calcium chloride (group A/n=5) influenced the blood-pH slightly stronger than calcium sulfate (group B/n=6). Up to a decrease of 0.02 units, blood pH did not differ significantly from day Zero. Concentrations of bicarbonate and the BE, respectively, had to drop by more than 2.50 mmol/l to be considered significant. The most considerable decreases were observed in the last week in which the blood pH as well as the BE and the bicarbonate concentrations decreased significantly (p<0.05). As regards the changes of ABB on each test day, the values of blood pH, BE and bicarbonate did not differ significantly between both test groups. The urine parameters of ABB showed more remarkable changes which lasted longer during the treatment period. Base concentrations and NABE reacted in the same direction, but the size of the changes differed between both AS groups (Table 3). In the calcium sulfate group concentrations of bases in urine decreased significantly on day 2 and remained at this low level until the first day of the wash-out period. The most prominent changes were observed in the second and fifth week, respectively. On day 3, NABE decreased significantly. The lowest levels occurred at the same time as described for base concentrations. In group A, smaller changes of base concentrations and NABE were observed (Table 3). In contrast to the reactions seen in cows of group B dosing with CaCl₂ led to a marked rise of base concentrations and NABE after day 7. Over the next three weeks they declined gradually towards the absolute minimum on day 35. The last measurements taken during the wash-out period showed a renewed rise to around the starting levels in both groups. Based on these various

reactions of base concentrations and NABE significant differences ($p < 0.05$) between the two AS applied were found (Table 3). Following the reaction of NABE, urine pH decreased during the treatment period. But these changes were significant ($p = 0.001$) only on day 7 in group A. Urine pH increased in the following weeks reaching base-line level in the second week. A second significant decrease of urine pH occurred in the last week which was parallel to the changes of NABE. Unlike calcium chloride, calcium sulfate was able to reduce pH in urine significantly ($p < 0.05$) from day 3 till the first day of the wash-out period. These variable reactions of pH in urine in the middle of the treatment period differed significantly between the two AS on days 14 and 21 ($p < 0.05$). Ammonium concentrations increased during the treatment period (Table 3) in both groups. However, concentrations were significantly different to day Zero only on day 7 and on day 35 ($p < 0.05$), concomitant to the strongest reactions of NABE and urine pH. Acid concentrations of urine showed no significant reactions in both groups ($p > 0.05$). Simultaneously with the changes of ABB, concentrations of minerals changed significantly over time as a response to feeding AS. Chloride concentrations in urine increased remarkably in group A ($p < 0.001$) and group B ($p < 0.05$), respectively (Table 4). The changes observed in group B were less considerable. Comparing the measurements of both groups, the values differed significantly ($p < 0.05$). Serum concentrations of chloride fluctuated merely slightly, showing significant differences to day Zero on a few days only (Table 4).

Blood calcium concentrations showed a non-uniform trend over time. In the first two weeks concentrations rose slightly differing significantly ($p < 0.05$) from day Zero (Table 4). Increases were higher in group A. In the fourth week, calcium concentrations remained unchanged (group A) or tended to decline (group B). On day 35 calcium concentrations decreased significantly in both groups. The last measurements taken during the wash-out period were still lower than those on day Zero. Urine concentrations of calcium increased during the treatment period and differed significantly ($p < 0.05$) from day Zero (Table 4). Changes were more obvious in group B. Highest calcium concentrations were detected on day 35. There were no significant differences between both groups although calcium concentrations in urine were less in cows of group A in the second and third weeks. During this period calcium concentrations of urine were still significantly increased in group B but not in group A.

Discussion

The use of AS during the transition period in order to prevent parturient paresis has been well studied (OETZEL, 2002; GOFF et al., 2004). The tolerance of the bovine metabolism to using AS has been and still is a matter of debate. Up to a daily dose of 2000 mEq/cow, no toxic effects were observed (OETZEL et al., 1991). These findings were confirmed by recent studies, in which several AS were tested in rumen-fistulated cows (STAUFENBIEL et al., 2004). Apart from the desired effect of AS on ABB and calcium metabolism, no effects on rumen fermentation or any other metabolic function were found. But very few data exist about the changes in ABB and calcium metabolism in cows fed AS for longer than the usual time. A prolonged feeding of AS might occur on dairy farms when the calving date is unknown. The present study investigated the influence of a prolonged feeding of AS on cattle metabolism. Dosing AS directly into the rumen guaranteed the total intake of 2000 mEq/cow/day. Feed rations were composed in such a manner as to exclude any other acidogenic impact.

2.8. Impact of a prolonged period of feeding anionic salts on the ...

Table 4: Mean values of calcium and chloride concentrations in serum and urine at day zero and changes in macro minerals concentrations of cows fed calcium chloride or calcium sulfate for five weeks (n=11)

Day	Calcium in serum (mmol/l)		Calcium in urine (mmol/l)		Chloride in serum (mmol/l)		Chloride in urine (mmol/l)	
	Mean difference		Mean difference		Mean difference		Mean difference	
	CaCl ₂	CaSO ₄	CaCl ₂	CaSO ₄	CaCl ₂	CaSO ₄	CaCl ₂	CaSO ₄
0	2.43 ^a	2.41 ^a	1.47 ^a	0.92 ^a	106 ^a	105 ^a	87 ^a	71 ^a
1	-0.014	0.015	4.47	1.40	3.46	1.58	69.6 ^{3*}	26.8 [*]
2	0.030	0.061	4.82	1.59	0.35	2.46	143.6 ^{3*}	52.1 ^{3*}
3	0.117	0.038	3.00	5.76 ²	5.61 ^{1*}	1.66 [*]	119.6 ^{3*}	45.9 [*]
7	0.151 ^{2*}	0.084 [*]	5.56 ¹	5.63 ²	-3.16	-3.515	105.7 ^{3*}	53.1 ^{1*}
10	0.149 ²	0.163 ²	4.77	3.52	-4.69 ¹	-3.74	106.8 ^{3*}	66.5 ^{2*}
14	0.158 ^{2*}	0.033 [*]	3.77	4.41 ¹	-3.60	-3.40	77.6 ³	69.8 ³
17	0.031	0.000	3.51	4.92 ¹	-2.47	-3.70	99.2 ^{3*}	56.3 ^{2*}
21	0.036 [*]	-0.034 [*]	3.78	4.38 ¹	-2.01 [*]	-2.98 [*]	105.6 ^{3*}	34.0 [*]
24	0.001	-0.053	4.02	2.65	-2.20	-2.83	95.7 ^{3*}	33.9 [*]
28	-0.004	-0.029	7.99 ³	5.29 ²	-2.31	-2.04	84.4 ^{3*}	33.4 [*]
31	-0.080	-0.090	4.94 ¹	6.12 ²	1.88	-0.21	135.2 ^{3*}	34.5 [*]
35	-0.070 [*]	-0.163 ^{2*}	6.54 ²	6.99 ³	2.50	0.09	150.9 ^{3*}	50.8 ^{1*}
W1	-0.020 [*]	-0.113 ^{1*}	3.57	2.91	-7.21 ¹	-3.56	27.4	42.5
W2	0.059	-0.002	2.82	0.89	-3.18	-4.11 ²	-3.8	17.7
W3	-0.075 [*]	-0.122 ^{1*}	2.31 [*]	0.35 [*]	-2.68	-2.76	1.0	5.4

^a: the first values are the mean value at day Zero; ^{1,2,3}: mean values differed significantly from day zero in cows fed either calcium chloride or calcium sulfate ¹ (p<0.05), ² (p<0.01), ³ (p<0.001) Significantly different between cows fed either calcium chloride or calcium sulfate on the same test day (p<0.05). W1- W3: the first three days of wash-out period

The effects of AS on ABB could be seen in the urine in both groups. Blood parameters of ABB exhibited slight changes, significant differences compared with day Zero were observed on a few days only. Achieving equilibrium between acids and bases is one main task of metabolism (STEWART, 1978). Changes in ABB subsequent to any impact on it are corrected promptly to prevent acidotic or alkalotic malfunction. Therefore, it was not surprising that we observed small changes of blood ABB in both groups, only. After a few days of feeding AS, the physiological regulatory mechanisms are able to compensate completely the acid load (LOTSPEICH, 1967). These physiological regulatory mechanisms might also be one reason for the controversial discussion about the influence of AS on ABB. In contrast to our results, OETZEL et al. (1991) described no significant changes of pH, BE, or bicarbonate concentrations in blood in cows fed different AS for one week, changes of blood parameters of ABB, on the other hand, being similar to ours. Other authors reported small but significant changes of blood pH (TUCKER et al., 1992; MOORE et al., 2000; GOFF et al., 2004), BE (VAGNONI and OETZEL, 1998; GOFF et al., 2004) or bicarbonate concentrations (TUCKER et al., 1991ab; VAGNONI and OETZEL, 1998), all examining the effect of the applied AS for a shorter period.

In contrast to the effects on ABB in blood, changes in the urine composition were more pronounced. One renal function in adult cattle is the compensation of any acid or alkalotic burden (LOTSPEICH, 1967; DOBSON, 1980) by changing the urinal composition. As the first step, excretion of bases is modified (DELAQUIS and BLOCK, 1995) followed by the activation of urine buffer systems (LOTSPEICH, 1967). According to these physiological mechanisms, urine composition was evidently modified as a consequence of added AS. From day 1, base concentrations decreased, but were re-

duced significantly from day 2 on only. NABE displayed a similar course of reaction, significant changes occurring one or two days later than measured in base concentrations. These reactions of the urine composition were also found by BENDER et al. (2003) and GELFERT et al. (2004). In both studies NABE and base concentrations in urine decreased significantly in cows fed AS. Other studies looked at other parameters similar to NABE to describe the effect of AS on urine. Urine titratable base content decreased significantly in cows fed either hydrochloride or sulfuric acid (GOFF et al., 2004). Similar results were obtained in a study from OETZEL et al. (1991) using urinary base excess which dropped to 60 % of the initial values after one week of feeding AS. We detected a similar proportion of the reduction of NABE.

Our results showed urine pH remaining unaffected until day 3 in group B versus day 7 in group A over time. This delayed change of urine pH was also described by ROBY et al. (1987) having fed a grain-rich diet to induce rumen acidosis in cows. Urine pH reacted with a delay of three days in spite of increased acid load. Similarly, HUSBAND et al. (2002) observed significant changes of urinal pH not before the fourth day after supplementing AS in individual cows, the desired significant reduction of urinal pH in all cows being seen after one week only.

In the present study, urine pH showed significant differences between both groups in week 2. Urine pH of cows in group A returned close to initial values, those of group B increased slightly still remaining well below normal ranges. GOFF and HORST (1998) observed this slight adaptation of ABB in cows fed hydrochloric acid at the end of their one-week experimental period assuming an increased release of cations by osseous tissue being responsible for the adaptation of ABB. This assumption seems to be confirmed by our results. On those test days when urine pH reached normal levels, calcium levels in serum were significantly elevated compared with day Zero. These increased concentrations might be a result of the intensive exchange of calcium with hydrogen ions in osseous tissue. The same reactions concerning pH and calcium concentrations were also observed in group B but to a lesser extent. There is a controversial debate about the different impact of chloride and sulfate ions on ABB in blood and urine. GOFF et al. (2004) found a stronger influence of chloride salts on the blood parameters described above and on urine pH. These results are in contrast to ours, for we did not find any significant differences of blood pH, BE and bicarbonate concentrations. TUCKER et al. (1991a) found a significantly different impact between the two anions in urine only, chloride salts inducing a higher decrease of urine pH. In our study, urine pH differed significantly on a few test days only, showing calcium sulfate being more effective than calcium chloride.

Responding on the metabolic acidosis calcium concentrations in serum increased (BLOCK, 1994). In our study, calcium concentrations increased slightly in blood, in urine noticeably. These findings are discussed controversially in literature. Some authors (BLOCK, 1984; TUCKER et al., 1991b) found slight and significant increases of serum concentrations but other authors did not (TUCKER et al., 1991a; VAGNONI and OETZEL, 1998). As the calcium metabolism is strictly controlled by hormones (MARTENS, 1995), it could depend on the point of time checking for any alterations of calcium concentrations whether the findings are statistically provable. This is supported by our finding for we also did not observe significant changes on all TP-days. Furthermore, serum concentrations changed during TP. There were slowly increasing values in serum visible after day 10 of the treatment period and a drop on day 35 below concentrations initially measured. To our knowledge these variations of

calcium concentrations in serum of cows under such experimental conditions are firstly documented. In humans, hypocalcaemia occurs in case of abnormal increasing calcium release of the bone (GENUTH, 1998). The constant inflow of calcium induces an increase of calcitonin activity causing a decrease of calcium concentrations in serum. Since an increased release of calcium occurs in cattle suffering from metabolic acidosis (BLOCK, 1994), a similar reaction as described in humans seems possible which is supported by PHELPS and HOUSE (2001) detecting hypocalcaemia in heifers fed AS for more than five weeks. Interestingly, we found the calcium concentrations in urine remaining at the high level reached after the initial elevation even if hypocalcaemia in serum occurred. It remains unclear why this happens. The possible explanation is that the permanent application of AS maintains the acid burden initiating the ongoing release of calcium from osseous tissue. Caused by this, a permanent activation of calcitonin would in turn lead to an excretion of calcium via kidneys and consequently to hypocalcaemia, as is the case in humans (GENUTH, 1998).

A remarkable decrease of blood pH, BE and bicarbonate concentrations caused by the application of AS occurred in the fifth week remaining at this low level till day 35. This obvious reaction of blood pH, BE and bicarbonate might be interpreted as a depletion of the buffer capacity of the organism, the metabolic acidosis induced by AS no longer being controlled sufficiently. Unfortunately, the feeding of AS was ceased at that time, the wash-out period started and therefore it was impossible to monitor the reactions of the metabolic parameters any longer. The cows used in our study were non-lactating and non-pregnant. Other authors also used non-pregnant dairy cows for monitoring the impact of AS on the cow's organism (OETZEL et al., 1991; TUCKER et al., 1991b; GOFF and HORST, 1998; GOFF et al., 2004). It would have been interesting if the changes in the fifth week of feeding AS would have been intensified when calving would have occurred. Probably, the health problems described by PHELPS and HOUSE (2001) were the results of the long feeding of AS and the reduction in feed intake due to parturition. Investigations are needed to further elucidate how dairy cattle maintain ABB under a chronic acid burden as well as under the influence of hormonal changes during calving and the stress placed on cows during the parturient period to maintain their acid-base-equilibrium.

Conclusions

The feeding of AS to non-pregnant, non-lactating dairy cattle over a period of five weeks caused significant alterations in ABB and calcium homeostasis. The changes were more pronounced in urine than in blood. These reactions lead to the questions whether the organism's capacity in compensating an acid load is diminished and whether the hormonal response to the increased calcium concentrations in blood caused the observed hypocalcaemia. The data obtained by the present study are no indication for different effects of chloride and sulfate ions, respectively. According to the present results, AS should be fed for a minimal period of seven to fourteen days so as to guarantee the desired effect on calcium metabolism. In our cows, feeding AS for more than four weeks caused hypocalcaemia meaning after the third week the damage could be greater than the advantages hoped for. Further studies are indicated to elucidate the pathophysiological mechanisms in cows fed AS, especially in the case of pregnancy.

References

- BENDER, S., GELFERT, C.C., STAUFENBIEL, R. (2003): Einsatz der Harnuntersuchung zur Beurteilung des Säure-Basen-Haushaltes in der Bestandsbetreuung von Milchviehherden. *Tierärztl. Praxis* **31**, 132-142.
- BLOCK, E. (1984): Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. *J. Dairy Sci.* **67**, 2939-2948.
- BLOCK, E. (1994): Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally related production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows. *J. Dairy Sci.* **77**, 1437-1450.
- DELAQUIS, A.M., BLOCK, E. (1995): Acid-Base status, renal function, water, and macromineral metabolism of dry cows fed diets differing in cation-anion difference. *J. Dairy Sci.* **78**, 604-619.
- DISHINTON, I.W. (1975): Prevention of milk fever (hypocalcemic paresis puerperalis) by dietary salt supplements. *Acta vet. Scand.* **16**, 503-512.
- DOBSON, A. (1980): Acid-Base balance in animals. In: PHILLIPSON, A.T., HALL, L.W., PRITCHARD, W.R. (Eds), *Scientific Foundations of Veterinary Medicine*, William Heinemann Med. Books, London, UK, 112-125.
- GELFERT, C.C., ZARRATH, M., EUSTERMANN, S., STAUFENBIEL, R. (2004): Überwachung des Einsatzes saurer Salze in Milchviehherden durch Futter- und Harnuntersuchungen. *Prakt. Tierarzt* **85**, 422-430.
- GENUTH, S.M. (1998): Endocrine regulation of calcium and phosphate metabolism. In: BERNE, R.M., LEVY, M.N. (Eds), *Physiology*, Mosby, St. Louis, USA, 1998, 875-894.
- GOFF, J.P., HORST, R.L. (1998): Use of hydrochloric acid as a source of anions for prevention of milk fever. *J. Dairy Sci.* **81**, 2874-2880.
- GOFF, J.P., RUIZ, R., HORST, R.L. (2004): Relative acidifying activity of anionic salts commonly used to prevent milk fever. *J. Dairy Sci.* **87**, 1245-1255.
- HORST, R.L., GOFF, J.P., REINHARDT, T.A. (1994): Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow. *J. Dairy Sci.* **77**, 1936-1951.
- HUSBAND, J.A., GREEN, M.J., JONSSON, N.N. (2002): The effect of feeding anionic salts on urine pH. *Cattle Practice* **10**, 113-117.
- KOCABAGLI, N., KAHRAMAN, R., ABAS, I., ESECELI, H., ALP, M. (2001): The effects of supplemental anionic salts and probiotic in perpartum diets on milk production and quality and incidence of milk fever in dairy cows. *Turkish J. Vet. Anim. Sci.* **25**, 743-751.
- KUTAS, F. (1965): Determination of net-acid-base excretion in the urine of cattle. *Acta Vet. Acad. Sci. Hungarica* **15**, 147-153.
- LACHMANN, G. (1981): Ätiologie, Pathogenese, Diagnostik, Therapie und Prophylaxe der alimentären Azidose des Rindes. Dissertation zur Promotion B, Universität Leipzig.
- LOTSPEICH, W.D. (1967): Metabolic aspects of acid-base change. *Sci.* **155**, 1066-1075.
- MARTENS, H. (1995): Die Konzentration von Mineralstoffen im Plasma von Wiederkäuern: Geeigneter Parameter zur Beurteilung der Mineralstoffversorgung? *Tierärztl. Umschau* **50**, 321-326.
- MOORE, S.J., VAN DE HAAR, M.J., SHARMA, B.K., PILBEAM, T.E., BEEDE, D.K., BUCHHOLTZ, H.F., LIESMAN, J.S., HORST, R.L., GOFF, J.P. (2000): Effects of altering dietary cation-anion-difference on calcium and energy metabolism in peripartum cows. *J. Dairy Sci.* **83**, 2095-2104.
- OETZEL, G.R. (2002): The dietary cation-anion difference concept in dairy cattle nutrition: possibilities and pitfalls. In: KASKE M., SCHOLZ H., HÖLTERSINKEN M. (Eds), *Recent developments and perspectives in bovine medicine*, Hildesheimer Druck- und Verlags-GmbH, Hildesheim, Germany, 198-208.
- OETZEL, G.R., FETTMAN, M.J., HAMAR, D.W., OLSON, J.D. (1991): Screening for anionic salts for palatability, effect on acid-base-status, and urinary calcium excretion in dairy cows. *J. Dairy Sci.* **74**, 965-971.
- PHELPS, M., HOUSE, J. (2001): The other side of DCAD, health problems associated with feeding anionic rations. in: *Proceedings of 19th Annual Conference of Vet. Internal Med.* 315-317.
- ROBY, K.A., CHALUPA, W.W., ORSINI, J.A., ELSER, A.H., KRONFELD, D.S. (1987): Acid-base and electrolyte balance in dairy heifers fed forage and concentrate rations: effects of sodium bicarbonate. *J. Vet. Res.* **48**, 1012-1016.
- STAUFENBIEL, R. (2000): Prophylaxe der Gebärpause. Teil II. *Veterinärspiegel* 2000/1, 58-61.
- STAUFENBIEL, R., FRÖMER, S., LÖFFLER, S.L., ENGEL, M., GELFERT, C.C. (2004): An experimental investigation on the metabolic effects of different „acid salts“ for the use in the prophylaxis of subclinical hypocalcaemia and milk fever. In: *Proceedings of 23rd World Buiatrics Congress, Québec, Canada* 87.
- STEWART, P.A. (1978): Independent and dependent variables of acid-base control. *Resp. Physiol.* **33**, 9-26.
- TUCKER, W.B., HOGUE, J.F., ADAMS, G.D., STIM, I.S., MORGAN, G. (1992): Influence of dietary cation-anion balance during the dry period on the occurrence of parturient paresis in cows fed excess calcium. *J. Anim. Sci.* **70**, 1238-1250.
- TUCKER, W.B., HOGUE, J.F., WATERMAN, D.F., SWENSON, T.S., XIN, Z., HEMKEN, R.W., JACKSON, J.A., ADAMS, G.D., SPICER, L.J. (1991a): Role of sulfur and chloride in the dietary cation-anion balance equation for lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.* **69**, 1205-1213.
- TUCKER, W.B., XIN, Z., HEMKEN, R.W. (1991b): Influence of calcium chloride on systemic acid-base status and calcium metabolism in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* **74**, 1401-1407.
- VAGNONI, D.B., OETZEL, G.R. (1998): Effects of dietary cation-anion difference on the acid-base status of dry cows. *J. Dairy Sci.* **81**, 1643-1652.
- WINER, B., BROWN, D., MICHELS, K. (1970): *Statistical Principles in Experimental Design*. 2. edition, McGraw-Hill Book Company, New York, St. Louis, San Francisco, 261

2.9.

The impact of energy deficiency on the effects of anionic salts
on the acid-base status of dairy cows

Gelfert, Carl-Christian, Antje Löptien, Nicole Montag, Mareike Passfeld,
Walter Baumgartner und Rudolf Staufenbiel

Erschienen in:

Wiener Tierärztliche Monatsschrift 95, 184-189 (2008)

Weber.creativmedia 2008, Wien. Tierärztl. Mschr. **95**,184-189, www.wtm.at

Acknowledgements

The authors gratefully thank Dr. Tichy from the Institute for Medical Physics and Biostatistics, at the Veterinary University of Vienna for statistical advice.

Summary

The objective of the study was to look for the effect of anionic salts (AS) to cows when a diet lacking of energy is fed. The hypothesis was that the energy concentration of the diet has no impact on AS. Eleven non-lactating, non-pregnant, Holstein-Friesian-Crossbreed cows received 2,000 mEq of calcium chloride or calcium sulfate for a period of six weeks. In the first three weeks, the energy concentration of the diet was 4.21 NEL/kg DM, and in the second half, the energy concentration was reduced to 3.56 NEL/kg DM, in turn creating a negative energy balance. Serum, whole blood, and urine samples were taken at day zero prior to the first feeding of AS and every three to four days during the second and third week of each half. Although the DCAD in both trials were still high (152 mEq and 205 mEq resp.), the feeding of AS subsequently induced metabolic acidosis, which was visible in a drop of the pH in blood and urine. The extension of acidosis was stronger and lasted longer in the second half, in contrast to the first three weeks. The energy deficiency boosted the effect of AS by mobilising body tissue in order to maintain the energy requirements. When feeding AS for the prevention of parturient paresis, the energy concentration must be high enough to avoid negative side effects. There was no significant difference between the effects of the two salts.

Zusammenfassung

Mit der vorliegenden Studie sollte der Einfluss des Energiegehaltes der Ration auf die Wirkung saurer Salze bei Kühen ermittelt werden. Die Null-Hypothese lautete, dass sich die Wirkung der sauren Salze bei unterschiedlichem Energiegehalt nicht unterscheidet.

11 nicht-tragende, nicht-laktierende Kühe mit einer permanenten Pansenfistel erhielten über einen Zeitraum von 6 Wochen Kalziumchlorid oder Kalziumsulfat in einer täglichen Dosis von 2000 mEq. Die Energiekonzentration betrug in den ersten drei Wochen 4,21 NEL/DM und in der zweiten Hälfte 3,56 NEL/kg DM, um die Kühe in eine negative Energiebilanz zu verbringen. Serum-, Vollblut- und Harnproben wurden alle 3 Tage in den jeweils zweiten und dritten Wochen beider Untersuchungshälften entnommen und die folgenden Parameter bestimmt: Blut-pH, Basen Exzess, Bikarbonatkonzentration, Harn-pH, Netto-Säuren-Basen-Ausscheidung. Obwohl in beiden Versuchshälften nach Zufügen der sauren Salze noch eine hohe Dietary-Cation-Anion-Difference bestand (152 mEq/kg DM in Teil 1 und 205 mEq/kg DM in Teil 2), konnte eine metabolische Azidose bei den Kühen nachgewiesen werden. Diese zeigte sich in einem Abfall der Harn-pH-Werte im Blut und Harn. Das Ausmaß dieser Azidose war im zweiten Versuchsteil stärker ausgeprägt als im ersten. Der Energiemangel verstärkte den Effekt der sauren Salze, da die aufgrund der negativen Energiebilanz mobilisierten Körperreserven ebenfalls azidotisch auf den Organismus wirken. Bei einem Einsatz saurer Salze ist auf eine ausreichende Energiekonzentration der Ration zu achten, um negative Nebeneffekte zu vermeiden. Zwischen den beiden sauren Salzen konnten keine Wirkungsunterschiede festgestellt werden.

Introduction

To prevent parturient hypocalcaemia, the feeding of anionic salts (AS) is a common method to activate physiological calcium mobilisation in the last weeks of pregnancy (OETZEL, 2002; GOFF, 2004). In this time, the dairy cow should be given the opportunity to prepare for the coming lactation. Higher demands have to be made on the feeding management at this time, including the energy.

Table 1: Composition of basal diet

Composition	Trial 1		Trial 2	
	CaCl ₂ -group	CaSO ₄ -group	CaCl ₂ -group	CaSO ₄ -group
Straw (kg)	6		6	
Concentrates (kg)	2		0.0	
Sodium chloride (kg)	0.03		0.03	
Lime (kg)	0.3		0.3	
Dietary analysis¹				
dry matter (DM)	7.81		5.89	
NEL (MJ/kg DM)	4.21		3.59 ²	
Na (g/kg DM)	2.28		2.31	
K (g/kg DM)	17.31		22.33	
Cl (g/kg DM)	13.02	3.50	15.53	4.04
S (g/kg DM)	0.57	4.67	0.23	5.66
Ca (g/kg DM)	16.33		20.12	
Mg (g/kg DM)	0.91		0.39	
P (g/kg DM)	1.50		0.55	
DCAD (mEq/kg DM)	409		545	
DCAD (mEq/kg DM) with anionic salts	152		205	

¹Blgg Deutschland GmbH, Parchim, Germany; ²supplies 63 % of the required energy

concentration of the diet. During the transition period, the energy concentration has to be very high in order to meet the requirements of the cow on the one hand (GERLOFF, 2000; McNAMARA et al., 2003), and has to be limited because of a minimum of crude fibre on the other hand (FRANCOS et al., 1999). A lack of energy causes the mobilisation of the body fat reserves (STAUFENBIEL et al., 1992; DEWHURST et al., 2000), in turn resulting finally in increasing concentrations of keto acids, which react as strong ions, and thereby, cause metabolic acidosis (LUNN and McGUIRK, 1990). Feeding anionic salts at this time can impair the feed intake (OEZTEL and BARMORE, 1993), and results in a negative energy balance. In this context it would be interesting to know the reactions of the acid-base status (ABS) in the cows that are fed AS and an energy-deficient diet. Therefore, the following study was initiated, using rumen fistulated cows to ensure the complete intake of the AS, and to simulate the synchronous intake of food and anionic salts. The use of non-lactating, non-pregnant cows can be justified by the assumption that their response to the AS can only differ from that of pregnant cows in quantitative but not in qualitative terms (KOSMOL, 2007; YAMAGISHI et al., 2006).

Material and methods

Eleven rumen fistulated non-pregnant non-lactating dairy cows between six and eleven years old were used in the present study. The cows were individually housed in a tying stall at the clinic for ruminants and swine of the Free University of Berlin, Germany, and were kept on concrete floors with straw bedding. In the first trial (balanced energy 4.21 NEL/kg DM), the daily diet consisted of 6 kg barley straw, 2 kg concentrates, 30 g sodium chloride, and 300 g of lime (table 1), which resulted in a balanced energy requirement according to the recommendation (DLG, 1997). In trial 2, no concentrates were fed, which resulted in an energy-deficient diet (3.59 NEL/kg DM). Only 63 % of the required energy was supplied. The reduction of the concentrates increased the DCAD in trial 2 (table 1). Water and feed were provided on an individual basis. For monitoring the DCAD, analysis of barley straw and concentrates were performed by external laboratories (Blgg, Parchim, Germany). Calcium chloride and calcium sulfate were used as anionic salts.

2.9. The impact of energy deficiency on the effects of anionic salts ...

Table 2: Changes (mean±SD) in blood acid-base status (ABS) in dairy cows fed either calcium chloride (n=5) or calcium sulfate (n=6) and a diet low in energy (3.59 NEL/kg DM) or moderate in energy (4.21 NEL/kg DM).

day	Trial				independent variables and interactions				
	moderate energy		low energy		time	salt	energy	time x salt	time x energy
	CaCl ₂	CaSO ₄	CaCl ₂	CaSO ₄	p-value				
	ph (blood)								
0	7.37±0.02	7.36±0.02	- ^a	-					
9	7.33±0.02	7.32±0.06	7.31±0.04	7.32±0.06	0.469	0.792	0.016	0.664	0.004
14	7.35±0.01	7.33±0.08	7.26±0.04	7.31±0.06					
17	7.35±0.03	7.33±0.06	7.26±0.04	7.29±0.07					
21	7.35±0.02	7.34±0.03	7.26±0.05	7.3±0.07					
	Bicarbonate concentration (mmol/l)								
0	26.8±2.9	26.3±3.5	-	-					
9	21.8±1.6	20.8±4.0	19.6±2.1	21.2±5.4	0.111	0.789	0.042	0.798	0.006
14	22.6±2.2	20.7±5.4	18.8±1.1	20.3±5.5					
17	22.2±2.4	21.7±4.5	17.0±2.4	18.2±5.0					
21	24.4±1.5	24.2±3.1	17.4±2.6	20.0±6.5					
	Base excess (mmol/l)								
0	1.87±1.6	1.3±3.0	-	-					
9	-3.0±1.4	-4.5±4.6	-5.2±2.5	-3.8±6.0	0.132	0.815	0.034	0.836	0.004
14	-2.0±1.7	-4.2±6.5	-7.4±1.5	-5.2±5.9					
17	-2.4±2.0	-3.3±4.9	-9.0±2.9	-7.2±5.7					
21	-0.6±1.5	-1.2±3.3	-8.2±3.4	-5.3±6.6					

^a: There was no interval between both of the trials, therefore, no day zero exists for trial 2 (low energy)

Dihydrated CaSO₄ and dihydrated CaCl₂ were supplied by Sigma-Aldrich Laborchemikalien, Seelze, Germany. All of the sources of anions were food or reagent grade, and at least 97 % pure. In trial 1 and 2, both salts were administered in a daily dose rate of 2000 mEq/cow and were considered to be supplied by 147 g CaCl₂ · 2 H₂O, or 172 g CaSO₄ · 2 H₂O per day. 5 cows were administered calcium chloride and the remaining six cows received calcium sulfate. AS were applied twice a day. Each time, half of the daily dose of AS was dissolved in two litres of double distilled water and administered by use of the rumen fistula during feeding times. The water-soluble calcium chloride was administered as an infusion via rumen cannula for one and a half hours. The poorly water-soluble calcium sulfate was administered as an aqueous suspension via rumen cannula half an hour after the feeding of the straw. AS were administered in the first trial for a period of three weeks. The feeding behaviour was controlled daily. The first week of each trial was used for dietary adaptation. Blood and urine samples were collected on day zero prior to the first application of AS and on day 9, 14, 17 and 21 of each treatment period (TP). On day 21, the second trial started at the same length of time as trial 1. The application of this animal experiment was permitted by the Regional Authorities for employment protection, health protection and technical security, Berlin, Germany (allowance number G 0134/01). Samples were taken two hours after the cows' morning feeding. Jugular venous blood was collected anaerobically, and a midstream urine sample was obtained by provocation of micturition by manual stimulation of the vulva. Base excess (BE), bicarbonate ([HCO₃⁻]), and pH of the heparinised whole blood samples were determined immediately after sampling (ABL5, Radiometer, Copenhagen, Denmark). The pH of the urine samples was analysed using a pH-meter (WTW, Weilheim, Germany) and the net acid-base excretion (NABE) via titration (KUTAS, 1965; LACHMANN, 1981; BENDER et al., 2003).

Statistical analysis was performed using SPSS 14.0 (SPSS, Chicago, Illinois, USA). For the analysis, the sampling day of the second and third week of each trial were used. To determine the energy, AS, and day of the sampling effects, data were obtained on TP-days 9, 14, 17, and 21 and were analysed as a repeated measure ANOVA (LITTELL et al., 1998) according to the following model:

$$Y = \mu + D_i + AS_k + E_l + DAS_{ik} + DE_{il} + e_{ikl}$$

where Y = dependent variable, μ = overall mean of the population, D_i = mean effect of the day of sampling, AS_k = mean effect of anionic salt, E_l = mean effect of the energy concentration of the diet, and e_{ikl} = unexplained residual element assumed to be independent and normally distributed.

The level of significance was fixed at $p=0.05$.

Results

Because of the feeding of straw in both of the trials, the Dietary Cation-Anion Balance (DCAD) was very high before adding the AS in trial 1 (409 mEq/kg DM) and trial 2 (575 mEq/kg DM). Therefore, adding AS resulted in a lower, but still positive DCAD in both trials (152 mEq/kg DM, 205 mEq/kg DM respectively). Nevertheless, metabolic acidosis was detectable in both trials (table 2-3). There was a significant effect of energy ($p<0.05$) and of the day x energy interaction ($p< 0.005$). Blood pH ($p=0.016$), BE ($p=0.034$), and $[HCO_3^-]$ ($p=0.042$) were significantly lower in trial 2. The energy x day interactions can be explained by the different values for blood pH, BE, and $[HCO_3^-]$ at the end of both trials. On day 9, the blood pH, BE, and $[HCO_3^-]$ showed lower values that differed from day zero. In the remaining time, all parameters increased again during trial 1 but remained on the low level in trial 2. In urine, NABE and pH decreased remarkably, and it is noteworthy that NH_4^+ increased in both trials. All the parameters were clearly outside the physiological ranges. Feeding the low-energy diet caused stronger reactions in urinary pH ($p=0.035$). Significant energy x day interactions were detectable for all three urine parameters. In trial 1, all the variables showed a slight recovery towards the end as seen in the blood. In trial 2, ABS reacted more strongly than in trial 1 and the changes remained until the end of the time period. NABE ($p=0.062$) and NH_4^+ -concentrations ($p=0.069$) also showed stronger reactions when the low-energy diet was fed. The differences, however, were not significantly different from trial 1. The effect of both AS on ABS did not differ significantly ($p>0.05$).

Discussion

The aim of the present study was to investigate the impact of the energy concentration on ABS and calcium metabolism in dairy cows that are fed AS. Due to the controlled feeding regime, the complete intake of the daily dose of 2000 mEq/cow could be ascertained and any side effect due to an incomplete consumption of AS, as monitored in other studies (OETZEL and BARMORE, 1993; GOFF et al., 2004), was excluded. The intake of the other feed components was not disturbed in any cow during the entire experiment, suggesting that they had not entered a state of uncompensated metabolic acidosis (GOFF et al., 2004; GELFERT et al., 2006b). An impairment of rumen function was not to be expected. ENGEL (2005) showed in a study that feeding AS has no negative impact on ruminal pH and production of volatile fatty acids. No differences were observed between the effect of $CaCl_2$ and $CaSO_4$. This is in contrast to the findings of GOFF et al. (2004) who found that chloride salts had a greater impact on ABS than sulfate salts and confirms other studies (VAGNONI and OETZEL, 1998;

In trial 2, all concentrates were removed to lower energy density of the diet. Feeding only the straw resulted in a very high DCAD (525 mEq/kg DM) and in a lesser total feed intake (5.89 kg TS). Adding AS lowered DCAD to 205 mEq/kg TS which is very outside the target region of DCAD when AS are applied (OETZEL, 2002). A metabolic acidosis, however, was clearly detectable in trial 2. Feeding only straw without any concentrates had eliminated any risk of rumen acidosis. Therefore, the acid load found could not be of rumen origin. The low energy concentration of the diet, however, induced a negative energy balance to which the cows responded by mobilizing muscle and fat. This causes a catabolic metabolism, which itself creates metabolic acidosis (LOTSPEICH, 1967; LUNN and McGUIRK, 1990). The deflection of ABS was significantly stronger than in trial 1. Thus, the changes of ABS seen in trial 2 can be interpreted as a result of a combined effect of AS and energy deficiency.

Due to the study design, cows received AS continuously for six weeks. A long lasting feeding of AS can result in severe acidosis, as reported by PHELPS and HOUSE (2001) who observed acidosis and hypocalcaemia in heifers fed AS for more than five weeks. GELFERT et al. (2006a) fed AS to cows for a period of five weeks. They also reported that the acidosis induced was stronger in the fifth week than in the weeks prior. In their study, there was also a time-dependent reaction of ABS visible showing a lesser acidosis in the second and third week of feeding AS. Thus the development of ABS in the present study follows that of the study of GELFERT et al. (2006a). Therefore, it remained questionable as to whether the changes of ABS and calcium concentrations resulted from the low energy supply, the long lasting feeding of AS or a combination of both. Compared to the changes reported by GELFERT et al. (2006a), the reactions of ABS in the present study were stronger. Combined with the fact that the DCAD was higher in the trial 2 (216 mEq) than in that of the study conducted by GELFERT et al. (2006a), it can be concluded that the energy deficiency had an impact on ABS, independent of the AS administered. The increasing mobilisation of body tissues (STAUFENBIEL et al., 1992) boosted the effects of the AS. For the cows in the present study were non-pregnant, the impact of severe acidosis on the calving process could not be monitored. However, it could be concluded that the combination of energy deficiency and the feeding of AS must be avoided. Otherwise, severe acidosis and induced calcium losses from the bone prepartum may lead to recumbency thwarting the desired prevention of parturient paresis by the feeding of AS (PHELPS and HOUSE, 2001).

Further research is needed to elucidate the role of energy balance in cows fed AS for the prevention of parturient paresis.

Conclusion

Feeding AS in combination with an energy-deficient diet caused severe non-compensated metabolic acidosis. In combination with an energy deficiency these effects are much stronger and may cause severe non-compensated acidosis including clinical symptoms. When feeding AS for the prevention of parturient paresis, the energy concentration must be high enough to avoid negative side effects.

The salts tested did not show significantly different effects.

References

- BENDER, S., GELFERT, C.-C., STAUFENBIEL, R. (2003): Einsatz der Harnuntersuchung zur Beurteilung des Säure-Basen-Haushaltes in der Bestandsbetreuung von Milchviehherden. *Tierärztl. Praxis* **31**, 132-142.
- Delaquis, A.M., Block, E. (1995): The effects of changing ration ingredients on acid-base status, renal function, and macromineral metabolism. *J. Dairy Sci.* **78**, 2024-2039.
- DEWHURST, R.W., MOORBY, J.M., DHANOA, M.S., EVANS, R.T., FISHER, W.J. (2000): Effects of altering energy and protein supply to dairy cows during the dry period. 1. Intake, body condition and milk production. *J. Dairy Sci.* **83**, 1782-1794.
- DLG (1997): DLG-Futterwerttabellen Wiederkäuer DLG-Verlag, Frankfurt.
- ENGEL, M. (2005): Untersuchungen zum Einfluss unterschiedlicher Anionenergänzungen auf die Pansenfermentation, die Spurenelementkonzentration im Serum, die Wasseraufnahme sowie das Harnvolumen bei fistulierten Kühen. Thesis, FU Berlin, Berlin
- FRANCOS, G., DISTL, O., EZRA, E., MAYER, E. (1999): Reproduktions- und Milchleistung bei Israel-Holstein-Kühen mit unterschiedlicher Fütterung in der Trockenstehzeit. *Berl. Mch. Tierärztl. Wschr.* **112**, 161-165.
- GELFERT, C.-C., LÖPTIEN, A., MONTAG, N., BAUMGARTNER, W., STAUFENBIEL, R. (2006a): Influence of a prolonged period of feeding anionic salts on metabolism of dairy cows. *Wien. Tierärztl. Mschr.* **93**, 304-310.
- GELFERT, C.-C., PASSFELD, M., LÖPTIEN, A., MONTAG, N., STAUFENBIEL, R. (2006b): Experimental studies on the impact of an increased dose of anionic salts on the metabolism of dairy cows. *Vet. Quart.* **28**, 130-139.
- GELFERT, C.-C., LOEFFLER, S.L., FRÖMER S., ENGEL, M., HARTMANN, H., MÄNNER, K., BAUMGARTNER, W., STAUFENBIEL, R. (2007): The impact of dietary cation anion balance (DCAD) on the acid-base balance and calcium metabolism of dairy cows fed equal amounts of different anionic salts. *J. Dairy Res.* **74**, 311-322.
- GERLOFF, B.J. (2000): Dry cow management for the prevention of ketosis and fatty liver in dairy cows. *Vet. Clin. North America: Food Anim. Pract.* **16**, 283-292.
- GOFF, J.P. (2004): Macromineral disorders of the transition cow. *Vet. Clin. North America: Food Anim. Pract.* **20**, 471-494.
- GOFF, J.P., RUIZ, R., HORST, R.L. (2004): Relative acidifying activity of anionic salts commonly used to prevent milk fever. *J. Dairy Sci.* **87**, 1245-1255.
- Kosmol, A. (2007): Einfluss der oralen Supplementierung von 25(OH)D3 auf die Calciummobilisierungsfähigkeit bei nicht laktierenden Kühen. Dissertation, Freie Universität Berlin, Berlin, Deutschland.
- KUTAS, F. (1965): Determination of net-acid-base excretion in the urine of cattle. *Acta vet. Acad. Scient. Hung.* **15**, 147-153.
- LACHMANN, G. (1981): Ätiologie, Pathogenese, Diagnostik, Therapie und Prophylaxe der alimentären Azidose des Rindes. PhD thesis, Universität Leipzig, Leipzig.
- Littell, R.C., Henry, P.R., Ammermann, C.B. (1998): Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J. Anim. Sci.* **76**, 1216-1231.
- LOTSPEICH, W.D. (1967): Metabolic aspects of acid-base change. *Science* **155**, 1066-1075.
- LUNN, D.P., McGUIRK, S.M. (1990): Renal regulation of electrolyte and acid-base balance in ruminants. *Vet. Clin. North America: Food Anim. Pract.* **6**, 1-28.
- McNAMARA, S., O'MARA, F.P., RATH, M., MURPHY, J.J. (2003): Effects of different transition diets on dry matter intake, milk production, and milk composition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* **86**, 2397-2408.
- OETZEL, G.R. (2002): The dietary cation-anion difference concept in dairy cattle nutrition: possibilities and pitfalls. Recent developments and perspectives in bovine medicine. Kaske M., Scholz H. and Höltershinken M. (Ed.). 198-208.
- OETZEL, G.R., BARMORE, J.A. (1993): Intake of a concentrate mixture containing various anionic salts fed to pregnant, non lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* **76**, 1617-1623.
- PHELPS, M., HOUSE, J. (2001): The other side of DCAD: health problems associated with feeding anionic rations. *Proceedings of 19th ACVIM*, 315-317.
- ROCHE, J.R., DAILEY, D., MOATE, P., GRAINGER, C., RATH, M., O'MARA, F. (2003): Dietary Cation-Anion Difference and the health and production of pasture-fed dairy cows. 2. Nonlactating periparturient cows. *J. Dairy Sci.* **86**, 979-987.
- STAUFENBIEL, R., JOHANNSEN, U., DARGEL, H., ROSSOW, N. (1992): Experimentelle Untersuchungen zur Leberverfettung der Milchkuh bei Futterrestriktion. *Mh. Vet. Med.* **47**, 559-566.
- VAGNONI, D.B., OETZEL, G.R. (1998): Effects of dietary cation-anion difference on the acid-base status of dry cows. *J. Dairy Sci.* **81**, 1643-1652.
- Yamagishi N., Miyasaki, M., Naito, Y. (2006): The expression of genes for transepithelial calcium-transporting in the bovine duodenum. *The Vet. J.* **171**, 363-366.

2.10.

Experimental studies on the impact of an increased dose of anionic salts
on the metabolism of dairy cows

Gelfert, Carl-Christian Mareike Passfeld, Antje Löptien, Nicole Montag,
Walter Baumgartner und Rudolf Staufenbiel

Erschienen in:

Veterinary Quarterly 28, 130-139 (2006)

Taylor and Francis 2006, Vet. Quart. **28**, 130-139, www.tandf.co.uk/journals/TVEQ

Acknowledgement:

The authors thanks gratefully Magister A. Tichy, Institute for physic and statistic, Veterinary University Vienna for statistical advice.

Summary

This study was initiated to investigate the influence of a daily dose of anionic salts (AS) above the valid upper limit at present on metabolism of dairy cows. Eleven non-pregnant and non-lactating Holstein-Friesian crossbred cows with a permanent rumen cannula were used in a study with a controlled feeding design. The initial daily dose was 2500 mEq/day which resulted in a Dietary-Cation-Anion-Difference (DCAD) of -211 mEq/kg dry matter. Every seven days the daily dose was raised by 500 mEq. If a cow stopped eating, the application of AS was stopped and the cow was monitored over the next seven days. On day 30 another batch of hay, having the same DCAD but higher concentrations of minerals and energy, was fed. Blood and urine samples were taken to monitor acid-base balance and calcium concentrations. Acid-base balance was strongly influenced by AS. Blood pH dropped steadily and reached values around 7.23. Urine pH dropped quickly below 6 and remained at that level regardless of the increased dosage of AS. Net-acid-base-excretion (NABE) fell continuously with the increase of the dosage of AS and reached values below -200 mmol/l. Calcium concentrations in the serum were nearly stable but calcium concentration in urine increased sharply and remained on an elevated level with increasing doses of AS. Calcium concentrations in urine increased sharply and remained on an elevated level with increasing doses of AS. A few days before the individual cow's refusal of feed intake, calcium excretion in urine decreased. The majority of cows stopped eating while consuming a diet containing 3500 to 4000 mEq AS except two animals who consumed up to 6000 mEq/day AS but they received the better hay in the second half of the treatment period. In this time pH in blood increased slowly. NABE remained stable on a low level at -100 mmol/l. The results showed that with an increasing amount of AS fed the risk of clinical acidosis increased. The decreasing urine concentrations of calcium indicate a breakdown of the compensation capability of the single cow. Besides the dose of AS fed, the quality of the feed stuff might be another factor concerning the tolerance of cows against AS.

Introduction

Mixing anionic salts (AS) in a total mixed ration (TMR) is an established method in preventing parturient paresis [1, 4, 10]. But the amount of AS is limited due to their negative impact on dry matter intake (DMI) [14]. This impact depends on the chemical compound of the AS [5, 16] and the kind of feed the AS are mixed in [11, 13]. The use of magnesium sulfate had a greater impact on the DMI than other salts [5]. Other authors [11] found that calcium chloride or ammonium chloride had a more negative impact on DMI than magnesium sulfate. In other studies DMI did not differ significantly between cows consuming AS and those which did not [7, 12]. The impairment of DMI is mostly ascribed to the bad taste of the different AS [13]. If the AS were added to the concentrate and fed via transponder-regulating feed dispensing systems, the negative impact on DMI seemed to be greater than by mixing AS in a TMR [11, 13].

The amount of AS needed depends on the concentration of potassium in the diet [2], which is the major component in the formula of the dietary cation-anion difference (DCAD). This is especially true in Middle-European regions, where grass silages are a major component of dairy cow diets. Other cations like sodium, calcium and magnesium have only a minor role due to their lower concentrations. In case of a high concentration of potassium in the diet the amount of AS has to be much higher than

Table 1: Concentrations of major elements and energy content

	g/kg DM	total amount
diet I (till day 30): 6.72 kg DM		
sodium	0.45	3.02
potassium	13.98	93.95
chloride	6.12	41.13
sulfate	0.69	4.64
calcium	31.93	214.57
phosphorus	2.55	17.14
NEL (ME/kg DM)	4.70	31.58
DCAD (mEq/kg DM)	163	1094
diet II (from day 30 on): 9.35 kg DM		
sodium	0.43	4.02
potassium	16.58	155.02
chloride	7.02	65.64
sulfate	1.20	11.22
calcium	27.41	256.28
phosphorus	2.76	25.81
NEL (ME/kg DM)	5.31	49.65
DCAD (mEq/kg DM)	170	1590

DM: dry matter; DCAD: Dietary Cation-Anion-Difference

the recommended dose of 2000-3000 mEq/day. Joyce et al (1997) [6] had to add 5000 mEq/day to lower the DCAD of a diet consisting of alfalfa below zero, which is the target region when AS are used [10]. But the cows showed a clear reduction in feed intake. A lower feed intake in the transition period has to be avoided because of an increasing risk of ketosis and fatty liver.

A new AS consisting of a natural calcium sulfate has been developed and its main advantage is its tastelessness [15]. The use of such an AS permits a higher dose in diets with high proportions of grass silage without the negative impact on DMI. There might be the possibility that the reduced feed intake is a result of the metabolic acidosis induced by the AS [10]. To clarify the impact of very high doses of AS on the metabolism of dairy cows the present experimental study was initiated.

Material and methods

For this study eleven rumen-fistulated non-pregnant and non-lactating dairy cows between six and eleven years of age were used. The cows were housed individually in a tying stall with concrete floor and straw bedding at the clinic for ruminants and swine of the Free University of Berlin, Germany. During the whole treatment period (TP) a daily diet, consisting of 8 kg hay and 2¹/₂ kg of routinely used concentrate and lime, was offered twice a day on an individual basis. Together with hay the mixture of concentrate was formulated to meet or exceed the requirements of non-pregnant and non-lactating dairy cows (table 1). The addition of 300g lime guaranteed an intake of 120 – 150g calcium per day to meet the requirements of cattle receiving AS. For monitoring DCAD, analysis of hay and concentrate was performed by extern laboratories (Blgg, Parchim, Germany) every two weeks. From day 30 on a new batch of hay had to be fed while three cows were still getting AS. The second batch of hay had the same DCAD as the first one, but the energy content was higher and the concentration of potassium was much higher (table 1). For the cows having consumed less hay from the first batch, the reduction of DCAD was similar in both groups although more AS were added when the second hay was fed. Natural calcium sulfate with a grain size of 10 µm was chosen as anion source.

Table 2: Calculated DCAD (mEq/kg DM) after adding increasing amounts of Calcium sulfate to the ration

	amount of AS added	DCAD (mEq/kg DM)
Ration I	2500	-209
	3000	-284
	3500	-358
	4000	-432
Ration II	4500	-311
	5000	-365
	5500	-418
	6000	-472

The daily dose at the beginning of TP was 2500meq/cow (215g CaSO₄) and was applied twice a day. Each time half of the daily dose of AS was dissolved in two litres of twofold distilled water and applicated as a suspension by use of the rumen fistula during feeding time. The application via the rumen fistula was chosen to guarantee the total intake of the daily dose, for the other feed components, hay and concentrates, did not allow a homogeneous mixing of the AS. Every seven days the daily dose was increased by about 500meq (table 2). In the last week of TP the cows received 6000meq/day. Cows that showed a severe reduction of feed intake were taken from the study. Those cows were fed the standard diet without any AS.

Blood and urine samples were collected on day Zero before the first application of AS and on days Three and Seven of each week. From cows that were removed from the test serum and urine samples were taken in the same time intervals during the first week of the wash-out (WO)-period.

Cows were examined clinically on the days of sampling and on all seven days of the wash-out period. Samples were taken two hours after the morning feeding. Jugular venous blood was collected anaerobically and a midstream urine sample was collected by provocation of micturition by manual stimulation of the vulva. Base excess (BE), bicarbonate concentrations and pH of whole heparinised blood samples were determined immediately after sampling (ABL5 Radiometer, Copenhagen, Denmark). The pH of the urine samples was analyzed using a pH-meter (WTW, Weilheim, Germany) and the Net-Acid-Base-Excretion (NABE) via titration [8, 9]. After titration NABE was calculated by using the concentrations of bases, acids and ammonium as follows:

$$\text{NABE (mmol/l)} = 10 \times (10 \times \text{Bases (mmol/l)} - (\text{Acids (mmol/l)} + \text{Ammonium (mmol/l)}))$$

Calcium concentrations were determined in samples of serum and urine by means of atomic absorption spectrophotometry (AAS PU 9200, Philips, Netherlands). For analysis, the samples were diluted 1:40. Control serum and control urine samples with defined concentrations of minerals were used to validate the calibration. All procedures employed on the cow were approved by the Regional Authorities for employment protection, health protection and technical security, Berlin-Germany.

For statistical analyses the changes of ABB and calcium concentrations on day Zero, the individual last day of TP, and the first and last day of WO were compared using analysis of variance, followed by Bonferroni-procedure as post-hoc-test. The level of significance was fixed at p=0.05.

Results

Feeding behaviour and clinical symptoms

At the beginning of TP all animals showed normal feeding behaviour and the clinical examination showed normal values (table 3). All cows consumed the diet containing 2500meq AS (-209meq/kg DM). The first animals were removed from the treatment period when 3000meq AS (-284meq/kg DM) were applied. The majority of cows stopped eating when consuming a diet containing 3500 or 4000meq AS. At that time DCAD was below -300meq/kg DM. With refusal of feed intake the most prominent accompanying clinical symptom was bradycardia (table 3). The mean heart rate fell to 44 ± 5 beats/min. This reduction was significant ($p < 0.001$). At the same time in most of the animals ($p < 0.001$) the consistency of faeces was dryer. Most of the cows showed a slightly reduced body temperature, but these differences were not significant to day Zero ($p = 0.896$). No remarkable differences were seen in respiratory rate and ruminal motility. In most cases the clinical symptoms on the first day of the wash-out period remained the same as on the last day of feeding AS, but were at normal level on day Seven of WO. On that day all cows showed a normal appetite and the heart rate had increased in most cases (table 3).

Two animals consumed up to 6000meq/day AS (-472meq/kg DM) till the end of treatment period without any clinical signs of acidosis or negative influence on feed intake. When the first hay was fed, both cows showed a slightly reduced appetite for a few days, but not severe enough for stopping the application of AS. The heart rate was also reduced as in the other animals (data not shown). When the two animals consumed the second batch of hay with the better quality there was no reduction of feed intake until the end of the treatment period. The heart rate of the two cows receiving the new hay increased after the change and reached the normal frequency.

Changes in acid-base equilibrium

Acid-base balance (ABB) was strongly influenced by AS. Metabolic acidosis was clearly seen in blood and urine. Blood-pH dropped steadily with the mean value being 7.23 ± 0.03 (table 4) at the last TP-day. BE and bicarbonate concentrations also dropped noticeably. On the first day of WO-period the values of these parameters remained at the same level as on the last day of AS-application. On both days the values differed significantly from day Zero ($p < 0.001$) but not from each other ($p = 1.0$). On day Seven of the WO-period blood-pH was on the same level (7.37 ± 0.05) as on day Zero (7.37 ± 0.02), whereas BE (-0.67 ± 5.6) and bicarbonate concentrations (23.89 ± 5.5) approached the initial values. There were no significant differences to day Zero detectable ($p = 1.0$) Urine pH showed normal values on day Zero (8.04 ± 0.4) and dropped quickly below 6 when the feeding of AS started. At the end of the WO-period urinal pH was still on the same low level it had reached at the individual end of TP. NABE decreased continuously with increasing dosage of AS and reached values below -200mmol/l (table 4). The decrease of NABE was composed of the strong decrease of base concentrations in urine together with a remarkable increase of ammonium concentrations. All changes on the last day of TP and the

Table 3: Selected clinical symptoms of dairy cows receiving increasing amounts of anionic salts (n=11)

Animal	9	3	7	^8	11	2	10	1	5	4	6
DCAD	-284	-358	-358	-358	-358	-432	-432	-432	-311	-472	-472
when leaving TP											
Appetite	day	mean ¹									
D_0	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
LDT	2	1	2	1	1	1	2	1	1	1	3
WO_1	1	1	1	1	3	2	1	1	1	1	3
WO_7	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Faeces											
D_0	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
LDT	2	3	2	3	2	2	2	2	3	2	2
WO_1	2	3	2	3	2	2	3	2	2	1	2
WO_7	1	2	1	2	2	1	1	2	1	1	1
IKT (°C)											
D_0	38.4±0.2 ^a	38.4	38.6	38.6	38.5	38.4	38.2	38.6	38.1	38.4	38.1
LDT	38.2±0.4 ^a	38.3	37.9	38.1	37.7	38.2	39.2	38.2	38.3	38.2	37.9
WO_1	38.1±0.3 ^a	38.0	38.1	37.8	37.6	38.6	38.4	38.3	38.2	38.1	38.5
WO_7	38.4±0.2 ^a	38.4	38.6	38.5	38.1	38.6	38.3	38.5	38.4	38.3	38.3
Heart rate (min⁻¹)											
D_0	68±10 ^a	66	72	78	60	78	72	78	66	48	72
LDT	44±5 ^b	44	54	44	42	40	48	40	36	48	84
WO_1	47±13 ^b	66	66	42	36	40	36	42	36	60	68
WO_7	56±10 ^{ab}	48	68	44	42	64	56	60	66	56	54
Respiratory rate (min⁻¹)											
D_0	22±3 ^a	18	24	24	24	18	24	24	18	24	18
LDT	22±8 ^a	16	24	28	20	12	26	16	18	30	24
WO_1	20±5 ^a	24	24	24	24	12	16	16	16	24	16
WO_7	22±5 ^a	16	24	16	24	28	20	30	24	24	18

D_0: Sample before the first application of AS; LDT: last day of application of AS of the individual cow; WO_1: first day of wash-out period; WO_7 day 7 of wash-out period; Appetite: 3: normal appetite; 2: reduced appetite; 1: strongly reduced or no appetite; Faeces: 3 formed; 2: firm pulp; 1: pulpy; ^{a, b, c}: values with different superscripts differed significantly (p<0.05).

Table 4: Parameters of acid-base-equilibrium in blood and urine of cows receiving increasing amounts of AS (n=11)

Animal	9	3	7	8	11	2	10	1	5	4	6
DCAD when leaving TP	mean ¹	-284	-358	-358	-358	-432	-432	-432	-311	-472	-472
pH (blood)	D_0	7.37±0.02 ^a	7.36	7.38	7.36	7.33	7.40	7.35	7.39	7.36	7.37
	LDT	7.23±0.03 ^b	7.26	7.19	7.27	7.21	7.20	7.28	7.24	7.20	7.35
	WO_1	7.23±0.03 ^b	7.21	7.23	7.27	7.24	7.20	7.28	7.22	7.24	7.32
	WO_7	7.37±0.05 ^a	7.37	7.28	7.36	7.37	7.40	7.38	7.44	7.42	7.42
pCO₂ (Torr)	D_0	46±3.1 ^a	45	43	53	45	45	45	44	44	46
	LDT	34±2.5 ^b	34	37	33	35	35	33	28	28	47
	WO_1	34±3.4 ^b	33	33	35	36	34	33	26	39	47
	WO_7	43±6.6 ^a	37	34	49	40	53	48	43	51	51
Base Excess (mmol/l)	D_0	0.67±1.5 ^a	1	0	3	-2	2	-1	1	1	1
	LDT	-12.56±1. ^b	-12	-14	-11	-13	-14	-11	-12	-16	-1
	WO_1	-12.67±2.1 ^b	-16	-13	-10	-12	-14	-10	-12	-15	-6
	WO_7	-0.67±5.6 ^a	-7	-10	1	-2	7	2	2	5	6
HCO₃⁻ (mmol/l)	D_0	25.44±1.6 ^a	25	24	28	23	27	24	26	26	26
	LDT	13.67±1.7 ^b	14	13	15	13	13	15	14	10	24
	WO_1	13.44±1.7 ^b	12	13	15	14	13	15	14	10	19
	WO_7	23.89±5.5 ^a	18	15	26	22	23	27	28	31	33
pH (urine)	D_0	8.04±0.4 ^a	8.20	8.36	8.26	7.42	8.29	8.16	8.19	8.21	8.35
	LDT	5.85±0.2 ^b	6.15	5.64	5.52	5.67	5.89	5.88	5.91	6.06	6.07
	WO_1	5.83±0.3 ^b	6.05	5.58	5.63	5.49	5.67	6.04	5.99	6.30	5.95
	WO_7	5.8±0.5 ^b	5.63	5.57	5.42	5.47	5.84	5.70	5.72	7.18	8.14
NABE (mmol/l)	D_0	79±48 ^a	50	112	9	132	3	116	98	115	80
	LDT	-174±52 ^b	-95	-163	-125	-248	-238	-220	-172	-147	-158
	WO_1	-158±80 ^b	-107	-163	-78	-303	-212	-238	-151	-68	-101
	WO_7	-99±49 ^b	-73	-156	-169	-82	-90	-90	-112	-126	-4
Base (mmol/l)	D_0	202±47 ^a	140	230	120	250	180	240	220	200	230
	LDT	53±12 ^b	40	50	30	60	60	70	40	50	60
	WO_1	44±19 ^b	40	40	20	60	80	60	40	30	50
	WO_7	109±39 ^c	40	70	80	100	140	140	120	160	240
NH₄⁺ (mmol/l)	D_0	8±2 ^a	6	7	5	7	12	9	11	8	10
	LDT	159±44 ^b	93	155	105	213	214	198	141	137	151
	WO_1	135±64 ^{bc}	105	148	70	249	177	186	141	44	94
	WO_7	84±34 ^c	62	121	144	57	7	69	100	102	21

D_0: Sample before the first application of AS; LDT: last day of application of AS of the individual cow; WO_1: first day of wash-out period; WO_7 day 7 of wash-out period; ¹: mean of the nine cows quitting treatment period. ^{a,b,c}: values with different superscripts differed significantly (p<0.05).

Table 5: Calcium concentrations in serum and urine of dairy cows receiving increasing amounts of anionic salts (n=11)

Animal	Day	Mean	9	7	8	11	2	10	1	5	4	6
DCAD hen eaving TP			-284	-358	-358	-358	-432	-432	-432	-	-472	-472
serum										311		
D_0		2.35±0.1 ^a	2.34	2.39	2.32	2.37	2.54	2.31	2.30	2.37	2.35	2.32
LDT		2.38±0.1 ^a	2.37	2.36	2.36	2.33	2.42	2.41	2.32	2.64	2.48	2.39
WO_1		2.40±0.1 ^a	2.41	2.45	2.30	2.40	2.37	2.43	2.45	2.56	2.56	2.43
WO_7		2.52±0.1 ^a	2.37	2.81	2.49	2.52	2.52	32.51	2.53	2.59	2.75	2.43
urine												
D_0		4.4±3.3 ^a	0.72	1.89	1.53	2.72	4.53	8.31	7.83	9.35	0.90	3.47
LDT		20.4±6.6 ^b	9.70	15.44	18.73	27.74	30.64	15.73	24.95	22.53	25.74	22.95
WO_1		20.9±5.1 ^b	19.20	11.31	25.75	22.28	24.26	19.86	23.16	15.20	19.33	22.42
WO_7		20.0±7.3 ^b	4.43	22.25	21.52	21.33	27.85	19.08	28.26	13.38	5.99	8.27

D_0: Sample before the first application of AS; LDT: last day of application of AS of the individual cow; WO_1: first day of wash-out period; WO_7: day 7 of wash-out period; ^{a,b}: mean values of the nine cows quitting treatment period. ^{a,b}: values with different superscripts differed significantly (p<0.05).

Figure 1: Calcium concentrations in urine in cows fed increasing amounts of AS that quit treatment period (n=9)

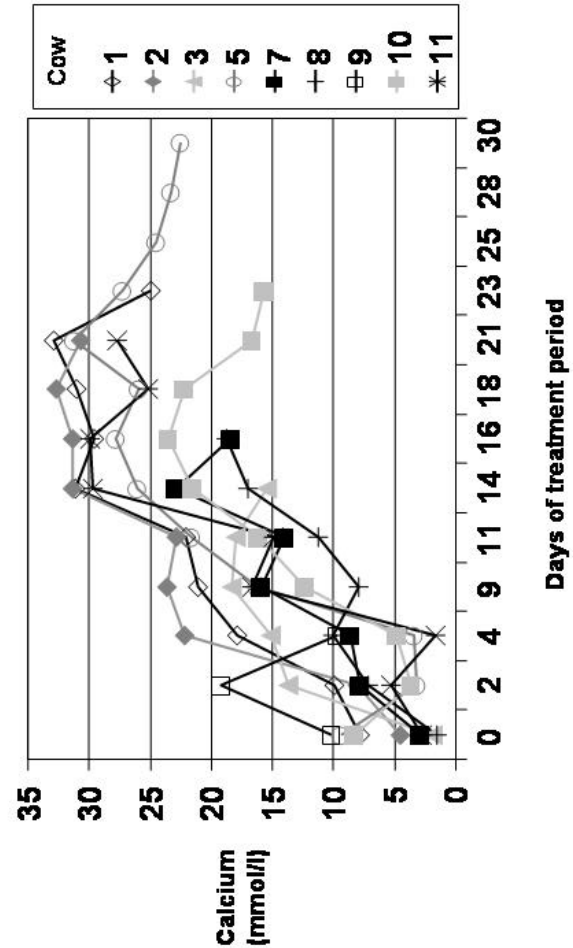
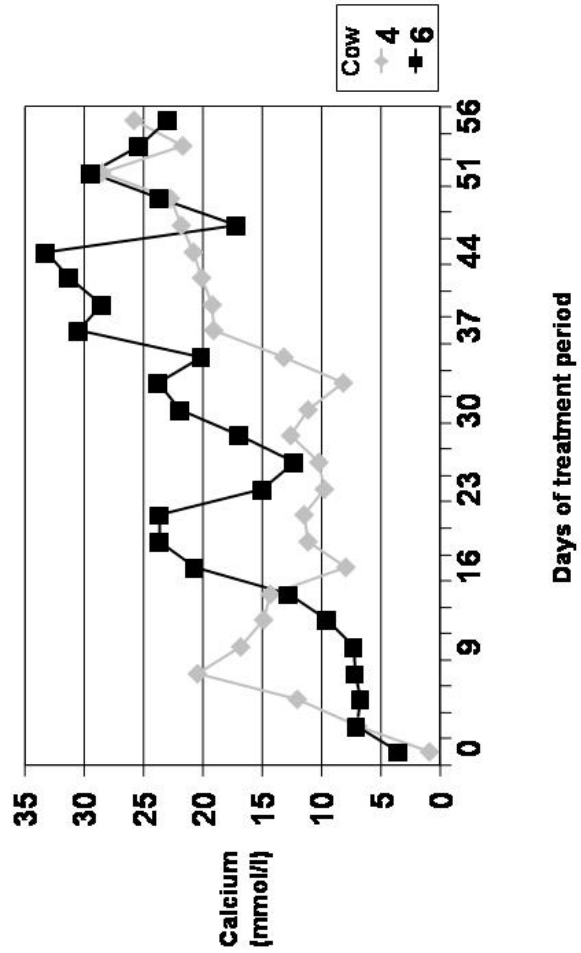


Figure 2: Calcium concentrations in urine in cows fed increasing amounts of AS (n=2)



first day of WO-period differed significantly from day Zero ($p < 0.001$). At the end of the WO-period NABE and base concentrations had increased and ammonium concentrations had decreased considerably, but all three parameters did not reach the initial values or normal ranges. The concentrations of these parameters on this day differed significantly from day Zero ($p < 0.001$) and the two other measuring points ($p < 0.007$), but NABE did not differ between day Seven of WO and the last day of TP ($p = 0.065$) or the first day of WO ($p = 0.248$).

The two remaining cows showed a different development of ABB after changing the hay. Although the dose of AS was increased weekly, the pH in blood increased till the last day of the treatment period but did not reach initial or normal values. NABE and urinal pH remained on a low level and did not show any response to the increasing amount of AS applied. In the wash-out period all parameters returned to normal values on day Seven, showing no signs of acidosis.

Changes in calcium metabolism

The serum concentrations of calcium remained nearly stable (table 5). No significant differences were detected. Calcium concentrations in urine increased sharply at the beginning of the TP and remained on an elevated level with increasing dose of AS (figure 1). A few days before the individual cow refused feed intake calcium excretion in urine decreased remarkably. In the wash-out period there was a new increase of urinal calcium concentrations. At all three measuring points urinal calcium concentrations differed significantly from day Zero ($p = 0.001$). The development of calcium excretion was different in the cows which did not refuse to eat the diet. During the first half of the TP there was a decrease of urinal calcium excretion but this was not combined with a severe reduction of feed intake. With feeding of the second batch of hay calcium concentrations in the urine of those two cows increased anew and remained elevated till the end (figure 2). In the wash-out period calcium excretion decreased rapidly although not reaching the physiological ranges (table 5).

Discussion

Feeding AS to dairy cows results in a metabolic acidosis, if the amount of AS chosen is high enough to exceed the concentrations of the major cations in the diet [10]. This slight acidosis is necessary for the activation of the calcium metabolism. In this trial the effect of increasing amounts of AS on the metabolism was investigated. The study was set in context of the need of very high doses of AS in regions where grass silages are a major component of transit cows. Since the AS were applied via the rumen cannula, any side-effect of the salt on DMI could be excluded. The application via the rumen cannula was chosen to have equal concentrations of AS in all cows at the same time.

All but one cow consumed the diet while receiving 3000meq/day. During the next two doses four animals (3500meq/day) and three animals (4000meq/kg AS) respectively quit TP showing strongly reduced or no appetite. All cows responded individually to the increasing dose of AS and left TP at different times. It is remarkable that the cows refused to eat the hay and concentrate although these feed stuffs did not contain any AS. The refusal of the diet seemed to be a result of the very severe metabolic acidosis [10]. Although the cows responded at individual points in time to AS, the clinical symptoms and the results of the parameters in blood and urine reacted similarly. When starting to feed AS, all parameters of ABB reacted as expected [4, 10, 13]. In urine, pH and NABE decreased rapidly till their low points and remained on these levels regardless the ongoing increase of AS-dose. When the

cows quit the TP, there were no differences in NABE and urinal pH detectable compared to the treatment days before. Comparing the values of the nine cows quitting TP with the two cows consuming the highest AS-dose without any problems also revealed that the parameters of ABB in urine are not helpful in differentiating between compensated and non-compensated clinical acidosis. It appeared that blood-pH was the only parameter reflecting the clinical acidosis. When the single cow refused eating blood pH was at its lowest, reaching values around 7.23. Since blood pH is the central control value of the organism and changes in blood pH are the result of any acid/alkaline load and the compensation efforts of the organism, the severe decrease of blood pH observed in the cows was a clear indication for an uncompensated acidosis. Before blood pH reached its low in the individual cow calcium excretion via the kidneys had begun to decrease starting from a very high level. These high urinal calcium concentrations were the result of the increased mobilisation of calcium from the bone in exchange of the hydrogen ions as one mechanism of the compensation of acidosis [2]. Since the calcium is not used in this amount by the non-lactating cow, it is excreted via the kidney. Besides the changes in urinal pH and NABE the high urinal calcium concentrations were another sign of an efficient compensation of the acidosis by using the calcium pool of the bone [3]. The decrease in calcium concentrations in urine might be interpreted as a breakdown of the compensating mechanisms. As the cow was no longer able to deal with the acid load anymore, it stopped eating to avoid further intake of the anionic diet [10]. The results of the clinical examination of the individual cows on the first day of off-feed were similar, regardless of the dose of AS they had consumed. The off-feed was accompanied by bradycardia. The reduction of the heart was a result of the increased calcium mobilisation. Calcium has a positive inotropic effect on the heart muscle resulting in an increased blood volume per beat and in consequence a decreased heart rate. It is worth mentioning that the respiratory rate remained uninfected. This showed clearly that in adult cattle the lung plays not the major role in compensating acidosis as in the young calf.

At the end of WO-period blood pH had reached the initial values. But all other parameters showed clearly the acid burden. Whereas BE and bicarbonate concentrations were approaching the initial values and did not significantly differ from day Zero, all parameters in the urine were still below the physiological ranges indicating that the organism still had to deal with acidosis. As the blood pH showed physiological values at the end of WO-period, it can be stated that this acidosis in WO-period was fully compensated. It is remarkable that the acidosis induced by AS persisted up to one week after stopping the application of AS. The results also show clearly, that analysis of urine samples is more qualified than analysis of blood samples to detect any compensated burden of ABB.

Two cows consumed up to 6000meq AS (-472meq/kg DM) without any clinical signs of acidosis. Both cows received the hay of better quality in the second half of TP, resulting in a higher total DMI than in the first half. The increased DMI increased the DCAD even though more AS were applied. But DCAD was still in ranges where most of the other cows refused eating. The two cows showed remarkable changes in acid-base-balance while consuming the high doses of AS. In urine pH, NABE, base concentrations and calcium excretion clearly showed the acid load. In blood all parameters returned slowly but steadily to physiological ranges. At the end of TP no signs of acidosis were seen in the blood. The results of these two cows show that single cows may have a high tolerance of AS and that the quality of the feed stuff might be another important factor for the cow in dealing with AS besides

the amount of AS fed. The cows consumed more kg of the better hay. The higher intake resulted in a higher proportion of NDF. This would induce more chewing activity, more phosphor buffer in the rumen and as result a better acid-base balance in the rumen. This might help the cow in dealing with the metabolic acidosis.

Conclusions

The results obtained show that up to a DCAD of -209meq/kg DM no harmful effect of clinical acidosis has to be expected. If DCAD decreases below this value, animals individually react with signs of clinical acidosis, refusal of feed and bradycardia. Changes in urinal pH and NABE clearly reflect the acid load of the organism and the compensating work of the kidney. But both parameters are not useful to differentiate clearly between a compensated acidosis and a clinical one combined with a severe impact on the health of the cow. For such a diagnosis the measuring of blood-pH is indispensable. Individual animals may tolerate extremely high doses of AS without clinical symptoms. Apart from the dose of AS fed, the quality of the feedstuff is another factor enabling the cows to tolerate high doses of AS.

References

1. Block E. Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. *Journal of Dairy Science* 1984; 67: 2939-2948.
2. Block E. Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally related production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1994; 77: 1437-1450.
3. Gelfert CC, Zarrath M, Eustermann S, Staufenbiel R. Überwachung des Einsatzes saurer Salze in Milchviehherden durch Futter- und Harnuntersuchungen. *Praktischer Tierarzt* 2004; 85: 422-430 (in German with an abstract in English).
4. Goff JP. Macromineral disorders of the transition cow. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice* 2004; 20: 417-494.
5. Goff JP, Ruiz R, Horst RL. Relative acidifying activity of anionic salts commonly used to prevent milk fever. *Journal of Dairy Science* 2004; 87: 1245-1255.
6. Joyce PW, Sanchez WK, Goff JP. Effect of anionic salts in prepartum diets based on alfalfa. *Journal of Dairy Science* 1997; 80: 2866-2875.
7. Kocabagli N, Kahraman R, Abas I, Eseceli H, Alp M. The effects of supplemental anionic salts and probiotic in perpartum diets on milk production and quality and incidence of milk fever in dairy cows. *Turkish Journal of Veterinary Animal Science* 2001; 25: 743-751.
8. Kutas F. Determination of net-acid-base excretion in the urine of cattle. *Acta veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae* 1965; 15: 147-153.
9. Lachmann, G. 1981. Ätiologie, Pathogenese, Diagnostik, Therapie und Prophylaxe der alimentären Azidose des Rinder. Dissertation zur Promotion B, Universität Leipzig (in German with an abstract in English).
10. Oetzel GR. The dietary cation-anion difference concept in dairy cattle nutrition: possibilities and pitfalls. Recent developments and perspectives in bovine medicine. Kaske M., Scholz H. and Höltershinken M. (Ed.), 2002; 198-208.
11. Oetzel GR, Barmore JA. Intake of a concentrate mixture containing various anionic salts fed to pregnant, non lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1993; 76: 1617-1623.
12. Oetzel GR, Fettman MJ, Hamar DW, Olson JD. Screening of anionic salts for palatability, effect on acid-base-status, and urinary calcium excretion in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1991; 74: 965-971.
13. Oetzel GR, Olson JD, Curtis CR, Fettman MJ. Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1988; 71: 3302-3309.
14. Phillippo M, Reid GW. Parturient hypocalcaemia in dairy cows: effects of dietary acidity on plasma minerals and calciotropic hormones. *Research in Veterinary Science* 1994; 56: 303-309.
15. Schröder A, Eustermann S, Zarrath M, Staufenbiel R. Stoffwechseluntersuchungen in drei Hochleistungsmilchviehbetrieben zu dem neuen Salz "Transifit". Proceedings of 7. Symposium Fütterung und Management von Kühen mit hohen Leistungen. 23.01.2003 Neuruppin p. 67-81 (in German).
16. Vagnoni DB, Oetzel GR. Effects of dietary cation-anion difference on the acid-base status of dry cows. *Journal of Dairy Science* 1998; 81: 1643-1652.

2.11.

Auswirkungen einer gleichzeitigen Gabe von sauren Salzen und Pansenpuffern auf den Säuren-Basen-Haushalt und Mineralstoffwechsel von Milchkühen

Gelfert, Carl-Christian, Simone Hauser, Antje Löptien, Nicole Montag,
Mareike Passmann, Walter Baumgartner und Rudolf Staufenbiel

Erschienen in:

Berliner Münchner Tierärztliche Wochenschrift 119, 244-250 (2006)

Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG 2006,

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. **119**, 244-250,

www.schluetersche.de/service/sms/zeitschriften/tiermedizin/berliner_und_muenchner_tier_aerztliche_wochenschrift/361991.html

Zusammenfassung

Mit der Studie wurde der Einfluss einer gleichzeitigen Gabe von sauren Salzen und Pansenpuffern auf den nicht laktierenden Organismus untersucht. Elf pansenfistulierten, trocken stehenden, nicht tragenden Kühen wurden über einen Zeitraum von jeweils acht Tagen gleiche Äquivalentmengen eines sauren Salzes (CaCl_2 oder CaSO_4) und eines Pansenpuffers (NaHCO_3 oder KHCO_3) während der Fütterung über die Pansenfistel eingegeben. Jeweils am Ausgangstag und am achten Tag der Zufütterung wurden Blut-, Harn- und Pansensaftproben entnommen und nachfolgende Parameter bestimmt: Vollblut: pH, Base Exzess, Bikarbonatkonzentration; Serum: Natrium, Kalium, Chlorid, Kalzium Harn: pH, Netto-Säuren-Basen-Ausscheidung, Natrium, Kalium, Chlorid, Kalzium. In den Pansensaftproben wurde der pH-Wert bestimmt. In der statistischen Auswertung wurden mittels einfacher ANOVA die Werte am Tag 8 mit denen am Ausgangstag (Tag 0) verglichen. Die Veränderungen im Säuren-Basen-Haushalt waren in ihrem Ausmaß und hinsichtlich ihrer statistischen Bedeutung sehr gering. Die meisten statistisch abzusichernden Veränderungen traten auf, wenn NaHCO_3 mit einem sauren Salz kombiniert verfüttert wurde. In diesen Fällen konnte am achten Tag der Zufütterung eine leichte, azidotische Belastung nachgewiesen werden ($p < 0,05$). Gleichzeitig stieg der Kalziumgehalt im Serum leicht an ($p < 0,05$). Veränderungen in Richtung einer Alkalose konnten bei keiner Salz/Puffer-Kombination beobachtet werden. Eine gleichzeitige Verabreichung von sauren Salzen und Pansenpuffern führt zu einem Wirkungsverlust der sauren Salze. Es kommt weder zu einer ausreichenden Ansäuerung im Organismus noch zu der für die Prophylaxe der Gebärpause notwendige Aktivierung des Kalziumstoffwechsels. Damit dürfen Kühe in den letzten Wochen ante partum keine Pansenpuffer erhalten, wenn eine gleichzeitige Gebärpauseprophylaxe mit sauren Salzen erfolgt.

Summary

In this study, the influence of simultaneous application of anionic salts (AS) and rumen buffer (RB) on the metabolism of dairy cows was examined. Eleven rumen fistulated, non-pregnant and non-lactating dairy cows received equal amounts of one AS (CaCl_2 or CaSO_4) and one RB (NaHCO_3 or KHCO_3) via rumen cannula during feeding time over a period of eight days. Before the first application of AS and RB and on day eight of treatment period, blood, urine and rumen fluid samples were taken. The following parameters were measured: whole blood: pH, base excess, bicarbonate; serum: sodium, potassium, chloride, calcium; urine: pH, net acid base excretion, sodium, potassium, chloride, calcium; rumen fluid: pH. The changes of each parameter were compared via ANOVA. The changes in acid-base balance on day eight were very small, although significant. But p-values showed that the statistical evidence was low. The most changes occurred when NaHCO_3 was fed in combination with one of the AS used. In this case a small acidogenic load was seen in blood ($p < 0.05$), and calcium concentrations increased slightly ($p < 0.05$). No alkalotic reaction could be detected when any combination of AS and RB were given to the cows.

Simultaneous application of AS and RB results in a loss of effectivity of AS. Neither an adequate acidification of blood nor an activation of calcium metabolism occurred. In feed ration for cows in the last weeks of pregnancy, rumen buffer must not be fed, if anionic salts are given for prevention of parturient paresis.

2.11. Auswirkungen einer gleichzeitigen Gabe von sauren Salzen und Pansenpuffern auf ...

Abbildung 1 Versuchsprotokoll der jeweils achttägigen Versuchsabschnitte und Wash-out-Phasen



VA: Versuchsabschnitt; VA 1: KHCO_3 kombiniert mit CaCl_2 oder CaSO_4 ; VA2: NaHCO_3 kombiniert mit CaCl_2 oder CaSO_4 ; VA 3: NaHCO_3 und KHCO_3 kombiniert mit CaCl_2 oder CaSO_4

Einleitung

Die Gefahr von Stoffwechselerkrankungen ist für die Milchkuh im peripartalen Zeitraum deutlich höher als in der übrigen Laktation (Erb und Gröhn, 1988; Esslemont und Kossaibati, 1996). Zwei Stoffwechselerkrankungen stehen dabei im Vordergrund: die Hypokalzämie und die Pansenazidose. Die Hypokalzämie wird hervorgerufen durch den deutlichen Mehrbedarf an Kalzium aufgrund der beginnenden Laktation. Eine häufige Ursache für Pansenazidosen liegt in der Fütterung, da aufgrund der physiologischen Reduktion der Futteraufnahme, die schon ante partum einsetzt, die Ration eine hohe Energiedichte und damit einen hohen Gehalt an leicht verdaulichen Kohlenhydraten aufweisen muss. Zur Vorbeugung beider Stoffwechselstörungen werden im zunehmenden Maße Futterzusatzstoffe eingesetzt. Saure Salze induzieren ante partum durch die von ihnen hervorgerufene leichte metabolische Azidose (Oetzel, 2002) eine erhöhte Aktivität des Kalziumstoffwechsels. Pansenpuffer, meist in Form von Natriumbikarbonat, wirken möglichen Azidosen im Pansen entgegen (Bigner et al., 1997; Gökce und Imren, 1998; Kilmer et al., 1981). Beide Futterzusatzstoffe müssen sorgfältig in die Ration eingemischt werden. Nur dann ist gewährleistet, dass die Tiere eine wirksame Menge aufnehmen und vor allem die sauren Salze aufgrund ihres schlechten Geschmacks nicht selektieren. Für kleine Herden ergibt sich nun ein Problem. Während es in großen Herden ab 300 Kühen arbeitstechnisch keine Schwierigkeit darstellt, Rationen für die einzelnen Laktationsstadien zu berechnen und zu füttern, sind in Betrieben mit geringeren Tierzahlen die entsprechenden Gruppen zu klein. Dies trifft im Besonderen auf die Transitzühe in den letzten drei Wochen ante partum und die Frischabkalber zu. Auf solchen Betrieben wird in den letzten Wochen ante partum und in der Frühaktation meist nur eine Ration gefüttert, da die Ansprüche der Kühe in diesen Laktationsstadien sehr ähnlich sind. Wenn Milchviehbetriebe mit Tierzahlen unter 300 sowohl saure Salze als auch Pansenpuffer einsetzen wollen oder müssen, stellt sich die Frage, ob die beiden Futterzusatzstoffe wie saure Salze oder Natriumbikarbonat gemeinsam in die Gesamtration eingemischt werden können ohne dass ein Wirkungsverlust auftritt. In Hinblick auf eine Vereinfachung der Prophylaxe wäre das zu wünschen.

Material und Methodik

Die Untersuchungen wurden an elf pansenfistulierten, nicht-tragenden, nicht-laktierenden Milchkuhen durchgeführt. Alle Kühe waren klinisch gesund. Die Tiere hatten mindestens drei Laktationen abgeschlossen, ihr Alter variierte zwischen 6 und 11 Jahren. Für die Dauer der Versuche standen die Kühe in Anbindehaltung auf Betonfußböden mit Stroheinstreu. Jedem Tier standen ein Fressplatz und eine Selbsttränke zur Verfügung. Die Tiere wurden zweimal täglich gefüttert. Die Grundration bestand aus 8 kg Heu und 2 kg eines kommerziellen Krafftutters (19% Rohprotein, 6,27 NEL). Zusätzlich wurden 300 g Futterkalk gefüttert, um die beim Einsatz von sauren Salzen empfohlenen erhöhten Kalziumgehalte der Ration zu erreichen.

2.11. Auswirkungen einer gleichzeitigen Gabe von sauren Salzen und Pansenpuffern auf ...

Tabelle 1: Übersicht über die Mengen verabreichter saurer Salze und Pansenpuffer in den einzelnen Versuchsabschnitten

Versuch	Saures Salz	Menge g/d	Pansenpuffer	Menge g/d	Anzahl Tiere
VA 1	Kalziumchlorid	166,5 g ¹	Kaliumbikarbonat	150 g ¹	5
	Kalziumsulfat	204 g ¹	Kaliumbikarbonat	150 g ¹	6
VA 2	Kalziumchlorid	166,5 g ¹	Natriumbikarbonat	126 g ¹	5
	Kalziumsulfat	204 g ¹	Natriumbikarbonat	126 g ¹	6
VA 3	Kalziumchlorid	166,5 g ¹	Kaliumbikarbonat + Natriumbikarbonat	75 g ² 63 g ²	5
			Kalziumsulfat	204 g ¹	
				63 g ²	

¹: entspricht 1,5 Äquivalenten; ²: entspricht 0,75 Äquivalenten

In jeder Versuchsphase erhielten die Kühe für acht Tage jeweils gleiche Äquivalente saurer Salze und Pansenpuffer verabreicht (Tabelle 1). Die Zusammensetzung der Ration in den einzelnen Versuchsabschnitten ist in der Tabelle 2 aufgelistet. Die verabreichten Mengen an sauren Salzen und Pansenpuffern entsprachen solchen, die üblicherweise in der Milchviehfütterung eingesetzt werden. Die Salze und Puffer wurden jeweils in destilliertem Wasser aufgelöst und nacheinander über die Pansenfistel in den Vormagen eingegeben. Dabei wurde in den ersten beiden Versuchsabschnitten (Abbildung 1) jeweils ein Pansenpuffer mit je einem sauren Salz kombiniert und im dritten Abschnitt ein Gemisch aus den zwei Pansenpuffern mit den Salzen verabreicht. Pro Versuchsabschnitt erhielten je fünf Kühe Kalziumchlorid mit einem Puffer und je sechs Kühe Kalziumsulfat mit einem Puffer. Die einzelnen Versuchsabschnitte wurden durch eine achttägige Washout-Phase unterbrochen, um ein Überschneiden der Wirkungen zu vermeiden. Am jeweils ersten Tag eines Versuchsabschnittes wurden vor der ersten Gabe der Salze und Puffer Pansensaft-, Blut- und Harnproben entnommen (Nullprobe). Eine weitere Probenentnahme erfolgte am Tag 8 der Versuchsphase zwei Stunden nach der morgendlichen Fütterung. Die Entnahme der Blutproben erfolgte durch Punktion der Vena jugularis. Für die Bestimmung der Blutgase wurde das Blut anaerob in heparinisierte Röhrchen aufgenommen, für die Bestimmung der Mengenelemente in Röhrchen mit Kaolinzusatz. Die Provokation des Harnabsatzes erfolgte durch manuelle Stimulation an der Vulva. Der Harn wurde in Plastikgefäßen aufgefangen. Die Pansensaftproben wurden über die Pansenfistel entnommen. Die Bestimmung der Blutgase erfolgte direkt nach der Blutentnahme (ABL5 Radiometer, Kopenhagen, Dänemark). Ebenso wurde direkt im Stall der pH-Wert im Pansensaft und im Harn mittels pH-Meter (WTW, Weilheim, Deutschland) bestimmt. Danach wurde der Harn bis zur weiteren Untersuchung bei -18°C tiefgefroren. Das durch Zentrifugation (4000 g, 10 Minuten) der Kaolinröhrchen gewonnene Serum wurde dekantiert und bis zur weiteren Verwendung bei -18°C tiefgefroren. Die Messung der Mengenelementkonzentrationen in den Harn- und Blutproben erfolgte mittels Atomabsorptionsspektrophotometrie (AAS PU 9200, Philips, Niederlande) (Kalzium) und Atomemissionsspektrophotometrie (Natrium, Kalium). Die Chloridkonzentration wurde mittels ionenselektiver Elektrode (Beckman Synchron EL-ISE 4, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA) bestimmt. Neben den Mengenelementen wurde in den Harnproben mittels Titration die Netto-Säuren-Basen-Ausscheidung (NSBA) bestimmt (Kutas, 1965; Lachmann, 1981). Aus den verbrauchten Mengen an Salzsäure und

Natronlauge wurden dann die Konzentrationen an Basen, Säuren und Ammonium kalkuliert und die NSBA berechnet.

Für die statistischen Auswertungen (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) wurden in einer ersten Varianzanalyse die Ausgangswerte am Tag 0 zwischen den einzelnen Versuchsabschnitten verglichen. Dabei ergab sich, dass sich die Werte eines Versuchsabschnittes von den anderen unterschieden. Deshalb wurden die weiteren statistischen Tests für jede Salz-Puffer-Kombination getrennt durchgeführt. Mittels einer einfachen Varianzanalyse mit dem Faktor Tag und dem Zufallsfaktor Kuh wurden die Veränderungen in den einzelnen Parametern im Blut und Harn verglichen. Das Signifikanzniveau wurde auf $p=0,05$ festgelegt. Da die Wahrscheinlichkeit für zufällig signifikante Ergebnisse bei der Vielzahl getesteter Parameter stark ansteigt (Sterne und Smith, 2001), werden die Veränderungen auch hinsichtlich der Deutlichkeit, mit der der p-Wert unterschritten wird, bewertet.

Ergebnisse

Bei den Kühen, die Kalziumchlorid in Kombination mit beiden Pansenpuffern erhielten, waren die Ausgangswerte einzelner Harnparameter deutlich ($p < 0,019$) verschieden von den Tag-0-Werten in den anderen Versuchsabschnitten. Während bei allen Kühen in Hinblick auf die Werte in Blut und Harn keine Anzeichen einer Störung des Säure-Basen-Haushaltes vorlagen, hatten die Kühe, die beide Pansenpuffer mit Kalziumchlorid erhielten, statistisch gesichert niedrigere Ausgangswerte in den Harnparametern pH-Wert, Basengehalt und NSBA. Die Werte lagen unter den physiologischen Grenzwerten und damit im azidotischen Bereich. Wie auch zu Beginn der anderen Versuchsabschnitte waren die Tiere klinisch unauffällig. In diesem sowie in allen anderen Versuchsabschnitten wurde die Ration von den Kühen vollständig aufgenommen. Die achttägige gleichzeitige Zufuhr eines Pansenpuffers und eines sauren Salzes führte in den verschiedenen Testreihen nur zu marginalen Veränderungen im Säuren-Basen-Haushalt im Blut (Tabelle 3). Dabei traten die meisten Veränderungen auf, wenn Natriumbikarbonat zusammen mit Kalziumchlorid verabreicht wurde. Im Blut wurde ein leichter Rückgang des pH-Wertes ($p=0,022$), des Base Exzess ($p=0,012$) und der Bikarbonatkonzentration ($p=0,019$) festgestellt. Im Harn waren dagegen bis auf den Säuregehalt keine signifikanten Veränderungen nachweisbar. Letzterer war am achten Tag gegenüber dem Tag 0 deutlich angestiegen ($p=0,008$).

Die gleichzeitige Zufuhr von Natriumbikarbonat oder Kaliumbikarbonat und Kalziumsulfat führte ebenfalls zu einem Rückgang der Bikarbonatkonzentration im Blut ($p=0,005$ bzw. $0,033$). Bei den Kühen, die beide Pansenpuffer zusammen mit Kalziumchlorid erhielten, waren am achten Tag keine Anzeichen einer azidotischen Belastung mehr feststellbar. Die NSBA, der pH-Wert im Harn und der Basengehalt lagen wieder im physiologischen Bereich. Dieser Konzentrationsanstieg gegenüber dem Tag 0 war beim Basengehalt statistisch abzusichern ($p=0,030$).

Die erhöhte Zufuhr an Mengenelementen durch die Pansenpuffer und sauren Salze beeinflusste vor allem das Ausscheidungsverhalten des jeweiligen Elementes über den Harn. So führte die Zufuhr von Kalziumchlorid in allen Versuchsabschnitten zu einem deutlichen Anstieg der Chloridkonzentration im Harn oder Blut (Tabelle 4). Unter der Zugabe von Natriumbikarbonat stieg die Natriumausscheidung im Urin deutlich an.

2.11. Auswirkungen einer gleichzeitigen Gabe von sauren Salzen und Pansenpuffern auf ...

Tabelle 2: Zusammensetzung der Grundration und Analyse der Futterinhaltsstoffe¹

Versuch	VA1	VA2	VA3
Rationszusammenstellung			
Heu (kg)	8	8	8
Krafftutter (kg)	2	2	2
Futterkalk (kg)	0,3	0,3	0,3
Rationsanalyse			
NEL (MJ/kg TS ²)	5,39	4,93	5,00
Na (g/kg TS)	0,5	0,31	0,44
K (g/kg TS)	18,14	16,88	14,03
Cl (g/kg TS)	4,61	4,23	2,48
S (g/kg TS)	1,42	0,80	0,47
Ca (g/kg TS)	15,32	11,92	12,80
Mg (g/kg TS)	2,68	1,60	1,77
P (g/kg TS)	3,11	2,86	2,71
DCAD (mEq)	276	287	288

¹: Blgg, Parchim, Deutschland ²: TS: Trockensubstanz

Dieser Anstieg ließ sich statistisch nicht für alle Versuchsabschnitte absichern (Tabelle 4). Die Kaliumkonzentrationen zeigten weder im Blut noch im Harn statistisch bedeutsame Unterschiede. Die Kalziumkonzentrationen dagegen veränderten sich im Blut signifikant ($p < 0,01$). Dabei kam es bei Verabreichung der sauren Salze mit Natriumbikarbonat zu einem Anstieg ($p = 0,007$) und bei Gabe der sauren Salze mit beiden Puffern zu einem Abfall ($p = 0,007$) der Kalziumkonzentrationen im Serum. (Tabelle 4). Die Kalziumkonzentrationen im Harn änderten sich deutlich nur bei den Kühen die Natriumbikarbonat und Kalziumchlorid erhielten. Nach acht Tagen war die Kalziumausscheidung über den Harn angestiegen ($p = 0,045$).

Diskussion

Zusatzstoffe wie saure Salze und Pansenpuffer finden immer mehr Eingang in die Fütterung von Milchkühen im peripartalen Zeitraum, um Stoffwechselstörungen wie Hypokalzämie und Pansenazidose vorzubeugen. Eine Gabe von sauren Salzen führt zu einer leichten metabolischen Azidose, die man im Blut (Goff et al., 2004) und Harn (Tucker et al., 1991, 1992) nachweisen kann, und infolge der Kompensation zu einer Mobilisierung von Kalzium aus dem Knochen (Takagi und Block, 1991). Das Kalzium wird gegen die H^+ -Ionen ausgetauscht und bei nicht-laktierenden Tieren wie den Versuchskühen über den Harn ausgeschieden. (Gelfert et al., 2004). Eine alleinige Zufuhr von Pansenpuffern äußert sich in einer alkalischen Stoffwechsellage, welche mit entsprechenden Veränderungen im Blut (Bigner et al., 1997; Escobosa et al., 1984; Gökce und Imren, 1998) und Harn (Bender et al., 2001; 2003; Erdman et al., 1980) einhergeht. Da vom chemischen Charakter her die beiden Zusatzstoffe auf den Säuren-Basen-Haushalt entgegengesetzt einwirken (Bender et al., 2003), dürften einer gleichzeitigen Verabreichung Grenzen gesetzt sein. In Milchviehbetrieben mit kleineren Tierzahlen wäre aber eine mögliche gleichzeitige Verabreichung hilfreich, um den Anforderungen der Milchkuh in den Wochen um die Geburt in nur einer Ration gerecht werden zu können. Daher wurde in den folgenden Untersuchungen überprüft, wie der Säuren-Basen-Haushalt bei einer gleichzeitigen Gabe von sauren Salzen und Pansenpuffern beeinflusst wird.

2.11. Auswirkungen einer gleichzeitigen Gabe von sauren Salzen und Pansenpuffern auf ...

Tabelle 3: Mittelwerte und Standardabweichung von Parametern des Säuren-Basen-Haushaltes und der Kalziumkonzentration im Blut, Harn und Pansensaft von Milchkühen, die gleichzeitig saure Salze und Pansenpuffer erhielten

		Saure Salze und Puffer					
Tag		KHCO ₃ + CaCl ₂	KHCO ₃ + CaSO ₄	NaHCO ₃ + CaCl ₂	NaHCO ₃ + CaSO ₄	KHCO ₃ + NaHCO ₃ + CaCl ₂	KHCO ₃ + NaHCO ₃ + CaSO ₄
		n=5	n=6	n=5	n=6	n=5	n=6
Blut							
Ph	0	7,37±0,03	7,39±0,02	7,39±0,01 ^a	7,39±0,02	7,38±0,03	7,37±0,01
	8	7,37±0,03	7,38±0,02	7,37±0,01 ^b	7,39±0,02	7,38±0,04	7,38±0,01
HCO ₃ - (mmol/l)	0	25,8±2,8	26,8±1,5 ^a	25,4±0,9 ^a	25,7±1,2 ^c	23,8±1,9	25±1,7
	8	24,0±0,7	24,8±1,3 ^b	22,2±2,3 ^b	23,2±1,2 ^d	24,4±1,8	24,3±2,2
BE (mmol/l)	0	0,8±2,8	2,3±1,2	0,6±0,5	1,5±1,1 ^a	-0,4±2,0	0,7±1,0
	8	-0,4±1,1	0,8±1,3	-1,6±2,1	-0,3±1,0 ^b	0,2±2,3	-0,2±1,7
Harn							
pH	0	8,2±0,04 ²	8,1±0,24 ²	8,2±0,05 ²	8,26±0,1 ²	7,46±1,1 ²	8,47±0,1 ¹
	8	8,2±0,12	8,3±0,01	8,1±0,2	8,22±0,2	8,2±0,3	8,39±0,1
NSBA(mmol/l)	0	151±11 ¹	133±89 ²	136±34 ²	212±49 ¹	30±52 ²	164±66 ¹
	8	157±69	162±56	145±70	177±77	130±55	180±63
Basen (mmol/l)	0	254±36 ¹	228±109 ²	204±39 ²	297±60 ¹	108±48 ^{a2}	233±75 ²
	8	238±86	240±67	250±58	270±69	188±49 ^b	268±78
Säuren (mmol/l)	0	98±31	90±23	63±17 ^c	80±25	70±31	65±11
	8	78±22	74±14	98±14 ^d	87±16	79±21	84±19
Pansensaft							
pH	0	6,55±0,2	6,45±0,2	6,68±0,1	6,60±0,2	6,45±0,1	6,59±0,2
	8	6,7±0,1	6,62±0,2	6,54±0,1	6,69±0,0	6,48±0,1	6,61±0,2

Mittelwerte unterscheiden sich zwischen Tag 0 und Tag 8 ^{a, b} (p<0,05); ^{c, d} (p<0,01); ^{1,2}: Die Mittelwerte unterscheiden sich zwischen dieser Gruppe und allen anderen Gruppen am Tag 0

Die vorliegenden Untersuchungen ergaben, dass die erwarteten Wirkungen der beiden Futterzusatzstoffe nahezu ausblieben. Weder konnten die oben erwähnten Auswirkungen auf den Säuren-Basen-Haushalt und den Kalziumstoffwechsel durch saure Salze beobachtet werden (Gelfert et al., 2004; Goff et al., 2004; Tucker et al., 1991), noch kam es zu einer Alkalisierung des Harns durch die Pansenpuffer, wie sie in anderen Studien beobachtet wurden (Bender et al., 2003; Bigner et al., 1997; Escobosa et al., 1984; Gökce und Imren, 1998). Die wenigen statistisch abzusichernden Beobachtungen traten nicht bei allen Untergruppen im gleichen Maße auf und waren auch nicht gleichmäßig einem Puffer oder einem sauren Salz zuzuordnen. Solche uneinheitlichen Ergebnisse sind auch aus anderen Untersuchungen bekannt (West et al., 1987). Der Grund für die minimalen und uneinheitlichen Veränderungen liegt in der ständigen Bereitschaft des Organismus, den Säuren-Basen-Haushalt in seinen engen physiologischen Grenzen zu halten, um eine optimale Funktion des Gesamtorganismus zu garantieren (Tucker et al., 1988). Die Vielzahl der durchgeführten, statistischen Tests erhöht naturgemäß die Wahrscheinlichkeit, dass Ergebnisse nur aufgrund des Zufalls einen p-Wert aufweisen, welcher unter dem allgemein verwendeten Signifikanzniveau (p=0,05) liegt. Für eine Bewertung der Bedeutung der gefundenen statistisch abgesicherten Unterschiede ist daher auch entscheidend, in welchem Maße der p-Wert unterschritten ist (Sterne und Smith, 2001). In den meisten Fällen unterschreitet der p-Wert gerade die Grenze von 0,05. Die Beweiskraft gegen die Nullhypothese ist daher noch gering (Sterne und Smith, 2001).

2.11. Auswirkungen einer gleichzeitigen Gabe von sauren Salzen und Pansenpuffern auf ...

Tabelle 4: Mittelwerte und Standardabweichung der Mengenelementkonzentrationen im Serum und Harn von Milchkühen, die gleichzeitig saure Salze und Pansenpuffer erhielten

		Saure Salze und Puffer					
Tag		KHCO ₃ + CaCl ₂	KHCO ₃ + CaSO ₄	NaHCO ₃ + CaCl ₂	NaHCO ₃ + CaSO ₄	KHCO ₃ + NaHCO ₃ + CaCl ₂	KHCO ₃ + NaHCO ₃ + CaSO ₄
		n=5	n=6	n=5	n=6	n=5	n=6
Natrium (mmol/l)							
Serum	0	137±2	137±3	139±1 ^a	139±4	138±3	139±1
	8	139±4	139±2	141±2 ^b	141±2	139±3	140±1
Harn	0	1,3±2,7	0,2±0,2	0,04±0,05	4,4±10,1 ^c	5,0±11,2	0,1±0,2 ^a
	8	0,8±1,1	1,4±2,6	15±15	34,3±18,7 ^d	15,2±17,7	11±11 ^b
Kalium (mmol/l)							
Serum	0	4,0±0,2	3,6±0,5	3,7±0,7	4,1±0,3	3,7±0,5	3,7±0,4
	8	3,9±0,4	3,6±0,5	3,8±0,3	4,0±0,5	3,7±0,7	3,9±0,3
Harn	0	382±65	339±124	301±59	367±51	306±107	358±108
	8	416±63	419±62	349±42	381±34	353±45	363±83
Chlorid (mmol/l)							
Serum	0	99±5 ^a	100±3 ^c	101±2 ^a	101±3	102±3	102±2
	8	105±3 ^b	105±2 ^d	104±2 ^b	103±2	103±4	101±2
Harn	0	96±31 ^a	84±25	61±23 ^a	62±12	71±43 ^a	46±22 ^a
	8	153±23 ^b	93±12	112±34 ^b	85±44	172±60 ^b	83±31 ^b
Kalzium (mmol/l)							
Serum	0	2,3±0,1	2,3±0,1	2,27±0,05 ^c	2,23±0,09 ^c	2,5±0,2 ^c	2,5±0,1 ^c
	8	2,2±0,1	2,3±0,4	2,43±0,02 ^d	2,42±0,11 ^d	2,2±0,1 ^d	2,1±0,2 ^d
Harn	0	3,7±2,3	2,2±1,0	1,0±1,3 ^a	0,3±0,1	1,7±1,6	0,8±0,8
	8	1,5±2,3	1,3±1,5	4,7±3,2 ^b	1,7±2,0	2,1±2,9	1,7±1,2

Mittelwerte unterscheiden sich zwischen Tag 0 und Tag 8 ^{a, b} (p<0,05); ^{c, d} (p<0,01)

Trotzdem ist es auffällig, dass die meisten statistisch bemerkenswerten Veränderungen dann auftraten, wenn Natriumbikarbonat als Puffer mit einem sauren Salz kombiniert worden war. In diesem Falle kam es im Blut zu einem leichten Abfall im pH-Wert, beim Base-Exzess oder im Bikarbonatgehalt. Zeitgleich fanden sich leicht erhöhte Kalziumkonzentrationen im Blut und Urin. Ähnliche Ergebnisse finden sich in einer anderen Studie, in welcher eine Zufütterung von Natriumbikarbonat alleine mit einer kombinierten Fütterung aus Natriumbikarbonat und Kalziumchlorid verglichen wurde (Tucker et al., 1988). Allerdings wurden hier die Veränderungen zwischen den beiden Gruppen verglichen und nicht zum Ausgangswert vor der Zufütterung. Es bleibt bemerkenswert, dass bei einer Zufuhr gleicher Äquivalentmengen saurer Salze und Pansenpuffer bei diesen Tieren eine marginale, azidotische Belastung nachweisbar war, obwohl rein rechnerisch eine Wirkung auf den Säuren-Basen-Haushalt ausbleiben müsste. Die Wirkung auf den Kalziumstoffwechsel war allerdings zu gering, um nach den Erfahrungen aus der Literatur auf eine ausreichende Prophylaxe einer Hypokalzämie schließen zu können (Gelfert et al., 2004). Nach den vorliegenden Untersuchungen kann eine unterschiedliche Wirkungsstärke des Kaliums und des Natriums nicht vollständig ausgeschlossen werden. Bei äquivalenter Zufuhr von Natrium oder Kalium und Chlor scheint das Natrium als Kation die Wirkung des Chlors nicht in der gleichen Weise neutralisieren zu können wie das Kalium. Für die Elemente Chlor, Natrium und Kalium sind keine unterschiedlichen Resorptions-

2.11. Auswirkungen einer gleichzeitigen Gabe von sauren Salzen und Pansenpuffern auf ...

raten bekannt. Demgegenüber soll Schwefel in geringerem Maße resorbiert werden als Chlorid. Daraus leitet sich möglicherweise eine geringere Wirkung der schwefelhaltigen sauren Salze ab (Goff, 2000; 2004, Goff et al., 2004; Tucker, 1991). Daher propagieren Goff et al. (2004), für den Schwefelgehalt der Ration einen Koeffizienten einzuführen, weil die Wirkung schwefelhaltiger saurer Salze auf bestimmte Parameter des Säure-Basen-Haushaltes nur 60 % der Wirkung chloridhaltiger Salze beträgt. Dies vermuteten auch Tucker et al. (1991), in ihren Untersuchungen konnten sie aber keinen statistisch bedeutsamen Unterschied in der Wirkung feststellen. Der einzige signifikante Unterschied zwischen Chlor- und Schwefelsalzen betraf den Chloridgehalt im Serum. Auch in der Arbeit von Goff et al. (2004) waren die Wirkungsunterschiede zwischen Schwefel und Chlorid nicht einheitlich über alle Parameter und Salze statistisch abzusichern und außerdem von der Menge der verabreichten sauren Salze abhängig. In den meisten aktuellen Arbeiten wird weiterhin die Formel zur Berechnung der Dietary Cation-Anion Balance (DCAB) benutzt, in der alle Elemente mit demselben Koeffizienten eingehen (Chan et al., 2005; Roche et al., 2005; Schauer et al., 2004). „Innerhalb der gewöhnlichen Konzentrationen der Mengenelemente im Futter ist diese Formel gut anzuwenden.“ (Oetzel, 2002). Schon Block (1994) wies daraufhin, dass die DCAB nur die Richtung vorgibt, mit der die im Futter enthaltenen Ionen auf den Organismus einwirken. Da der Aufwand, alle Kationen und Anionen der Futtermittel zu analysieren, unverhältnismäßig hoch ist, stellt die DCAB immer nur eine (sehr gute) Schätzung des tatsächlichen Wertes dar.

Eine mögliche andere Ursache für die gefundenen Unterschiede könnte in dem sehr niedrigen Natriumgehalt der Ausgangsration liegen. Die Natriumausscheidung im Harn lag in den Ausgangsproben nahe Null und deutete auf eine Unterversorgung hin. Es könnte daher ein generelles Missverhältnis von Natrium zum Chlorid im Organismus vorgelegen haben, welches durch die äquivalente Zufuhr der beiden Elemente nicht ausgeglichen wurde. Aus einem absoluten Natriummangel wurde ein relativer Mangel infolge der gleichzeitigen erhöhten Chloridzufuhr. Die Veränderungen im Säuren-Basen-Haushalt wären dann als hyperchlorämische Azidose zu interpretieren. Gleichzeitig würde es erklären, warum bei einer gleichzeitigen Zufuhr von Kaliumbikarbonat und einem sauren Salz Veränderungen im Säuren-Basen-Haushalt ausblieben.

Die signifikanten Veränderungen, die bei der gleichzeitigen Verfütterung beider Pansenpuffer und Kalziumchlorid auftraten, waren darauf zurückzuführen, dass die Tiere am Tag 0 an einer leichten, kompensierten, metabolischen Azidose litten und am Tag acht die Werte wieder im physiologischen Bereich lagen. Die zugeführten sauren Salze waren nicht in der Lage, die Azidose aufrecht zu halten. Leider konnte die eigentliche Ursache für die azidotische Belastung zu Beginn des Versuches nicht mehr eruiert werden. In den anderen Versuchsabschnitten blieb bei einer gleichzeitigen Verfütterung von Kaliumbikarbonat und sauren Salzen der Säuren-Basen-Haushalt nahezu unbeeinflusst. Ähnliche Ergebnisse sind aus Versuchen mit Schafen bekannt, denen gleichzeitig Kaliumbikarbonat und Milchsäure gefüttert wurden (Meyer und Stehling, 1972).

Insgesamt kann aus den vorliegenden Ergebnissen gefolgert werden, dass bei einer gleichzeitigen Verabreichung von sauren Salzen und Pansenpuffern eine Wirkung auf den Stoffwechsel nahezu ausbleibt. Damit ist vor allem hinsichtlich einer Prophylaxe der Gebärpause bei einem Einsatz von sauren Salzen in der Ration auf Pansenpuffer konsequent zu verzichten, um den Erfolg der sauren Salze nicht in Frage zu stellen.

References

- Bender, S., C.-C. Gelfert, R. Staufenberg (2003): Einsatz der Harnuntersuchung zur Beurteilung des Säure-Basen-Haushaltes in der Bestandsbetreuung von Milchviehherden. *Tierärztl. Praxis* 31, 132-142.
- Bender, S., C.-C. Gelfert, R. Staufenberg (2001): Einflüsse bestimmter Futterkomponenten in Milchkuhrationen auf diagnostische Parameter in Harnproben I. Säure-Basen-Haushalt. *Tierärztl. Umschau* 56, 639-644.
- Bigner, D. R., J. P. Goff, M. A. Faust, H. D. Työer, R. L. Horst (1997): Comparison of oral sodium compounds for the correction of acidosis. *J. Dairy Sci.* 80, 2162-2166.
- Block, E. (1994): Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally related production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77, 1437-1450.
- Chan, P.S., J.W. West, J.K. Bernard, J.M. Fernandez (2005): Effects of dietary cation-anion difference on intake, milk yield, and blood components of the early lactation cow. *J. Dairy Sci.* 88, 4384-4392.
- Erb, H. N., Y. T. Gröhn (1988): Epidemiology of metabolic disorders in periparturient dairy cow. *J. Dairy Sci.* 71, 2557-2571.
- Erdman, R. A., R. L. Botts, R. W. Hemken, L. S. Bulls (1980): Effect of dietary sodium bicarbonate and magnesium oxide on production and physiology in early lactation. *J. Dairy Sci.* 63, 923-930.
- Escobosa, A., C. E. Coppock, L. D. Rowe, W. L. Jenkins, C. E. Gates (1984): Effects of dietary sodium bicarbonate and calcium chloride on physiological response of lactating dairy cows in hot weather. *J. Dairy Sci.* 67, 574-584.
- Esslemont, R. J., M. A. Kossabati (1996): Incidence of production diseases and other health problems in a group of dairy herds in England. *Vet. Rec.* 139, 486-490.
- Gelfert, C.-C., M. Zarrath, S. Eustermann, R. Staufenberg (2004): Überwachung des Einsatzes saurer Salze in Milchviehherden durch Futter- und Harnuntersuchungen. *Prakt. Tierarzt* 85, 420-430.
- Gökce, G., H. Y. Imren (1998): Koyunlarda ruminal asidozis olaylarının yemlere sodyum bikarbonat ilavesiyle koruyucu tedavi denemeleri üzerinde çalışmalar. *Tr. J. Vet. Anim. Sci.* 22, 333-343.
- Goff, J.P. (2000): Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. *Vet. Clinics of North America: Food Animal practice* 16, 319-337.
- Goff, J.P. (2004): Macromineral disorders of the transition cow. *Vet. Clinics of North America: Food Animal practice* 20, 417-494.
- Goff, J. P., R. Ruiz, R. L. Horst (2004): Relative acidifying activity of anionic salts commonly used to prevent milk fever. *J. Dairy Sci.* 87, 1245-1255.
- Kilmer, L. H., L. D. Muller, T. J. Snyder (1981): Addition of sodium bicarbonate to rations of postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 64, 2357-2369.
- Kutas, F. (1965): Determination of net-acid-base excretion in the urine of cattle. *Acta vet. Acad. Sci. Hung.* 15, 147-153.
- Lachmann, G. (1981): Ätiologie, Pathogenese, Diagnostik, Therapie und Prophylaxe der alimentären Azidose des Rinder. Dissertation zur Promotion B, Universität Leipzig 1981.
- Meyer, H., W. Stehling (1972): Einfluss hoher Kalium und Milchsäuregaben auf den Mineralstoffwechsel und Säure-Basen-Haushalt beim Schaf. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 85, 201-207.
- Oetzel G.R., M.J. Fettman, D.W. Hamar, J.D. Olson (1991): Screening of anionic salts for palatability, effect on acid-base-status, and urinary calcium excretion in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74, 965-971.
- Oetzel, G. R. (2002) The dietary cation-anion difference concept in dairy cattle nutrition: possibilities and pitfalls. Recent developments and perspectives in bovine medicine. Kaske M., Schloz H. and Höltershinken M. (Ed.). 198-208.
- Roche, J.R., S. Petch, J.K. Kay (2005): Manipulating the Dietary Cation-Anion Difference via drenching to early-lactation dairy cows grazing pasture. *J. Dairy Sci.* 88, 264-276
- Schauer, G.S., G.P. Lardy, W.D. Slinger, M.L. Bauer, K.K. Sedivec (2004): Self-limiting supplements fed to cattle grazing native mixed-grass prairie in the northern Great Plains. *J. Anim. Sci.* 82, 298-306
- Sterne, J. A. C., G. D. Smith (2001) Shifting the evidence - what's wrong with significance tests? *Br. Med. J.* 322, 226-231.
- Takagi, H., E. Block (1991): Effects of reducing dietary cation-anion balance on calcium kinetics in sheep. *J. Dairy Sci.* 74, 4225-4237.
- Tucker, W. B., J. F. Hogue, G. D. Adams, M. Aslam, I. S. Stim, G. Morgan (1992): Influence of dietary cation-anion balance during the dry period on the occurrence of parturient paresis in cows fed excess calcium. *J. Anim. Sci.* 70, 1238-1250.
- Tucker, W. B., J. F. Hogue, D. F. Waterman, T. S. Swenson, Z. Xin, R. W. Hemken, J. A. Jackson, G. D. Adams, L. J. Spicer (1991): Role of sulfur or chloride in the dietary cation-anion balance equation for lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 69, 1205-1213.
- Tucker, W. B., Z. Xin, R. W. Hemken (1988): Influence of dietary calcium chloride on adaptive changes in acid-base status and mineral metabolism in lactating dairy cows fed a diet high in sodium bicarbonate. *J. Dairy Sci.* 71, 1587-1597.
- West, J. W., C. E. Coppock, D. H. Nave, J.M. Labore, L. W. Greene (1987): Effects of potassium carbonate and sodium bicarbonate on rumen function in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 70, 81-90.

2.12.

Duration of the effects of anionic salts on the acid base status in cows fed different anionic salts only once daily

Gelfert, Carl-Christian, Antje Löptien, Nicole Montag und Rudolf Staufenbiel

Erschienen in:

Research in Veterinary Science 86, 529-532 (2009)

Res. Vet. Sci. 86, 529-532, <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2008.10.009>

Acknowledgements

The authors gratefully thank Dr. Tichy from the Institute for Medical Physics and Biostatistics, at the Veterinary University of Vienna for statistical advice.

Summary

Seeing the fact that farm managers in Germany feed anionic salts to transition cows once daily, this study set out to evaluate whether the effects on the acid-base status (ABS) and calcium excretion in urine would persist throughout the entire day beyond this feeding practice. Eleven non-lactating, non-pregnant, Holstein-Friesian-cows with a rumen fistula were administered 2Eq of calcium chloride (CaCl_2 /five cows) or calcium sulfate (CaSO_4 /six cows) once daily for a period of 1 week. At day 7, blood and urine samples were taken every 4h starting at 06:00 a.m. before feeding the anionic salts, and then ending at the same time the next day. Feeding anionic salts to the cows induced metabolic acidosis in both of the groups. The changes tended to be greater in CaCl_2 -cows. After 12h, the acidosis lessened and the initial values were reached after 24h. The CaCl_2 -cows, however, still showed signs of compensated metabolic acidosis. The results of the present study showed that feeding anionic salts once daily confined the risk of an interrupted effect of the anionic salts on the acid-base status as well as calcium metabolism after 12 hours.

Introduction

Feeding a diet to cows that contains anionic salts in the last weeks before parturition in turn activates calcium metabolism (Goff, 2000). Research that was started in the early 1960s (Ender et al., 1962) revealed that cows in their last weeks of pregnancy can be protected from clinical parturient paresis by feeding chloride salts or sulfate salts, which are now widely used in order to prevent severe hypocalcaemia and parturient paresis in dairy cows around parturition (Goff, 2000). The monitoring of the use of anionic salts is necessary because cows might refuse consuming the diet due to the inherent bad taste of anionic salts (Oetzel and Barmore, 1993). Furthermore, the failures experienced when utilising this prophylactic method occur because of mistakes in feeding management. Feeding anionic salts is especially rather difficult in smaller and medium sized herds (<500 cows) as there is no special diet that exists for transition cows in the last 3 weeks before parturition. These cows are administered the same diet as the cows that are in early lactation, and the anionic salts must be additionally administered and mixed in by hand. Furthermore, a management decision by the farmer can stipulate feeding to occur once daily. In that case, the entire daily amount of the anionic salts is to be administered in the feed bunk, which will lead to the cows consuming most of the anionic salts within a rather short time (Goff, 2000). Confronted with this feeding technique through routine herd health management, the following study was initiated in order to evaluate whether the consumption of anionic salts once daily would result in a 24 hour effect on the acid-base status and calcium excretion in urine. One chloride salt and one sulfate salt were chosen in order to have one strong and one weak anionic salt (Goff et al., 2004).

Recent studies have clearly shown that anionic salts induce a 24 hours lasting effect on the acid-base status if the salts are given twice daily (Frömer, 2004; Löffler, 2004; Roche et al., 2007). To the authors' best knowledge, however, no data exists about the effects on anionic salts if they were given only once daily.

Table 1: Composition of the basal diet

basal diet	amount	concentrate	
hay (kg)	8		
concentrates (kg)	2		
lime (kg)	0.3		
dietary analysis¹			
dry matter (DM)	8.53	DM (%)	88.1
NEL (MJ/kg DM)	4.78	NEL (MJ/kg DM)	6.27
		crude protein (%/DM)	19.0
		crude fat (%/DM)	3.0
		crude fibre (%/DM)	8.6
		crude ash (%/DM)	6.3
Na (g/kg DM)	0.33	Na (g/kg DM)	3.8
K (g/kg DM)	15.15	K (g/kg DM)	10.9
Cl (g/kg DM)	3.51	Cl (g/kg DM)	5.0
S (g/kg DM)	1.29	S (g/kg DM)	1.2
Ca (g/kg DM)	9.63	Ca (g/kg DM)	7.5
Mg (g/kg DM)	1.81	Mg (g/kg DM)	3.3
P (g/kg DM)	2.45	P (g/kg DM)	6.2
DCAD ² (mEq/kg DM)	234		
DCAD (mEq/kg DM)	0		
AS included			

¹Blgg Deutschland GmbH, Parchim, Germany ²dietary cation-anion difference

Material and Method

Eleven mature, non-lactating, non-pregnant, rumen-Holstein-Friesian-Crossbreed cows that were between five and ten years old were housed individually in a tie-stall at the clinic for ruminants and swine at the Free University of Berlin, Germany as described previously (Gelfert et al. 2006; 2007). The cows were administered a diet of hay, concentrate, and lime two times daily at 07:00 a.m. and 02:00 p.m. (table 1). Either 2Eq CaCl₂ (five cows) or 2Eq CaSO₄ (six cows) were administered once daily during the morning feeding for a period of 7 days via the rumen cannula. Dehydrated CaCl₂ was provided by Sigma-Aldrich Laborchemikalien, Seelze. CaSO₄ D10 is a naturally occurring salt with a grain size of 10µm and is a by-product of the gypsum industry. The dietary Cation-Anion Difference was 0mEq/kg DM after adding anionic salts. This animal experiment was undertaken in accordance with German animal welfare legislation, the Regional Authorities for Employment Protection, Health Protection, and Technical Security of Berlin. On day 7, blood and urine samples were collected every 4h starting at 06:00 a.m. before the morning feeding, and then ending at the same time the next day. The last day was selected to ensure that all the cows responded sufficiently to the anionic salts (Husband et al., 2002). Blood and urine samples were also taken at day zero before the first feeding of anionic salts to ensure that the cows were not suffering from any acidosis. Blood from the jugular vein was collected anaerobically into a heparinised 2-ml syringe. Each syringe was capped and placed on ice until its respective analysis. For serum analysis, the blood was transferred into tubes containing kaolin. The blood was allowed to clot and was then centrifuged within two hours (10min., 4,000g), in which the serum was transferred into vials and stored at -20°C until the measurement of the macro minerals. A midstream urine sample was taken by provoking urination by way of the manual stimulation of the vulva. The urine was collected in plastic 100-ml vessels. After measuring the pH, the urine was stored at -20°C until further analysis. The base excess (BE), bicarbonate ([HCO₃⁻]), and pH

of the whole heparinised blood samples were determined immediately after their sampling (ABL5, Radiometer, Copenhagen, Denmark). The urinary pH was analysed by using a pH-meter (InoLab ph Level 1, WTW, Weilheim, Germany). The net-acid-base-excretion (NABE) was measured via the titration method as described by Kutas (1965) and modified by Lachmann (1981). Under physiological conditions, the NABE is positive with values between 107 and 193mmol/l (Rossow et al., 1989). An increased reabsorption of HCO_3^- because of increased H^+ -secretion in the case of acidosis (Bender et al., 2003) is indicative of decreased NABE. The whole calcium and creatinine concentrations were determined in the samples of blood serum and urine. For the analysis of whole calcium, the samples were diluted to 1:40 and analysed by means of atomic absorption spectrophotometry (AAS PU 9200, Philips, Eindhoven, Netherlands). The creatinine was measured in the serum and urine by using the Jaffé reaction (Hitachi 704 Automatic analyser, Roche, Basel, Switzerland). The urine samples were diluted 1:10 before analysis. The fractional clearance of calcium (FC_{Ca}) was determined according to the following formula:

$$\text{FC}_{\text{Ca}} = \text{U}_{\text{Ca}}/\text{S}_{\text{Ca}} \times \text{S}_{\text{Crea}}/\text{U}_{\text{Crea}} \times 100 \text{ (Lunn and McGuirk, 1990)}$$

where U_{Ca} is the urinary calcium concentration, S_{Ca} is the serum calcium concentration, S_{Crea} is the serum creatinine concentration, and U_{Crea} is the urinary creatinine concentration.

Before the statistical analysis, the values of all parameters were tested for a normal distribution ($p > 0.05$) according the Kolmogorow-Smirnow test and all parameters fulfill this condition. In a first step the values measured at day seven before the feeding were compared to those at day zero before starting the experiment by using a simple ANOVA for both anionic salts-groups separately. Then, the changes in the parameters during the following 24 hours were statistically evaluated (SPSS 14.0) by using a repeated measure ANOVA (Littell et al., 1998). Because some parameters differed between the anionic salts before feeding the anionic salts (6 h), the repeated analysis was first calculated by using this time point as a covariate. No significant influence was observed. Therefore, the ANOVA was rerun by using all seven time points. Anionic salts served as the intersubject factor.

The model was $Y_{ij} = \mu + \text{hour}_i + \text{AS}_j + \text{hour}_i \times \text{AS}_j + \sum_{ij}$

where μ = mean intercept, hour_i = the effect due to the hour_i , AS_j = the effect due to anionic salt $_j$, $\text{hour}_i \times \text{AS}_j$ = interaction between the hour and anionic salts, and \sum = error associated with each Y_{ij} . The level of significance was fixed at $P=0.05$.

Results

At day zero before feeding any anionic salts, cows did not show any signs of acidosis in blood or urine (table 3). The ruminal pH and the activity of the rumen microflora were in normal ranges.

At day seven at 06:00 a.m. before feeding, CaCl_2 -cows were in a state of compensated acidosis (Pernthaner et al., 1996), and the values differed significantly from day zero ($P < 0.05$). In the CaSO_4 -cows, no acidosis was observed before the feeding at day seven (table 3) and no significant differences to day zero were detectable ($P > 0.05$). After feeding and administering anionic salts, the changes of all the parameters indicated strong metabolic acidosis (table 2). The blood pH, BE, and $[\text{HCO}_3^-]$ showed decreased values during the whole observation period in the CaCl_2 -cows (table 3). In the CaSO_4 -cows, the parameters of ABS in blood reacted similar than in the CaCl_2 -cows, however, the acidosis was weaker and all of the parameters associated with ABS in the blood indicated a return to

Table 2: F-value and P-value of the different parameters of the acid-base status in blood and urine, and of blood calcium, urinary calcium, and the fractional clearance of calcium (FC_{Ca}) in non-pregnant, non-lactating, rumen-fistulated cows that were fed 2Eq of $CaCl_2$ (five cows) or $CaSO_4$ (six cows) for seven days tested by repeated measure ANOVA.

anionic salt	time	acid-base status					calcium		
		blood			urine		blood	urine	
		pH	BE (mmol/l)	$[HCO_3^-]$ (mmol/l)	pH	NABE (mmol/l)	total Ca (mmol/l)	Ca (mmol/l)	FC_{Ca}
hour	F ¹	8.094	4.38	3.167	13.369	6.383	7.147	1.700	1.958
	P ²	<0.001	<0.001	0.01	<0.001	<0.001	<0.001	0.139	0.088
anionic salt	F	3.598	3.302	3.104	4.296	5.989	1.480	4.567	6.941
	P	0.090	0.103	0.112	0.068	0.037	0.255	0.061	0.027
hour x anionic salt	F	1.31	<1	<1	<1	2.083	<1	1.353	2.119
	P	0.268	0.723	0.643	0.547	0.070	0.993	0.250	0.066

¹: F-value of the repeated ANOVA

²: a P-Value < 0.05 is considered significant

the values that were similar to those reported at the beginning of the 24h period, in turn reflecting a return towards alkalosis (table 3). The urinary pH reacted similarly to the blood pH, showing decreased values in the $CaCl_2$ -group for 24 hours. In the $CaSO_4$ - group urinary pH was low for eighteen hours and in normal ranges after 24 hours. The NABE differed significantly between the $CaCl_2$ -group and the $CaSO_4$ - group ($P=0.037$). In the latter, the course of NABE followed that of the urinary pH, whereas the NABE always remained on a significantly lower level with much smaller changes in the $CaCl_2$ -cows. All of the other parameters also tended to be more affected by $CaCl_2$. After 24 h, a compensated acidosis was observed in the $CaCl_2$ -cows, for the blood pH reached the physiological ranges, and all of the other parameters were still outside the physiological ranges (table 3). In the $CaSO_4$ -cows, all of the parameters of acid-base status were within the normal ranges after 24 hours.

The urinary calcium and FCCa were higher in the $CaCl_2$ -cows ($P<0.05$) before feeding in the morning (table 3). During the day, the urinary calcium remained on a stable, elevated level until the next morning in the $CaCl_2$ -cows. In the $CaSO_4$ -cows, the urinary calcium concentrations were also increased, however, excretion was less after 24 hours. The concentrations were always lower than the levels in the $CaCl_2$ -cows ($P=0.061$). FCCa were higher ($P=0.027$) in the $CaCl_2$ -cows. The whole calcium concentration in serum changed rather little during the day. However, there was a small decrease at the last point in time in the $CaCl_2$ -group and the $CaSO_4$ - group. No differences could be detected between anionic salts ($P=0.255$).

Discussion

One task of a herd health service is to monitor the use of anionic salts in dairy cow herds. During such work, we were often confronted with farmers who tended to mix the whole dose of anionic salts among the transition cows' diet once daily, mainly due to management reason. Feeding anionic salts once daily might induce a very strong metabolic acidosis on the one hand but on the other hand the desired effect on ABS might not continue until the next morning. Especially the latter counteracts the desired effect of the activation of calcium metabolism.

Table 3: Mean and standard deviation (SD) of the acid-base status in blood and urine, of blood calcium, urinary calcium, and the fractional clearance of calcium (FC_{Ca}) in non-pregnant, non-lactating, rumen-fistulated cows that were fed 2Eq of $CaCl_2$ (five cows) or $CaSO_4$ (six cows) for seven days

anionic salt	time	acid-base status						calcium		
		blood			Urine			blood		urine
		pH	BE (mmol/l)	$[HCO_3^-]$ (mmol/l)	pH	NABE (mmol/l)	total Ca (mmol/l)	Ca (mmol/l)	FC_{Ca}	
$CaCl_2$	day 0	7.39±0.01 ^x	1.45±0.4 ^x	26.18±0.5 ^x	8.19±0.07 ^x	173±23 ^x	2.29±0.06 ^x	4.24±3.7 ^x	1.10±0.8 ^x	
	6	7.38±0.04 ^x	-3.4±4.0 ^{av}	21.2±4.2 ^{av}	6.9±0.8 ^y	-22±70 ^{av}	2.48±0.15 ^y	19.8±4.7 ^{av}	7.1±2.2 ^{av}	
	10	7.33±0.02	-5.2±4.3	19.2±4.8	6.6±1.0	-25±61	2.45±0.15	13.8±5.6	5.2±3.3	
	14	7.34±0.05	-4.2±5.0	20.0±5.0	6.35±0.9	-20±47	2.38±0.08	13.3±4.6	4.5±1.5	
	18	7.32±0.04	-5.0±5.5	19.8±4.9	6.0±0.5	-41±49	2.41±0.10	14.8±5.0	5.8±2.4	
	22	7.33±0.05	-4.4±4.3	20.4±4.1	6.3±0.6	-32±44	2.40±0.09	15.1±7.5	4.2±2.7	
$CaSO_4$	2	7.34±0.05	-3.4±3.4	21.2±3.0	7.0±0.9	-3±70	2.39±0.12	13.7±8.1	5.3±4.1	
	6	7.37±0.05	-2.4±4.7	21.8±4.4	7.4±1.1	-2±91	2.22±0.31	12.7±10.1	5.9±5.0	
	6	7.39±0.02 ^x	1.33±2.3 ^{bx}	25.5±2.6 ^{bx}	7.9±0.4 ^y	104±85 ^{bx}	2.56±0.09 ^y	8.0±1.8 ^{by}	2.3±0.7 ^{by}	
	10	7.36±0.01	-1.7±2.5	23.2±2.9	7.5±0.3	40±30	2.49±0.07	10.1±6.5	2.5±1.4	
	14	7.38±0.02	0.17±2.7	24.5±3.0	7.5±0.6	39±33	2.47±0.07	9.2±5.5	2.3±1.1	
	18	7.36±0.04	-2.0±3.5	22.7±3.8	6.4±0.9	4±48	2.47±0.10	9.8±3.4	2.7±0.8	
physiological ranges ¹	22	7.37±0.01	-1.0±2.1	23.3±2.3	6.7±1.2	26±61	2.46±0.07	8.9±5.3	2.1±1.1	
	2	7.38±0.01	-0.5±1.9	23.5±1.9	7.7±0.6	102±92	2.48±0.14	7.8±7.6	1.9±1.8	
	6	7.38±0.01	0.33±2.3	24.8±2.2	8.2±0.4	117±89	2.26±0.19	5.2±5.3	1.4±1.4	
	physiological ranges ¹	7.36-7.44	-2.5-+2.5	22-28	7.8-8.4	103-193	2.30-3.00	<1.50	1-2	

¹: Kraft and Dürr, 2005; ²: Hartmann and Bandt, 2000; ^{a,b}: means with different superscripts differed significantly between both AS-groups at this time point ($P<0.05$), ^{x,y}: means with different superscripts differed significantly between day 0 and day 7 at six o'clock for each anionic salt ($CaCl_2$ or $CaSO_4$).

To evaluate this feeding practice the presented study was carried out. The effects of anionic salts on ABS and calcium metabolism are well documented in detail (Goff et al., 2004; Gelfert et al., 2007; Roche et al., 2007).

The controlled feeding regime guaranteed the complete intake of a daily dose of 2Eq/cow and excluded any side effects because of the incomplete consumption of anionic salts, as was monitored in other studies (Oetzel and Barmore, 1993; Goff et al., 2004). This feeding practice was selected in order to evaluate the pure effect of anionic salts on ABS without any possible side effects that could result from reduced feed intake. The cows consumed all of the amounts of the other feed components that were offered throughout the entire experiment. The cows did not show any clinical signs of an acidosis or other disturbances. Rumen pH was always in physiological ranges (data not shown).

In a former experiment using the same eleven cows, a diurnal profile was generated to look for the duration of the effects of different anionic salts compared to control cows receiving distilled water, only (Frömer 2004, Löffler 2004). The acid-base status and the calcium concentrations did show any significant diurnal variation neither in the control cows nor in the cows receiving anionic salts. Therefore, we can state that the acidosis visible was caused by the anionic salts and any drop of acidosis can be traced back to a lesser efficacy of the anionic salts.

The results indicate that both of the anionic salts tested induce metabolic acidosis in the first twelve hours after feeding, which is distinguishable by means of the changes in the ABS of blood and urine (Tucker et al., 1991; Goff et al., 2004). The acidosis that was induced, however, lessened after 12 h in the CaSO_4 - group. In these cows, the metabolic acidosis completely disappeared and no effect of the salt was detectable the next morning. In the CaCl_2 -cows, compensated acidosis was still detectable, which in turn indicated the longer lasting effect of this anionic salt. To the authors' best knowledge, this is the first description of the impact of anionic salts on ABS when anionic salts were only fed once a day. The results clearly indicate that this feeding practice is a safe method to ensure a 24-hour-lasting effect of the anionic salts if CaCl_2 is used. When CaSO_4 D10 is used, the daily change from a physiological ABS to an acidosis and back to a normal ABS might inhibit the desired prophylactic effect of anionic salts. The elevated urinary calcium excretion alone is no sign for a sufficient effect of the anionic salts for it could be also elevated due to Calcitonin or because of passive resorption of calcium in case of increased calcium in the diet (Bender et al., 2003). Further studies should be conducted in order to evaluate whether this diurnal change from a physiological ABS to an acidosis and back in turn counteracts active calcium metabolism by suspending the desired prophylactic effect for preventing severe hypocalcaemia in dairy cows.

References

- Bender, S., Gelfert, C.-C., Staufenbiel, R., 2003. Einsatz der Harnuntersuchung zur Beurteilung des Säure-Basen-Haushaltes in der Bestandsbetreuung von Milchviehherden. *Tierärztliche Praxis* 31, 132-142.
- Ender, F., I.W. Dishington, A. Helge-Bostad, E. Martinsons 1962: Parturient paresis and related forms of hypocalcaemic disorders induced experimentally in dairy cows. 2. Studies on the etiological importance of feeding prepartum diets high in calcium and low or normal in phosphorus in relation to development of milk fever. Effect of high and low alkalinity of diets. *Acta Vet. Scand.* 3 (Suppl. 1), 52.
- Frömer, S., 2004. Examinations of the effect of various anionic supplements on the renal excretion of macro elements and their diagnostic value with regard to the prevention of hypocalcaemic parturient paresis in dairy cows. Thesis, Free University of Berlin, Berlin, Germany
- Gelfert, C.-C., Löptien, A., Montag, N., Baumgartner, W., Staufenbiel, R., 2006. Influence of a prolonged period of feeding anionic salts on metabolism of dairy cows. *Wien Tierärztl. Mschr.* 93, 304-310.
- Gelfert, C.-C., Loeffler, S.L., Frömer S., Engel, M., Hartmann, H., Männer, K., Baumgartner, W., Staufenbiel, R., 2007. The impact of dietary cation anion balance (DCAD) on the acid-base balance and calcium metabolism of dairy cows fed equal amounts of different anionic salts. *J. Dairy Res.* 74, 311-322.
- Goff, J.P., 2000. Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. *Vet. Clin. North America: Food Anim. Pract.* 16, 319-337.
- Goff, J.P., Ruiz, R., Horst, R.L., 2004. Relative acidifying activity of anionic salts commonly used to prevent milk fever. *J. Dairy Sci.* 87, 1245-1255.
- Hartmann, H., Bandt, C. 2000. Pathophysiologische Mechanismen der Kalzium- und Magnesiumhomöostase sowie Bedeutung der renalen Exkretion für die Diagnostik von Elektrolytimbalancen beim Rind. *Tierärztl. Praxis* 28 (G), 190-198.
- Husband, J.A., Green, M.J., Jonsson N.N., 2002. The effect of feeding anionic salts on urine pH. *Cattle Pract.* 10, 113-117.
- Kraft, W., Dürr, U.M., 2005, *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. 6th Ed. Stuttgart, Schattauer Verlag, 280-282, 460-468.
- Kutas, F., 1965. Determination of net-acid-base excretion in the urine of cattle. *Acta Vet. Acad. Scient. Hung.* 15, 147-153.
- Lachmann, G., 1981. Ätiologie, Pathogenese, Diagnostik, Therapie und Prophylaxe der alimentären Azidose des Rindes. PhD thesis, Leipzig University, Leipzig, Germany.
- Litell, R.C., Henry, P.R., Ammermann, C.B. 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J. Anim. Sci.* 76, 1216-1231.
- Löffler, L.M., 2004. Influence of intraruminal administration of anionic salts on systemic acid-base balance (Henderson-Hasselbach equation, Stewart's strong ion model) in cattle. Thesis, Free University of Berlin, Berlin, Germany
- Lunn, D.P., McGuirk, S.M., 1990. Renal regulation of electrolyte and acid-base balance in ruminants. *Vet. Clin. North America: Food Anim. Pract.* 6, 1-28
- Oetzel, G.R., Barmore, J.A., 1993. Intake of a concentrate mixture containing various anionic salts fed to pregnant, non lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76, 1617-1623
- Pernthaner, A., Hiess, G., Glawischnig, E., 1996. Effect of oral administration of calcium chloride to heifers on mineral content and enzyme activities in blood plasma. *Wien. Tierärztl. Mschr.* 83, 73-79.
- Roche, J.R., Dalley, D.E., O'Mara, F.P., 2007. Effect of a metabolically created systemic acidosis on calcium homeostasis and the diurnal variation in urine pH in the non-lactating pregnant dairy cow. *J. Dairy Res.* 74, 34-39.
- Rosow, N., Ehrentraut, W., Furcht, G., 1989. Stoffwechselüberwachung bei landwirtschaftlichen Nutztieren - Stand und Perspektiven in der DDR. *Mh. Vet.* 44, 145-148.
- Tucker, W.B., Hogue, J.F., Waterman, D.F., Swenson, T.S., Xin, Y., Hemken, R.W. Jackson, J.A., Adams, G.D., Spicer, L.J., 1991. Role of sulfur and chloride in the dietary cation-anion balance equation for lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 69, 1205-1213.

DANKE

Prof. Dr. Rudolf Staufenbiel
Prof. Dr. Walter Baumgartner
Dr. Gisela Arndt
Dr. Susanne Dahms
Dr. Alexander Tichy
Dr. Ingo Alpers
Dr. Horst Hilmert
Dr. Mark Dallmeyer
Dr. Meike Engel
Dr. Sven Frömer
Dr. Daniela Klein
Dr. Stephanie Lesch
Dr. Leonie Löffler
Dr. Antje Löptien
Dr. Nicole Montag
Dr. Simone Steiner
Meike Decker
André Hüting
Mareike Passmann

den Betriebsleitern und Angestellten folgender Milchviehbetriebe:

Agrar GmbH Aschara, Aschara
Agrargesellschaft Battin mbH, Battin
Colmnitzer-Agrar-Genossenschaft e.G., Colmnitz
Dabergotzer Agrar GmbH, Dabergotz
Glücksburg Agrar EG, Dixförda
Agrargesnossenschaft Eibau eG, Eibau
Unternehmensgruppe Seydaland Seyda
Agrargesnossenschaft Uckermark Agrar e.G. Göritz, Göritz
Agrar GmbH Kalbescher Werder, Jeetze
Herzogswalder Agrar GmbH, Herzogswalde
Agrarset Naundorf e.G., Naundorf
Agrargesnossenschaft eG, Niederschöna
Radiborer Agrar GmbH, Radibor
Landwirtschaftsbetrieb Griepentrog KG, Steinhagen

meinen Eltern

Katarina Zimmer