

Aus dem Institut für Veterinär-Physiologie  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Eignung der Stewart-Variablen des Säuren-Basen-Status  
für Aussagen über Vorgänge im Labmagen und Blut  
bei unterschiedlich getränkten Kälbern

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der  
Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Lisa Bachmann  
Tierärztin  
aus Essen

Berlin 2007

Journal-Nr.: 3179

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. L. Brunnberg  
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. H. Hartmann  
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. W.-R. Stenzel

*Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):*

calves, abomasum, oral rehydration solutions, blood, pH, ions, acid base equilibrium, milk proteins, clotting

Tag der Promotion: 18.02.2008

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN-10: 3 86664 399 3 | ISBN-13: 978 3 86664 399 4  
Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2007

**D188**

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Coverbild: **Leonardo Jerez** - Fotolia.com

© **mbv** 2008: Nordendstr. 75 - 13156 Berlin – 030-45494866  
verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Für meine Familie



<b>1</b>	<b>EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1</b>	<b>Stewart-Modell des SBS .....</b>	<b>3</b>
2.1.1	Physikochemische Grundlagen des Stewart-Modells .....	3
2.1.2	Bestandteile des Stewart-Modells .....	5
2.1.2.1	PCO <sub>2</sub> .....	5
2.1.2.2	Strong ion difference (SID).....	6
2.1.2.3	Acid total (A <sub>tot</sub> ).....	7
2.1.2.4	strong ion gap (SIG).....	10
2.1.3	Simplified strong ion model nach Constable.....	11
2.1.4	Regulation des SBS .....	12
2.1.4.1	Pulmonale Regulation .....	12
2.1.4.2	Renale Regulation.....	13
2.1.4.3	Gastrointestinale Regulation .....	14
2.1.4.4	Hepatische Regulation .....	15
2.1.5	Pathophysiologischer Hintergrund und Einteilung der Funktionsstörungen des SBS nach Stewart .....	15
2.1.6	Normwerte und Referenzbereiche von Variablen .....	17
<b>2.2</b>	<b>Abomasale Verdauungsphysiologie des Kalbes .....</b>	<b>19</b>
2.2.1	Besonderheiten des Verdauungstraktes neugeborener Kälber.....	19
2.2.2	Physiologie des Labmagens.....	19
2.2.2.1	Gastrale Sekretion.....	20
2.2.2.2	Luminale Bedingungen des Kälberlabmagens.....	21
<b>2.3</b>	<b>Milchgerinnung.....</b>	<b>22</b>
2.3.1	Zusammensetzung von Milch.....	22
2.3.1.1	Milchproteine.....	22
2.3.1.2	Casein-Fraktionen.....	23
2.3.1.3	Struktur und Eigenschaften des κ-Caseins.....	24
2.3.1.4	Casein-Micellenmodell .....	24
2.3.1.5	Caseino(Glyko-)Makropeptid (CMP).....	25
2.3.2	Zusammensetzung von Milchaustauschern.....	26
2.3.3	Prozess der Labgerinnung .....	27
2.3.3.1	Reaktionsmechanismus von Chymosin.....	27
2.3.3.2	Einflussfaktoren auf den Milchgerinnungsprozess .....	27
2.3.4	Prozess der Säuregerinnung.....	28
2.3.5	Milchgerinnung im Labmagen .....	29
2.3.5.1	Physiologie und Funktion der Gerinnung.....	29
<b>2.4</b>	<b>Pathophysiologie der Kälberdiarrhoe .....</b>	<b>29</b>
2.4.1	Ursachen der Diarrhoe .....	30
2.4.2	Pathologische Mechanismen und Formen der Diarrhoe.....	30
2.4.3	Systemische Auswirkungen der Diarrhoe .....	31
2.4.3.1	Einfluss der Diarrhoe auf den SBS der Kälber.....	31
<b>2.5</b>	<b>Therapie der Azidose durchfallkranker Kälber .....</b>	<b>33</b>
2.5.1	Möglichkeiten der Behandlung von Kälberdiarrhoe .....	33
2.5.2	Orale Rehydratation .....	34
2.5.3	Inhaltsstoffe von oralen Rehydratationstränken (ORT).....	36
2.5.4	Wirksamkeit der ORT bezüglich der Korrektur der metabolischen Azidose .....	38

2.5.5	Effekte von oralen Rehydratationstränken auf die Milchgerinnungszeit .....	40
2.5.6	Verabreichung von ORT .....	41
<b>3</b>	<b>VERSUCHSTIERE, MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>44</b>
<b>3.1</b>	<b>Versuchstiere .....</b>	<b>44</b>
3.1.1	Selektionskriterien .....	44
3.1.2	Haltung und Fütterung .....	44
<b>3.2</b>	<b>Experimentelles Design .....</b>	<b>45</b>
3.2.1	Klinische Untersuchung der Probanden .....	45
3.2.2	Probenentnahmen .....	45
3.2.2.1	Blut .....	46
3.2.2.2	Harn .....	46
3.2.2.3	Labmagingesta .....	47
3.2.3	Operatives Einsetzen der PVC-Fistel in den Labmagen .....	47
3.2.4	Postoperative Behandlung der Versuchstiere .....	49
3.2.5	Fütterungsplan der Versuchstiere .....	49
3.2.6	Zusammensetzung des eingesetzten Milchaustauschers .....	51
3.2.7	Rezepturen der untersuchten oralen Rehydratationstränken .....	51
<b>3.3</b>	<b>Methoden .....</b>	<b>53</b>
3.3.1	Labordiagnostische Untersuchungen .....	53
3.3.1.1	Bestimmung von Parametern im Blut .....	53
3.3.1.2	Bestimmung von Parametern im Harn .....	54
3.3.1.3	Bestimmung von Parametern in den Labmagingesta .....	55
3.3.1.4	Bestimmung von Parametern im MAT und in den ORT .....	55
3.3.2	Messung der Milchgerinnung .....	55
3.3.2.1	Probenherstellung und -vorbereitung .....	56
3.3.2.2	Ca <sup>2+</sup> -Bestimmung .....	57
3.3.2.3	Ablauf des Messvorganges .....	57
3.3.3	Messung des CMP-Gehaltes in den Labmagingesta .....	59
3.3.3.1	Herstellung des CMP-Standards für die HPLC .....	59
3.3.3.2	Probenvorbereitung .....	59
3.3.3.3	RP-HPLC-Analysetechnik .....	60
3.3.3.4	Prinzip der Methode .....	60
3.3.3.5	Durchführung der Messung .....	60
3.3.3.6	Auswertung der Chromatogramme .....	60
3.3.3.7	SDS-Page .....	60
3.3.3.8	Prinzip der Methode .....	60
3.3.3.9	Herstellen der Lösungen .....	61
3.3.3.10	Gießen der Gele .....	61
3.3.3.11	Durchführung der Elektrophorese .....	61
3.3.3.12	Ermittlung des CMP-Gehaltes aus den Elektrophoresegelen .....	62
<b>3.4</b>	<b>Statistische Auswertung .....</b>	<b>63</b>
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>65</b>
<b>4.1</b>	<b>Referenzwerte der Stewart-Variablen .....</b>	<b>65</b>
4.1.1	Liniendiagramme der Stewart-Variablen .....	65
4.1.2	Statistische Maßzahlen von Messdaten des SBS im venösen und arteriellen Blut und Harn bei n = 17 klinisch gesunden Kälbern am 1., 3., 7., 14. und 28. Lebenstag .....	69
4.1.3	Albumin-Globulin-Verhältnis im Serum .....	75
4.1.4	Phosphatkonzentration im Serum .....	76

4.1.5	Berechnung des pH-Wertes aus den Stewart-Variablen.....	77
<b>4.2</b>	<b>Ergebnisse der Fütterungsversuche.....</b>	<b>78</b>
4.2.1	pH-Wert und Osmolalität des MAT und der eingesetzten ORT.....	78
4.2.2	pH-Zeit-Kurven der Labmagingesta.....	79
4.2.3	Area under curve (AUC) der pH-Zeit-Kurven für die Labmagingesta.....	84
4.2.4	Beziehung zwischen AUC der pH-Zeit-Kurve für die Labmagingesta und der [SID <sub>3</sub> ] der eingesetzten Tränken.....	85
4.2.5	Beziehung zwischen AUC der pH-Zeit-Kurve der Labmagingesta und pH der eingesetzten Tränken.....	86
4.2.6	Osmolalität in den Labmagingesta.....	86
4.2.7	[SID <sub>3</sub> ] in den Labmagingesta.....	87
4.2.8	Beziehung zwischen [SID <sub>3</sub> ] und pH-Wert in den Labmagingesta.....	97
4.2.9	Nüchternwerte des pH, der Osmolalität und der [SID <sub>3</sub> ] in den Labmagingesta.....	98
4.2.10	Parameter des SBS nach Stewart im Serum vor und nach der Fütterung.....	98
4.2.11	Visuelle Gerinnung der entnommenen Labmagingestaprobe zum Zeitpunkt 30min nach Fütterung von MAT-ORT-Gemischen.....	101
4.2.12	Auswirkungen auf klinische Befunde.....	101
<b>4.3</b>	<b>Ergebnisse der Versuche zur <i>in vitro</i> Milchgerinnung.....</b>	<b>102</b>
4.3.1	Ca <sup>2+</sup> -Gehalt (mmol/l) der für die Gerinnungsmessung eingesetzten Tränken.....	102
4.3.2	Prozessviskosität <i>in vitro</i> von Rohmilch, MAT und MAT-ORT-Gemischen bei enzymatischer Gerinnung und nativem pH.....	102
4.3.3	Prozessviskosität <i>in vitro</i> von MAT-ORT-Gemischen bei enzymatischer Gerinnung und Ansäuerung (pH ~5,5).....	104
4.3.4	Strukturviskosität <i>in vitro</i> von MAT und MAT-ORT-Gemischen bei Säuregerinnung.....	105
<b>4.4</b>	<b>Messung des Caseinomakropeptids (CMP) in den Labmagingesta.....</b>	<b>105</b>
4.4.1	AUC der CMP-Peaks aus den Proben der Labmagingesta nach Fütterung von MAT und MAT-ORT-Gemischen.....	105
4.4.2	HPLC-Chromatogramme des MAT und der MAT-ORT-Gemische im Vergleich zu den entsprechenden Labmagingestaprobe zum Zeitpunkt 30min nach der Fütterung.....	106
4.4.3	Ergebnisse der SDS-Page.....	110
4.4.4	CMP-Gehalte in den Labmagingestaprobe.....	111
<b>5</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>112</b>
<b>5.1</b>	<b>Referenzwerte.....</b>	<b>112</b>
5.1.1	Serum-[SID <sub>3</sub> ] und -[SID <sub>4</sub> ].....	113
5.1.2	Serum-[A <sub>tot-Alb</sub> ] und -[A <sub>tot-Pro</sub> ].....	114
5.1.3	PaCO <sub>2</sub> und PvCO <sub>2</sub> .....	115
5.1.4	Harn-[SID <sub>3</sub> ].....	115
5.1.5	Serum-[SIG].....	115
5.1.6	Berechnung des pH-Wertes im Blut anhand der Stewart-Variablen.....	116
	Zusammenfassung.....	116
<b>5.2</b>	<b>Luminale Bedingungen des Kälberlabmagens nach Fütterung von MAT, MAT-ORT-Gemischen und Wasser-ORT-Gemischen.....</b>	<b>116</b>
5.2.1	Abomasaler pH-Wert.....	116
5.2.2	Osmolalität in den Labmagingesta.....	119
5.2.3	[SID <sub>3</sub> ]-Werte in den Labmagingesta.....	119
	Zusammenfassung.....	120
<b>5.3</b>	<b>Einfluss der ORT auf die Milchgerinnung <i>in vitro</i> und <i>in vivo</i>.....</b>	<b>120</b>
5.3.1	Enzymatische Milchgerinnung <i>in vitro</i> .....	120

5.3.2	Säuregerinnung <i>in vitro</i> .....	121
5.3.3	Milchgerinnung im Kälberlabmagen .....	122
	Zusammenfassung .....	123
<b>5.4</b>	<b>Wirkungen des MAT und der ORT auf die Stewart-Parameter des SBS .....</b>	<b>123</b>
5.4.1	Serum-[SID <sub>3</sub> ] .....	123
5.4.2	Serum-[A <sub>tot</sub> ] .....	124
5.4.3	Serum-[SIG] .....	124
	Zusammenfassung .....	124
	<b>Empfehlungen für die orale Rehydratation durchfallkranker Kälber .....</b>	<b>125</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>126</b>
<b>7</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>156</b>
<b>8</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>158</b>
<b>9</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>160</b>
<b>10</b>	<b>SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG .....</b>	<b>162</b>

**Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Definitionen:**

a	arteriell
A.	Arteria
A <sup>-</sup>	korrespondierende Base zu HA
Abb.	Abbildung
AG	Anionenlücke (=Anion gap)
Alb	Albumin
A <sub>tot</sub>	Gesamtkonzentration der schwachen Säuren (=Acid total)
AUC	Fläche unter der Kurve (=Area under curve)
BE	Basenüberschuss (=Base excess)
Ca <sup>2+</sup>	Calcium-Ion
Cl <sup>-</sup>	Chlorid-Ion
Co <sup>2+</sup>	Cobald-Ion
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	Karbonat-Ion
CMP	Caseinomakropeptid
Cu <sup>2+</sup>	Kupfer-Ion
d	Tag
Fe <sup>2+</sup>	Eisen-Ion
GE	Gesamteiweiß
h	Stunde
H <sup>+</sup>	Wasserstoff-Ion, Proton
HA	korrespondierende Säure zu A <sup>-</sup>
HCl	Salzsäure
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Hydrogenkarbonat-Ion, Bikarbonat-Ion
H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Kohlensäure
H <sub>2</sub> O	Wasser
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (=High performance liquid chromatography)
K <sup>+</sup>	Kalium-Ion
Ka	Gleichgewichtskonstante
KM	Körpermasse
kPa	Kilopascal
Lak <sup>-</sup>	Laktat-Ion
MAT	Milchaustauscher
Max	Maximum
Mg <sup>2+</sup>	Magnesium-Ion

## Abkürzungen und Definitionen

---

Min	Minimum
Mn <sup>2+</sup>	Mangan-Ion
mPa s	MilliPascal Sekunden
N	Anzahl
Na <sup>+</sup>	Natrium-Ion
o. a.	oben angeführt
OH <sup>-</sup>	Hydroxid-Ion
ORT	Orale Rehydratationstränke
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
P	Partialdruck
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Protonenkonzentration
P <sub>i</sub>	Anorganisches Phosphat
pKa	negativer dekadischer Logarithmus der Gleichgewichtskonstante Ka
PVC	Polyvinylchlorid
s	Standardabweichung
SBS	Säuren-Basen-Status
SDS-Page	Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese
SID	Starke Ionen Differenz (=Strong ion difference)
SID <sub>a</sub>	apparente SID
SID <sub>e</sub>	effektive SID
SIG	Starke Ionenlücke (=Strong ion gap)
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Sulfat-Ion
Tab.	Tabelle
u. a.	unter anderem
v	venös
WHO	Weltgesundheitsorganisation (=World health organisation)
$\bar{x}$	arithmetischer Mittelwert
X <sup>-</sup>	ungemessene Anionen
X <sup>+</sup>	ungemessene Kationen
Zn <sup>2+</sup>	Zink-Ion

## 1 EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Der systemische Säuren-Basen-Status (SBS) von Kälbern und anderen Tieren wurde anhand der Parameter der Henderson-Hasselbalchen Puffergleichung:

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\alpha \times \text{PCO}_2]} \quad (\alpha=0,226\text{mmol/l} \times \text{kPa}) \quad (1)$$

über Jahrzehnte vielfältig untersucht. Aus dieser Gleichung resultieren die herkömmlichen Daten des SBS wie pH,  $\text{PCO}_2$ , [BE] und  $[\text{HCO}_3^-]$ , die die diagnostische Grundlage für den SBS im Blut in der Veterinär- und Humanmedizin bilden. Die Henderson-Hasselbalch Puffergleichung ist korrekt, aber in folgender Hinsicht unvollständig (de Morais, 1992; Siegling-Vlitakis *et al.*, 2007):

1. Sie bietet keine vollständige Aussage über die pathophysiologischen Veränderungen der nichtrespiratorischen (= metabolischen) Komponenten des SBS.
2. Sie legt die Schlussfolgerung nahe, dass Veränderungen im SBS und im Flüssigkeitshaushalt in keinem Zusammenhang stehen.
3. Sie signalisiert nicht, dass Veränderungen des Blut-pH-Wertes eine Konsequenz aus Veränderungen der Plasmaproteinkonzentration sein können.
4. Sie impliziert, dass  $[\text{HCO}_3^-]$  eine unabhängige Variable ist.

In den 80er Jahren entwickelte Peter Stewart ein neues Modell des SBS im Körper (Stewart, 1978; 1981; 1983). Nach Stewart existieren drei unabhängige Variablen des SBS im Organismus, die die abhängigen Variablen wie pH,  $[\text{HCO}_3^-]$  u. a. einstellen. Die Stewart-Variablen sind (1) [strong ion difference] ([SID]=starkbasische Kationen – starksaure Anionen), (2) [acid total] ( $[\text{A}_{\text{tot}}]$ =totale Konzentration der nichtflüchtigen schwachen Säuren), (3)  $\text{PCO}_2$  (=Partialdruck des physikalisch gelösten Kohlendioxids) (Bailey und Pablo, 1998; Constable, 1999a; Constable, 2000; Corey, 2003; de Morais, 1992; Rehm *et al.*, 2004; Wooten, 2004). Die neuen Parameter nach Stewart finden langsam Eingang in Veterinär- und Humanmedizin, vor allem als Ergänzung zur herkömmlichen Betrachtungsweise des SBS (de Morais, 2005; Rehm, 2007). Allerdings fehlen für die Interpretation pathologischer Zustände geeignete Referenzbereiche der Stewart-Variablen für die meisten Tierarten.

Neugeborene und junge Kälber leiden nicht selten an Störungen des SBS (=Dyshydrie). Als wichtige Ursache für eine metabolische Azidose bei Kälbern ist die infektiöse Faktorenkrankheit Diarrhoe zu nennen (Hartmann *et al.*, 1997). Durchfallerkrankungen sind die häufigste Todesursache bei Kälbern in den ersten Lebenswochen (Kaske und Kunz, 2003). Durch die Totalverluste sowie durch die Behandlungskosten und Wachstumsverluste der Kälber entstehen hohe wirtschaftliche Schäden (Baljer und Wieler, 1989; Schulte-Märter, 2000). Der Azidose, die aus der Diarrhoe resultiert, wird eine wesentliche Bedeutung für den Eintritt des Exitus letalis zuerkannt (Berchtold, 1998; Constable, 2002b).

Die orale Rehydratation hat bei der Behandlung durchfallkranker Kälber einen hohen Stellenwert (Brooks *et al.*, 1996; Hartmann *et al.*, 1984; Heath *et al.*, 1989; Kaske und Kunz, 2003). Die oralen Rehydrationsstränken (ORT) sollen vor allem das Flüssigkeitsdefizit und die metabolische Azidose ausgleichen. Um die Energiezufuhr der Kälber aufrecht zu erhalten, sollte weiterhin Vollmilch gefüttert werden (Rademacher, 2003). Von Fachvertretern gibt es kontroverse Ansichten über den Einfluss von ORT auf die im Labmagen der Kälber stattfindende Milchgerinnung (Kaske und Kunz, 2003; Nappert, 2003; Nappert und Lattimer, 2001; Rademacher *et al.*, 2002). *In vitro* Versuche ergaben, dass einige ORT die Caseinausfällung der Milch beeinträchtigen (Nappert und Spennick, 2003; Naylor, 1992). In der Humanmedizin wurde die Flüssigkeitstherapie anhand des Stewart-Modells in ihrer Wirkung auf den SBS untersucht und konnte durch die gewonnenen Erkenntnisse verbessert werden (Gunnerson und Kellum, 2003). Untersuchungen bezüglich der Bewertung von ORT unter Berücksichtigung der Stewart-Variablen existieren kaum. Zur weiteren Einführung der Parameter des SBS nach Stewart in Diagnostik und Therapie wurden folgende Fragestellungen bearbeitet:

1. Welche Referenzbereiche der Stewart-Variablen ergeben sich bei Kälbern vom ersten Lebenstag bis zu einem Alter von vier Wochen?
2. Welchen Einfluss haben ORT in unterschiedlichen Zusammensetzungen auf abomasale Bedingungen wie pH, Osmolalität und Elektrolytkonzentrationen sowie die Milchgerinnung?
3. Welche Wirkung haben die verabreichten ORT auf die Parameter des Stewart-Modell des SBS im Blut bei Kälbern?

## 2 LITERATURÜBERSICHT

### 2.1 Stewart-Modell des SBS

Entwicklungen der Diagnostik des SBS im Organismus, die Eingang in den klinischen Alltag gefunden haben, waren die Veröffentlichung der Henderson-Hasselbalch-Puffergleichung (Formel 1) (Hasselbalch, 1916), des „base excess“ (=BE) (Astrup *et al.*, 1960) und der Anionenlücke „anion gap“ (=AG) (Oh und Carroll, 1977). Die Unzulänglichkeit der Puffergleichung nach Henderson-Hasselbalch den SBS im Organismus umfassend zu beschreiben, bewegte 1948 Singer und Hastings zu der These, dass der Blut-pH durch zwei unabhängige Faktoren, den  $\text{PCO}_2$  und die Nettoladung der starken Ionen beeinflusst wird (Constable, 1999; Singer und Hastings, 1948). Der kanadische Physiker, Mathematiker und Physiologe Peter Stewart hat Anfang der 80er Jahre des letzten Jahrhunderts ein alternatives Säuren-Basen-Modell begründet, dass zusätzlich die Konzentration der nichtflüchtigen schwachen Säuren als Einflussgröße des SBS benennt (Stewart, 1978; 1981; 1983).

#### 2.1.1 Physikochemische Grundlagen des Stewart-Modells

Betrachtet man Körperflüssigkeiten als physikochemisches System müssen folgende drei Prinzipien immer gegeben sein (de Morais, 1992; Eicker, 1990; Funk, 2007; Rehm *et al.*, 2004):

1. Das Prinzip der Elektroneutralität: Die Summe aller positiven Ladungen entspricht der Summe aller negativen Ladungen ( $\sum \text{Kationen} = \sum \text{Anionen}$ ).
2. Die Dissoziationsgleichgewichte aller unvollständig dissoziierten Substanzen müssen immer gegeben sein. Dieses Prinzip gilt für starke und schwache Elektrolyte einschließlich Wasser, obwohl nur schwache Elektrolyte ein Dissoziationsgleichgewicht aufweisen.
3. Prinzip der Erhaltung der Masse: Die Gesamtmenge einer unvollständig dissoziierten Substanz kann immer aus der Summe der dissoziierten Menge und der undissoziierten Menge einer Substanz berechnet werden.

Das Stewart-Modell vereinfacht die chemischen Reaktionen im Blut zu denen einfacher Ionen in einer Lösung. Diese Vereinfachung kann gemacht werden, weil die quantitativ wichtigen Kationen ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{Mg}^{2+}$ ) und Anionen ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , Proteine, Laktat, Sulfat und Ketonkörper) des Plasmas sich wie Salze verhalten (van Leeuwen, 1964; Constable, 1997). Plasmaionen, die an Redoxreaktionen teilnehmen, wie  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  und  $\text{Mn}^{2+}$ , sind quantitativ unwichtig für die Einstellung des Plasma-pH, da sie im  $\mu\text{mol}$ -Bereich im Blut vorkommen (Constable, 1999a).

Ionen, die Einfluss auf den SBS des Organismus nehmen, können in zwei Gruppen eingeteilt werden: starke und schwache Ionen bzw. Nichtpuffer- und Pufferionen (Constable, 2000). Starke Ionen liegen bei physiologischem pH vollständig dissoziiert vor. Sie haben also keine Pufferwirkung. Ionen üben einen elektrischen Effekt aus: Die Summe der vollständig dissoziierten Kationen entspricht nicht der Summe der vollständig dissoziierten Anionen. Stewart bezeichnete diese Differenz als SID (strong ion difference) (Stewart, 1978; 1981; 1983). SID wurde schon von Singer und Hastings 1948 unter dem Namen „buffer base“=Pufferbase eingeführt (Dubin *et al.*, 2007). Sie entwickelten ein Normogramm, das die Kalkulation der Pufferbase aus pH, PCO<sub>2</sub> und Hämatokrit ermöglichte (Siggaard-Andersen und Fogh-Andersen, 1995).

Im Gegensatz zu starken sind schwache Ionen bei physiologischen pH-Werten nicht vollständig dissoziiert. Die allgemeine Dissoziationsreaktion für eine schwache Säure und ihre konjugierte Base lautet:



Im Gleichgewichtszustand kann die Dissoziationskonstante  $K_a$  mit Hilfe des Massenwirkungsgesetzes berechnet werden:

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad (3)$$

Die schwachen Ionen des Blutes können in flüchtige (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) und nichtflüchtige (Nichtbikarbonatpuffer=Proteine und Phosphat) Ionen unterteilt werden. HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> muss separat betrachtet werden, weil es Teil eines offenen Systems ist. Veränderungen des PaCO<sub>2</sub> durch die Atmung wirken sich auf die Plasma-[HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] aus (Constable, 1999; Haskins, 1977). Im Gegensatz dazu ist das Nichtbikarbonatpuffer-System geschlossen und der Gehalt an schwachen Elektrolyten feststehend, d. h. die Summe aus [HA] und [A<sup>-</sup>] verändert sich nicht (Eicker, 1990). Damit schwache Elektrolyte effektiv als Puffer im Blut wirken können, sollte ihr pK<sub>a</sub>-Wert im Bereich des pH±1,5 liegen. Weil der physiologische pH-Wert im Blut bei etwa 7,4 liegt, müssen Substanzen, die als schwache Säuren wirken, einen pK<sub>a</sub> zwischen 5,9 und 8,9 aufweisen. Dazu zählen Phosphat und die Histidengruppen der Proteine (Constable, 1997).

Nach Stewart wird der pH-Wert in biologischen Flüssigkeiten durch drei unabhängige Variablen bestimmt (Stewart, 1978; 1981; 1983):

1. PCO<sub>2</sub>
2. SID (strong ion difference=Differenz der starken Ionen)
3. A<sub>tot</sub> (acid total=Summe der schwachen Säuren)

Diese drei unabhängigen Parameter bestimmen neben dem pH-Wert auch alle davon abhängigen Variablen, wie [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] und [BE]. Die abhängigen Variablen können nicht primär oder individuell verändert werden (Fencl und Leith, 1993; Fencl und Rossing, 1989). Die

Grundlage für die Herleitung der unabhängigen Variablen stellt das Gesetz der Elektroneutralität dar. Stewart drückte diese Beziehung mit folgender Gleichung aus:

$$[\text{SID}] + [\text{H}^+] - [\text{OH}^-] - [\text{HCO}_3^-] - [\text{CO}_3^{2-}] - [\text{A}^-] = 0 \quad (4)$$

Der postulierte chemische Mechanismus, wie die unabhängigen die abhängigen Variablen einstellen sollen, ist die Verschiebung des Dissoziationsgleichgewichtes des Wassermoleküls (Corey, 2003; Kaplan, 2005; Kellum, 2000). Eine Beeinflussung der Variablen bedroht die Elektroneutralität des Plasmas. Dem wird mit einer verstärkten Dissoziation von  $\text{H}_2\text{O}$  begegnet:



Das dabei vermehrt anfallende  $\text{H}^+$  ist für den Abfall des pH-Wertes verantwortlich. Diese Argumentation wurde aus der mathematischen Abhängigkeit der abhängigen Parameter von den unabhängigen hergeleitet. Aus chemischer Sicht ist dies fragwürdig. Nach der Brönsted-Definition ist  $\text{Cl}^-$  eine schwache Base und kann per se die  $\text{H}^+$ -Konzentration in wässrigen Lösungen nicht beeinflussen (Doberer *et al.*, 2003; Haskins *et al.*, 2006).

Die unabhängigen und die abhängigen Variablen wurden von Stewart in einen mathematischen Zusammenhang gebracht. Stewart entwickelte eine polynomische Gleichung, die die Plasma- $\text{H}^+$ -Konzentration in Beziehung zu den drei unabhängigen Variablen und fünf Konstanten setzte:

$$[\text{H}^+]^4 + ([\text{SID}^+] + K_a)[\text{H}^+]^3 + (K_a([\text{SID}^+] - [\text{A}_{\text{tot}}]) - K_w - K_1 S_{\text{CO}_2} P_{\text{CO}_2})[\text{H}^+]^2 - (K_a(K_w + K_1 S_{\text{CO}_2} P_{\text{CO}_2}) - K_3 K_1 S_{\text{CO}_2} P_{\text{CO}_2})[\text{H}^+] - K_a K_3 K_1 S_{\text{CO}_2} P_{\text{CO}_2} = 0 \quad (6)$$

$K_a$ =Dissoziationskonstante für  $\text{A}_{\text{tot}}$ ;  $K_w$ =Ionenprodukt des Wassers;  $K_1$ =Gleichgewichtskonstante für die Henderson-Hasselbalch-Puffergleichung;  $S_{\text{CO}_2}$ =Löslichkeit von  $\text{CO}_2$  im Plasma;  $K_3$ =Dissoziationskonstante für  $\text{HCO}_3^-$

Von einigen Wissenschaftlern wurde das Originalmodell von Stewart weiter bearbeitet und in klinische Säuren-Basen-Modelle für die Human- (Balasubramanyan *et al.*, 1999; Corey, 2003; Fencl *et al.*, 2000; Figge *et al.*, 1991; 1992; Gilfix *et al.*, 1993; Story *et al.*, 2004; Watson, 1999) und die Veterinärmedizin (Constable, 1997; 1999a; 2000) überführt (s. 2.1.3).

## 2.1.2 Bestandteile des Stewart-Modells

Die einzelnen Komponenten des Stewart-Modells und ihre weitere Bearbeitung sollen im Folgenden näher beleuchtet werden.

### 2.1.2.1 $\text{PCO}_2$

$\text{PCO}_2$  bleibt in der Betrachtungsweise des SBS des Blutes im Vergleich zu Henderson-Hasselbalch unverändert. Der Partialdruck eines Gases ist nach Dalton der Druck, der in einem Gasgemisch einem bestimmten Gas zugeordnet werden kann. Der Partialdruck entspricht dabei dem Gesamtdruck, den dieses Gas beim alleinigen Ausfüllen des gesamten

Volumens ausüben würde. Anhand des  $\text{PCO}_2$ -Wertes können Störungen des SBS in respiratorische und nicht-respiratorische unterteilt werden. Verschiedene Angaben zu Normwerten des  $\text{PCO}_2$  für Rinder sind in Tabelle 1 aufgelistet.

Tab. 1 Referenzbereiche für  $\text{PCO}_2$  im Blut von Rindern

<b><math>\text{PCO}_2</math>-Referenzbereich (kPa)</b>	<b>Quelle</b>
4,8-6,4	(Hartmann, 2005)
4,7-7,0	(Kraft und Dürr, 2005)
4,7-5,9	(Kaneko, 1989)
4,6-7,1	(Rosenberger, 1990)
4,6-5,8	(Smith, 2002)
4,5-6,0	(Radostits <i>et al.</i> , 2007)

Der physiologische Stoffwechsel lässt in den Zellen des Körpers täglich zwischen 413 und 620mmol/kg<sup>0,75</sup>  $\text{CO}_2$  entstehen (Hartmann, 2005). In den Zellen wird aus  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$  durch das Enzym Carboanhydratase die flüchtige Säure  $\text{H}_2\text{CO}_3$  gebildet. Infolge guter Lipidlöslichkeit überwindet  $\text{CO}_2$  leicht biologische Membranen und wird über die Alveolen der Lunge kontinuierlich abgeatmet, so dass der  $\text{PaCO}_2$  annähernd konstant bleibt (Hartmann, 1995). Ein schwieriger Geburtsverlauf von Kälbern kann zur Erhöhung des  $\text{PCO}_2$  führen. In den meisten Fällen sind nach einigen Stunden die Werte wieder normalisiert (Szenci *et al.*, 1981).

### 2.1.2.2 Strong ion difference (SID)

Unter der SID verstand Stewart die Summe aller starken (vollständig dissoziierten) Kationen minus der Summe aller starken Anionen.  $[\text{Na}^+]$  und  $[\text{Cl}^-]$  sind die Hauptkomponenten der SID, da ihre Konzentrationen im Extrazellularraum quantitativ am bedeutsamsten sind. Weitere potenzielle starke Ionen sind  $[\text{K}^+]$ ,  $[\text{Mg}^{2+}]$ ,  $[\text{Ca}^{2+}]$  und  $[\text{SO}_4^{2-}]$ , deren Einfluss auf den SBS geringer ausfallen dürfte, da sie in niedrigen Konzentrationen mit geringer Schwankungsbreite im Plasma vorhanden sind. Auch Laktat und andere organische Säuren werden zur SID hinzu gerechnet, weil sie sich im Extrazellularraum aufgrund der vollständigen Dissoziation in das korrespondierende Anion wie ein starkes Ion verhalten (Rehm *et al.*, 2004). Da im Plasma vorhandene Ionen, vor allem negative Ladungen  $[\text{X}^-]$ , wie Sulfat, Ketonsäuren und weitere organische Säuren, mit Hilfe der heutigen Labormessgeräte routinemäßig nicht oder selten gemessen werden, kann die [SID] immer nur näherungsweise ermittelt werden (Maloney *et al.*, 2002). Diese „unvollständige“ SID wurde von (Figge *et al.*, 1991; 1992) als  $\text{SID}_{\text{apparently}}$  bezeichnet. Für die Berechnung der  $[\text{SID}_a]$  werden folgende Varianten unter Einbeziehung einer unterschiedlichen Anzahl von Elektrolyten vorgeschlagen (Funk, 2007; Rehm *et al.*, 2004; Siegling-Vlitakis *et al.*, 2007):

$$\text{a) } [\text{SID}_3] (\text{mmol/l}) = [\text{Na}^+] + [\text{K}^+] - [\text{Cl}^-]$$

$$\text{b) } [\text{SID}_4] (\text{mmol/l}) = [\text{Na}^+] + [\text{K}^+] - [\text{Cl}^-] - [\text{Lak}^-] \quad (7)$$

$$\text{c) } [\text{SID}_6] (\text{mmol/l}) = [\text{Na}^+] + [\text{K}^+] + 2 \times [\text{Mg}^{2+}] + 2 \times [\text{Ca}^{2+}] - [\text{Cl}^-] - [\text{Lak}^-]$$

Constable *et al.* (2005b) bestimmten [SID]-Werte bei neun gesunden Kälbern. Diese waren  $[\text{SID}_3]=43,0 \pm 2,4$ ,  $[\text{SID}_4]=41,1 \pm 2,7$  und  $[\text{SID}_6]=45,4 \pm 3,6$  mmol/l. Referenzbereiche für Rinder (einschließlich Kälber) für  $[\text{SID}_a]$  liegen nicht vor.

Da einige Ionen von den Labormessgeräten nicht erfasst werden, entwickelten Figge *et al.* (1991; 1992) eine effektive SID ( $\text{SID}_e$ ), die sich aus den Werten für pH,  $\text{PaCO}_2$ , der Phosphat- und Albuminkonzentration mit einem speziell entwickelten Computerprogramm berechnen lässt. Vereinfacht lässt sich die  $[\text{SID}_e]$  aus der  $[\text{HCO}_3^-]$  und der Summe aller schwachen negativen Ladungen ( $[\text{A}^-]$ ) berechnen:

$$[\text{SID}_e] = [\text{A}^-] + [\text{HCO}_3^-] \quad (8)$$

Wenn im Plasma keine ungemessenen starken Ionen vorhanden sind, - was unter natürlichen Bedingungen nicht gegeben ist - so ist  $[\text{SID}_a]=[\text{SID}_e]$ . Bei Vorliegen von ungemessenen Ionen bildet sich eine numerische Differenz zwischen  $\text{SID}_a$  und  $\text{SID}_e$ , die als strong ion gap (SIG) bezeichnet wird (s. 2.1.2.4).

Da der pH-Wert des Urins nur gering von  $[\text{A}_{\text{tot}}]$  und  $\text{PCO}_2$  beeinflusst wird, ist die [SID] im Harn in das Interesse der Forschung gerückt. Die Bestimmung der [SID] im Urin könnte die Diagnostik des SBS verbessern (Gattinoni *et al.*, 2006a). Constable (2007) bewertet die Harn-[SID] als wichtiges Element zur Evaluierung des SBS von Rindern, das die Beziehung zwischen dem pH-Wert des Urins und der Netto-Säuren-Basen-Ausscheidung (NSBA) erklären kann.

### 2.1.2.3 Acid total ( $\text{A}_{\text{tot}}$ )

Die dritte unabhängige Variable des Stewart-Modells ist die totale Konzentration der nichtflüchtigen schwachen Säuren  $[\text{A}_{\text{tot}}]$ . Stewart unterstellt in seinem Modell, dass HA und  $\text{A}^-$  nicht an Reaktionen im Plasma teilnehmen, so dass ihre Summe immer gleich bleibt. Diese These wurde schon von (Reeves, 1976) unter Einbeziehung des Gesetzes von der Erhaltung der Masse durch folgende Formel ausgedrückt:

$$[\text{A}_{\text{tot}}] = [\text{HA}] + [\text{A}^-] \quad (9)$$

In Stewarts Modell des SBS wird keine Methode angeboten, um  $[\text{A}_{\text{tot}}]$  und den dazugehörigen  $K_a$ - und  $\text{p}K_a$ -Wert zu bestimmen. Stewart berechnete  $[\text{A}_{\text{tot}}]$  aus der Gesamteiweißkonzentration und einem Faktor von van Slyke (1928). Van Slyke untersuchte die negativen Ladungen von Albumin und Globulinen, die aus Pferdeserum gewonnen wurden und setzte diese in Beziehung zum pH-Wert der Lösungen. Figge *et al.* (1991;1992) machten mit ihren Untersuchungen darauf aufmerksam, dass vor allem Albumin und Phosphat Einfluss auf den SBS des Menschen haben. Globuline spielen eine untergeordnete

Rolle. Im Gegensatz zum Menschen hat bovines Globulin eine negative Nettoladung und seine Beteiligung am SBS beim Rind ist nicht gänzlich zu verneinen (Constable, 2002a; Darrow und Hartmann, 1929).

Besonders Albumin beeinflusst also den SBS im Blut (Russell *et al.*, 1996; Wilkes, 1998). Es macht 95% von  $A_{\text{tot}}$  aus, Phosphat hat einen Anteil von 5% (de Morais, 1992; Whitehair *et al.*, 1995). Der Syntheseort des Albumins ist das endoplasmatische Retikulum der Hepatozyten. Es zählt neben den Globulinen zu den zwei Hauptproteinfraktionen des Blutes. Es erfüllt vor allem Transportfunktionen (Scheunert und Trautmann, 1987). Die Halbwertszeit des extrazellulären Albumins beträgt beim Rind 16,5d. Unter physiologischen Bedingungen werden täglich zwischen 150 und 200mg Albumin je kg Körpermasse (=KM) produziert (Hartmann, 1995). Albumin ist eine komplexe mehrprotonige Säure mit vielen dissoziierbaren Gruppen entsprechend der Aminosäurezusammensetzung des Moleküls (Meloun *et al.*, 1975; Takahashi *et al.*, 1987). Tanford *et al.* (1955) identifizierten 215 dissoziationfähige Gruppen am bovinen Albumin, die in sieben Kategorien unterteilt werden können. In dem er den Mittelwert dieser Daten bildete, berechnete Constable (2002a) den  $pK_a$ -Wert für bovines Albumin. Bei 37°C beträgt er 7,01. Um die Ladung des bovinen Albumins kalkulieren zu können, kombinierte Constable die Methode von Figge *et al.* (1992) mit den Daten von Darrow und Hartmann (1929). Die Ladung des bovinen Albuminmoleküls lässt sich anhand nachstehender Formel berechnen:

$$[\text{Alb}^-] (\text{mmol/l}) = ([\text{Alb}] (\text{g/l}) \times 0,141) \times (\text{pH} - 5,42) \quad (10)$$

Das anorganische Phosphat im Serum ist zu 10 bis 20% an Proteine gebunden, während der andere Teil als freies Anion oder komplexgebunden vorliegt. Bei physiologischem pH-Wert von ~7,4 überwiegt Hydrogenphosphat (sekundäres Phosphat):

$$P_i = [\text{H}_3\text{PO}_4] + [\text{H}_2\text{PO}_4^-] + [\text{HPO}_4^{2-}] + [\text{PO}_4^{3-}] \quad (11)$$

Die Serum-[Phosphat] ist normalerweise niedrig. Daher kann eine Hypophosphatämie keine metabolische Alkalose erzeugen (de Morais und Muir, 1995). Hyperphosphatämie, z. B. bei Niereninsuffizienz, ist für einen Abfall des Blut-pH mit verantwortlich (Fencel und Leith, 1993; Fencel und Rossing, 1989; Figge *et al.*, 1991).

Die Ladung des Phosphatgehaltes im Plasma kann nach Figge *et al.* (1992) mit folgender Formel berechnet werden:

$$[\text{P}_i^-] (\text{mmol/l}) = ([\text{P}_i] (\text{mmol/l}) \times 0,309) \times (\text{pH} - 0,469) \quad (12)$$

Durch Zusammenfassung der Formeln zur Ladung des Albumins und des Phosphat kann der negativ geladene Anteil von  $A_{\text{tot}}$   $[\text{A}^-]$  kalkuliert werden:

$$[\text{A}^-] (\text{mmol/l}) = ([\text{Alb}] \times 0,141) \times (\text{pH} - 5,42) + ([\text{P}_i] \times 0,309) \times (\text{pH} - 0,469) \quad (13)$$

Die Referenzbereiche des Gesamtprotein- und Albumingehaltes sowie des Albumin-Globulin-Verhältnisses im Blut des Rindes sind in Tabelle 2 aufgeführt. In den herangezogenen Fachbüchern existieren nur vereinzelt Referenzwerte für Kälber. Einige

Studien belegen etwas niedrigere Werte der Gesamtproteinkonzentration beim Kalb als bei älteren Rindern (Jaster *et al.*, 1977; Knowles *et al.*, 2000; Steinhardt *et al.*, 1993). Es konnte gezeigt werden, dass Kälber mit Plasma-[Albumin]-Werten unterhalb des Referenzbereiches von Rindern geboren werden. Die Werte steigen in den ersten Lebenstagen an und liegen nach etwa 13 Lebenstagen auf dem Niveau von adulten Rindern (Knowles *et al.*, 2000; Steinhardt *et al.*, 1993).

Tab. 2 Referenzbereiche für den Gesamtprotein- und Albumingehalt, des Albumin-Globulin-Verhältnisses und des Phosphatgehaltes im Serum von Rindern

Gesamtprotein (g/l)	Albumin (g/l)	A-G-Quotient	Phosphat (mmol/l)	Quelle
67-75	31-36	-	1,8-2,1	(Howard, 1993)
67-75	30-36	0,84-0,94	1,8-2,1	(Kaneko, 1989)
60-80*	35-42	0,80-1,20	1,6-2,3**	(Kraft und Dürr, 2005)
60-80 <sup>1</sup>	30-40	0,80-1,20	1,6-2,3 <sup>2</sup>	(Rosenberger, 1990)
68-86	30-43	0,84-0,94	1,8-2,1	(Smith, 2002)
57-81	21-36	-	1,1-2,8	(Radostits <i>et al.</i> , 2007)

Kälber 50-70g/l    Kälber 2,6-3,5mmol/l

<sup>1</sup>Kälber 59-70g/l    <sup>2</sup>Kälber 2,0-3,5mmol/l

Constable (2002a) ermittelte durch Titrationsversuche Werte für  $[A_{tot}]$  von 25mmol/l und  $K_a=0,87 \times 10^{-7}$  beim Rind. Anhand dieser Daten berechnete der Autor Faktoren, mit denen sich  $[A_{tot}]$  aus der Albumin- bzw. Gesamtproteinkonzentration des Blutes kalkulieren lässt:

$$\text{a) } [A_{tot-Alb}] \text{ (mmol/l)} = 0,76 \text{ (mmol/g)} \times [Alb] \text{ (g/l)} \quad (14)$$

$$\text{b) } [A_{tot-Pro}] \text{ (mmol/l)} = 0,36 \text{ (mmol/g)} \times [GE] \text{ (g/l)}$$

2005b bestimmten Constable *et al.* etwas geringere Werte für  $[A_{tot}]$  im Kälberserum. Daraufhin wurde die Berechnung von  $[A_{tot}]$  für Kälber präzisiert. Die für das Kalb kalkulierten Faktoren sind statistisch nicht verschieden zu denen für Rinder ermittelten Werten:

$$\text{a) } [A_{tot-Alb}] \text{ (mmol/l)} = 0,622 \text{ (mmol/g)} \times [Alb] \text{ (g/l)} \quad (15)$$

$$\text{b) } [A_{tot-Pro}] \text{ (mmol/l)} = 0,343 \text{ (mmol/g)} \times [GE] \text{ (g/l)}$$

Die voranstehenden Faktoren zur  $[A_{tot}]$ -Berechnung orientieren sich an den Referenzwerten von Serum-[GE]=70g/l und Serum-[Alb]=33g/l. Voraussetzung für diese Berechnung von  $[A_{tot}]$  aus [Alb] und [GE] ist eine Serum-[Phosphat] innerhalb des Referenzbereiches und für die  $[A_{tot-Pro}]$ -Berechnung ein normales Albumin-Globulin-Verhältnis im Serum.

Für viele Spezies wurden inzwischen Serumwerte für  $[A_{tot}]$  und  $K_a$  bestimmt. Vor allem für den Menschen existieren diverse Angaben (Anstey, 2005; Corey, 2003; Staempfli und Constable, 2003; Story *et al.*, 2004; Watson, 1999; Wilkes, P., 1998). Die bisher ermittelten Daten für  $[A_{tot}]$  und  $K_a$  für verschiedene Tierarten sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tab. 3 Mittelwerte für  $[A_{tot}]$  und  $K_a$  im Plasma von verschiedenen Spezies

Spezies	$[A_{tot}]$ (mmol/l)	$K_a$	Quelle
Rind (Kalb)	25,0 (19,2-23,1)	$0,87 \times 10^{-7}$ ( $0,84 \times 10^{-7}$ )	(Constable, 2002; Constable <i>et al.</i> , 2005)
Pferd (Rennpferde)	15,0 (14,9)	$2,22 \times 10^{-7}$ ( $2,11 \times 10^{-7}$ )	(Constable, 1997; Stampfli, H. R. <i>et al.</i> , 1999)
Hund	17,4	$0,17 \times 10^{-7}$	(Constable und Stampfli, 2005)
Katze	24,3	$0,67 \times 10^{-7}$	(McCullough und Constable, 2003)
Vogel	7,8	$2,15 \times 10^{-7}$	(Stampfli, H. <i>et al.</i> , 2006)

#### 2.1.2.4 strong ion gap (SIG)

Ein klinisch wichtiges Problem ist die Identifikation von starken Anionen im Plasma, wie  $\beta$ -Hydroxybutyrat, Azetoazetat und Sulfat, die routinemäßig nicht oder selten bestimmt werden (Constable, 1997; Constable *et al.*, 1997, 1998).

Genau wie die AG basiert das Konzept der „strong ion gap“=starke Ionenlücke auf dem Gesetz der Elektroneutralität und wurde von Figge *et al.* (1992) entwickelt.

Die SIG bietet eine präzisere Methode, die ungemessenen starken Ionen im Plasma zu identifizieren als die AG (Constable *et al.*, 1997; 1998; Kellum, 2003; Story *et al.*, 2001), da ausschließlich die starken Ionen in die Berechnung mit einbezogen werden. Die AG ist die Differenz aus allen ungemessenen Kat- und Anionen, dazu zählen auch Albumin, Globuline und Phosphat.

Die SIG setzt sich aus der Differenz der ungemessenen starken Kationen ( $X^+$ ) und den Anionen ( $X^-$ ) zusammen (Kellum *et al.*, 1995):

$$[\text{SIG}] (\text{mmol/l}) = [X^+] - [X^-] \quad (16)$$

Anders als die anion gap ist die [SIG] im Blut eines gesunden Organismus nahezu null (Corey, 2003). [SIG] steigt an, wenn  $[X^+]$  zunimmt,  $[X^-]$  abnimmt oder beides zutrifft. Häufiger kommt es klinisch zu einem Abfall von [SIG]. Dies resultiert vor allem aus einem Anstieg von  $[X^-]$ , seltener durch einen Abfall von  $[X^+]$  (Constable, 1999b; 2000).

In der Humanmedizin wird die [SIG] nach der Figge-FencI-Methode aus der Differenz von  $[\text{SID}_a]$  und  $[\text{SID}_e]$  berechnet (Figge *et al.*, 1992; Gilfix *et al.*, 1993; Kellum *et al.*, 1995; Rehm *et al.*, 2004):

$$[\text{SIG}] (\text{mmol/l}) = [\text{SID}_a] - [\text{SID}_e] \quad (17)$$

Weichen  $\text{SID}_a$  und  $\text{SID}_e$  voneinander ab, kann auf das Vorliegen von ungemessenen Anionen geschlossen werden (Funk, 2007). Der Normwerte der [SIG], die für den Menschen bisher vorliegen, reichen von 2 bis 8mmol/l (Kellum, 2005).

Für die Veterinärmedizin hat Constable 1997 ein vereinfachtes „Strong ion model“ entwickelt (s. 2.1.3). Nach diesem Modell kann die [SIG] folgendermaßen bestimmt werden:

$$[\text{SIG}] (\text{mmol/l}) = \frac{A_{\text{tot}}}{1 + 10^{(\text{pKa}-\text{pH})}} - \text{AG} \quad (18)$$

Constable *et al.* (2005) schlagen einen Referenzbereich von -3 bis +3mmol/l für die entsprechend dieser Berechnung ermittelte [SIG] bei Kälbern vor.

Viele Intensivpatienten zeigen bedeutsame Störungen des SBS mit relativ hohen Konzentrationen von ungemessenen Anionen im Plasma. Durch die gleichzeitig vorhandene Hypalbuminämie ist die SIG in der Detektion von  $[X^-]$  der traditionellen Anionenlücke deutlich überlegen (Fencl *et al.*, 2000; Kellum, 2003).

In einigen Studien wurde die Korrelation zwischen der [SIG] und der Mortalität von humanen Patienten untersucht. Einige Autoren konnten einen Zusammenhang zwischen erhöhter [SIG] und Mortalität messen (Balasubramanyan *et al.*, 1999; Dondorp *et al.*, 2004; Durward *et al.*, 2005; Kaplan und Kellum, 2004). Andere Untersuchungen bestätigen diese Ergebnisse nicht (Cusack *et al.*, 2002; Rocktaeschel *et al.*, 2003). Die unterschiedlichen Studienergebnisse können im Zusammenhang mit dem Gebrauch von gelatinebasierten Infusionslösungen stehen. Gelatine ist eine exogene Quelle ungemessener Ionen (Hayhoe *et al.*, 1999; Kellum, 2005).

### 2.1.3 Simplified strong ion model nach Constable

Das vereinfachte „strong ion model“ (Constable, 1997) beschreibt Plasmaionen als starke Ionen, flüchtige ( $\text{HCO}_3^-$ ) oder nicht flüchtige Pufferionen ( $\text{A}^-$ ). Plasma enthält demnach drei Arten geladener Teilchen:  $\text{SID}^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$  und  $\text{A}^-$ . Wendet man auf diese Vereinfachung das Prinzip der Elektroneutralität an, gilt:

$$[\text{SID}^+] - [\text{HCO}_3^-] - [\text{A}^-] = 0 \quad (19)$$

Diese Gleichung stellt die Basis für das vereinfachte „strong ion model“ dar. Die Einbeziehung von  $[\text{CO}_3^{2-}]$ ,  $[\text{OH}^-]$  und  $[\text{H}^+]$  wie in Stewarts Gleichung (Formel 6) wird als unbedeutend voraus gesetzt, da die Plasmakonzentrationen dieser Parameter im  $\mu\text{mol}$ - bzw.  $\text{nmol}$ -Bereich liegen (Constable, 2000).

Durch die Kombination der Gleichung für die Erhaltung der Masse, des vereinfachten Prinzips der Elektroneutralität (Formel 19) und der Dissoziationsgleichgewichte von  $\text{H}_2\text{CO}_3$  und der schwachen Säuren des Plasmas wurde eine logarithmische Gleichung entwickelt. Sie enthält die drei unabhängigen Stewart-Variablen  $A_{\text{tot}}$ , SID und  $\text{CO}_2$  und drei Konstanten ( $K_a$ ,  $K_1$ , S):

$$\text{pH} = \log \frac{2 \times \text{SID}}{(\text{K}_1 \times \text{S} \times \text{PCO}_2) + (\text{K}_a \times \text{A}_{\text{tot}}) - (\text{K}_a \times \text{SID}) + \sqrt{((\text{K}_1 \times \text{S} \times \text{PCO}_2) + (\text{K}_a \times \text{SID}) + (\text{K}_a \times \text{A}_{\text{tot}}))^2 - (4\text{K}_a^2 \times \text{SID} \times \text{A}_{\text{tot}})}} \quad (20)$$

$K_a$ =Dissoziationskonstante von  $\text{A}_{\text{tot}}$ ;  $K_1$ =Dissoziationskonstante von  $\text{H}_2\text{CO}_3$ ; S=Löslichkeit von  $\text{CO}_2$  im Plasma

Diese Gleichung ist algebraisch einfacher als die Gleichung von Stewart, da hier der pH eine Funktion von 6 Faktoren ist, bei Stewart sind es 8 Faktoren (Formel 6). Nicht alle 6 Faktoren des „simplified strong ion model“ haben einen unabhängigen Effekt auf den pH-Wert im Plasma. Die Dissoziationskonstanten  $K_a$  und  $K_1$  sind abhängig von der Temperatur und der Ionenstärke (Putnam und Roos, 1991).  $S$  ist sowohl temperaturabhängig als auch abhängig von der Ionenstärke und der Proteinkonzentration (Austin *et al.*, 1963).  $[A_{tot}]$  und  $K_a$  sind abhängig von den relativen Anteilen der nichtflüchtigen Pufferionen (Albumin, Globulin, Phosphat) (Constable, 1997). Veränderungen in der Ionenstärke können klinisch vernachlässigt werden, da ihr Ausmaß gering ist (Constable, 1999a). Die wichtigsten Parameter, die Einfluss auf den pH-Wert nehmen, sind demnach:  $PCO_2$ ,  $[SID]$ ,  $[A_{tot}]$  und die Temperatur. Eine Veränderung dieser Variablen ruft eine direkte und vorhersagbare pH-Wertänderung hervor (Constable, 2000).

#### **2.1.4 Regulation des SBS**

Der SBS ist einer der am straffesten regulierten Systeme im Körper. Akute Veränderungen des Blut-pH induzieren starke regulatorische Effekte auf der Ebene der Zelle, des Organs und des Organismus. Abweichungen des SBS führen zu Störungen von transmembranären Stoffwechselfvorgängen, Beeinträchtigung der Wirkung von Enzymen und Veränderung der Affinität von Rezeptoren gegenüber Hormonen (Berchtold *et al.*, 1982; Hartmann und Berchtold, 1997).

Die Regulation der unabhängigen Parameter des SBS nach Stewart geschieht im Organismus über die Lunge, die Nieren, den Gastrointestinaltrakt und die Leber. Das Herz-Kreislaufsystem, das für den Transport der Gase und Metabolite verantwortlich ist, beeinflusst durch die Durchblutung der o. a. Organe die Bilanz des SBS im Körper.

##### **2.1.4.1 Pulmonale Regulation**

Die Lunge kontrolliert durch die alveoläre Ventilation den  $PaCO_2$ . Steigt oder fällt der  $PaCO_2$  oder die  $[H^+]$ -Konzentration im Blut, reagiert die Lunge innerhalb von Sekunden mit Hyper- bzw. Hypoventilation (DiBartola, 1992; Stewart, 1981). Die Überwachung dieser Regelgrößen geschieht an peripheren, in der Aorta und der A. carotis gelegenen und an zentralen Chemorezeptoren in der Medulla oblongata. Dieser Mechanismus ist schon bei der Geburt von Tieren funktionsfähig und sorgt für die Umstellung des fetalen Gasaustausches auf die postnatale Lungenatmung (Kaske, 1994). Nichtrespiratorische Störungen des SBS werden durch vermehrte oder verminderte  $CO_2$ -Abatmung kompensiert. Die respiratorische Kompensation normalisiert den Blut-pH nicht vollständig, da die pulmonale Ventilation durch Veränderungen des  $PaCO_2$  und des  $PaO_2$  limitiert ist (Berchtold, 1998; Berchtold *et al.*, 2000). Zur pulmonalen Kompensation einer metabolischen Azidose ist beim Menschen eine

Verminderung des  $\text{PaCO}_2$  auf etwa 1,3kPa, beim Hund auf 2,0kPa möglich (Adams und Polzin, 1989; Hartmann, 2005).

#### 2.1.4.2 Renale Regulation

Die Nieren kontrollieren durch Ultrafiltration und tubuläre Reabsorption oder Sekretion die Plasma-[SID] und Plasma-[ $A_{\text{tot}}$ ]. Die Regulation der Plasma-[SID] und der Plasma-[ $P_i$ ] durch epitheliale Transportvorgänge in den Nieren ist mit der Ausscheidung oder Rückgewinnung von  $\text{H}^+$  oder  $\text{HCO}_3^-$  verknüpft. Die traditionelle Betrachtungsweise des SBS geht davon aus, dass die Nieren primär Protonen ausscheiden und  $\text{HCO}_3^-$  reabsorbieren oder generieren, womit immer auch ein Austausch von starken Kationen (vor allem  $\text{Na}^+$  und  $\text{K}^+$ ) und des starken Anions  $\text{Cl}^-$  verbunden ist. Nach der Theorie von Stewart ist die Einstellung von [ $\text{H}^+$ ] und [ $\text{HCO}_3^-$ ] in der Niere nicht unabhängig, sondern wird durch die Regulation der unabhängigen Variablen bestimmt (Fencl und Leith, 1993).

Nach der herkömmlichen Theorie des SBS geschieht die renale Einstellung des SBS auf verschiedene Weise (Gäbel, 2005):

1. tubuläre Reabsorption des im Glomerulus filtrierte  $\text{HCO}_3^-$
2. Regeneration von  $\text{HCO}_3^-$  in Tubuluszellen
3. Ausscheidung von  $\text{HCO}_3^-$  im Endharn
4. Ausscheidung von Protonen: a) als freies  $\text{H}^+$ -Ion  
b) als titrierbare Azidität  
c) als Ammoniumion ( $\text{NH}_4^+$ )

Bei der  $\text{HCO}_3^-$ -Reabsorption werden die in das Tubuluslumen sezernierten  $\text{H}^+$ -Ionen von dort vorhandenen  $\text{HCO}_3^-$ -Ionen neutralisiert.  $\text{H}_2\text{CO}_3$  dissoziiert in  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$ . Das  $\text{CO}_2$  diffundiert in die Tubuluszelle. Dort entsteht durch das Enzym Carboanhydratase wieder  $\text{H}^+$  und  $\text{HCO}_3^-$ . Das  $\text{H}^+$  wird gegen  $\text{Na}^+$  aus dem Tubuluslumen ausgetauscht und  $\text{Na}^+$  und  $\text{HCO}_3^-$  ans Blut abgegeben (Verlander, 1997). Nach Stewarts Theorie erhöht sich die [SID] durch die Reabsorption des  $\text{Na}^+$ , dies hat Einfluss auf die abhängigen Parameter des SBS.

Die Regeneration von  $\text{HCO}_3^-$  steht im Zusammenhang mit der Ausscheidung von Protonen. Durch die Carboanhydratase entstehen aus  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$   $\text{HCO}_3^-$  und  $\text{H}^+$ .  $\text{H}^+$  und  $\text{Na}^+$  werden gegeneinander ausgetauscht, um die Elektroneutralität zu erhalten (Brobst, 1983).  $\text{Na}^+$  und  $\text{HCO}_3^-$  werden über die basolaterale Membran ans Blut abgegeben. Die Regeneration von  $\text{HCO}_3^-$  geht also auch mit einer Erhöhung der Plasma-[SID] einher.

Bei der alkalotischen Stoffwechsellage von Pflanzenfressern wird  $\text{HCO}_3^-$  ausgeschieden, d. h. es werden weniger  $\text{HCO}_3^-$  bzw. nach dem Stewart-Modell weniger  $\text{Na}^+$  im proximalen Tubulus reabsorbiert und  $\text{HCO}_3^-$  im kortikalen Sammelrohr im Antiport mit  $\text{Cl}^-$  ausgetauscht (Madias und Adrogue, 2003). Durch die verminderte  $\text{Na}^+$ -Rückgewinnung und die erhöhte  $\text{Cl}^-$ -Reabsorption sinkt die Plasma-[SID].

Die Sekretion von  $H^+$ -Ionen in das Tubuluslumen geschieht im proximalen Tubulus durch einen  $Na^+/H^+$ -Antiport und im kortikalen Sammelrohr durch einen  $K^+/H^+$ -Antiport sowie eine  $H^+$ -ATPase (Verlander, 1997). Die Reabsorption von  $Na^+$  und  $K^+$  erhöht die Plasma-[SID].

Die meisten  $H^+$ -Ionen werden im Harn nicht als freie Protonen ausgeschieden. Sie werden zu 40% über die Bindung an  $HPO_4^{2-}$  als  $H_2PO_4^-$  eliminiert. Phosphat wird aufgrund einer niedrigen Phosphatschwelle nicht reabsorbiert und steht als Harnpuffer zur Verfügung (Lang, 2005). Diese Form der  $H^+$ -Ausscheidung wird als titrierbare Azidität bezeichnet (Scheid, 1996). Dieser Ausdruck beschreibt die Menge einer starken Base (z. B. NaOH), die nötig ist, um die über 24h ausgeschiedene Harnmenge eines Tieres auf den pH von 7,40 zu bringen. Wendet man das Stewart-Modell auf diese Form der  $H^+$ -Ausscheidung an, ist hervorzuheben, dass hier neben der [SID]-Erhöhung auch  $[A_{tot}]$  durch die Phosphatelimination eingestellt wird. Beides hat nach Stewart die Erhöhung des Blut-pH zur Folge. Der größte Teil der Protonen wird im Harn als  $NH_4^+$  ausgeschieden. Das Ammoniumion entsteht aus  $NH_3$ , welches in der Tubuluszelle aus Glutamin gebildet wird und leicht in das Tubuluslumen diffundiert (Fromm und Gäbel, 2005).

Neuere Studien belegen, dass bei der renalen  $H^+$ - bzw.  $HCO_3^-$ -Ausscheidung immer starke An- bzw. Kationen beteiligt sind und dadurch die Plasma-[SID] eingestellt wird (Corey *et al.*, 2006; Moviat *et al.*, 2006; Ring *et al.*, 2005).

Die renalen Regulationsmechanismen des SBS können respiratorische SBS-Störungen kompensieren. Sie setzen aber erst nach Stunden ein und erreichen ein Optimum nach 2-3 Tagen (Hartmann, 2005).

#### **2.1.4.3 Gastrointestinale Regulation**

Stewart benennt 1981 den Gastrointestinaltrakt als wichtiges Organ für den SBS, da er direkten Einfluss auf die [SID] nimmt. Durch Veränderungen in den Absorptions- und Sekretionsraten der starken Ionen wird die [SID] beeinflusst. Es wird davon ausgegangen, dass der epitheliale Transfer der starken Kat- und Anionen nicht in Abhängigkeit von ihrer Wirkung auf den SBS geschieht. Allerdings lässt sich durch die [SID] der Nahrung eine Wirkung auf den SBS erzielen. Dies geschieht z. B. bei der DCAB (dietary cation anion balance) basierten Fütterung der Milchkühe zur Prophylaxe der Hypocalcämie (Goff und Horst, 2003; Hu *et al.*, 2007; Vagnoni und Oetzel, 1998). Einige Untersuchungen existieren, in denen auf unterschiedliche Absorptions- und Sekretionsraten von Elektrolyten bei Azidosen und Alkalosen hingewiesen wird. Diese *in vivo* Studien an Ratten unterstützen die These, dass der Gastrointestinaltrakt einen kompensatorischen Effekt bezüglich [SID] bei respiratorischen und nicht-respiratorischen Störungen des SBS haben könnte (Charney und Feldman, 1984).

#### **2.1.4.4 Hepatische Regulation**

Je nach Stoffwechsellage werden in der Leber vermehrt  $H^+$ -Ionen durch Proteinkatabolismus oder anaerobe Glykolyse produziert oder durch vollständige Metabolisierung von Laktat, Citrat, Azetat und anionischen Aminosäuren verbraucht (Marshall, 1995). Die Leber ist für die Bildung der Plasmaproteine zuständig und stellt damit  $[A_{tot}]$  ein. Die hepatische Produktion von Albuminen und  $\alpha$ - und  $\beta$ -Globulinen unterliegt nicht ihren potenziellen Wirkungen auf den SBS (Fencel und Leith, 1993). Bei Störungen des SBS durch Hypo- oder Hyperproteinämie kann keine Kompensationsreaktion durch die Nieren oder die Lunge beobachtet werden. Bei chronischer Hypoproteinämie wurde sogar paradoxerweise Hyperventilation beobachtet (Rossing *et al.*, 1988).

#### **2.1.5 Pathophysiologischer Hintergrund und Einteilung der Funktionsstörungen des SBS nach Stewart**

Störungen des SBS sind stets sekundäre Folge von primären Organdysfunktionen. Liegt der pH-Wert unterhalb des Normalbereichs, spricht man von einer Azidose, liegt er darüber, von einer Alkalose. Der Referenzbereich des pH-Wertes für das Kalb ist 7,35 bis 7,45 (Berchtold, 1998). Je nach Ursache werden die Störungen des SBS in respiratorische oder nicht-respiratorische (metabolische) eingeteilt. Azidosen bzw. Alkalosen können kompensiert werden (s. 2.1.4).

Um eine respiratorische SBS-Störung zu diagnostizieren, wird sowohl traditionell als auch nach Stewart der  $PaCO_2$  beurteilt. Funktionsdiagnostisch werden nach der herkömmlichen Betrachtungsweise des SBS  $[HCO_3^-]$  und  $[BE]$  herangezogen, um eine Aussage über die metabolische Komponente des SBS vornehmen zu können. Bei der Analyse der Stewart-Variablen ergibt sich eine differenziertere Klassifikation der metabolischen SBS-Störungen im Vergleich zu Henderson-Hasselbalch:

Tab. 4 Einteilung der Störungen des SBS nach Henderson-Hasselbalch und Stewart im Vergleich

SBS-Störungen	Henderson-Hasselbalch	Stewart	
Respiratorisch	Azidose ( $\text{CO}_2\uparrow$ ) Alkalose ( $\text{CO}_2\downarrow$ )	Azidose ( $\text{CO}_2\uparrow$ ) Alkalose ( $\text{CO}_2\downarrow$ )	
Metabolisch	Azidose ( $\text{HCO}_3^-\downarrow$ , $\text{BE}\downarrow$ ) Alkalose ( $\text{HCO}_3^-\uparrow$ , $\text{BE}\uparrow$ )	$\downarrow[\text{SID}]$	Hyperchlorämische Azidose ( $\text{Cl}^-\uparrow$ ) Organische Azidose (z. B. Laktat $\uparrow$ ) Verdünnungs-Azidose ( $\text{Na}^+\downarrow$ )
		$\uparrow[\text{SID}]$	Hypochlorämische Alkalose ( $\text{Cl}^-\downarrow$ ) Kontraktions-Alkalose ( $\text{Na}^+\uparrow$ )
		$\uparrow[\text{A}_{\text{tot}}]$	Hyperproteinämische und/oder hyperphosphatämische Azidose
		$\downarrow[\text{A}_{\text{tot}}]$	Hypoproteinämische Alkalose
Gemischt	Respiratorisch-metabolisch	Alle Störungen in Kombination denkbar	

Es existieren zwei grundsätzliche Mechanismen, wie sich  $[\text{SID}]$  verändern kann. Erstens kann sich allein das Volumen des freien Wassers im Plasma ändern. Die starken Ionen werden proportional verdünnt oder konzentriert. Diese metabolische Störung des SBS, die durch Hyper- oder Hyponatriämie gekennzeichnet ist, wird als Kontraktions-Alkalose bzw. Verdünnungs-Azidose bezeichnet. Die zweite Möglichkeit einer Veränderung der  $[\text{SID}]$  ist eine isotonische Imbalance der starken Ionen. Wenn  $[\text{Na}^+]$  konstant bleibt, kann durch Anstieg von  $\text{Cl}^-$  eine hyperchlorämische Azidose oder durch Akkumulation von starken organischen Säuren eine Laktazidose oder eine Azidose durch ungemessene Anionen hervorgerufen werden (de Morais und Muir, 1995). Neben  $\text{Na}^+$  ist  $\text{Cl}^-$  das einzige starke Ion, dessen Konzentrationsabfall eine SBS-Störung (hypochlorämische Alkalose) hervorrufen kann. Die Konzentrationen aller anderen starken Kat- und Anionen sind zu gering, um  $[\text{SID}]$  nachhaltig zu verändern (Fencl *et al.*, 2000; Fencl und Rossing, 1989). Der Begriff hyperchlorämische Azidose ist mittlerweile weitgehend akzeptiert (Rehm *et al.*, 2007). Es existieren zahlreiche Studien zu dieser Form der metabolischen Azidose, die nach der Infusion größerer Mengen 0,9%iger NaCl-Lösung auftritt (Moon und Kramer, 1995; Prough und Bidani, 1999; Scheingraber *et al.*, 1999; Skellett *et al.*, 2000; Wilkes, N. J. *et al.*, 2001). Isotone Kochsalzlösung ( $\text{Na}^+=154\text{mmol/l}$ ,  $\text{Cl}^-=154\text{mmol/l}$ ,  $\text{SID}_2=0\text{mmol/l}$ ) enthält im Verhältnis zum Blutplasma ( $\text{Na}^+=140\text{mmol/l}$ ,  $\text{Cl}^-=110\text{mmol/l}$ ,  $\text{SID}_2=30\text{mmol/l}$ ) zu viel  $\text{Cl}^-$ , daraus resultiert eine Erniedrigung der  $[\text{SID}]$  (Constable, 2003; Durward *et al.*, 2001). Dies wird nur unzureichend durch eine hypoproteinämische Alkalose durch die Verdünnung der Plasmaproteine ausgeglichen (Rehm *et al.*, 2004). Aus einer Studie von (Morgan *et al.*, 2004) geht hervor, dass Infusionslösungen, die aus NaCl und  $\text{NaHCO}_3$  hergestellt wurden,

eine  $[SID_2]$  von 24mmol/l aufweisen sollten. Lag die  $[SID_2]$  darüber verursachte die Infusionslösung eine Alkalose, bei geringeren Werten eine Azidose. Für das Rind ist vor allem die hypochlorämische Alkalose klinisch beachtenswert. Bei der Labmagenverlagerung des Rindes kommt es regelmäßig zur Hypochlorämie und metabolischen Alkalose aufgrund des abomasalen Refluxes (Constable, 1999a; de Barros Filho, 2002; Dirksen *et al.*, 2006; Hartmann, 2005).

*In vitro* ist der Zusammenhang zwischen Proteinen und pH-Wert im Plasma wiederholt belegt worden (Figge *et al.*, 1991; 1992; Watson, 1999). Hypoproteinämie ist häufig bei Intensivpatienten ein Grund für eine metabolische Alkalose (Fencel *et al.*, 2000; Fencel und Rossing, 1989; Rossing *et al.*, 1988; Ystgaard, 1982). Hyperproteinämie und -phosphatämie durch Hämokonzentration soll für die Azidose verantwortlich sein, die bei Cholera auftritt (Wang *et al.*, 1986). Durch Albumininfusionen bei Menschen konnte experimentell eine hyperproteinämische Azidose erzeugt werden (Bruegger *et al.*, 2005). Ursachen für die verschiedenen metabolischen Störungen des SBS nach Stewart sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Tab. 5 Metabolische SBS-Störungen nach dem Stewart-Modell und deren klinische Ursachen

<b>Veränderungen der <math>[SID]</math></b>	<b>Ursachen</b>
Verdünnungs-Azidose $[SID] \downarrow$	Infusion elektrolytarmer(-freier) Lösungen, Wasserintoxikation
Kontraktions-Alkalose $[SID] \uparrow$	Wassermangel, Diabetes insipidus
Hyperchlorämische Azidose $[SID] \downarrow$	Nierenversagen, Diarrhoe, NaCl-Infusion, Kompensation der chronischen Hypokapnie
Hypochlorämische Alkalose $[SID] \uparrow$	Labmagenverlagerung, Erbrechen, Kompensation der chronischen Hyperkapnie
Laktazidose $[SID] \downarrow$	Gewebehypoperfusion, Hypoxie
Azidose durch ungemessene Anionen $[SID] \downarrow$	Urämie, Ketoazidose
<b>Veränderungen von <math>[A_{tot}]</math></b>	<b>Ursachen</b>
Hyperproteinämische Azidose $[A_{tot}] \uparrow$	Dehydratation
Hypoproteinämische Alkalose $[A_{tot}] \downarrow$	Leberinsuffizienz, Unterernährung, Entero- und Nephropathien, große Wunden
Hyperphosphatämische Azidose $[A_{tot}] \uparrow$	Niereninsuffizienz

### 2.1.6 Normwerte und Referenzbereiche von Variablen

Eine wichtige Aufgabe des Tierarztes ist die Interpretation von Laborparametern. Er analysiert, ob sich die ermittelten Blut- und Harnwerte eines Patiententieres im Normalbereich befinden (Kaneko, 1989). Der Begriff des „Normalen“ ist schwer definierbar. Er wird häufig benutzt, um Individuen in krank und nicht krank zu unterteilen. Diese Schlussfolgerung ist nicht korrekt, Individuen mit „Normalwerten“ können krank und mit Werten außerhalb des Normalbereiches gesund sein (Marshall, 1995). In der Interpretation

von Laborergebnissen wird daher der Begriff Referenzbereich benutzt (Kraft und Dürr, 2005). Um einen Referenzbereich festzulegen, müssen Grenzwerte festgelegt werden. Grenzwerte sind keine biologischen Konstanten, sondern statistisch gewählte Werte zur diagnostischen Beurteilung kontinuierlicher Messdaten unter Einhaltung bestimmter Qualitätsvorgaben (Greiner, 2003). Es gibt grundsätzlich zwei mathematisch-statistische Methoden, um einen Referenzbereich festzulegen: (1) parametrisch und (2) nichtparametrisch.

Eine parametrische Berechnungsgrundlage setzt voraus, dass die erhaltenen Werte analog zur Gauß'schen Normalverteilung vorliegen. Die Gauß'sche Normalverteilung wird durch ihre Dichtefunktion definiert (Weiß, 1999):

$$y = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{x-\mu}{\sigma}\right)^2} \quad (21)$$

x=Messgröße; y=relative Häufigkeit von x;  $\mu$ =Erwartungswert;  $\sigma$ =Standardabweichung;  $\pi=3,1416$ ;  $e=2,7183$

Theoretisch kann x jeden Wert annehmen. Die Gauß'sche Normalverteilung ist symmetrisch und glockenförmig. Die Streuung ( $\delta$ ) für 68% aller Einzelwerte für x ist  $\bar{x}\pm 1x\sigma$ . Fast alle Einzelwerte (99,73%), die normal verteilt sind, befinden sich im Streubereich  $\bar{x}\pm 3x\sigma$ . Referenzbereiche für normal verteilte Messdaten werden festgelegt, in dem man eine repräsentative Stichprobe aus einer Population gesunder Tiere nimmt (Kaneko, 1989). Aus Mittelwert ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichung (s) der Messwerte wird üblicherweise der Referenzbereich folgendermaßen ermittelt:  $\bar{x}\pm 1,96xs$ . In diesem Bereich liegen 95% aller normal verteilten Messdaten. Im Umkehrschluss bedeutet dies, dass auch 5% aller Einzelwerte von gesunden Probanden außerhalb dieses Referenzbereiches liegen (Marshall, 1995).

Es gibt labordiagnostische Messwerte, die nicht der Normalverteilung entsprechen. Die Verteilungskurve verläuft z. B. links steil und rechts flach oder einige Messgrößen besitzen einen einseitigen Referenzbereich, d. h. von 0 bis zum Grenzwert gilt der Messwert als „normal“. Für solche Messgrößen werden Perzentile als Grenzwerte verwandt. Im Allgemeinen wird das 95%-Perzentilintervall bevorzugt. Hierbei werden in der nach Größe geordneten Reihe der Einzelbefunde 2,5% der niedrigsten und 2,5% der höchsten gemessenen Werte ausgeschlossen. Bei einseitigem Referenzbereich werden nur an einer Seite 2,5% der Werte eliminiert (Kraft und Dürr, 2005).

Das größte Problem bei der Schaffung eines Referenzbereiches ist nicht die Frage nach der Berechnungsgrundlage, sondern nach dem Umfang der repräsentativen Stichprobe. Die Antwort auf die Frage, ob die Ergebnisse einer Stichprobe auf die Grundgesamtheit zu übertragen sind, beruht in der Medizin häufiger auf sachlogischen als auf wahrscheinlichkeitstheoretischen Überlegungen und ist eng mit dem Forschungsvorhaben verknüpft. Oft lässt sich die entsprechende Grundgesamtheit gar nicht konkret angeben

(Weiß, 2005). Für die Bestimmung des minimal erforderlichen Stichprobenumfangs bei normal verteilten Messwerten kann folgende Formel genutzt werden (Werner, 1992):

$$n_{\min} \geq \left( \frac{u_{1-\alpha/2}}{\Delta} \right)^2 \times \delta^2 \quad (22)$$

$u_{1-\alpha/2}$ =Vertrauensintervall, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha < 0,05$  und  $n \rightarrow \infty$  beträgt der dazugehörige Tabellenwert 1,96;  $\Delta$ =gewünschte Präzision der Schätzung, d. h. die Länge oder Breite, die das aus den Messdaten zu berechnende Konfidenzintervall höchstens haben soll;  $\delta^2$ =Varianz, kann aus  $s^2$  geschätzt werden.

Mit zunehmendem Stichprobenumfang erhöht sich die Genauigkeit für die Schätzung des Referenzbereiches.

## 2.2 Abomasale Verdauungsphysiologie des Kalbes

### 2.2.1 Besonderheiten des Verdauungstraktes neugeborener Kälber

Der neugeborene Wiederkäuer ist als Säugetier während der ersten Lebenswochen ausschließlich auf Milch als Nahrungsquelle angewiesen. Der Labmagen nimmt bei der Geburt etwa 50% des gesamten Magenkomplexes ein (Mornet und Espinasse, 1990). Das Vormagensystem ist zunächst klein, nicht mit Mikroorganismen besiedelt und somit praktisch funktionslos (Kaske, 2005).

Die beim Saugen geschluckte Milch gelangt unter Umgehung der Vormägen direkt in den Labmagen. Realisiert wird dies durch den Haubenrinnenreflex, eine spiralige Drehung der beiden Haubenlippen bei gleichzeitiger Öffnung des Ostium reticuloomasicum und des Psalterkanals. Dieser Reflex wird durch Chemorezeptoren in Maulhöhle und Pharynx ausgelöst, unterliegt aber auch psychischen Einflüssen (Rosenberger, 1990). Das Kalb muss die Tränke freiwillig in kleinen Schlucken aufnehmen, darf nicht beunruhigt oder im Allgemeinbefinden gestört sein, sonst schließt die Haubenrinne unvollständig und es laufen erhebliche Flüssigkeitsmengen in die Vormägen. Dies wird als Pansentrinken bezeichnet (Breukink *et al.*, 1988). Unter dem Einfluss der langsam einsetzenden Rauhfutteraufnahme bildet sich das Vormagensystem aus und der Haubenrinnenreflex geht verloren, bei einigen Tieren bleibt er allerdings über Jahre erhalten (Pfeffer, 1987).

### 2.2.2 Physiologie des Labmagens

Der Labmagen der Wiederkäuer entspricht funktionell dem Magen des monogastrischen Tieres (Pfeffer, 1987). Der Labmagen dient als Nahrungsspeicher, damit wird die Diskontinuität der Nahrungsaufnahme ermöglicht. Die Entleerung des Labmagens wird präzise reguliert. Die Entleerungsrate nach Aufnahme von isotoner energiearmer Flüssigkeit erfolgt exponentiell. Enthält Flüssigkeit kalorische Zusätze, wie Glukose, ist die Magenentleerungsrate linear, so dass Nährstoffe in einer annähernd konstanten Rate in den Dünndarm gelangen. Je mehr Glukose enthalten ist, desto langsamer erfolgt der Transport von Flüssigkeit durch den Labmagen (Nouri und Constable, 2006). Hypertone Lösungen

(>300mosmol/l) verweilen länger im Labmagen als isotone. Die abomasale Entleerungsrate beeinflusst die Anflutung der Elektrolyte im Dünndarm und damit die Geschwindigkeit ihrer dort stattfindenden Absorption (Sen *et al.*, 2006). Bei fester Nahrung beginnt die Entleerung verzögert, da die Nahrungsbestandteile zunächst zerkleinert und verflüssigt werden müssen (Ehrlein, 2005). Andere wichtige Regulationsmechanismen der Labmagenentleerung sind: Protein- und Fettgehalt der Nahrung sowie der pH der Ingesta im Duodenum (Constable *et al.*, 2006). Neben der Speicherfunktion leitet der Magen die Verdauung der Nahrungsbestandteile ein.

### 2.2.2.1 Gastrale Sekretion

Im Magen werden drei Drüsenzonen unterschieden, die Cardia-, die Fundus- und die Pylorusdrüsenzone. Cardia- und Fundusdrüsen sowie die Nebenzellen der Fundusdrüsenregion sezernieren Schleim zusammen mit  $\text{HCO}_3^-$  zum Schutz des Magenepithels. In der Fundusdrüsenzone erfolgt darüber hinaus die Sekretion von HCl durch die Belegzellen und von Verdauungsenzymen durch die Hauptzellen (Murer und Berger, 1992). Die intrazelluläre HCl-Bildung wird durch die enzymatisch beschleunigte Hydratisierung von  $\text{CO}_2$  eingeleitet. Die entstehenden Protonen werden aktiv durch Austausch mit  $\text{K}^+$  ins Labmagenlumen befördert. Das  $\text{HCO}_3^-$  gelangt im Austausch mit  $\text{Cl}^-$  ins Blut. Das sich anhäufende  $\text{Cl}^-$  gelangt über einen Kanal ins Lumen des Labmagens (Young *et al.*, 1996).

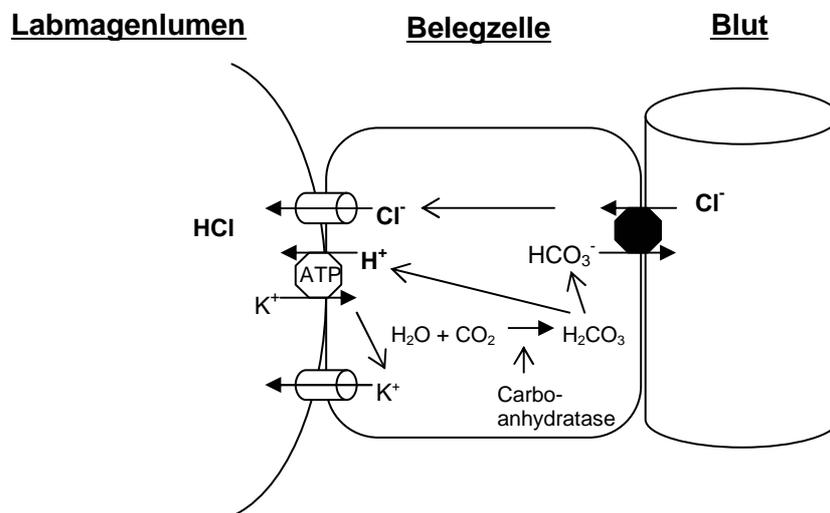


Abb. 1 Schema des Elektrolyttransfers in einer Belegzelle der Labmagenmukosa bei der Bildung von HCl

Die HCl-Sekretion wird durch sich überlappende nervale, hormonale und parakrine Mechanismen reguliert. Daran beteiligt sind u. a. der Parasympathicus (Transmitter: Acetylcholin), Gastrin, Gastrin-releasing Peptid (GRP), Ghrelin, Orexin, L-Aminosäuren, Atrionatriuretisches Peptid (ANP), Leptin sowie Histamin (Hou und Schubert, 2006). Der durch die HCl-Sekretion bedingte niedrige pH-Wert in den Ingesta wirkt bakteriostatisch,

überführt die Enzymvorstufen Pepsinogen und Prochymosin in ihre aktiven Formen (Berghen *et al.*, 1987; Pedersen *et al.*, 1979) und kann aufgenommene Proteine fällen, das ist u. a. für die Säuregerinnung der Caseine wichtig (s. 2.3.4).

In der Fundusdrüsenregion werden Pepsinogen und Prochymosin, inaktive Vorstufen der Endopeptidasen Pepsin und Chymosin, durch die Hauptzellen synthetisiert (Andren *et al.*, 1982). Chymosin wird beim Milchkalb und Milchlamm sowie eingeschränkt auch bei den anderen Haussäugetieren nach der Geburt sezerniert. Es ist vor allem für die Milchgerinnung im Labmagen verantwortlich (s. 2.3.3 und 2.3.5).

Pepsinogen wird bei pH-Werten  $<5,0$ , am schnellsten bei  $\text{pH}=2,0-2,5$ , durch Abspaltung einer Peptidsequenz -bestehend aus 45 Aminosäuren- vom N-Terminus zu Pepsin aktiviert (Berghen *et al.*, 1987; Harboe *et al.*, 1974). Pepsin spaltet vor allem Peptidbindungen von Proteinen mit aromatischen Aminosäuren. Das pH-Optimum der Pepsin-Aktivität liegt bei  $\text{pH}=2,0$  (Henschel, 1973; Williams *et al.*, 1976). Die Produktion von Pepsinogen bei Kälbern ist schon bei der Geburt vorhanden und bleibt bis zum Absetzen von Milch auf dem gleichen Niveau. Nach dem Entzug von Milch nimmt die Pepsinaktivität zu (Guilloteau *et al.*, 1985; Le Huerou-Luron *et al.*, 1992). Dies ist sinnvoll, da Pepsin im Gegensatz zu Chymosin pflanzliche und mikrobielle Proteine hydrolysieren kann (Raymond *et al.*, 1972).

### 2.2.2.2 Luminale Bedingungen des Kälberlabmagens

Das präprandiale Volumen im Kälberlabmagen beträgt 20 bis 137ml (Wittek *et al.*, 2005). Bei Fütterung von Milch werden innerhalb von 12 Stunden etwa 42ml Flüssigkeit pro kg KM durch die Labmagenmukosa sezerniert (Mylrea, 1966b). Bei Futterentzug ist die abomasale Sekretion auf 28ml/kg KM reduziert (Mylrea, 1968). Williams *et al.* ermittelten 1976 bei  $\text{pH}=1,6$  folgende Elektrolytkonzentrationen im abomasalen Sekret:  $[\text{Na}^+]=35,0\text{mmol/l}$ ,  $[\text{K}^+]=11,8\text{mmol/l}$  und  $[\text{Cl}^-]=117,4\text{mmol/l}$ . Die  $[\text{SID}_3]$  des Labmagensekrets beträgt demnach:  $[\text{SID}_3]= -70,6\text{mmol/l}$ . Die Nüchternwerte des pH in den Labmagingesta von Kälbern liegen im Mittel bei  $\text{pH}\sim 2,0$ , vereinzelt treten auch Werte  $<1,0$  auf (Ahmed *et al.*, 2001; 2002a; 2002b; 2005; Constable *et al.*, 2005a; 2006; Williams *et al.*, 1976). Nach Fütterung von 2l Milch oder MAT steigt der abomasale pH auf Werte zwischen 4,0 und 6,0 an, bleibt für etwa 2h auf diesem Niveau und fällt dann langsam ab. Nach 4 bis 8 Stunden werden die Ausgangswerte wieder erreicht (Constable *et al.*, 2005a; 2006; Reinhold *et al.*, 2006; Williams *et al.*, 1976). Der abomasale pH-Wert des Kalbes liefert Anhaltspunkte über die Entleerung des Labmagens. Werden die Nüchternwerte des pH wieder gemessen, hat die Nahrung den Labmagen passiert (Marshall *et al.*, 2004). Die Steigerung der Fütterungsfrequenz unter Beibehaltung der Fütterungsmenge führt zu einem Anstieg des präprandialen abomasalen pH-Wertes. Der mittlere 24h-pH-Wert in den Labmagingesta ist bei zweimaliger Fütterung niedriger als bei drei-, vier- oder achtmaliger Fütterung (Ahmed *et al.*, 2002b). Die pH-Wert-Auslenkung in den Labmagingesta ist nach Fütterung von MAT

größer als nach Fütterung von Milch (Constable *et al.*, 2005a). Williams *et al.* (1976) untersuchten die Auswirkungen der Proteinquellen in den MAT auf den abomasalen pH-Wert. In diesen Untersuchungen waren die pH-Werte in den Labmagingesta am niedrigsten nach Fütterung von MAT aus mittelgradig erhitztem Milchpulver. Eine höhere pH-Wert-Auslenkung in den Labmagingesta wurde bei hochehitztem Milchpulver, Fischproteinkonzentrat und Sojamehl als Proteinquelle im MAT beobachtet. Nach Fütterung von ORT steigt der pH postprandial auf höhere Werte als nach Milchfütterung. Dabei kann nicht allein vom Gehalt an  $\text{HCO}_3^-$ -Ionen in den ORT eine Aussage über das Ausmaß der postprandialen pH-Wert-Veränderungen im Labmagen gemacht werden (Reinhold *et al.*, 2006). Bei adulten Rindern besteht ein kontinuierlicher Fluss von Nahrungsbestandteilen durch den Labmagen, so dass der abomasale pH annähernd konstant bei 2,1-2,2 gehalten wird (Geishauser *et al.*, 1996; Sarashina *et al.*, 1990; Van Winden *et al.*, 2002).

Ein niedriger abomasaler pH-Wert stellt eine Säurebarriere für säuresensitive Mikroorganismen dar und soll die Inzidenz und den Schweregrad der neonatalen Kälberdiarrhoe vermindern (Constable *et al.*, 2006; Jaster *et al.*, 1990). Andererseits werden niedrige pH-Werte in den Labmagingesta für die Entstehung von Labmagengeschwüren bei Kälbern und Kühen verantwortlich gemacht, da bei niedrigen pH-Werten Pepsin und Chymosin aktiviert werden (s. 2.2.2.1 und 2.3.5). Ein wichtiges Ziel in der Behandlung und Prophylaxe von abomasalen Geschwüren ist, den pH-Wert in den Labmagingesta anzuheben. Dies kann bei Kälbern durch Erhöhung der Fütterungsfrequenz (Ahmed *et al.*, 2002b) oder durch Gabe von Antacida (Ahmed *et al.*, 2002a),  $\text{H}_2$ -Blockern (Ahmed *et al.*, 2001) sowie Ionenpumpen-Blockern (Ahmed *et al.*, 2005) erreicht werden.

## **2.3 Milchgerinnung**

### **2.3.1 Zusammensetzung von Milch**

Milch enthält neben Wasser im Durchschnitt 3,8% Fett, 3,3% Protein, 4,5% Lactose und 0,7% Mineralstoffe (Souci *et al.*, 1986/87). Unter der Bezeichnung Milch wird im allgemeinen und gesetzlichen Sprachgebrauch Kuhmilch verstanden.

#### **2.3.1.1 Milchproteine**

Die zwei Hauptfraktionen der Milchproteine sind Caseine und Molke- oder Serumproteine (Whitney *et al.*, 1976). Caseine (Käsestoff) fallen per definitionem im Gegensatz zu den Molkenproteinen bei Ansäuerung von Milch auf  $\text{pH} \leq 4,7$  bei  $20^\circ\text{C}$  aus. Caseine sind Phosphorproteine, die in unterschiedlichem Ausmaß an Serin- und Threoninresten phosphoryliert sind (Swaisgood, 1992). Neben den eigentlichen Molkenproteinen enthält Molke auch Minorproteine und zahlreiche Enzyme sowie 0,04-0,08% Proteose-Peptide, die vorwiegend durch Plasmin aus  $\beta$ -Casein freigesetzt werden (Wong *et al.*, 1996). Der

Proteingehalt der Kuhmilch ist abhängig von der Rasse, der Fütterung, dem genetischen Potential und dem Gesundheitszustand der Kühe. Maßgeblich für die Gerinnungseigenschaften der Milch sind die Caseine, die 80% des Gesamtproteingehaltes ausmachen. Etwa 20% des Gesamtproteingehaltes entfallen auf die Molkenproteine (Kielwein, 1994).

Tab. 6 Proteine der Kuhmilch

Proteine	Molekulargewicht	Anzahl Aminosäuren	Anteil am Gesamtprotein %
<u>Caseine</u>			
$\alpha_{s1}$	23000	199	30,6
$\alpha_{s2}$	25000	207	8,0
$\kappa$	19000	169	0,1
$\beta$	24000	209	28,4
$\gamma_1$	20500	181	2,4
$\gamma_2$	11900	104	2,4
$\gamma_3$	11600	102	2,4
$\lambda$			Spuren
<u>Molkenproteine</u>			
$\beta$ -Lactoglobulin	18300	162	9,8
$\alpha$ -Lactoglobulin	14200	123	3,7
Serumalbumin	66000	582	1,2
IgG <sub>1</sub>	163000		1,2-3,3
IgG <sub>2</sub>	150000		0,2-0,7
IgA	390000		0,2-0,7
IgM	950000		0,2-0,3
Enzyme			Spuren
Minorproteine			Spuren

Nach Kielwein (1994)

### 2.3.1.2 Casein-Fractionen

Die Caseine können anhand ihrer Mobilität im elektrischen Feld aufgetrennt werden. Zu den Hauptkomponenten der Caseinfraction gehören  $\alpha_s$ -,  $\beta$ - und  $\kappa$ -Caseine. Die  $\gamma$ - und  $\lambda$ -Caseine zählen zu den Minorproteinen. Sie entstehen durch Einwirkung milcheigener Enzyme auf  $\alpha$ - und  $\beta$ -Caseine. Milchproteine gehören zu den am meisten untersuchten Lebensmittelproteinen. Die Primärstruktur aller bovinen Caseine ist bekannt (Grappin und Ribadeau-Dumas, 1992). Alle Caseine zeigen genetischen Polymorphismus. Die genetischen Varianten unterscheiden sich durch Substitution einer oder mehrerer Aminosäuren in der Peptidsequenz (Wong *et al.*, 1996).

### 2.3.1.3 Struktur und Eigenschaften des $\kappa$ -Caseins

Die Peptidkette des  $\kappa$ -Caseins besteht aus 169 Aminosäuren und besitzt einen amphipolaren Charakter. Der N-terminale Teil (bis AS 105) ist hydrophob und wird als para- $\kappa$ -Casein bezeichnet. Der C-terminale Abschnitt ist hydrophil und kann glykosyliert vorliegen. Der Glykosylierungsgrad variiert stark. N-Acetylneuraminsäure (Sialinsäure), Galactose und N-Acetylgalactosamin können an die Aminosäure Threonin 133 gebunden sein (s. Abb. 2). Der hydrophile Anteil des  $\kappa$ -Caseins wird als Caseino- bzw. Glykomakropeptid (CMP/GMP) bezeichnet. Das Makropeptid wird bei der Labgerinnung (s. 2.3.3.1) abgespalten.  $\kappa$ -Casein bleibt in der Anwesenheit von Calciumionen, im Gegensatz zu den anderen Caseinen, bei jeder Temperatur wasserlöslich (Rollema, 1992; Swaisgood, 1992).

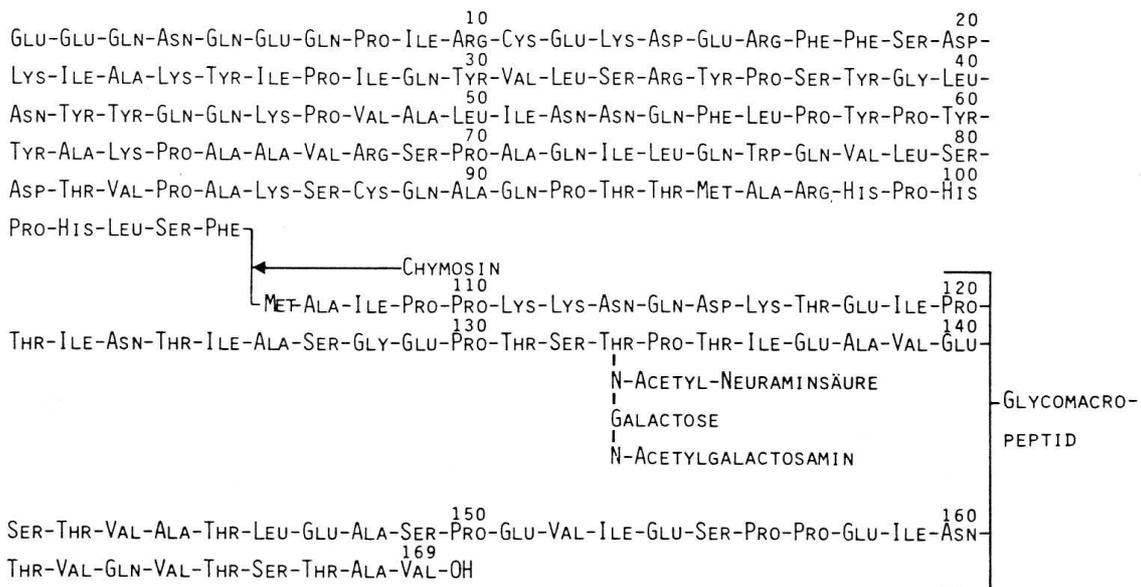


Abb. 2 Aminosäuresequenz des  $\kappa$ -Caseins aus Kielwein (1994)

### 2.3.1.4 Casein-Micellenmodell

Caseine existieren in Form von Caseinmicellen, die zwischen 20 und 300.000 Caseinmoleküle enthalten und sich in einem dynamischen Gleichgewichtszustand mit dem sie umgebenden Milchserum befinden (Schlimme und Buchheim, 1995; Schmidt und Payens, 1976). Zu etwa 94% besteht ihre Trockensubstanz aus Proteinen und zu 6% aus Calcium-, Phosphat-, Magnesium- und Citrat-Ionen, die unter der Bezeichnung kolloidales Calciumphosphat zusammengefasst werden (Ruettimann und Ladisch, 1987). Die elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen sauren Gruppen und  $\text{Ca}^{2+}$ - und  $\text{Mg}^{2+}$ -Ionen sowie auch die hydrophoben Bindungen gewährleisten den Zusammenhalt der einzelnen Monomeren. Die native Caseinmicelle kann als assoziiertes Kolloid betrachtet werden und ist mit durchschnittlich 3,7g Wasser pro g Casein hoch hydratisiert (de Kruif, 1999).

Zur Erklärung der Struktur der Caseinmicellen wurden verschiedene Modelle entwickelt, die aber nicht komplett sichere Aussagen zulassen. Das Submicellen-Modell hat sich in jüngerer

Zeit etabliert (Walstra, 1990). Es wird angenommen, dass die Caseinmicelle von poröser Struktur und aus einer Vielzahl von Subeinheiten aufgebaut ist. Die Submicellen bestehen aus Caseinmonomeren, die über Calciumbrücken zur eigentlichen Caseinmicelle vernetzt sind. Wie die einzelnen Caseine in der Submicelle angeordnet sind, ist nicht restlos geklärt. Es wird angenommen, dass sich die  $\kappa$ -Casein enthaltenden Submicellen an der Oberfläche der Micelle und die anderen im Kern befinden. Der hydrophile Teil des  $\kappa$ -Caseins ragt in die Umgebung hinein (Rollema, 1992).

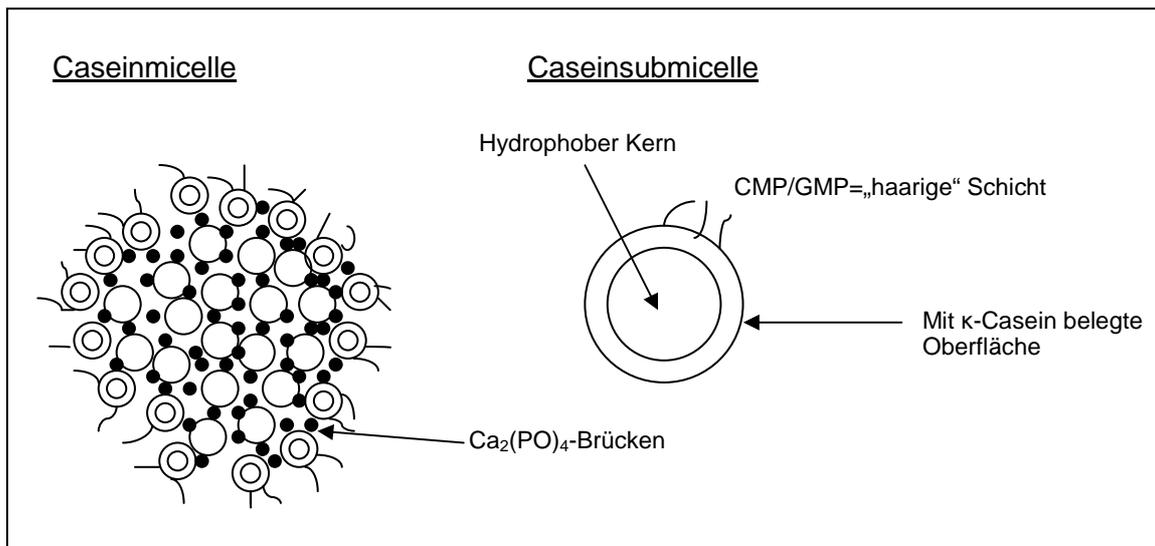


Abb. 3 Submicellen-Modell nach Walstra (1990)

### 2.3.1.5 Caseino(Glyko-)Makropeptid (CMP)

CMP wird als essentielle Komponente für die Stabilität der Caseinmicelle angesehen, da es die calciumempfindlichen Caseine vor Ausfällung im Ionenmilieu der Milch schützt (Rollema, 1992). Das CMP ragt in die wässrige Phase der Milch und bildet eine Hydrathülle (Dalglish, 1992; de Kruif, 1999). CMP hat rechnerisch aus der Aminosäurezusammensetzung ermittelt ein Molekulargewicht von 7kDa (Minikiewicz *et al.*, 1996). Coolbear *et al.* (1996a) ermittelten per SDS-Page scheinbare Molmassen von 20kDa. Durch Gelfiltration konnten in Abhängigkeit vom pH-Wert scheinbare Molmassen von 20-50kDa bestimmt werden (Kawasaki *et al.*, 1993). CMP ist heterogen. Es existieren drei genetische Varianten: A, B und E, die einen unterschiedlichen Glykolysierungs- und Phosphorylierungsgrad aufweisen (Miranda *et al.*, 1993; Swaisgood, 1992). Dem CMP werden verschiedene biologische und physiologische Funktionen zugeschrieben. CMP kann Cholera- und E.-coli-Enterotoxine binden. Es verhindert die bakterielle und virale Adhäsion am Darmepithel, unterdrückt die gastrale Sekretion und fördert das Wachstum von Bifidobakterien. Darüber hinaus kann es die Immunantwort modulieren (Brody, 2000). Aufgrund dieser Eigenschaften gilt CMP als potentieller Inhaltsstoff von „functional food“ (Tolkach und Kulozik, 2005).

### 2.3.2 Zusammensetzung von Milchaustauschern

Am Ende der Kolostralperiode erhält das Kalb nur Vollmilch oder einen aus einem Aufzuchtfuttermittel hergestellten Milchersatz (Milchaustauscher). Bis Ende der 70er Jahre bestanden die Milchaustauscher im Wesentlichen aus Milch, in der das Milchfett durch kostengünstigere, aber ernährungsphysiologisch minderwertigere Energieträger ersetzt wurde. In der folgenden Zeit wurde dann die Magermilch durch andere Proteinquellen ersetzt, um eine echte „Synthesemilch“ herzustellen (Mornet und Espinasse, 1990). Im Handel wird eine Vielzahl verschiedener Milchaustauscher angeboten. Nach Kaske und Kunz (2003) können die Milchaustauscher am besten qualitativ nach ihren wertbestimmenden Bestandteilen beurteilt werden (Tab. 7). Dazu gehören in erster Linie die verwendeten Eiweißträger.

Tab. 7 Einstufung von Milchaustauschern

<b>MAT</b>	<b>Magermilch-austauscher mit Magermilchpulver</b>	<b>Nullaustauscher mit Molkenpulver</b>	<b>Nullaustauscher mit Molkenpulver und pflanzlichem Eiweiß</b>
<b>Preissegment</b>	Oberes Preissegment	Mittleres Preissegment	Unteres Preissegment
<b>Zusammensetzung</b>	Mind. 50% Magermilchpulver	Molkenpulver verschiedener Qualität	Molkenpulver verschiedener Qualität
	Molkenpulver unterschiedlicher Qualität		
	Keine pflanzlichen Proteinträger	Keine pflanzlichen Proteinträger	Pflanzliche Proteinträger, z. B. Sojaprotein verschiedener Qualität

Die Verdaulichkeit von MAT ist meist schlechter als die von Milch (Naylor, 1991). Die Verdaulichkeit der Komponenten des MAT hängt in hohem Maß vom Entwicklungszustand des Verdauungsapparates der Kälber ab. In den ersten Lebenswochen ist das Verdauungssystem des Kalbes nur eingeschränkt in der Lage, milchfremde Eiweiße zu verwerten (Kunz, 2003). Vor allem die Verabreichung von MAT ohne Caseine (Nullaustauscher) könnte sich negativ auf durchfallkranke Kälber auswirken, da diese im Labmagen nicht ausreichend oder gar nicht gerinnen (Khorasani *et al.*, 1989). Constable *et al.* (2005a) nehmen an, dass fehlende Gerinnung durch die höhere Osmolalität des MAT ausgeglichen wird, da in seiner Studie keine vorzeitige Labmagenentleerung nach Fütterung von MAT, der *in vitro* keine Gerinnung zeigte, auftrat. In anderen Studien war die Entleerungsrate des Labmagens höher nach Fütterung von MAT, die ausschließlich Molken-, Fisch- oder Sojaprotein enthielten (Caugant *et al.*, 1992). Enthält der MAT Soja als Eiweißquelle, könnte dies Durchfall auslösen. Das in Soja enthaltene Glycinin sowie  $\beta$ -

Conglycinin haben eine stark antigene Wirkung, die zur Zerstörung der Darmzotten und damit zu Maldigestion und -absorption führen können (Barratt *et al.*, 1978; Kilshaw und Sissons, 1979).

### **2.3.3 Prozess der Labgerinnung**

#### **2.3.3.1 Reaktionsmechanismus von Chymosin**

Chymosin EC Nr. 3.4.23.4 (Labferment, Rennin) ist ein Enzym, das traditionell aus den Labmägen geschlachteter Milchkälber gewonnen wird (Foltmann *et al.*, 1979; Garg und Johri, 1994; Kleinert *et al.*, 1988). In der Käseherstellung werden auch andere tierische, pflanzliche und mikrobielle Proteasen genutzt. Mit Hilfe gentechnischer Methoden wurde das Gen für Chymosin aus den Schleimhautzellen der Kälber isoliert und in das Genom eines Mikroorganismus (z. B. *E. coli*) eingebracht. So kann reines Chymosin hergestellt werden, das mit dem Kälberlab identisch ist (Kammerlehner, 1999; McCaman *et al.*, 1985).

Chymosin ist eine saure Proteinase, die durch Spaltung einer labilen Peptidbindung zwischen den Aminosäuren 105 = Phenylalanin und 106 = Methionin des  $\kappa$ -Caseins das CMP und das hydrophobe para- $\kappa$ -Casein freisetzt (s. Abb. 2) (MacDonald, 1970; Foltmann, 1969). Durch den Verlust der hydrophilen Teile des  $\kappa$ -Caseins sind die Caseinmicellen nicht mehr löslich und fallen aus (Ruettimann und Ladisch, 1987). Das Labenzym entfaltet seine proteolytische Wirkung auch an den  $\alpha_{s1}$ - und  $\beta$ -Caseinen (Kielwein, 1994; Larsson und Andren, 1997; Larsson *et al.*, 1997). Bei pH=6,6 konnten Shammet *et al.* (1992) keine Hydrolyse des CMP durch Chymosin beobachten. Bei pH-Werten <4,5 kann es zur Spaltung von CMP durch Chymosin kommen (Coolbear *et al.*, 1996b).

Die Labgerinnung ist ein Dreistufen-Prozess: Die Primärphase beinhaltet die enzymatische Reaktion von Chymosin. In der Sekundärphase bilden die  $\text{Ca}^{2+}$ -sensitiven Caseine Calciumbrücken, so dass zusammenhängende Kugelketten entstehen, die ein Gelnetzwerk bilden. Das abgespaltene CMP wandert in die Molkephase. In der Tertiärphase kommt es zur Synärese, d. h. das Gel verfestigt sich und die Molke tritt aus (Dalgleish, 1992; Fox *et al.*, 1996).

#### **2.3.3.2 Einflussfaktoren auf den Milchgerinnungsprozess**

Hauptfaktoren, die die Hydrolyse von  $\kappa$ -Casein beeinflussen, sind der pH-Wert, die Temperatur, das Substrat-Enzym-Verhältnis und die Ionenstärke (Dalgleish, 1992). Die Hitzebehandlung der Milch hat vor allem Einfluss auf die Sekundärphase der Milchgerinnung (Fox *et al.*, 1996). Aufgrund der Bildung der  $\text{Ca}^{2+}$ -Caseinate in der zweiten Phase der Gerinnung ist die Milchgerinnung von einer kritischen  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration abhängig (Dalgleish, 1983). Eine Erhöhung der  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration bewirkt keine Veränderung der Enzymaktivität (van Hooydonk *et al.*, 1986b).

Zum pH-Optimum von Chymosin gibt es in der Literatur diverse Angaben. Die Unterschiede ergeben sich vor allem aus den experimentellen Bedingungen. An isoliertem  $\kappa$ -Casein ist die Chymosinaktivität am größten bei pH=5,0-5,5 (Fox *et al.*, 1996; Miyoshi *et al.*, 1976; Visser *et al.*, 1980). Andere Veröffentlichungen geben pH-Werte für das Optimum der proteolytischen Aktivität von Chymosin an, die unter 5,0 liegen (Foltmann, 1969; Garg und Johri, 1994; Ruettimann und Ladisch, 1987). Für die Milchgerinnung soll das pH-Optimum von Chymosin bei pH=6,0 liegen (van Hooydonk *et al.*, 1986a). Bei pH-Werten unter 5,0 wird die Aktivität von Chymosin durch die bereits säuregefällten Caseine (s. 2.3.4) behindert (Dalgleish, 1992). Viele Veterinärmediziner gehen von einem niedrigen pH-Optimum von pH=3,5 aus (Kolb, 1989; Nappert und Lattimer, 2001; Scheunert und Trautmann, 1987). Chymosin soll bei pH-Werten von 3,0-4,0 rasch seine Aktivität einbüßen, wahrscheinlich durch Autodegradation (Chitpinyol und Crabbe, 1998). Untersuchungen von Fox (1969) zeigen, dass Chymosin auch noch bei pH-Werten von 6,8 aktiv ist. Damit wird Milch auch bei nativem pH-Wert (~6,7) dickgelegt. Bei Temperaturen unter 25°C ist die Enzymaktivität sehr niedrig (Dalgleish, 1983). Die Milchgerinnungszeit sinkt mit der Erhöhung des Enzymanteils im Substrat-Enzym-Gemisch (Chitpinyol und Crabbe, 1998). Die Ionenstärke des zu gerinnenden Mediums ist ebenfalls für die Aktivität von Chymosin wichtig (Payens und Visser, 1981). Dalgleish (1992) findet dafür folgende Erklärung: Das Enzym und sein Substrat sind beide negativ geladen und stoßen sich gegenseitig ab. Das kann durch Erhöhung der Ionenstärke überwunden werden. Ist die Ionenstärke zu hoch, wirkt sie sich negativ auf die ladungsspezifische Interaktion zwischen Enzym und Substrat aus (Dalgleish, 1983). Die Anwesenheit von bestimmten Anionen behindert die Reaktion von Chymosin und  $\kappa$ -Casein. Die negativen Effekte von Anionen nehmen in folgender Reihenfolge zu:  $\text{Cl}^- < \text{Br}^- < \text{NO}_3^- < \text{SCN}^-$ , d. h. je größer das Anion desto größer die Hemmung der enzymatischen Aktivität (Bringe und Kinsella, 1986).

### 2.3.4 Prozess der Säuregerinnung

Die Säurefällung der Caseine tritt bei  $\text{pH} \leq 4,7$  ein. Dies ist der isoelektrische Punkt der Caseine. Durch den Ladungsausgleich an Amino- und Carboxylgruppen verliert die Caseinmizelle ihre Stabilität (Kielwein, 1994). Die Caseine fallen aus. Die Molkenproteine sind säurestabil und bleiben in Lösung. In Untersuchungen von Bringé und Kinsella (1991) konnte festgestellt werden, dass Kationen die Milchgerinnung durch Säure hemmen, d. h. die Caseinfällung tritt erst bei niedrigeren pH-Werten ein. Anionen können bei niedrigeren  $\text{H}^+$ -Konzentrationen zur Säuregerinnung von Milch beitragen. Die Autoren nehmen an, dass, wenn Kationen, wie  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{Na}^+$  vorhanden sind, diese an die Phosphat- und Carboxylgruppen von Caseinen binden. Nachfolgend wird eine größere Menge an  $\text{H}^+$  benötigt, um die Säuregerinnung einzuleiten, da die Protonen die Bindung der Kationen an den Caseinen überwinden müssen. Anionen, wie  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  und  $\text{SCN}^-$ , binden an

Lysin, Arginin und Histidin und erniedrigen die repulsiven Kräfte zwischen den Caseinmicellen.

### **2.3.5 Milchgerinnung im Labmagen**

#### **2.3.5.1 Physiologie und Funktion der Gerinnung**

Bei Beginn der Nahrungsaufnahme wird Prochymosin, die inaktive Vorstufe von Chymosin, durch die Hauptzellen der Magenmukosa sezerniert und durch die Salzsäure des Magensaftes aktiviert. Bei pH-Werten <5,0 werden die 42 N-terminalen Aminosäuren abgespalten (Foltmann *et al.*, 1979). Je niedriger der pH-Wert desto schneller verläuft die Aktivierung des Enzyms (Foltmann, 1969). Die Umformung des Zymogens in seine aktive Form ist ein komplexer Prozess, der eine Reihe von Konformationsänderungen und Spaltung von Bindungen beinhaltet (Richter *et al.*, 1998). Nach Pedersen *et al.* (1979) entsteht bei pH-Werten <2,5 sogenanntes Pseudochymosin, das 15 Aminosäuren länger ist als das eigentliche Chymosin, aber ebenfalls aktiv ist. Es wird bei pH=5,5 zu Chymosin umgewandelt. Bei pH=4,0-5,0 entsteht direkt Chymosin. Die proteolytische Aktivität von Chymosin ist bereits zum Zeitpunkt der Geburt relativ hoch (Le Huerou-Luron *et al.*, 1992). Die Sekretion von Chymosin durch die Magenmukosa korreliert mit der Milchfütterung und dem Alter der Kälber (Garnot *et al.*, 1977). Nach dem Absetzen von Milch in der Kälberfütterung überwiegt die Pepsinwirkung (Andren und Bjorck, 1986; Guilloteau *et al.*, 1984). Caseine in der Fütterungsration stimulieren die Prochymosinsynthese durch die Hauptzellen (Andren *et al.*, 1982; Ruckebusch *et al.*, 1983). Die Spaltung des  $\kappa$ -Caseins durch Chymosin ist die erste proteolytische Aktivität im Labmagen. Die ausgefällten Caseine bilden ein festes Koagulum, in dem auch Milchfett eingeschlossen ist (Hartmann, 2002). Die flüssige Molke kann schneller in den Dünndarm übertreten. Nach Untersuchungen von Yvon und Pelissier (1987) und Scanff *et al.* (1992) ist CMP das einzige Spaltprodukt der Caseine, welches in den ersten 30-60min nach der Aufnahme von Milch den Labmagen verlässt. Anschließend werden  $\alpha_{s1}$ - und  $\beta$ -Casein im Labmagen hydrolysiert und deren Fragmente erscheinen im Dünndarm. Die Ausfällung des Caseins nach Fütterung von Milch/MAT verzögert den Übertritt der Proteine und des Milchfetts in den Dünndarm, da deren Labmagenpassage verzögert wird. Dies wirkt einer Überforderung des Verdauungs- und Absorptionskapazität des Dünndarmes entgegen. Bei Störungen der Milchgerinnung im Labmagen könnte Durchfall auftreten (Scharrer und Wolfram, 2005).

## **2.4 Pathophysiologie der Kälberdiarrhoe**

Unter Diarrhoe wird eine Störung der Darmfunktion verstanden, bei welcher der Trockensubstanzgehalt des abgesetzten Kotes vermindert und der Flüssigkeitsanteil auf über 80% erhöht ist (Dirksen *et al.*, 2006). Diarrhoe tritt bei Kälbern vorwiegend als akute,

bestandsweise gehäufte Erkrankung in den ersten Lebenswochen auf (Doll, 2006; Rademacher, 2003).

### 2.4.1 Ursachen der Diarrhoe

Grundsätzlich wird zwischen nicht-infektiösen (alimentären) und infektiösen Ursachen für Durchfallerkrankungen unterschieden (Kaske, 1993). Klinische Erkrankungen treten jedoch überwiegend durch das Zusammenwirken alimentärer und infektiöser Ursachen auf. Kälberdiarrhoe ist somit als komplexe Faktorenerkrankung anzusehen (Kaske und Kunz, 2003; Whitlock, 1992). Die möglichen auslösenden Faktoren des Kälberdurchfalls sind in Tabelle 8 zusammengefasst.

Tab. 8 Infektiöse und alimentäre Ursachen der Kälberdiarrhoe (Kaske und Kunz, 2003; Naylor, 2002; Rademacher, 2003)

Infektiöse Ursachen	Alimentäre Ursachen
Viren -Rota-, Coronaviren -BVD/MD -andere, z. B. Breda-, Calici- und Parvoviren	Hygieneverhältnisse -in der Abkalbebox -im Kälberstall -bei der Zubereitung der Tränke
Bakterien -E. coli -Salmonellen -andere, z. B. Clostridien	Immunstatus der Kälber -Kolostrumversorgung -Muttertierimpfung -ausreichende Ernährung
Protozoen -Kryptosporidien -Eimerien	Fehler in der Tränketechnik -zu hohe oder niedrige Tränketemperatur -Fehler in der Zubereitung des MAT
Pilze	-unregelmäßige Fütterungszeiten

### 2.4.2 Pathologische Mechanismen und Formen der Diarrhoe

Die gastrointestinale Funktionsstörung beim durchfallkranken Kalb manifestiert sich im Wesentlichen über fünf pathologische Mechanismen (Hartmann, 2002): (1) Maldigestion, (2) Malabsorption, (3) Hypersekretion, (4) Permeabilitätsstörung und (5) veränderte Darmmotilität. Der erhöhte Verlust von Flüssigkeit und Elektrolyten kann also das Resultat erhöhter Sekretion und/oder verminderter Absorption sein (Argenzio, 1992; Naylor, 2002). Infolge der gestörten Absorptions- und Sekretionsvorgänge im Darm können bei Diarrhoe 20-40fach höhere Mengen an Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> und Wasser mit den Faeces ausgeschieden werden als beim gesunden Kalb (Bywater und Logan, 1974; Lewis und Phillips, 1972). Das Ausmaß der Elektrolytverluste ist primär von der Kotmenge abhängig. Die Elektrolytkonzentrationen im Kotwasser erhöhen sich bei Diarrhoe nur wenig, die ausgeschiedene Kotmenge kann jedoch bis auf etwa das 20fache ansteigen (Doll, 1992). Die Durchfallerkrankungen werden

anhand ihres pathophysiologischen Hintergrunds in zwei Kategorien unterteilt: (1) hypersekretorische Diarrhoe, die vor allem durch Enterotoxin produzierende Bakterien ausgelöst wird, und (2) osmotische Diarrhoe, die durch den Verlust von Enterozyten und daraus resultierender Zottenatrophie mit nachfolgender Störung der Absorption und Digestion gekennzeichnet ist. Bei osmotischen Diarrhoen dominiert die virale Genese (Argenzio, 1985; 1992; Hartmann, 2002).

### **2.4.3 Systemische Auswirkungen der Diarrhoe**

Unabhängig von der Ursache der Diarrhoe entwickeln sich folgende systemische Funktionsstörungen im Kälberorganismus: (1) Dehydratation, (2) metabolische Azidose, (3) Elektrolytimbalancen, wie Hyponaträmie und Hyperkalämie und (4) negative Energiebilanz (Berchtold *et al.*, 1982; Hartmann, 2002; Kaske, 1994; 2002; Phillips *et al.*, 1971). Diese systemischen Auswirkungen der Diarrhoe können zum Tod der Kälber führen. Besonders der metabolischen Azidose mit Hyperkalämie wird beachtliche Bedeutung für den Todeseintritt beigemessen (Berchtold, 1998; Constable, 2002b; Fisher, 1971; Groutides und Michell, 1990a; 1990b; Hartmann *et al.*, 1984; Kasari, 1990; Phillips und Knox, 1969). Constable (2002b; 2004) zählt die Veränderung der intestinalen Flora des Dünndarms als wichtige Folge der Diarrhoe hinzu, da etwa 30% der durchfallkranken Kälber eine Bakteriämie aufweisen (Fecteau *et al.*, 1997; Lofstedt *et al.*, 1999).

#### **2.4.3.1 Einfluss der Diarrhoe auf den SBS der Kälber**

Durchfall ist die wichtigste Ursache für metabolische Azidosen bei Kälbern (Kasari, 1999). Eine metabolische Azidose kann sich aufgrund unterschiedlicher pathologischer Mechanismen entwickeln (DiBartola, 1992). Als Ursachen für die metabolische Azidose durchfallkranker Kälber kommen in Frage (Hartmann, 2005; Hartmann und Berchtold, 1997): (1) Additions-, (2) Subtraktions-, (3) Retentions- und (4) Verteilungszidose.

Die Additionsazidose entsteht durch verstärkte endogene Bildung von Säuren, beim Durchfallkalb z. B. durch eine Überproduktion von Milchsäure (Laktazidose). Während zirkulatorischer Minderperfusion von Körpergewebe infolge der durchfallbedingten Dehydratation kann eine periphere Gewebshypoxie entstehen. Unter O<sub>2</sub>-Mangel wird im Intermediärstoffwechsel über anaerobe Glykolyse vermehrt Laktat produziert, dessen Verstoffwechslung in der Leber durch die Azidose und die Minderperfusion zusätzlich verringert ist (Kaske, 1994). Eine Laktazidose wurde fast ausschließlich bei Kälbern innerhalb der ersten Lebenswoche beobachtet. Ältere Kälber (>7d) entwickeln metabolische Azidosen anderer Genese mit signifikant niedrigeren Blut-pH-Werten als jüngere Kälber (Binding *et al.*, 2000; Demigne *et al.*, 1980; Groutides und Michell, 1990a; Grove-White, 1996; Naylor, 1987; Naylor und Forsyth, 1986; Tremblay, 1990). Bei älteren Kälbern steigt die Serum-[Laktat] erst kurz vor dem Verenden stark an (Hartmann *et al.*, 1984; Lewis *et al.*,

1975). Wird der Laktatspiegel im Blut gemessen, wird i. d. R. das körpereigene L-Laktat bestimmt (Ewaschuk *et al.*, 2004; Uribarri *et al.*, 1998). Neuere Studien haben das D-Laktat als wichtige Ursache für die Entstehung der metabolischen Azidose durchfallkranker Kälber identifiziert (Ewaschuk *et al.*, 2004; 2005; Navetat *et al.*, 1997; Omole *et al.*, 2001). D-Laktat wird durch bakterielle Fermentation von Milch oder ORT in Pansen oder Dickdarm produziert und absorbiert. D-Laktat wird deutlich langsamer zu Pyruvat metabolisiert als L-Laktat (Giesecke *et al.*, 1976; Lorenz *et al.*, 2005; Oh *et al.*, 1985). Die dafür verantwortliche D- $\alpha$ -Hydroxy-Säuren-Dehydrogenase ist außerdem bei niedrigen Blut-pH-Werten in ihrer Aktivität gedrosselt (Tubbs, 1965). Bakterielle Fermentationsprodukte wurden auch schon früher von einigen Autoren als mögliche Ursache für die Entstehung der Additionsazidose beim Durchfallkalb genannt (Groutides und Michell, 1990a; Roussel und Brumbaugh, 1991; Tennant *et al.*, 1972). Weiterhin kann es bei anhaltender Anorexie von Durchfallkälbern und negativer Energiebilanz zur vermehrten Bildung von Ketonkörpern kommen, so dass eine Ketoazidose entsteht. Schließlich bewirkt der Katabolismus von Proteinen das überdurchschnittliche Entstehen von Phosphat- sowie Sulfationen, die auch Anteil an der metabolischen Azidose von Durchfallkälbern haben können (Hartmann *et al.*, 1997).

Eine Subtraktionsazidose resultiert aus einer erhöhten Basenausscheidung. Beim durchfallkranken Kalb werden die enteralen Basenverluste für die Störung des SBS verantwortlich gemacht. Der Verlust von  $\text{HCO}_3^-$  galt bislang als Hauptursache der Azidose bei der Kälberdiarrhoe (Demigne und Remesy, 1979; Groutides und Michell, 1990b; Hartmann *et al.*, 1997; Tennant *et al.*, 1972). Constable *et al.* (2005b) fassen Untersuchungen von Bywater und Logan (1974), Ewaschuk *et al.* (2004) und Lewis und Phillips (1972) zu der These zusammen, dass nicht fäkale  $\text{HCO}_3^-$ -Verluste Hauptgrund für die metabolische Azidose durchfallkranker Kälber sind. Auch Kaske (1994) ist der Ansicht, dass die Azidose nicht primär durch die intestinalen  $\text{HCO}_3^-$ -Verluste bedingt ist. Allerdings ist der Kot durchfallkranker Kälber mit 5,6-6,3 etwas basischer als der von klinisch gesunden Individuen (5,3-6,1) (Doll, 2006).

Ist die pulmonale und renale Säureelimination pathologisch vermindert, spricht man von einer Retentionsazidose. Bei Durchfallerkrankungen wird nahezu regelmäßig eine Oligurie und eine erhöhte Harnstoffkonzentration im Blut gefunden (Dalton *et al.*, 1965; Groutides und Michell, 1990b; Maach *et al.*, 1992). Die Oligurie kann kurzfristig noch als ein physiologisch sinnvoller Anpassungsmechanismus der Nieren an Hypovolämie und Blutdruckabfall angesehen werden. Ist die Nierendurchblutung jedoch längerfristig vermindert, so entwickelt sich eine prärenale Ausscheidungsinsuffizienz (Klee *et al.*, 1985), die zur Retention harnpflichtiger Substanzen und Protonen führt. Die zunehmende Hämokonzentration von durchfallkranken Kälbern führt auch zu Störungen der inneren Atmung sowie der Gastransportfunktion des Blutes. Durch die verminderte  $\text{CO}_2$ -Elimination kann es bei

durchfallkranken Kälbern zur gemischt metabolisch-respiratorischen Azidose kommen (Berchtold *et al.*, 2000).

Bei der Verteilungszidose ist die Bilanz von Säuren und Basen im Körper physiologisch. Die Auslenkung des SBS kommt durch Verdünnung des Blutes, z. B. nach exzessiver Aufnahme elektrolytarmer Flüssigkeit oder Infusion elektrolytarmer Lösungen, zustande (Hartmann, 2005) (s. auch 2.1.5). Diese Form der Azidose könnte nach unsachgemäßer Therapie bei durchfallkranken Kälbern auftreten. Einige Autoren zählen die hyperkalämische Azidose ebenfalls zu den Verteilungszidosen (Hartmann *et al.*, 1997; Müller-Plathe, 1982). Die Hyperkalämie entsteht durch Austausch von  $K^+$  und  $H^+$  zwischen intra- und extrazellulärem Kompartiment. Sie ist allerdings nicht Ursache, sondern Resultat der Azidose. Die vermehrt aus dem Blut in die Zelle strömenden oder in der Zelle selbst gebildeten  $H^+$ -Ionen verdrängen dort  $K^+$ -Ionen. Letztere werden vermehrt nach extrazellulär transportiert (Kaske, 1994; Kaske und Kunz, 2003). Trotz vorhandener Hyperkalämie existiert im Organismus eine negative Kaliumbilanz (Hartmann, 2005).

Anhand des Stewart-Modells kann das Vorliegen der metabolischen Azidose bei Kälberdiarrhoe durch die Absenkung der Plasma-[SID] und die Erhöhung von  $[A_{tot}]$  erklärt werden. Die erniedrigte Plasma-[SID], hervorgerufen durch Hyponaträmie, Hyper-D- und -L-Laktatämie begleitet von Normo- bis Hyperchlorämie beim durchfallkranken Kalb, ist als Hauptursache für die metabolische Azidose zu sehen. Der Anstieg von  $[A_{tot}]$  durch die bestehende Hyperproteinämie hat einen geringeren Einfluss (Constable *et al.*, 2005). Die Kalkulation der [SIG] kann helfen, ungemessene Anionen, wie L- und D-Laktat, Sulfat und Ketonkörper, als Auslöser der metabolischen Azidose zu identifizieren (Constable, 2002; Constable *et al.*, 1998; Kellum *et al.*, 1995). Grove-White und Michell (2001) ermittelten eine Absenkung der  $[SID_3]$  bei durchfallkranken Kälbern und eine signifikante Korrelation während der oralen Rehydratationstherapie zwischen dem Anstieg der  $[SID_3]$  und des Gesamt- $CO_2$ -Gehaltes des Blutes.

## 2.5 Therapie der Azidose durchfallkranker Kälber

### 2.5.1 Möglichkeiten der Behandlung von Kälberdiarrhoe

Da eine kausale Therapie vor allem bei virusbedingten Diarrhoen nicht möglich ist, werden durchfallkranke Kälber primär symptomatisch therapiert. Die wichtigsten Ziele der symptomatischen Therapie sind die Korrektur der Flüssigkeitsverluste, der metabolischen Azidose und des Energiedefizits (Berchtold, 1999; Berchtold *et al.*, 1974; Hartmann, 2002; Kaske, 2002; Phillips, 1985; Rademacher *et al.*, 2002). Die orale Rehydratation ist angezeigt bei Kälbern, die noch selbständig trinken (Kaske, 2002; Naylor, 1999). Die intravenöse Infusion von Elektrolytlösungen ist bei festliegenden inappetenten Kälbern die Methode der Wahl (Berchtold und Prechtel, 2002; Groutides und Michell, 1990c; Naylor, 2002). Kontrovers

wird der Einsatz von Antibiotika im Behandlungsregime der Kälberdiarrhoe diskutiert. Einige Autoren befürworten die Gabe antimikrobieller Substanzen an Durchfallkälber. Diese Antibiotika sollten vor allem eine Wirksamkeit gegen gramnegative Bakterienspezies, wie *E. coli* und Salmonellen, aufweisen, die bei durchfallkranken Kälbern durch die geschädigte Darmschleimhaut eine Sepsis auslösen können (Constable, 2004; Naylor, 2002). In anderen Publikationen wird der Einsatz von antimikrobiellen Substanzen in der Mehrzahl der Fälle abgelehnt (Michell, 1998; Rademacher *et al.*, 2002; Sadiq und Schlerka, 1996). Einige Autoren empfehlen auch die Anwendung nicht-steroidaler Antiphlogistika, um einen antisekretorischen und analgetischen Effekt zu erzielen (Constable, 2002b; Kaske und Kunz, 2003).

### **2.5.2 Orale Rehydratation**

Die Einführung der oralen Rehydratationstherapie in den 50er Jahren des letzten Jahrhunderts beim Menschen wird von der WHO und UNICEF als Meilenstein in der Medizingeschichte bezeichnet, da sie die Überlebensrate von Kindern mit schwerer Diarrhoe nachhaltig verbessert hat. Sie ist die effektivste, einfachste und billigste Therapie der durchfallbedingten Dehydratation (Avery und Snyder, 1990; Michell, 2005). Veterinärmedizinische ORT waren ab 1970 kommerziell erhältlich und erlangten schnell eine gute Akzeptanz in der Behandlung durchfallkranker Tiere (Naylor, 1990).

Die Behandlungsziele der oralen Rehydratationstherapie sind der Ausgleich der Flüssigkeits- und Elektrolytverluste sowie der metabolischen Azidose und die Zufuhr von Energie (Nappert *et al.*, 1997; Naylor, 1999; Phillips, 1985; Rademacher *et al.*, 2002). ORT bekämpfen also nicht kausal die Ursachen, sondern lindern die Auswirkungen der Diarrhoe auf den erkrankten Organismus.

Bis vor einigen Jahren waren Experten der Ansicht, dass durchfallkranken Kälbern, die Milchtränke für einige Mahlzeiten entzogen werden sollte. Es wurde befürchtet, dass der Durchfall durch Maldigestion und -absorption von Milchbestandteilen (Laktose, Fett), die den osmotischen Druck in den Ingesta erhöhen, verstärkt werden könnte (Hartmann *et al.*, 1985; Naylor, 1999; Radostits *et al.*, 1975). Nicht absorbierte Kohlenhydrate wurden für die bakterielle Überwucherung des Darmes verantwortlich gemacht (Blaxter und Wood, 1953). Untersuchungen zur Absorptions- und Verdauungskapazität des Dünndarms bezogen auf Nährstoffe und Elektrolyte konnten Unterschiede zwischen gesunden und durchfallkranken Kälbern demonstrieren (Halpin und Caple, 1976; Nappert *et al.*, 1993; Woode *et al.*, 1978; Youanes und Herdt, 1987). Gesunde Kälber haben eine hohe Kapazität für die Milchverdauung. Milch muss in der Menge von 20-25% der KM an Kälber verabreicht werden, um die Verdauungskapazität des Darmes zu überfordern (Mylrea, 1966a; 1966c). Die nutritiven Bestandteile der Milch (Proteine, Fette und Laktose) müssen im Gastrointestinaltrakt verdaut werden bevor ihre Absorption möglich ist. Laktase sowie Di-

und Tripeptidasen können als membranständige Enzyme durch das geschädigte Darmepithel während einer Durchfallerkrankung eine verminderte Aktivität aufweisen (Bywater und Penhale, 1969; Dargel und Hartmann, 1984). Diarrhoe führt auch zu einer verminderten Verdaulichkeit der Milchfette (Doll *et al.*, 2004). Durch die Schädigung der Darmzotten kann außerdem die Absorption der Spaltprodukte der Laktose, Milchproteine und -fette vermindert sein (Hartmann, 2002). Die enterale Absorption für Monosaccharide bleibt jedoch auf beachtlichem Niveau erhalten (Hartmann *et al.*, 1985). In einigen Studien wurden der Milchentzug und der Einsatz von ORT mit der unveränderten MilCHFütterung der durchfallkranken Kälber verglichen. Die Kälber in den Gruppen, die ORT erhielten, wiesen eine geringere Mortalität auf als jene, die nur Milch erhielten (Booth und Naylor, 1987; Bywater, 1980). Diese Erkenntnisse führten zu der Empfehlung, die Milchtränke für einige Mahlzeiten zu entziehen und durch dieselbe Menge an ORT zu ersetzen, um den Gastrointestinaltrakt funktionell zu entlasten (Hartmann, 1995; 2002; Nappert *et al.*, 1997; Radostits, 1965; Radostits *et al.*, 1975). Ein Problem des längerfristigen Milchentzugs ist die verminderte Energiezufuhr, die zur Kachexie der kranken Tiere führen kann (Naylor, 2002; Rademacher, 2001a; 2001b). Nach Untersuchungen von Fettman *et al.* (1986) verlieren selbst gesunde Kälber erheblich an Körpermasse, wenn sie nur mit ORT getränkt werden. ORT decken nicht annähernd den Energiebedarf eines durchfallkranken Tieres (Phillips, 1985; Rademacher, 2003; Rademacher *et al.*, 2002). Der Energiegehalt von 1l Milch entspricht einer Menge von 10l ORT, die nach WHO-Richtlinien hergestellt wurde (Michell, 1998). Als weiteres Problem des Milchentzugs bei durchfallkranken Kälbern kann die Abnahme der Aktivität der Verdauungsenzyme, insbesondere Laktase, sein. Die Enterozyten adaptieren sich an den Substratmangel und synthetisieren weniger membranständige Enzyme (Hartmann, 2002; Nappert *et al.*, 1997). In vielen Studien konnte belegt werden, dass die unverminderte Gabe von Milch in Kombination mit der Verabreichung von ORT keine negativen Effekte auf den Krankheitsverlauf von Kälbern mit Diarrhoe hat und dass sich dieses Therapieregime günstig auf die Körpermasseentwicklung der Kälber auswirkt (Fisher und Martinez, 1976; Garthwaite *et al.*, 1994; Heath *et al.*, 1989; Hinderer *et al.*, 1999; McLean und Bailey, 1972; Sadiek und Schlerka, 1996). Deswegen wird allgemein empfohlen, die Milchtränke bei durchfallkranken Kälbern beizubehalten (Constable, 2002b; Doll, 2006; Kaske und Kunz, 2003; Rademacher, 2003). Dies kann auch positive Auswirkungen auf die Regenerationsvorgänge im Dünndarm haben, da die Enterozyten ihre Nährstoffe direkt aus den Ingesta beziehen (Levine *et al.*, 1974). Seit Einführung der ORT beim Menschen wird bei Säuglingen die unverminderte Gabe von Milch angeraten (Chung und Viscorova, 1948).

Es existieren kontroverse Auffassungen darüber, ob die Gabe von ORT zeitlich versetzt zur Milchfütterung oder gleichzeitig erfolgen kann, da die Milchgerinnung im Labmagen gestört werden könnte (s. 2.5.5).

### **2.5.3 Inhaltsstoffe von oralen Rehydratationstränken (ORT)**

Es gibt diverse Angaben in der Literatur wie eine ORT beschaffen sein sollte, um das Flüssigkeits- und Energiedefizit sowie die Azidose durchfallkranker Kälber auszugleichen (Brooks *et al.*, 1996; Constable, 2002; Constable *et al.*, 2001; Hartmann, 2002; Last, 2005; Michell, 1998; Michell *et al.*, 1992; Nappert *et al.*, 1997; Naylor, 1999a; 1999; Naylor *et al.*, 1990; Phillips, 1985; Rademacher, 2001a; 2001b; Rademacher *et al.*, 2002; Stämpfli *et al.*, 1996).

Folgende Inhaltsstoffe in variablen Konzentrationen sollten anhand dieser Publikationen immer enthalten sein (1) Elektrolyte, (2) Energiesubstrate und (3) Puffer.

Die ORT sollte über einen ausreichenden Betrag an  $\text{Na}^+$  verfügen, um den Flüssigkeitshaushalt zu normalisieren (Constable *et al.*, 2001). Die Rehydratation ist abhängig vom Grad der  $\text{Na}^+$ -Absorption, da der transepitheliale  $\text{Na}^+$ -Gradient für den passiven Wassertransport vom Darmlumen in das Blut verantwortlich ist (Nappert *et al.*, 1997).  $\text{K}^+$  sollte auch in den ORT enthalten sein, da trotz Hyperkalämie ein  $\text{K}^+$ -Defizit besteht (Phillips, 1985). Der Betrag an Kationen muss durch denselben Betrag an Anionen ergänzt werden. In ORT sollte das stark saure Anion  $\text{Cl}^-$  in geringeren Konzentrationen als im Plasma vorkommen. Stattdessen sollten Anionen, die eine basische Wirkung im Körper entfalten, enthalten sein (Hartmann, 2002).

$\text{Na}^+$  und Wasser werden schneller absorbiert, wenn Glukose oder Aminosäuren in der ORT enthalten sind, da der Transport von  $\text{Na}^+$  und Glukose/Aminosäuren über die Enterozytenmembran gekoppelt abläuft (Avery und Snyder, 1990). Glukosehaltige Lösungen können auch den Blutfluss in den Darmzotten verbessern (Flynn *et al.*, 1992). Außer Glukose beinhalten einige kommerzielle ORT die Aminosäure Glyzin. Glukose bzw. Aminosäuren liefern zusätzlich schnell verwertbare Energie für die Enterozyten und den ganzen Organismus (Naylor, 1999).

Zur Korrektur der Azidose werden folgende Substanzen in den ORT eingesetzt:  $\text{HCO}_3^-$ , Azetat, Propionat, Citrat, Laktat und Gluconat (s. 2.5.4.).

ORT, die nach Empfehlungen der WHO bei Säuglingen mit Durchfall eingesetzt werden, enthalten 3,5g  $\text{NaCl}$ , 2,5g  $\text{NaHCO}_3$ , 1,5g  $\text{KCl}$  und 20g Glukose pro Liter (Doll, 2006). Diese Zusammensetzung entspricht 90mmol  $\text{Na}^+$ , 20mmol  $\text{K}^+$ , 80mmol  $\text{Cl}^-$ , 30mmol  $\text{HCO}_3^-$  und 111mmol Glukose. Die Lösung ist mit einer Osmolarität von 331mosmol/l leicht hyperton.

Tab. 9 Vorschläge diverser Autoren für die Konzentration von Elektrolyten und Energieträgern in ORT in mmol/l

<b>Na<sup>+</sup></b>	<b>K<sup>+</sup></b>	<b>Cl<sup>-</sup></b>	<b>Puffer</b>	<b>Glukose/Glycin</b>	<b>Quelle</b>
Bis 145	10-20	k. A.	40-80	≤ 400	(Naylor, 1999)
105-120	20	50	50-80	120-180	(Nappert <i>et al.</i> , 1997)
~140	4-5	≤110	k. A.	220	(Hartmann, 2002)
70-120	20-30	40-70	60-80	150-200	(Anonymous, 2001)
90-130	k. A.	k. A.	40-80	≤ 400	(Constable, 2002)
80-120	20-30	k. A.	50-80	100-150	(Kaske und Kunz, 2003)

k. A. = keine Angabe

Wie aus den Angaben für die Zusammensetzung der ORT hervorgeht, wird die ideale Elektrolytkonzentration und Osmolalität der ORT noch diskutiert. Hypertone Lösungen mit einem hohen Anteil an Na<sup>+</sup> (>120mmol/l) können zu Kochsalzvergiftungen führen, wenn die Kälber keinen freien Zugang zu frischem Wasser haben (Constable, 2002b; Kaske und Kunz, 2003). Diese Annahme ist bei Kälbern eher von theoretischer Natur, da bei einem geringen Flüssigkeitsverlust von 5% schon 280mmol Na<sup>+</sup> im Organismus ersetzt werden müssen. Nicht miteinbezogen sind die laufenden Na<sup>+</sup>-Verluste durch das Fortbestehen der Diarrhoe und die insuffiziente Na<sup>+</sup>-Absorption im Dünndarm (Michell, 1998). Hypotone ORT mit verringerter [Na<sup>+</sup>] <100mmol/l reduzieren die Plasma-[Na<sup>+</sup>] (el-Mougi *et al.*, 1994). In der Humanmedizin wird trotzdem von einigen Forschergruppen der Einsatz von hypotonen ORT vorgezogen, da sie die Menge der Faeces als Anhaltspunkt für die klinische Wirksamkeit der ORT verwenden (Michell, 2005).

Um die Energiedichte von ORT zu verbessern, bevorzugen einige Autoren hohe Konzentrationen von Glukose bzw. Glyzin bis zu einer Osmolalität von 600-700mosmol/kg. Diese ORT führen zur besseren energetischen Versorgung und Rehydratation (Brooks *et al.*, 1996; Constable *et al.*, 2001). Solche ORT sollten besonders bei durchfallkranken, im Allgemeinbefinden stark beeinträchtigten, kachektischen Tieren eingesetzt werden (Naylor, 1999). Hyperosmolale Lösungen werden langsamer absorbiert als isotone. Diese Differenzen sind so klein, dass sie klinisch unbedeutend sind (Naylor, 2002) Allerdings ist beim Einsatz von hypertonen ORT die Labmagenentleerung verzögert. Die abomasale Entleerungsrate beeinflusst die Anflutung der Elektrolyte im Dünndarm und damit die Geschwindigkeit der Rehydratation (Nouri und Constable, 2006; Sen *et al.*, 2006). Die Gegner hypertoner ORT befürchten, dass diese zu einer hyperosmotischen Diarrhoe führen könnten (Kaske und Kunz, 2003; Nappert, 2003).

In einigen der in Europa und den USA kommerziell erhältlichen ORT sind weitere Bestandteile enthalten: quellfähige und/oder schleimbildende Substanzen, z. B. Reisschleim oder Bananenflocken, Prä- und Probiotika sowie Heilpflanzenextrakte, wie Anis, Fenchel und Kamille. Der Nutzen dieser Inhaltsstoffe in ORT ist bislang wenig untersucht worden. Durch Zusatz von Psyllium (Flohsamen), einem quellfähigen, schleimbildenden Produkt, zu den ORT konnten in zwei Studien keine positiven klinischen Effekte erzielt werden (Cebra *et al.*, 1998; Naylor und Liebel, 1995). Die Fütterung einer Reis enthaltenen ORT löste bei gesunden Kälbern Durchfall aus (Sweeney, 2000). Vielfach wurde der Nutzen von Glutamin auf die Darmschleimhaut untersucht. Glutamin fördert die intestinale  $\text{Na}^+$ -Absorption in höherem Maße als Glukose und Glyzin (Soares *et al.*, 1991) Glutamin soll außerdem eine schnellere Regeneration der Darmschleimhaut bewirken, da die Aminosäure Glutamin eine wichtige Energiequelle für die Enterozyten darstellt (Nappert *et al.*, 1997). Die Gabe von glutaminhaltigen ORT an Kälber erzielte einen positiven Effekt bezogen auf die Korrektur der Hyponaträmie und der metabolischen Azidose und der Verbesserung der Struktur der Darmschleimhaut (Brooks *et al.*, 1997; 1998). Die unerwartete Korrektur der metabolischen Azidose durch Glutamin könnte durch die verbesserte renale  $\text{H}^+$ -Elimination über  $\text{NH}_4^+$ , das in der Niere aus Glutamin gebildet wird (s. 2.1.4.2), erklärt werden (Michell, 1998). In einer anderen Studie wurde keine Verbesserung in der Therapie von durchfallkranken Kälbern beim Zusatz von Glutamin zur ORT festgestellt (Naylor *et al.*, 1997). Hinsichtlich des Nutzens von Glutamin und der Zusammensetzung der optimalen ORT bedarf es noch weiterer Untersuchungen (Naylor, 1999).

Michell (1998; 2005) teilt anhand der Entwicklung von ORT in der Veterinärmedizin diese in drei Typen ein:

1. ORT, die sich an den WHO-Empfehlungen orientieren
2. ORT, die ähnliche Elektrolytkonzentrationen wie die WHO-Lösungen haben, aber eine wesentlich höhere Glukosekonzentration
3. ORT, die Inhaltsstoffe enthalten, die zusätzliche Wirkungen entfalten

Auf dem deutschen Markt sind alle drei Typen von ORT in flüssiger, gelartiger oder Pulverform erhältlich (Anonymous, 2001). Die Deklaration der Inhaltsstoffe ist häufig ungenügend, so dass die Auswahl der ORT für die Therapie durchfallkranker Kälber erschwert ist (Rademacher *et al.*, 2002).

#### **2.5.4 Wirksamkeit der ORT bezüglich der Korrektur der metabolischen Azidose**

ORT sollen neben dem Flüssigkeitsersatz vor allem auch die Azidose bekämpfen. Früher nahm man an, dass die Rehydratation der Durchfallkälber ausreichend sei, um die renale Kompensation der azidotischem Stoffwechsellage einzuleiten (Bywater, 1977). Nach Untersuchungen von Booth und Naylor (1987) und Naylor *et al.* (1990) kann eine metabolische Azidose ( $\text{pH}<7,2$ ) mit pufferfreien ORT nicht zufrieden stellend behandelt

werden. Durch die Korrektur der Azidose wird das Allgemeinbefinden, das Stehvermögen und die Tränkeaufnahme der Kälber deutlich verbessert (Kasari, 1990). Die schnelle Korrektur des SBS kann den Ausfall des Saugreflexes beim durchfallkranken Kalb vermeiden (Kasari und Naylor, 1985; 1986). Für die Behandlung der metabolischen Azidose des Durchfallkalbes stehen die Na- bzw. K-Salze von  $\text{HCO}_3^-$ , Azetat, Laktat, Citrat und Gluconat als Inhaltsstoffe in ORT zur Verfügung.  $\text{HCO}_3^-$  kann direkt basische Wirkung im Organismus entfalten:



Die anderen Anionen müssen zur Bekämpfung der Azidose erst zu  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$  metabolisiert werden (Naylor, 2002). Die Therapie der metabolischen Azidose geschieht analog zum Stewart-Modell also über  $\text{CO}_2$  und die Erhöhung der [SID]. Wird  $\text{CO}_2$  abgeatmet, ist [SID] die einzige Stewart-Variable, die nach der Therapie verändert ist (Gattinoni *et al.*, 2006b).

Alle genannten metabolisierbaren Puffer werden in den Citratzyklus eingeschleust und dort verwertet. Laktat wird in der Leber und in der Herzmuskulatur verbraucht. Azetat wird in Herz- und Skelettmuskulatur sowie Drüsen- und Fettgewebe metabolisiert. Die Verstoffwechslung von Propionat erfolgt ausschließlich in der Leber. Citrat und Gluconat können von allen Geweben als Energiesubstrat benutzt werden (Kasari, 1999). Die Leber von Tieren kann ihre Laktatutilisation auf das drei- bis vierfache steigern. Sinkt jedoch der Blut-pH unter 7,1, kommt die hepatische Laktatverwertung zum Erliegen (Hartmann, 2005). Die Wirkung der metabolisierbaren Puffern kann bei stark dehydratisierten Tieren eingeschränkt sein, weil die Organe nicht ausreichend perfundiert werden (Kasari, 1999). Bei gesunden Kälbern wurden ähnliche basische Effekte bei der intravenösen Gabe von  $\text{NaHCO}_3$  und der Na-Salze von L-Laktat, Azetat und Propionat beobachtet. D-Laktat wird langsamer verstoffwechselt und ist daher als alkalisierender Zusatz in der Rehydratationstherapie ungeeignet. Gluconat und Citrat entfalten mäßige Wirksamkeit bei intravenöser Gabe (Kasari, 1999; Naylor und Forsyth, 1986). Für ORT sind Gluconat und Citrat als Pufferzusatz geeignet, um die metabolische Azidose der durchfallkranken Kälber zu behandeln (Nappert *et al.*, 1997). Azetat und Propionat stimulieren nach einer Untersuchung von Demigne *et al.* (1983) zusätzlich die Absorption von  $\text{Na}^+$  und Wasser im Dünndarm.

Die in ORT und in Infusionslösungen für das Kalb zugelassenen Puffer sind für ihre Wirksamkeit an die ausreichende  $\text{CO}_2$ -Abatmung gebunden. Verbleibt das entstandene  $\text{CO}_2$  auch nur teilweise im Organismus erhöht sich der Gehalt an  $\text{H}_2\text{CO}_3$ . Damit verstärkt sich zwangsläufig die bei den erkrankten Tieren bereits bestehende Azidose (Hartmann und Berchtold, 1997; Hartmann *et al.*, 1997). Bei respiratorischer oder gemischt respiratorisch-

metabolischer Azidose sollten Puffer ohne CO<sub>2</sub>-Bildung, wie Trispuffer, eingesetzt werden. Die Verwendung von Tris-Puffern ist beim Kalb derzeit nicht zugelassen (Hartmann, 2005). Die optimale Menge an Puffer in ORT variiert von 40-80mmol/l (s. Tab. 9). In Vergleichsuntersuchungen von kommerziell erhältlichen ORT waren jeweils jene am wirkungsvollsten in der Korrektur der metabolischen Azidose durchfallkranker Kälber, die die höchste Konzentration an Puffer aufwiesen (Dupe *et al.*, 1989; Michell *et al.*, 1992; Naylor *et al.*, 1990). In einer neueren Untersuchung wurde die Effektivität einer ORT anhand der Stewart-Theorie beurteilt (Stämpfli *et al.*, 1996). Diese ORT mit einer [SID] von durchschnittlich 88±4,7mmol/l konnte erfolgreich die metabolische Azidose aller Versuchskälber bekämpfen. Das Stewart-Modell eignet sich für die Formulierung von ORT und Infusionslösungen (Constable *et al.*, 2005; Kaske und Kunz, 2003; Morgan, 2005; Stämpfli *et al.*, 1996). Bei einigen in Deutschland erhältlichen ORT ist die [SID] auf dem Produkt deklariert. Sie lässt sich andernfalls aus den Herstellerangaben der Elektrolytkonzentrationen von Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> und Cl<sup>-</sup> berechnen (Anonymous, 2001).

### **2.5.5 Effekte von oralen Rehydratationstränken auf die Milchgerinnungszeit**

Bei unveränderter Fütterung der durchfallkranken Kälber mit Milch stellt sich die Frage, ob die ORT gleichzeitig oder zeitlich versetzt zur Milchtränke verabreicht werden sollen. Die meisten Autoren befürworten die strikte Trennung der Gabe von ORT und Milch. Zwischen der Milchtränke und der Verabreichung der ORT sollten mindestens 1-2 Stunden liegen (Kaske und Kunz, 2003; Rademacher, 2003). Es wird befürchtet, dass die Gerinnung der Milch durch die gleichzeitige Verabreichung von ORT im Labmagen gestört werden könnte (Kaske, 2002; Naylor, 1999; Rademacher *et al.*, 2002). Vor allem HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-haltige ORT sollen die Caseinfällung im Labmagen beeinträchtigen, da sie zu einer größeren pH-Wert-Auslenkung in den Labmageningesta führen (Constable *et al.*, 2001). In einer Studie fütterten Heath *et al.* (1989) durchfallkranke Kälber mit Milch und Milch-ORT-Gemischen. In der Fütterungsgruppe, die HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-haltige ORT und Milch erhielten, verloren die Kälber am meisten an Körpermasse. Aus diesen Ergebnissen wurde von den Autoren die Empfehlung abgeleitet, dass bei Milchfütterung HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-haltige ORT vermieden werden sollten. Die gleichzeitige Gabe der vollen Milchrations zusammen mit einer azetathaltigen ORT hatte in einer Untersuchung von Garthwaite *et al.* (1994) keine negativen Effekte, wie verlängerte Erkrankungsdauer, im Vergleich zum totalen und partiellen Milchentzug bei durchfallkranken Kälbern. In einer Studie prüfte Constable (2002b) die abomasalen pH-Werte nach Gabe von Azetat- und HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-haltiger ORT in Wasser. Die basische Auslenkung des abomasalen pH-Wertes war nach Fütterung der HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-haltigen ORT größer, allerdings unterschieden sich die eingesetzten ORT sehr in ihrer Zusammensetzung. Die azetathaltige ORT war iso- (307mosmol/l), die ORT mit HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> hyperosmolar (697mosmol/l). Nach Untersuchungen von Reinhold *et al.* (2006) führen HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-haltige ORT zu keiner signifikant höheren pH-

Auslenkung in den Labmagingesta als  $\text{HCO}_3^-$ -freie ORT. Einige Autoren empfehlen die sogenannte „Halbmilchtränke“, d. h. Milch gemischt mit ORT, oder die gleichzeitige Gabe von Milch und ORT, wenn als Puffersubstanz Azetat oder Propionat enthalten sind, da Citrat und  $\text{HCO}_3^-$  in hoher Konzentration, die Labgerinnung verhindern könnten (Last, 2005; Nappert, 2003). Diese Annahme geht auf *in vitro* Studien zurück, bei denen die Milchgerinnung im Reagenzglas durchgeführt wurde.  $\text{HCO}_3^-$ -und citratreiche ORT (> 40 mmol/l) verhinderten die Caseinfällung. Als Erklärung für die ausbleibende Gerinnung bei Zusatz von  $\text{HCO}_3^-$ -haltigen ORT zur Milch wurde der Anstieg des pH-Wertes genannt. Die citrathaltigen ORT entziehen der Milch die für die Gerinnung essentiellen  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen durch Bildung von Calciumchelaten (Nappert und Spennick, 2003; Naylor, 1992). In neueren Untersuchungen wurde die Labmagenentleerung bei Kälbern mit Hilfe der Szintigraphie dargestellt (Marshall *et al.*, 2005; Nappert und Lattimer, 2001). In ihrer Studie konnten Nappert und Lattimer (2001) zeigen, dass zumindest geringe Mengen an  $\text{HCO}_3^-$  (13 mmol/l) keine ungünstigen Effekte auf die Milchfällung im Labmagen aufweisen, da die Passagerate der Ingesta durch den Labmagen nicht erhöht war.

### 2.5.6 Verabreichung von ORT

Als Voraussetzungen für eine erfolgreiche orale Rehydrations-therapie werden allgemein die Schmackhaftigkeit der ORT und ein vorhandener Saugreflex der durchfallkranken Kälber angesehen (Berchtold und Prechtel, 2002; Naylor, 1990). Trinkt das kranke Kalb nicht selbständig, empfehlen einige Autoren die Zwangstränkung per Sonde (Nappert *et al.*, 1997; Naylor, 1999). Andere raten wegen der Gefahr des „Pansentrinkens“ kategorisch davon ab und therapieren bei fehlendem Saugreflex sofort durch intravenöse Gabe von Flüssigkeit (Kaske und Kunz, 2003; Rademacher, 2003). ORT sollten zeitnah zum Auftreten erster Symptome der Diarrhoe verabreicht werden (Kaske und Kunz, 2003). Grundlage für eine wirksame Dosierung der ORT sind Kenntnisse zum Flüssigkeitsverlust der durchfallkranken Kälber. Beurteilungsschemata zur Abschätzung des Dehydratationsgrades sind zahlreich vorhanden (Constable *et al.*, 1998; Hartmann, 1995; Hunt, 1985; Kaske und Kunz, 2003; Lewis und Phillips, 1979; Perez Garcia, 1999; Rademacher *et al.*, 2002). Klinisch macht sich die Dehydratation durch herabgesetzten Hautturgor, Enophthalmus, erniedrigte Rektal- und Hautoberflächentemperatur an den Akren (Gliedmaßen, Ohren, Nase) bemerkbar (Doll, 2006). Constable *et al.* (1998) untersuchten die Korrelation zwischen dem Dehydratationsgrad und einigen Untersuchungsparametern. Die beste Abschätzung des Dehydratationsgrades gelang anhand: (1) Grad des Enophthalmus (in mm zwischen Bulbus und nasalem Lidrand), (2) Hautturgor im Hals- und Brustbereich und (3) Gesamtprotein-konzentration im Plasma. Aus diesen Ergebnissen entwickelten Constable *et al.* (1998) die nachfolgenden Gleichungen zur Berechnung des Dehydratationsgrades:

- a) **Dehydratationsgrad (%) = 1,71 × Enophthalmus (mm) + 0,38**  
 b) **Dehydratationsgrad (%) = 1,77 × Verstreichen der Hautfalte (s) - 3,1**  
 c) **Dehydratationsgrad (%) = 5,46 × [GE] (g/l) - 31,5** (24)

Der Gesamtbedarf an Flüssigkeit setzt sich aus dem Grundbedarf (10% der Körpermasse), dem aktuellen Volumendefizit (=Dehydratationsgrad x KM (kg)/100) und den fortlaufenden Flüssigkeitsverlusten (100-200ml /kg KM) zusammen (Hartmann, 1995). Der tägliche Grundbedarf an Flüssigkeit wird durch die Milchtränke abgedeckt (12% der KM). Das aktuelle Flüssigkeitsdefizit sowie die laufenden Volumenverluste müssen durch ORT oder Infusionen ausgeglichen werden (Rademacher *et al.*, 2002). Anhand der Kotkonsistenz können die fortlaufenden Flüssigkeitsverluste abgeschätzt werden. Kälber mit mäßigem Durchfall verlieren etwa 1-2l Wasser innerhalb von 24h. Bei schwerem Durchfall werden 2-6l, im Extremfall bis 8l Flüssigkeit über den Darm ausgeschieden (Kaske und Kunz, 2003). Für ein 50kg schweres Kalb mit einem Dehydratationsgrad von 7% und leichtem Durchfall ergibt sich damit folgender Flüssigkeitsbedarf:

Tab. 10 Flüssigkeitsbedarf eines 50 kg schweren, leicht dehydratisierten Kalbes mit mäßigem Durchfall

	<b>Liter/Kalb (50 kg KM)</b>
<b>Grundbedarf</b> (10% der KM)	5l
<b>Aktuelles Flüssigkeitsdefizit</b> (Dehydratationsgrad x KM/100)	3,5
<b>Laufende Flüssigkeitsverluste</b>	1-2
<b>Gesamtbedarf</b>	9,5-10,5
<b>Bedarf an ORT</b> (Gesamtbedarf-Grundbedarf)	4,5-5,5

Ein durchfallkrankes Kalb sollte möglichst dreimal täglich 1,5-2,0 Liter ORT aufnehmen (Kaske und Kunz, 2003; Rademacher, 2003). Bei hochgradiger Dehydratation (Flüssigkeitsverlust >8%) erfolgt initial die Korrektur des Flüssigkeitsdefizits wegen des schlechten Allgemeinbefindens in der Regel intravenös (Kaske, 1994). Dabei muss parenteral meist nur ein Teil des gesamten Defizits ausgeglichen werden. Nach Besserung des Allgemeinbefindens und des Saugreflexes wird der verbleibende Rest per os verabreicht (Phillips, 1985; Sadiq und Schlerka, 1996).

Zur korrekten Beurteilung der Azidose wäre die Möglichkeit einer Blutgasanalyse wünschenswert. Der Pufferbedarf des azidotischen Kalbes kann anhand des BE-Wertes ermittelt werden (Glawischnig *et al.*, 1990):

$$\text{Basenbedarf (mmol/l)} = \text{BE (mmol/l)} \times 0,3 \times \text{kg KM} \quad (25)$$

Die Blutgasuntersuchung scheidet leider aufgrund der relativ hohen Kosten und der Notwendigkeit der sofortigen Analyse der entnommenen Blutproben in der Praxis meistens aus. Klinisch lässt sich der Verdacht auf das Vorliegen einer Azidose relativ sicher bei

folgenden Symptomen stellen: (1) Allgemeinverhalten apathisch, depressiv oder komatös, (2) Stehvermögen unsicher, schwankend oder festliegend, (3) Muskeltonus herabgesetzt und (4) Saugreflex schwach oder unregelmäßig kauend (Berchtold und Prechtel, 2002). Infolge respiratorischer Kompensation der metabolischen Dyshydrie kann die Frequenz bzw. die Tiefe der Atmung beim durchfallkranken Kalb erhöht sein (Hartmann und Berchtold, 1997). Die Abschätzung des Schweregrades der Azidose gelingt aber nur unzureichend (Booth und Naylor, 1987; Groutides und Michell, 1990a; Heath *et al.*, 1989; Perez Garcia, 1999). Meist geht die Dehydratation von durchfallkranken Kälbern mit einer Azidose einher, jedoch korreliert der Grad der Dehydratation nicht mit dem Azidosegrad (Grove-White, 1998; Grove-White und White, 1993; Kasari, 1990; Naylor, 1987). Der pH-Wert des Urin bietet auch keine sichere Aussage über den Grad der Azidose (Schlerka *et al.*, 1996). Der Schweregrad und die Art der metabolischen Azidose der durchfallkranken Kälber sind altersabhängig (s. 2.4.3.1). Kaske und Kunz (2003) bieten auf der Grundlage des Dehydratationsgrades und des Alters des durchfallkranken Kalbes ein Schema an nach dem der Bikarbonatbedarf zum Ausgleich der metabolischen Azidose geschätzt werden kann.

Tab. 11 Abschätzung des Bikarbonatbedarfes zum Ausgleich der metabolischen Azidose durchfallkranker Kälber anhand des Dehydratationsgrades und des Alters

<b>Natriumbikarbonatbedarf (g/Tier)</b>		
<b>Dehydratationsgrad</b>	<b>Alter der Kälber</b>	
	<b>&lt;8 Tage</b>	<b>&gt;8 Tage</b>
gering	10	20
mäßig	20	30
hoch	20	40

### **3 VERSUCHSTIERE, MATERIAL UND METHODEN**

#### **3.1 Versuchstiere**

Für die Erstellung der Referenzwerte der Stewart-Variablen (Teil 1 der Untersuchungen an Kälbern) wurden insgesamt 17 Kälber, die in der Tierklinik für Fortpflanzung der Freien Universität Berlin in den Jahren 2003 und 2004 geboren wurden, verwendet. Die Probanden waren achtmal weiblichen und neunmal männlichen Geschlechts. 12 der Kälber waren der Rasse Deutsches Schwarzbuntes Rind zuzuordnen. Bei den verbleibenden fünf Kälbern handelte es sich um Kreuzungsprodukte aus Deutschen Schwarzbuntem Rind und verschiedenen Fleischerassen. Die zeitabhängigen Probenentnahmen erfolgten zu den Zeitpunkten 1., 3., 7., 14. und 28. Lebenstag, jeweils vormittags zwischen 10.00 und 13.00 Uhr.

Die Fütterungsversuche an Kälbern mit einer Labmagenfistel erfolgten im Rahmen eines genehmigten Tierversuchs (TV) mit jährlicher Verlängerung der Versuchserlaubnis (TV-Genehmigungsnummer 0116/03). Für diese Versuche (Teil 2 der Untersuchungen an Kälbern) wurde drei Kälbern, die aus Betrieben des Bundeslandes Brandenburg stammten, eine Labmagenfistel operativ eingesetzt (s. 3.2.3). Die Versuchstiere waren alle männlichen Geschlechts. Zwei Kälber gehörten der Rasse Deutsches Schwarzbuntes Rind an, ein Kalb war ein Kreuzungstier. Zum Zeitpunkt des Versuchsbeginns waren die Probanden 14, 18 und 26 Tage alt. Die Kälber wogen zu Versuchsbeginn im Mittel  $63,3 \pm 5,8$  kg.

##### **3.1.1 Selektionskriterien**

Für alle Untersuchungen wurden ausschließlich Kälber verwendet, die als klinisch gesund befundet wurden (s. 3.2.1).

Die Probenentnahmen für Teil 1 der Untersuchungen wurden nur an Kälbern durchgeführt, die unmittelbar post natum eine APGAR-Punktzahl von sechs oder mehr aufwiesen. Damit wurde gewährleistet, dass ausschließlich die Werte klinisch gesunder Kälber für die Ermittlung der Referenzbereiche herangezogen wurden.

Zu Beginn der Fütterungsversuche sollten die Kälber nicht älter als 28 Tage sein, da die Faktorenkrankheit Kälberdiarrhoe vorwiegend bei Kälbern im Lebensalter von unter vier Wochen auftritt (Kaske, 1993; Nappert *et al.*, 1997).

##### **3.1.2 Haltung und Fütterung**

Die Kälber wurden in der Tierklinik für Fortpflanzung in Einzelboxen mit Stroheinstreu und Gummimattenunterlage gehalten. Die Fütterung der Kälber erfolgte täglich viermal um 8:00, 14:00, 19:00 und 22:30 Uhr. Die Tränke wurde handwarm über einen Nuckeleimer an die Tiere verabreicht. Für Teil 1 der Untersuchungen erhielten die Kälber Vollmilch bzw.

Kolostrum, die von den laktierenden Milchkühen der Tierklinik für Fortpflanzung stammte. Die Tränkemenge betrug 12% der Körpermasse. Sie wurde auf die vier Mahlzeiten gleichmäßig aufgeteilt. Außerdem stand den Tieren Leitungswasser aus Tränkeemern und Heu ad libitum zur Verfügung.

Im 2. Teil der Untersuchungen erhielten die Kälber Milchaustauscher (MAT, s. 3.2.6), orale Rehydratationstränken (ORT, s. 3.2.7) gelöst in MAT oder Wasser laut Fütterungsplan (s. 3.2.5). Bei den untersuchten Fütterungen um 8:00 und 14:00 Uhr wurden jeweils 2l Tränke verabreicht. Um 19:00 und 22:30 Uhr wurde die Tränkemenge mit MAT an 12% der Körpermasse angepasst. Leitungswasser stand den drei Versuchskälbern nach Beendigung der Probenentnahmen von 18:00 bis 7:30 Uhr zur Verfügung.

## 3.2 Experimentelles Design

### 3.2.1 Klinische Untersuchung der Probanden

Das Befinden der Probanden wurde mit einer klinischen Untersuchung bei Teil 1 und 2 der Untersuchungen vor der Probenentnahme überwacht. Es wurden die Herz- und Atemfrequenz sowie die Rektaltemperatur ermittelt. Anschließend erfolgte die Beurteilung der Kot- und der Nabelbeschaffenheit. Außerdem wurde anhand der Geschwindigkeit der Tränkeaufnahme sowie der aufgenommenen Tränkemenge der Appetit beurteilt. Die erhobenen Daten wurden in einem Befundbogen dokumentiert (s. Tab. 12).

Tab. 12 Befundbogen der klinischen Untersuchung

Tag	Datum
DE-Nr.	Alter (d)
Rasse	Geschlecht
Herzfrequenz (Schläge/min)	Atemfrequenz (Züge/min)
Temperatur (°C)	Kotkonsistenz
Nabelbeschaffenheit	Appetit

DE-Nr.= Nummer, die über die Ohrmarke jedes in Deutschland geborene Rind kennzeichnet

### 3.2.2 Probenentnahmen

Für Teil 1 der Untersuchungen wurden die Proben am entsprechenden Lebenstag der Kälber gewonnen. Es erfolgte die Entnahme von arteriellem und venösem Blut sowie Harn.

Die Probenentnahmen bei den Fütterungsversuchen (Teil 2) erfolgten nach einem festgelegten Schema unmittelbar vor sowie ½, 1, 2 und 4 Stunden nach der Fütterung (s. Tab. 13). Es wurden venöses Blut und Labmageningesta entnommen.

Tab. 13 Tagesplan der Probenentnahmen

Uhrzeit	Proben
7.30	Serum, Blutgase, Labmageningesta
8.00	Fütterung
8.30	Labmageningesta
9.00	Labmageningesta
10.00	Serum, Blutgase, Labmageningesta
12.00	Serum, Blutgase, Labmageningesta
13.30	Serum, Blutgase, Labmageningesta
14.00	Fütterung
14.30	Labmageningesta
15.00	Labmageningesta
16.00	Serum, Blutgase, Labmageningesta
18.00	Serum, Blutgase, Labmageningesta

### 3.2.2.1 Blut

Das venöse Blut wurde über Punktion der Vena jugularis externa mit einer 0,8 x 40mm sterilen Einmalkanüle (Microlance™, BD) gewonnen. Zunächst wurde ein mit Lithium-Heparin beschichtetes 2,3ml Blutgasröhrchen (Kabevette®, KABE) zur Bestimmung der SBS-Parameter aufgesetzt und das venöse Blut luftblasenfrei aufgezogen. Anschließend wurde venöses Blut noch in ein 7,5ml Serumröhrchen (Primavette®, KABE), das Kunststoffgranulat enthielt, gefüllt. Für Teil 1 der Untersuchungen wurde zusätzlich ein mit Natriumfluorid beschichtetes Röhrchen (Monovette®, Sarstedt) für die Blutglukose- und Laktatbestimmung befüllt. Das arterielle Blut wurde durch Punktion der A. carotis communis mit einer 0,8 x 40 mm sterilen Einmalkanüle (Microlance™, BD) gewonnen. Für die arterielle Blutgasbestimmung wurde ebenfalls ein mit Lithium-Heparin beschichtetes Röhrchen verwendet. Falls das Blut für die Blutgasbestimmung nicht luftblasenfrei gewonnen werden konnte, wurden durch Beklopfen die Luftblasen in den Konus der Entnahmespritze befördert und durch Verwerfen der ersten Blutstropfen entfernt. Nach der Entnahme wurden beide Blutgasröhrchen unmittelbar in einen mit Eis gefüllten Styroporbehälter verbracht. Die Bestimmung der Blutgasparameter erfolgte immer direkt im Anschluss an die Blutentnahme, so dass die Proben nicht länger als 30min auf Eis gelagert wurden. Dadurch sollten sich die gemessenen Blutgasparameter nicht signifikant verändert haben (Haskins, 1977). Die täglich gemessene Rektaltemperatur diente der Korrektur der Blutgasparameter.

### 3.2.2.2 Harn

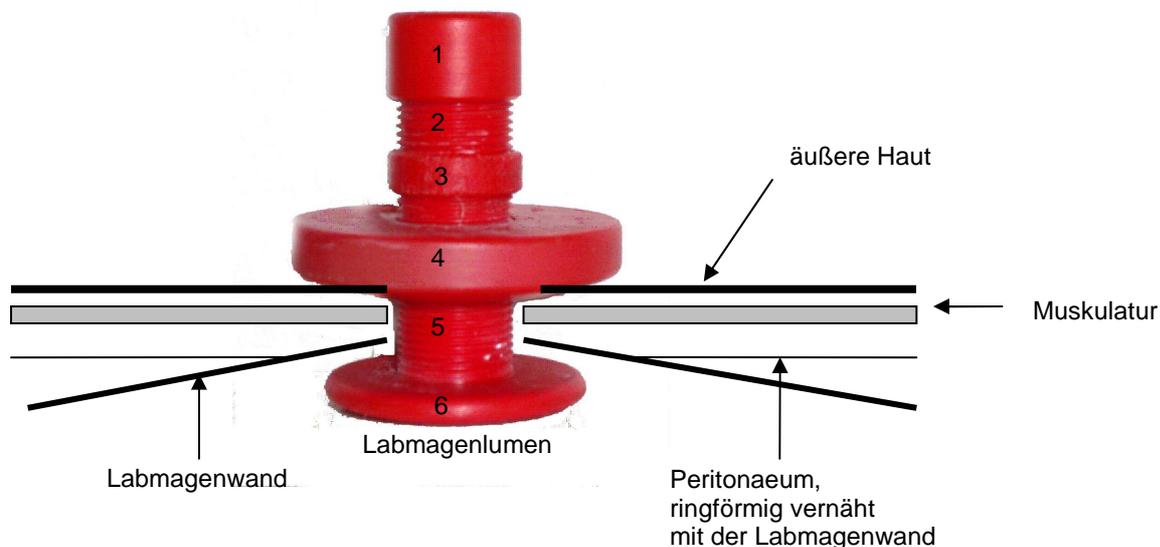
Für Teil 1 der Untersuchungen wurde Spontanharn durch manuelle Stimulation des Dammbereiches gewonnen und in einem neutralen 10ml Röhrchen aufgefangen. Bis zur Untersuchung wurde der Harn bei -20°C aufbewahrt.

### 3.2.2.3 Labmagingesta

Zur Entnahme des Labmagensaftes wurde der Schraubverschluss der Labmagenfistel geöffnet und etwa 7-10ml der austretenden Labmagingesta in einem neutralen 10ml Röhrchen aufgefangen. Der pH-Wert des Labmageninhaltes wurde unmittelbar bestimmt (s. 3.3.1.3). Bis zur Durchführung weiterer Laboruntersuchungen wurden die Labmagingestaprobe bei -20°C aufbewahrt. Für die CMP-Bestimmung (s. 3.3.3) in den Labmagingesta nach Fütterung von MAT und MAT-ORT-Gemischen (ORT-1A<sub>MAT</sub>, -1C<sub>MAT</sub>, -2A<sub>MAT</sub>, -3A<sub>MAT</sub> und 4A<sub>MAT</sub>) wurde zum Zeitpunkt 30min nach der Fütterung 1ml des entnommenen Labmagensaftes unverzüglich in 1,5ml Eppendorfröhrchen pipettiert und in ein -70°C Tiefgefrierbehältnis verbracht, wo sie bis zur Durchführung der Bestimmung des CMP-Gehaltes aufbewahrt wurden.

### 3.2.3 Operatives Einsetzen der PVC-Fistel in den Labmagen

Das operative Einsetzen der selbst hergestellten Kunststoffistel<sup>1</sup> in den Labmagen der Kälber wurde unter der Leitung von Herrn Dr. Sebastian Arlt in der Tierklinik für Fortpflanzung vorgenommen.



- 1 = Schraubverschluss      2 = Schraubgewinde  
 3 = Kontermutter zur Fixierung der äußeren Scheibe      4 = äußere Scheibe  
 5 = Verbindungsstück      6 = innere Scheibe

Abb. 4 Labmagenfistel aus Polyvinylchlorid (PVC) und schematische Darstellung der Lage im Labmagen; Maße: Höhe 50mm, Ø innere Scheibe 31mm, Ø äußere Scheibe 40mm, Ø Schraubgewinde/Verbindungsstück 10mm

<sup>1</sup> Für die Herstellung der PVC-Fistel bedanke ich mich bei Frau Alexandra Fischer.

Als Verfahren des chirurgischen Einsetzens der Labmagenfistel wurde die in der Dissertation von Reinhold (2007) beschriebene Technik verwandt. Die Position der Fistel in der linken Flanke erwies sich in ihren Untersuchungen als gut geeignet zur problemlosen Entnahme von Labmageningesta über einen Versuchszeitraum von zwei bis drei Wochen.

Die Operation erfolgte unter Vollnarkose des Versuchstieres. Die Injektionsnarkose, bestehend aus Xylazin (Rompun® 2%, Fa. Bayer, 0,2ml/50kg Körpergewicht) und Ketamin (Ursotamin®, Fa. Serumwerk Bernburg, 1ml/10kg Körpergewicht) in einer Mischspritze, wurde dem Probanden über Punktion der Vena jugularis externa mit einer 0,8 x 40mm sterilen Einmalkanüle (Microlance™, BD) verabreicht. War während der Operation eine Nachdosierung erforderlich, wurde 1ml Ketamin in die lange Sitzbeinmuskulatur appliziert. Nach dem sich das Kalb niedergelegt hatte, wurde es in die rechte Seitenlage auf den Operationstisch verbracht und mit Stricken an den Gliedmaßen in dieser Position fixiert.

In der linken Flanke wurde das Operationsfeld parakostal der letzten Rippe mit einer elektrischen Schermaschine geschoren, mit Wasser befeuchtet und mit Flüssigseife eingeseift. Dann wurden die Haare im Operationsgebiet mit einem Nassrasierer entfernt und die Haut gründlich mit Alkohol desinfiziert. Anschließend wurde der Bereich mit einem geschlitzten Operationstuch abgedeckt.

Der vertikale Schnitt durch die äußere Haut verlief eine Handbreit kaudal des Rippenbogens auf einer Länge von etwa 10 bis 15cm. Die darunter liegenden Muskelschichten (M. obliquus abdominis externus, M. obliquus abdominis internus und M. transversus abdominis) wurden stumpf durchtrennt. Zur Eröffnung der Bauchhöhle wurde das parietale Peritoneum mit einer Schere eingeschnitten. Der Labmagen wurde manuell erfasst und zu ca. einem Drittel vorverlagert. Danach wurde der Labmagen in der Nähe des Pylorus mit mehreren Einzelheften (Vicryl®, Fa. Braun) kreisförmig an das parietale Peritoneum geheftet. Um die Kunststofffistel in den Labmagen einsetzen zu können, wurde dieser mit einer Schere auf einer Länge von 3cm eröffnet. Nach dem Einsetzen der inneren Scheibe der Labmagenfistel wurde der Schnitt im Labmagen um das Verbindungsstück herum mit einer Tabaksbeutelnaht abgedichtet. Abschließend erfolgte die Naht der Bauchwandschichten und die dichte Verschraubung der PVC-Fistel. Auf die Hautnaht wurde Aluminiumspray (Fa. Albrecht) aufgetragen.



Abb. 5 Sitz der Fistel bei einem Versuchskalb

### **3.2.4 Postoperative Behandlung der Versuchstiere**

Zur Infektions- und Schmerzprophylaxe erhielten alle drei Probanden über einen Zeitraum von 5 Tagen post operationem einmal täglich ein Antibiotikum sowie ein Analgetikum. Dafür wurden die Präparate Procain-Penicillin-G (Fa. WDT) und Vetalgin® (Fa. Intervet) ausgewählt. Die Injektionslösungen wurden in der Dosierung 10.000 – 15.000 I. E. Penicillin/kg KM und 2.500mg Metamizol/kg KM in die Oberarmmuskulatur injiziert.

### **3.2.5 Fütterungsplan der Versuchstiere**

Es wurden vier verschiedene ORT und der MAT ausgewählt, die in ihrer Wirkung auf die Vorgänge im Labmagen und auf den systemischen SBS untersucht werden sollten. Die ORT wurden jeweils in MAT und Wasser gelöst (Zusammensetzung s. 3.2.6 und 3.2.7). Die Fütterungen wurden wie in den Fütterungsplänen (s. Tab. 14-16) angegeben vorgenommen.

Tab. 14 Fütterungsplan Kalb 1: „Luzifer“

Zeit	Versuchstag									
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
8.00	MAT	ORT-1A <sub>MAT</sub>	ORT-3A <sub>MAT</sub>	ORT-1A <sub>MAT</sub>	ORT-3A <sub>MAT</sub>	ORT-1A <sub>MAT</sub>	ORT-3A <sub>MAT</sub>	ORT-1A <sub>MAT</sub>	ORT-1C <sub>MAT</sub>	MAT
14.00	MAT	ORT-1C <sub>MAT</sub>	ORT-3B <sub>H2O</sub>	-	ORT-3B <sub>H2O</sub>	ORT-1C <sub>MAT</sub>	ORT-3B <sub>H2O</sub>	ORT-1B <sub>H2O</sub>	MAT	ORT-1B <sub>H2O</sub>
19.00/22.30	MAT	MAT	MAT	MAT	MAT	MAT	MAT	MAT	MAT	MAT

Tab. 15 Fütterungsplan Kalb 2: „Mickey Maus“

Zeit	Versuchstag									
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
8.00	MAT	ORT-1A <sub>MAT</sub>	ORT-2A <sub>MAT</sub>	ORT-1A <sub>MAT</sub>	ORT-2A <sub>MAT</sub>	ORT-1A <sub>MAT</sub>	ORT-2A <sub>MAT</sub>	ORT-1A <sub>MAT</sub>	ORT-1C <sub>MAT</sub>	ORT-1B <sub>H2O</sub>
14.00	MAT	-	ORT-2B <sub>H2O</sub>	ORT-2A <sub>MAT</sub>	ORT-2B <sub>H2O</sub>	MAT	ORT-2B <sub>H2O</sub>	ORT-1B <sub>H2O</sub>	ORT-2B <sub>H2O</sub>	ORT-3A <sub>MAT</sub>
19.00/22.30	MAT	MAT	MAT	MAT	MAT	MAT	MAT	MAT	MAT	MAT

Tab. 16 Fütterungsplan Kalb 3: „Ronaldo“

Zeit	Versuchstag									
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
8.00	MAT	ORT-1C <sub>MAT</sub>	ORT-4A <sub>MAT</sub>	ORT-3A <sub>MAT</sub>	ORT-4A <sub>MAT</sub>	ORT-4A <sub>MAT</sub>	ORT-4A <sub>MAT</sub>	ORT-2A <sub>MAT</sub>	ORT-4A <sub>MAT</sub>	MAT
14.00	MAT	ORT-1B <sub>H2O</sub>	ORT-4B <sub>H2O</sub>	ORT-3B <sub>H2O</sub>	ORT-4B <sub>H2O</sub>	ORT-4B <sub>H2O</sub>	ORT-4B <sub>H2O</sub>	ORT-2B <sub>H2O</sub>	ORT-4B <sub>H2O</sub>	ORT-3B <sub>H2O</sub>
19.00/22.30	MAT	MAT	MAT	MAT	MAT	MAT	MAT	MAT	MAT	MAT

Die Kälber wurden immer freitags operiert und am Wochenende klinisch überwacht. Die Fütterungsversuche wurden entsprechend den Vorgaben der Tierversuchsgenehmigung von Montag bis Freitag über 2 Wochen pro Versuchstier durchgeführt.

### 3.2.6 Zusammensetzung des eingesetzten Milchaustauschers

In Teil 2 der Untersuchungen wurde MAT (Kälbermilch UNI®, Raiffeisen Agrar) in einer Dosierung von 110g/l Wasser eingesetzt, der laut Herstellerangaben folgende Zusammensetzung hatte:

50,5% Sprühmagermilchpulver; 30% Sprühsüßmolkenpulver; 15,5% pflanzliches Öl raffiniert; 3% Weizenquellstärke; 2% Zusatzstoffvormischung.

Tab. 17 Gehalt an Inhaltsstoffen in % im MAT

Inhaltsstoff	Prozent
Rohprotein	22%
Lysin	1,8%
Rohfett	16%
Rohasche	8,5%
Rohfaser	0,1%
Calcium	0,9%
Phosphor	0,7%
Natrium	0,63%
Kalium	1,4%
Chlorid	0,88%
Magnesium	0,18%

Tab. 18 Gehalt an Zusatzstoffen je kg MAT

Zusatzstoff	Menge
Vitamin A	50000 I. E.
Vitamin D3	4000 I. E.
Vitamin E	100mg
Vitamin C	100mg
Eisen	60mg
Kupfer	8mg

### 3.2.7 Rezepturen der untersuchten oralen Rehydratationstränken

Wie oben angeführt wurden vier verschiedene ORT im Fütterungsversuch eingesetzt, die alle in der vom Hersteller vorgeschlagenen Dosierung in MAT (ORT-1A<sub>MAT</sub>, -2A<sub>MAT</sub>, 3A<sub>MAT</sub>, 4A<sub>MAT</sub>) und in Wasser (ORT-1B<sub>H<sub>2</sub>O</sub>, -2B<sub>H<sub>2</sub>O</sub>, -3B<sub>H<sub>2</sub>O</sub>, -4B<sub>H<sub>2</sub>O</sub>) gelöst wurden. Die Lösung der ORT geschah unabhängig davon, ob der Hersteller die Gabe in Wasser oder Milch/MAT in der Packungsbeilage empfiehlt. ORT-1 wurde zusätzlich in der doppelten Menge in MAT verfüttert (ORT-1C<sub>MAT</sub>).

Tab. 19 Gehalte an ausgewählten Inhaltsstoffen im MAT und in den eingesetzten ORT

	Na <sup>+</sup> (mmol/l)	K <sup>+</sup> (mmol/l)	Cl <sup>-</sup> (mmol/l)	SID <sub>3</sub> (mmol/l)	Enthaltenes Anion/Puffer	Anwendungs- empfehlung	Weitere funktionelle Inhaltsstoffe
MAT	30	39	27	42	-	-	-
ORT- 1A <sub>MAT</sub>	130	60	75	115	Azetat	in Milch/MAT und Wasser	Glukose
ORT- 1B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	101	22	49	74			
ORT- 1C <sub>MAT</sub>	231	82	124	189			
ORT- 2A <sub>MAT</sub>	141	64	86	119	Propionat	in Milch/MAT und Wasser	Glukose, Reisquell- mehl, Blutwurz-, Kamille-, Anis- und Fenchel- pulver, Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Probiotika
ORT- 2B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	111	25	59	77			
ORT- 3A <sub>MAT</sub>	112	52	72	92	Bikarbonat	in Wasser	Laktose, Glyzin, Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup>
ORT- 3B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	81	13	45	49			
ORT- 4A <sub>MAT</sub>	80	59	66	73	Citrat und Phosphat	in Wasser	Glukose, Glyzin
ORT- 4B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	50	20	39	31			

A<sub>MAT</sub>=ORT gelöst in MAT; B<sub>H<sub>2</sub>O</sub>=ORT gelöst in Wasser; C<sub>MAT</sub>=doppelte Menge ORT gelöst in MAT;

[SID<sub>3</sub>] (mmol/l) = [Na<sup>+</sup>] + [K<sup>+</sup>] – [Cl<sup>-</sup>]

Zur Berechnung der Konzentrationen von Inhaltsstoffen der MAT-ORT-Gemische wurde folgende Formel eingesetzt:

$$\frac{C_1 + C_2}{V_1 + V_2} = \frac{C_{ges}}{V_{ges}} \quad (26)$$

C<sub>1</sub>= Konzentration des Inhaltsstoffes im MAT; C<sub>2</sub>= Konzentration des Inhaltsstoffes in der ORT, V<sub>1</sub>= Volumen des MAT, V<sub>2</sub>= Volumen der ORT

So ergibt sich für die gesuchte Konzentration eines bestimmten Inhaltsstoffes im Tränkegemisch:

$$C_{ges} = V_{ges} \times \frac{C_1 + C_2}{V_1 + V_2} \quad (27)$$

### **3.3 Methoden**

#### **3.3.1 Labordiagnostische Untersuchungen**

##### **3.3.1.1 Bestimmung von Parametern im Blut**

Die Untersuchung der Blutgase und Parameter des SBS in den venösen und arteriellen Blutproben aus Teil 1 der Untersuchungen wurde im Labor der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere<sup>1</sup> der Freien Universität Berlin durchgeführt. Die Bestimmung erfolgte mit dem Analysegerät ABL System 605 (Fa. Radiometer, Kopenhagen).

Die Blutgase und Parameter des SBS für Teil 2 der Untersuchungen wurden mit dem Analyzer ABL 5 (Fa. Radiometer, Kopenhagen) im Notfalllabor der Klinik für Klauentiere<sup>1</sup> der Freien Universität Berlin ermittelt.

Die Blutprobenröhrchen für die Glukose- und Laktatbestimmung (Teil 1 der Untersuchungen) wurden max. 8 Stunden nach der Entnahme bei etwa 6°C gelagert und anschließend im Institut für Veterinärmedizinische Diagnostik in Berlin untersucht.

Die Serumgewinnung für Teil 1 und 2 der Untersuchungen erfolgte durch Zentrifugation (10min bei 3000 U/min) der Blutproben in der Labofuge 400 (Heraeus Instruments, Zentrifugalbeschleunigung 13624 x g). Das gewonnene Serum wurde bei -20°C aufbewahrt.

Die Untersuchung der Serumparameter erfolgte ebenfalls im Institut für Veterinärmedizinische Diagnostik.

---

<sup>1</sup> Für die Benutzung der Messgeräte und die entsprechende Anleitung durch die Mitarbeiter beider Labore möchte ich mich herzlich bedanken.

Tab. 20 Untersuchungsparameter im Blut und Blutserum mit den dabei verwendeten Bestimmungsmethoden, Analysegeräten und den für die Analyse angegebenen Variationskoeffizienten

Parameter	Bestimmungsmethode	Verwendete Analysegeräte	Variationskoeffizient (%)
Na <sup>+</sup>	indirekte ionenselektive Messung	MODULAR, Fa. Roche Diagnostics	1,26
K <sup>+</sup>			1,77
Cl <sup>-</sup>			2,39
anorg. Phosphat	Ammoniummolybdat-Komplex		2,72
Glukose	Hexokinase-Methode		1,89
Gesamteiweiß	Biuret-Methode		1,32
Albumin	Kapillarzonen-Elektrophorese	CAPILLARYS, Fa. Sebia	2,05
Kreatinin	kinetischer Farbttest (Jaffé)	Roche Hitachi	2,59
Laktat	Photometrie	VITROS 750, Fa. Ortho Clinical Diagnostics	0,97

### 3.3.1.2 Bestimmung von Parametern im Harn

Der pH-Wert des Harnes wurde mit einem pH-Meter der Fa. METTLER TOLEDO ermittelt. Für die Messung wurde die Elektrode gemäß Herstellerangaben kalibriert. Es wurden Kallibrationslösungen mit pH=4,0 und pH=7,0 verwendet. Die Harndichte wurde mit einem Handrefraktometer (Fa. Eickemeyer) bestimmt. Die Ermittlung der Osmolalität erfolgte mit dem Osmomat 030-D (Fa. Gonotec). Die Messung der Elektrolyte sowie des anorganischen Phosphats und Kreatinins wurde im Institut für Veterinärmedizinische Diagnostik in Berlin durchgeführt.

Tab. 21 Untersuchungsparameter im Harn mit den dabei verwendeten Bestimmungsmethoden, Analysegeräten und den für die Analyse angegebenen Variationskoeffizienten

Parameter	Bestimmungsmethode	Verwendete Analysegeräte	Variationskoeffizient (%)
Na <sup>+</sup>	ionenselektive Messung	Roche Hitachi	2,53
K <sup>+</sup>			3,2
Cl <sup>-</sup>			1,6
anorg. Phosphat	Ammoniummolybdat-Komplex		2,51
Kreatinin	kinetischer Farbttest (Jaffé)		1,92

### 3.3.1.3 Bestimmung von Parametern in den Labmagingesta

Der pH-Wert im Labmagensaft wurde unmittelbar nach der Entnahme mit einer pH-Elektrode bestimmt. Zur Anwendung kam das pH-Meter der Fa. METTLER TOLEDO. Das Gerät wurde jeden Tag vor Versuchsbeginn laut Angaben des Herstellers kalibriert. Dazu wurden Pufferlösungen mit pH=2,0 und pH=7,0 verwendet. Zwischen den pH-Wert-Messungen wurde die pH-Elektrode in einer 3 molaren KCl-Lösung aufbewahrt.

Für die Bestimmung der Elektrolyte und der Osmolalität wurde der Labmagensaft in der Labofuge 400 (Fa. Heraeus Instruments) 10min bei 3000 U/min (Zentrifugalbeschleunigung 13.624 x g) zentrifugiert, die Flüssigkeit in ein 1ml Gefäß (Fa. Eppendorf) pipettiert und bei -20°C bis zur Messung aufbewahrt. Die Osmolalität des Labmagensaftes wurde mit dem Osmomat 030-D (Fa. Gonotec) ermittelt. Die Analytik der Elektrolyte wurde im Vet Med Labor in Ludwigsburg durchgeführt. Für die Bestimmung wurden die Proben im Labor verdünnt.

Tab. 22 Untersuchungsparameter in den Labmagingesta mit den dabei verwendeten Bestimmungsmethoden, Analysegeräten, der für die Analyse angegebenen Unrichtigkeit und Unpräzision sowie die obere und untere Nachweisgrenze

Parameter	Bestimmungsmethode	Verwendete Analysegeräte	Unrichtigkeit (%)	Unpräzision (%)	Obere und untere Nachweisgrenze (mmol/l)
Na <sup>+</sup>	ionenselektive Messung	Modular SWA, Fa. Hitachi	2,5	1,8	80-180
K <sup>+</sup>			4	2,5	1,5-10
Cl <sup>-</sup>			4	2,5	60-120

### 3.3.1.4 Bestimmung von Parametern im MAT und in den ORT

Vor jeder Fütterung wurde der pH-Wert der Tränke mit der pH-Elektrode (Fa. METTLER TOLEDO) bestimmt. Außerdem erfolgte die Bestimmung der Osmolalität des MAT und der unterschiedlich zusammengesetzten ORT mit dem Osmomat 030-D (Fa. Gonotec). Diese Untersuchung wurde einmalig als Doppelbestimmung durchgeführt. Die erhaltenen Ergebnisse wurden gemittelt.

### 3.3.2 Messung der Milchgerinnung

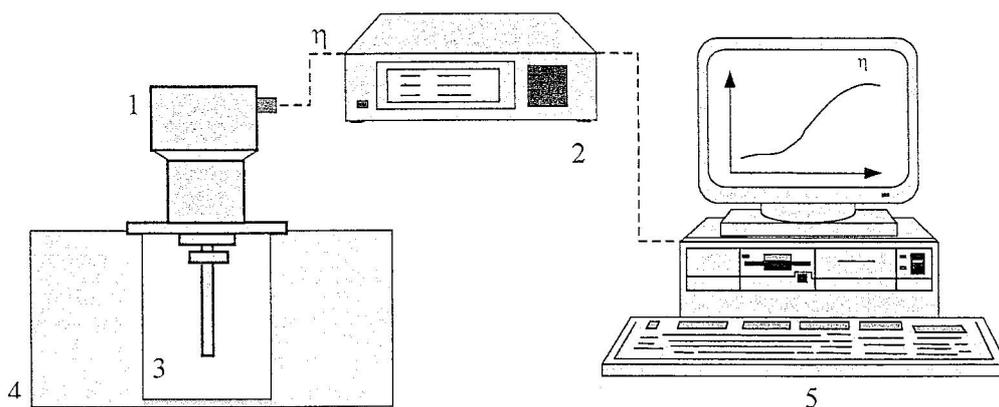
Die Gerinnungsmessungen wurden in Zusammenarbeit mit dem Institut für Lebensmitteltechnologie und Lebensmittelchemie (Fachgebiet Lebensmittelrheologie) der Technischen Universität Berlin durchgeführt<sup>1</sup>. Die Gerinnungsvorgänge wurden über eine Viskositätsmessung mit dem Rheometer Physica-Rheoswing<sup>®</sup> ermittelt.

<sup>1</sup>Für die Hilfestellung bei der Durchführung der Messungen danke ich recht herzlich Frau Dipl.-Ing. Monika Brückner.



Abb. 6 Physica-Rheoswing®

Das Gerät besteht im Wesentlichen aus einem Metallstab, der bei einer seiner Torsionsresonanzfrequenzen schwingt, und einer mit dem Sensor verbundenen Auswerteelektronik. Das umgebene Medium dämpft die ausgesandte Schwingung. Diese Dämpfung wird durch den Sensor registriert und in die gesuchte Viskosität umgerechnet. Sowohl die Anregung wie auch die Messung der Schwingung erfolgt mit Hilfe von speziellen torsionsempfindlichen piezokeramischen Elementen.



1 = Rheometer; 2 = Auswerteelektronik; 3 = Becherglas; 4 = Wasserbad; 5 = PC

Abb. 7 Allgemeiner Versuchsaufbau der rheologischen Messungen

### 3.3.2.1 Probenherstellung und -vorbereitung

Die Messungen wurden mit Rohmilch, MAT und den im Fütterungsversuch eingesetzten MAT-ORT-Gemischen  $ORT-1A_{MAT}$ ,  $-2A_{MAT}$ ,  $-3A_{MAT}$  und  $-4A_{MAT}$  durchgeführt. Der MAT und

die Mischungen aus MAT und ORT wurden in den Dosierungen wie im Fütterungsversuch angesetzt. Vor Beginn der Gerinnungsmessungen wurden die Proben auf 39°C im Wasserbad vorgewärmt und der pH-Wert sowie der Ca<sup>2+</sup>-Gehalt ermittelt.

### 3.3.2.2 Ca<sup>2+</sup>-Bestimmung

Der Ca<sup>2+</sup>-Gehalt der Proben wurde komplexometrisch bestimmt. Prinzip der Methode ist, dass die Ca<sup>2+</sup>-Ionen mit EDTA eine stabile lösliche Komplexbinding eingehen. Der Verlust freier Ca<sup>2+</sup>-Ionen korrespondiert mit einer Abnahme der basischen Tönung in der Probelösung. Die Veränderung wird maßanalytisch - in Verbindung mit einem Ca<sup>2+</sup>-sensiblen Indikator - bestimmt.

1ml Probe wurde mit destilliertem Wasser auf 100g ergänzt, mit 4ml 50%iger Kalilauge sowie mit 100µl Calceinlösung versetzt. Danach wurde mit 0,01mol EDTA titriert. Parallel dazu wurde ein Reagenzien-Blindwert erstellt.

1ml 0,01mol EDTA-Lösung ist äquivalent mit 1ml 0,01mol Ca<sup>2+</sup>. Das Molekulargewicht von Calcium beträgt 40,08g/mol. Der Gehalt der Probe an Ca<sup>2+</sup>-Ionen kann mit Hilfe folgender Formel berechnet werden:

$$\frac{B \times 0,4008 \times 100}{E} = \text{mgCa}^{2+}/\text{dl} \quad (28)$$

B= titrierte Menge an EDTA-Lösung in ml; E= vorgelegte Probenmenge in ml, Umrechnungsfaktor für mg Ca<sup>2+</sup>/dl in mmol/l: 0,2495

Die Ca<sup>2+</sup>-Bestimmung der Proben wurde als Doppelbestimmung durchgeführt und die erhaltenen Ergebnisse gemittelt.

### 3.3.2.3 Ablauf des Messvorganges

Als enzymatisches Agens wurde flüssige Chymosinlösung (CHY-MAX™ Plus) in einer Konzentration von 50µl/100ml Probe benutzt. CHY-MAX™ Plus ist eine reine standardisierte Chymosinlösung, hergestellt aus vegetarischen Substraten durch die Fermentation von *Apergillus niger* var. *awamori*.

Tab. 23 Ausgewählte Parameter von CHY™-MAX Plus

Parameter	Spezifikation	Einheit
Stärke	200	IMCU <sup>1</sup> /ml
Enzymaktivität	930	mg/l
Enzymatische Zusammensetzung	100	% Chymosin
pH	5,5-6	-
Dichte	1,120-1,160	g/ml

<sup>1</sup> International Milk Clotting Units

Es wurden drei Messreihen angesetzt:

1. enzymatische Gerinnung bei nativem pH-Wert
2. enzymatische Gerinnung bei angesäuertem pH-Wert (~5,5)
3. Säuregerinnung (ohne Enzymzusatz) bei  $\text{pH} \leq 4,7$

Die Ansäuerung bzw. die Gerinnung durch Säure wurde durch die Zugabe von 1 molarer HCl-Lösung realisiert. Während der Säurezugabe wurde der pH-Wert kontinuierlich überwacht. Bei dem gewünschten pH-Wert wurde die Säurezugabe gestoppt und die Viskositätsmessung gestartet.

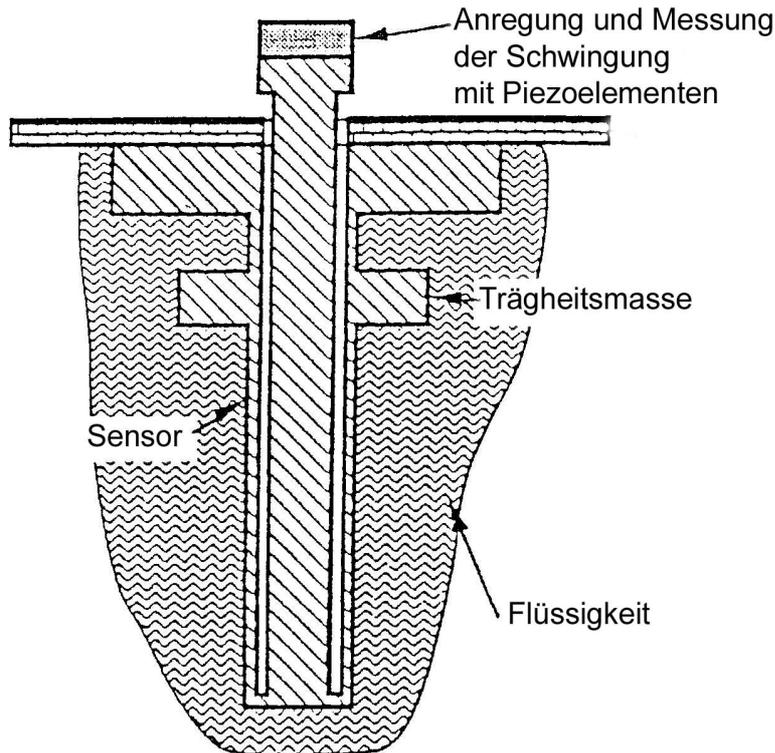


Abb. 8 Querschnitt durch den Sensor des Rheometers Physica Rheoswing® (Dual *et al.*, 1992)

Nach dem Zusatz des Chymosins bzw. nach Säurezugabe wurde das Messgerät bis zum Eintauchen der Trägheitsmasse (s. Abb. 8) aufgesetzt. Die Probe befand sich während der gesamten Messzeit im Wasserbad, welches konstant auf 39°C temperiert war. Die Viskositätswerte der enzymatischen Gerinnung wurden über eine Stunde in Verbindung mit der UDS-200-Software (Physica GmbH, Stuttgart) als Prozessviskosität (dynamische Viskosität) gemessen, wobei alle 10s ein Messwert bestimmt wurde. Die Säuregerinnung wurde durch Messung der Strukturviskosität (statische Viskosität) über einen Zeitraum von 10min vor und nach Säurezugabe ermittelt. Die Messapparatur befand sich während des gesamten Messvorgangs in ruhiger Lage und wurde keinen Erschütterungen ausgesetzt, so dass die Anzahl der Messfehler auf ein Minimum reduziert werden konnte.

### **3.3.3 Messung des CMP-Gehaltes in den Labmagingesta**

Die Messung des CMP-Gehaltes in den Labmagingesta wurde in Zusammenarbeit mit dem Institut für Ernährungswissenschaft der Universität Potsdam<sup>1</sup> durchgeführt.

#### **3.3.3.1 Herstellung des CMP-Standards für die HPLC**

Da der erworbene Peptidstandard (SIGMA) für die HPLC nicht geeignet war, stellten wir aus Casein und Chymosin eine eigene Standardlösung her. Als Ausgangsmaterial diente eine 3%ige Caseinlösung. Für deren Herstellung wurde bovines Casein (MERCK) bei 100°C für 15min in Phosphatpuffer (50mmol PBS-Puffer, 150mmol NaCl) gelöst. In 1ml der Caseinlösung wurde 10µl Chymosinlösung (CHY-MAX™ Plus, s. Tab. 23) pipettiert. Es erfolgten vier Probenansätze, die nach 20, 40, 80min und 18h durch die Zugabe von 10%iger Trichloressigsäure (TCA) analog zur Probenvorbereitung gestoppt wurden (s. 3.3.3.2). Auf gleiche Weise wurden Leerproben hergestellt, bei denen anstatt des Enzyms 10µl Aqua dest. zugefügt wurden. Die Abbauprodukte des Caseins wurden wie die Proben per HPLC und SDS-Page (s. 3.3.3.3 bis 3.3.3.12) gemessen und ausgewertet.

In den HPLC-Chromatogrammen der Abbauprodukte des bovinen Caseins konnten drei Peaks nach 19, 22 und 23min detektiert werden, die in den Leerproben ohne Enzymzusatz nicht zu finden waren. Um zu überprüfen, welcher als CMP-Standard für die Auswertung der Chromatogramme der Proben am besten geeignet erschien, wurde eine Molmassenbestimmung mit MALDI-MS durchgeführt. Diese Messung ergab, dass in allen drei Peaks Molmassen um die 7kDa zu finden waren, die der Molmasse des CMPs entsprachen. Am meisten war CMP im 19min-Peak vorhanden, so dass dieser als CMP-Standard ausgewählt wurde. Nach einer 18-stündigen Einwirkungsdauer von Chymosin wurden mehr Peptide aus der Caseinlösung freigesetzt. Die Auswertung der Elektropherogramme der Caseinabbauprodukte ergab scheinbare Molmassen um die 20kDa. Diese Ergebnisse entsprechen den Angaben in der Literatur (Coolbear *et al.*, 1996a), so dass wir sicher waren, dass wir die Abbauprodukte als CMP ansprechen konnten.

#### **3.3.3.2 Probenvorbereitung**

Für die Durchführung der Messung wurden die vorgesehenen Labmagingestaprogen aufgetaut und 400µl Probe in einem 1,5ml Eppendorfgefäß mit 400µl 10%iger TCA versetzt. Anschließend wurden die Proben auf 100°C für 10min erhitzt und für 10min bei 10000U/min zentrifugiert (Laborzentrifuge SIGMA 30K 20). Der Überstand wurde abgenommen und nochmals für 10min bei 10000U/min zentrifugiert. Die selbst hergestellten CMP-Standardproben, die Leerproben aus der Standardherstellung, Aqua dest., der MAT und die MAT-ORT-Gemische wurden in gleicher Art und Weise für die Messung präpariert. Die

---

<sup>1</sup> Für die freundliche Anleitung und Hilfestellung bei der Durchführung der Messungen danke ich Herrn Dr. habil. Harshad Rawel.

Eppendorfgefäße wurden mit Parafilm bedeckt und in das Automatic Sampling System des HPLC-Gerätes einsortiert.

### **3.3.3.3 RP-HPLC-Analysetechnik**

Die HPLC-Analyse wurde mit dem Gerät SHIMADZU LC 10AS-HPLC durchgeführt.

### **3.3.3.4 Prinzip der Methode**

Die Retention der Peptide an der RP-HPLC-Säule (reversed phase high performance liquid chromatography) beruht auf den Wechselwirkungen zwischen den hydrophoben Domänen der Peptide und der Säulenoberfläche (meist chemisch gebundenes Octadecylsilan). Je größer die Hydrophobie der Peptide ist, desto stärker werden sie an die stationäre Phase der Säule gebunden.

### **3.3.3.5 Durchführung der Messung**

Für die CMP-Messung per HPLC wurde die Technik von Tolkach und Kulozik (2005) verwandt. Als Eluent wurden Lösung A (Wasser: Acetonitril 1000:0vol/vol + 1%Trifluoressigsäure) und Lösung B (Wasser:Acetonitril 200:800vol/vol + 0,555% Trifluoressigsäure) eingesetzt. Der Gradient begann mit 10% von Lösung B, stieg dann innerhalb von 20min auf 49% an und wurde dann für 5min bei 100% gehalten. Anschließend kehrte der Gradient wieder zu den Anfangsbedingungen zurück. Die Messung wurde bei 40°C und einer Fließgeschwindigkeit von 1ml/min mit einer 5µm RP-Säule (150 x 4,6mm, Material: PerfectSil 300 ODS C18, MZ Analysetechnik, Mainz) durchgeführt. Die Peaks wurden bei 226nm detektiert.

### **3.3.3.6 Auswertung der Chromatogramme**

Die Auswertung der Chromatogramme wurde durch Vergleich der Proben in Bezug zum selbst hergestellten CMP-Standard durchgeführt. Es wurde überprüft, ob der charakteristische CMP-Peak nach 19min Elutionszeit vorhanden ist.

### **3.3.3.7 SDS-Page**

Für jeweils 2 Beispielproben pro Fütterung wurden Gelelektrophoresen durchgeführt. Als Probenmaterial für die SDS-Page wurden die mit TCA versetzten Proben der HPLC verwandt.

### **3.3.3.8 Prinzip der Methode**

Mit der Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-Page) werden die Polypeptide ausschließlich auf der Basis ihrer Molekülgröße aufgetrennt. Durch die Beladung mit dem anionischen Detergenz SDS werden die unterschiedlichen Eigenladungen von Polypeptiden so effektiv überdeckt, dass Anionen mit konstanter Nettoladung pro

Moleküleinheit entstehen. Bei der Elektrophorese in einem Polyacrylamidgel sind die relativen Mobilitäten dieser SDS-Protein-Komplexe proportional zum Logarithmus der Molekülmassen. Mit Hilfe von parallel aufgetrennten Eichproteinen lassen sich über eine Eichkurve die Molmassen einzelner Fraktionen ermitteln.

### 3.3.3.9 Herstellen der Lösungen

- A: 30g Acrylamid (2x kristallisiert) und 0,8g N,N'-Methylenbisacrylamid mit Reinstwasser auf 100ml auffüllen.
- B: 18,15g Tris(hydroxymethyl)aminomethan in 50ml Reinstwasser lösen, mit 6N oder 20% HCl auf pH=8,8 einstellen und auf 100ml auffüllen (Trenngelpuffer).
- C: 10g Natriumdodecylsulfat (SDS) mit Reinstwasser auf 100ml auffüllen.
- D: 10% (v/v) N,N,N,N'-Tetramethyldiamin in Reinstwasser
- E: 10% Ammoniumperoxodisulfat in Reinstwasser
- F: 6,06g Tris und 0,4g SDS in ca 50ml Reinstwasser lösen, mit 6 N HCl auf pH=6,8 einstellen und mit Reinstwasser auf 100ml auffüllen (Sammelgelpuffer).

### 3.3.3.10 Gießen der Gele

3ml Trenngellösung und 0,75ml Spacergellösung wurden in die Gießkassette eingefüllt und mit Isopropanol überschichtet. Nach 1h wurde der Alkohol mit Filterpapier entfernt. Unmittelbar anschließend wurden die Kämme zur Ausbildung der Probenslots eingesetzt und die Sammelgellösung eingefüllt. Das Gel wurde bei Raumtemperatur bis zur vollständigen Polymerisation stehen gelassen.

Tab. 24 Zusammensetzung der Gele

Trenngel	Spacergel	Sammelgel
Lösung A: 4,125ml Lösung B: 1,875ml Aqua dest.: 2,875ml Lösung C: 40µl Lösung D: 40µl Lösung E: 40µl	Lösung A: 0,500ml Lösung B: 0,375ml Aqua dest.: 0,600ml Lösung C: 8µl Lösung D: 8µl Lösung E: 8µl	Lösung F: 0,625ml Aqua dest.: 1,450ml Lösung A: 0,425ml Lösung D: 25 µl Lösung E: 8µl

Nach ca. 1h wurden die Probenkämme aus der Gießkassette entfernt. Die Gießkassette wurde an dem Elektrodenstand angesetzt und Kathodenpuffer (Zusammensetzung: 3,03g Tris, 4,48g Tricine und 1,0g SDS mit Aqua dest. auf 1l aufgefüllt) in die Kathodenkammer eingefüllt.

### 3.3.3.11 Durchführung der Elektrophorese

Die Proben wurden 1:1 mit Probenpuffer (s. Tab. 25) gemischt und 10µl je Slot aufgetragen. Für die Elektrophoresen kamen das Standardpeptid von SIGMA und die Abbauprodukte des Caseins nach Zugabe von Chymosin zum Einsatz. Zur Bestimmung der Molmassen wurden

eine Peptid- (MERCK) bzw. eine Proteinstandardmischung (PHARMACIA) benutzt (s. Tab. 26).

Tab. 25 Zusammensetzung des Probenpuffers

Substanz	Menge (g)
SDS	4,0
Glycerol	12,0
Tris	0,61
Mercaptoethanol	5,0
Coomassie Brilliant blue R250	0,01

Die Bestandteile des Probenpuffers wurden in 50ml Aqua dest. gelöst, mit 0,1 molarer HCl auf pH=6,8 eingestellt und mit Aqua dest. auf 100ml aufgefüllt.

Tab. 26 Zusammensetzung der Standardmischungen

Peptidstandardmischung (MERCK)		Proteinstandardmischung (PHARMACIA)	
Peptid	Größe (Dalton)	Protein	Größe (Dalton)
Myoglobin	16949	Lysozym	14400
Myoglobin I+II	14404	Trypsin Inhibitor	20100
Myoglobin I+III	10701	Carboanhydrase	31000
Myoglobin I	8159	Ovalbumin	43000
Myoglobin II	6214	Rinderserumalbumin	67000
Myoglobin III	2512	Muskelposphorylase	94000

Die Anodenkammer wurde mit Anodenpuffer (Zusammensetzung: 3,03g Tris in 0,5l Aqua dest. mit 1 molarer HCl auf pH=8,9 eingestellt, mit Aqua dest. auf 1l ergänzt) gefüllt.

Die Gießkassette wurde in die Elektrophoresekammer eingesetzt und die Elektrophorese bei 20mA und 48 bis 120V durchgeführt. Nach der Elektrophorese wurden die Gele 20min fixiert (Zusammensetzung Fixierlösung: 5g Glutardialdehyd, 1l 30%iges Methanol) und anschließend dreimal mit Aqua dest. gewaschen.

Nach der Fixierung erfolgte die Färbung der Gele für 60min (Zusammensetzung Färbelösung: eine Phast Gel Tablette (Coomassie brilliant blue) in 10%iger Essigsäure).

Nach Abgießen der Färbelösung wurden die Gele in 10%iger Essigsäure unter ständigem Schütteln entfärbt. Die Entfärbelösung wurde mehrmals gewechselt bis sie farblos blieb. Die Auswertung erfolgte unter Verwendung von BIO-RAD Scanner System.

### 3.3.3.12 Ermittlung des CMP-Gehaltes aus den Elektrophoresegelelen

Mit der Quantity One 4.5.2 1D-Analysis Software (BIO-RAD) wurde der Gehalt von CMP in den Beispielproben, die für die Elektrophorese eingesetzt wurden, bestimmt. Die Ermittlung des Peptidgehaltes erfolgt über die Messung der Farbdichte der gescannten

Elektropherogramme. Mit Hilfe der bekannten Konzentration des CMP-Standards (SIGMA, 1mg/ml) wurden die Gehalte in den Proben berechnet. Die erhaltenen Werte wurden für jede Fütterung gemittelt.

### 3.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Untersuchungsergebnisse erfolgte unter Anleitung von Frau Dr. Rose Schmitz des Institutes für Biometrie und Informationsverarbeitung der Freien Universität Berlin. Für die Bearbeitung der erhobenen Parameter wurden die Programme Windows Excel (Version 2003), SPSS (Version 12.0 für Windows) und SigmaPlot (Version 8.0 für Windows) verwendet.

Für die Auswertung von Teil 1 der Untersuchungen wurden in SPSS Liniendiagramme mit den Zeitpunkten der Probennahme auf der Ordinate gezeichnet, um visuell einen Eindruck über die Altersabhängigkeit der untersuchten Parameter zu erhalten.

Für die Ermittlung der Normwerte wurde der Kolmogorow-Smirnow-Anpassungstest durchgeführt, um zu überprüfen, ob es sich bei der getesteten Variable, um eine Normalverteilung handelte. Alle Parameter mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha > 0,05$  wurden als normal verteilt angesehen. Zur Darstellung der Normwerte wurden Minimum und Maximum, arithmetischer Mittelwert und Standardabweichung ( $\bar{x} \pm s$ ), der Referenzbereich ( $\bar{x} \pm 1,96s$ ), Median sowie 1. und 3. Quartil berechnet. Die erhaltenen Werte wurden in Tabellenform dargestellt. Zur Bestätigung des visuellen Eindruckes in den Liniendiagrammen wurde die Altersabhängigkeit mit dem Wilcoxon-Test statistisch untersucht. Statistisch signifikante Unterschiede sind mit unterschiedlichen Buchstaben (<sup>a,b</sup>) gekennzeichnet.

Als Darstellungsform für das Albumin-Globulin-Verhältnis und der Phosphatkonzentration im Serum zu den unterschiedlichen Zeitpunkten der Probenentnahme wurden Box-Whisker-Plots ausgewählt. Die Box wird vom ersten und dritten Quartil begrenzt und umfasst 50% der Messwerte. Der Medianwert wird als breiter schwarzer Balken innerhalb der Box dargestellt. Die schmalen Linien, die ober- und unterhalb der Box abgehen, reichen bis zu den größten und kleinsten Werten des Parameters. Ausreißer (○) befinden sich 1,5 bis 3 Boxenlängen vom oberen bzw. unteren Boxenrand. Falls Werte mehr als 3 Boxenlängen von den entsprechenden Boxen entfernt sind, bezeichnet man sie als Extremwerte (\*).

Nach der Formel zur Berechnung des pH-Wertes im Blut wurde der pH-Wert und die Differenzen zwischen gemessenem und berechnetem pH ermittelt. Aus diesen Differenzen wurden die arithmetischen Mittelwerte und Standardabweichungen gebildet. Die Darstellung erfolgte in Tabellenform.

Für Teil 2 der Untersuchungen wurden der ermittelte pH-Wert ( $\bar{x} \pm s$ ), die Osmolalität und der Ca<sup>2+</sup>-Gehalt jeder Tränke in einer Tabelle dargestellt. Die grafische Darstellung des Einflusses der verschiedenen Fütterungsregime auf die pH-Werte in den Labmagingesta

erfolgte durch Liniendiagramme. Jede Linie stellte die arithmetischen Mittelwerte des pH zu den jeweiligen Zeitpunkten vor und nach der Fütterung dar. Zu jedem gemittelten pH-Wert wurden die positiven und negativen Standardabweichungen eingezeichnet. Von diesen pH-Zeit-Kurven wurden die Flächen unter der Kurve (AUC=area under curve) mit dem Statistikprogramm Sigmaplot ermittelt. Dabei wird die AUC in einzelne Trapeze unterteilt, deren Flächen nach der trapezoidalen Rechenregel ermittelt und dann addiert werden. Als Ergebnis erhält man einen dimensionslosen Zahlenwert. Die so berechneten Flächen wurden für die jeweilige Tränke als arithmetischer Mittelwert und Standardabweichung ( $\bar{x} \pm s$ ) in einer Tabelle angegeben. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den AUC der MAT-Fütterung und den verschiedenen ORT-Fütterungen wurden mit dem Mann-Whitney-Test berechnet und mit einem Sternchen (\*) gekennzeichnet.

Die Darstellung der Osmolalität im Labmagensaft erfolgte in Tabellenform. Dort wurden die arithmetischen Mittelwerte und die dazu gehörigen Standardabweichungen ( $\bar{x} \pm s$ ) aufgeführt. Als Darstellungsform für die Ergebnisse der [SID<sub>3</sub>]-Berechnung in den Labmageningesta wurden Box-und-Whisker-Plots genutzt.

Für die [SID<sub>3</sub>] in der Tränke und die AUC der pH-Zeit-Kurve sowie für die [SID<sub>3</sub>] und den pH-Wert in den Labmageningesta wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson ermittelt. Die Beziehung zwischen der [SID<sub>3</sub>] und dem pH-Wert im Labmagensaft wurde als Punktdiagramm mit Trendlinie und dazugehörigem Bestimmtheitsmaß grafisch dargestellt.

Die im Blut erhobenen Parameter vor und nach der Fütterung wurden als Mittelwerte und ihre Standardabweichung ( $\bar{x} \pm s$ ) tabellarisch aufgeführt. Als statistischer Test für die Auswertung kam der Vorzeichentest nach Dixon und Mood (Sachs, 1992) zur Anwendung. Mit diesem Testverfahren werden bei gepaarten Stichproben Veränderungen oder Tendenzen überprüft. Signifikante Unterschiede zwischen den Parametern vor und nach der Fütterung wurden mit einem Sternchen (\*) aufgeführt.

Die Darstellung der Prozessviskosität (dynamische Viskosität) als Zeichen für die enzymatische Gerinnung der Proben erfolgte in Liniendiagrammen. Die Strukturviskosität (statische Viskosität), die bei der Säuregerinnung ermittelt wurde, wurde als arithmetischer Mittelwert eines zehnminütigen Messintervalls mit gehöriger Standardabweichung ( $\bar{x} \pm s$ ) in Tabellenform angegeben.

Der CMP-Gehalt in den Labmageningestaprobe ist analog zu der Fläche unter Kurve (AUC) der CMP-Peaks aus den HPLC-Chromatogrammen. Diese AUC wurde mit dem Programm des HPLC-Gerätes SHIMADZU LC 10 AS-HPLC berechnet. Die Ergebnisse wurden in Tabellenform dargestellt. Als statistischer Test wurde der Mann-Whitney-U-Test ausgewählt. Die Gehalte des CMP, die aus den Elektrophoresegelelen bestimmt wurden, wurden in einer Tabelle aufgeführt.

## 4 ERGEBNISSE

### 4.1 Referenzwerte der Stewart-Variablen

#### 4.1.1 Liniendiagramme der Stewart-Variablen

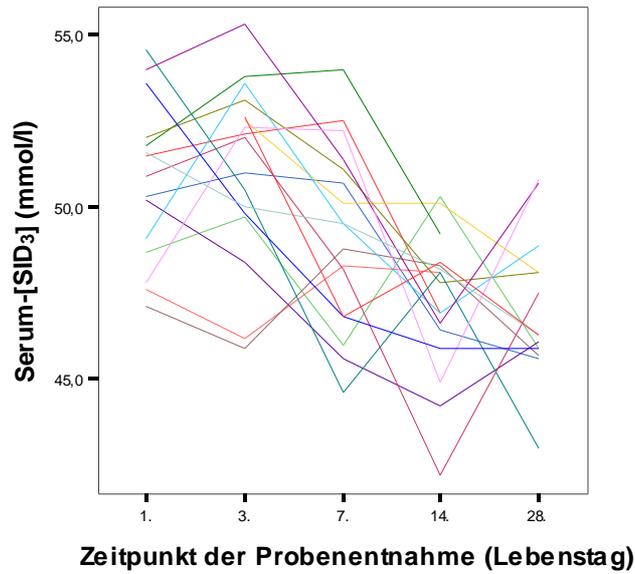


Abb. 9 Liniendiagramm der [SID<sub>3</sub>]-Werte (venös) in Abhängigkeit vom Lebensalter der Probanden

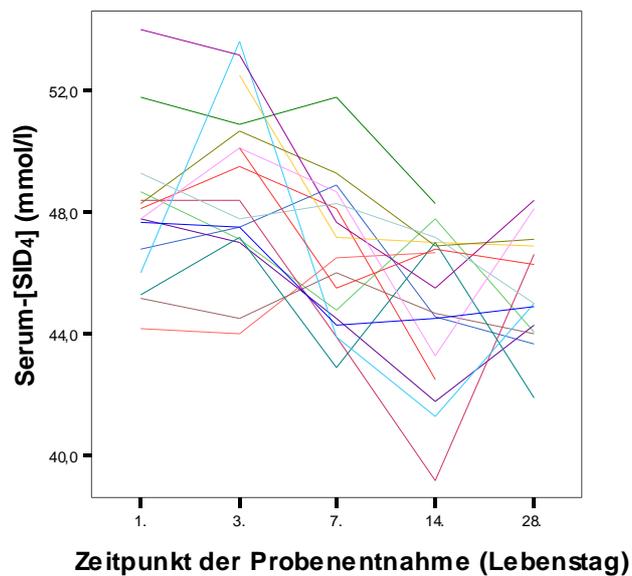


Abb. 10 Liniendiagramm der [SID<sub>4</sub>]-Werte (venös) in Abhängigkeit vom Lebensalter der Probanden

Der Verlauf der Liniendiagramme der Werte für  $[SID_3]$  und  $[SID_4]$  erschien ähnlich, jedoch bewegten sich die Werte für  $[SID_4]$  auf einem niedrigeren Niveau. Anhand beider Diagramme war zu erkennen, dass Betrag und Streuung der Werte mit zunehmendem Lebensalter der Kälber abnahmen. Vor allem nach dem 7. Lebenstag schienen die Werte deutlich abzunehmen. Dies galt allerdings nicht für das einzelne Kalb. Es gab Kälber, die am 1. Lebenstag einen niedrigeren Wert für  $[SID_3]$  oder  $[SID_4]$  aufwiesen als am 28. Lebenstag.

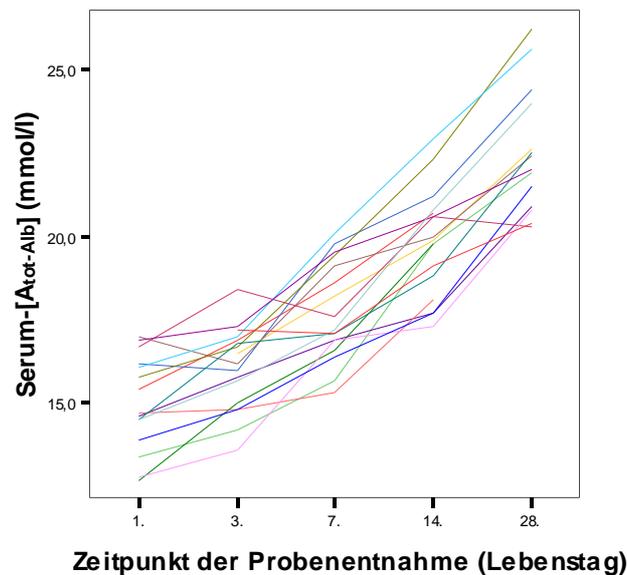


Abb. 11 Liniendiagramm der  $[A_{\text{tot-Alb}}]$ -Werte (venös) in Abhängigkeit vom Lebensalter der Probanden

Beim Verlauf der Werte für  $[A_{\text{tot-Alb}}]$  im Liniendiagramm war zu erkennen, dass die Werte mit zunehmendem Lebensalter der Probanden anstiegen. Das galt nicht nur für die Gesamtheit der Werte, sondern auch nahezu für jedes einzelne Kalb.

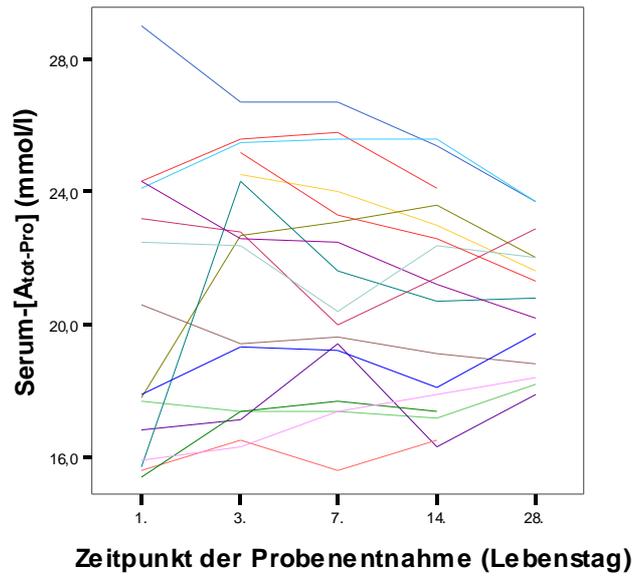


Abb. 12 Liniendiagramm der  $[A_{\text{tot-Pro}}]$ -Werte (venös) in Abhängigkeit vom Lebensalter der Probanden

Am Verlauf des Liniendiagramms der Werte für  $[A_{\text{tot-Pro}}]$  war zu sehen, dass die Werte jedes einzelnen Tieres mit zunehmendem Lebensalter etwa gleich blieben. Die Streuung der einzelnen Werte erschien hoch und nahm im Verlauf der Probenentnahmen etwas ab.

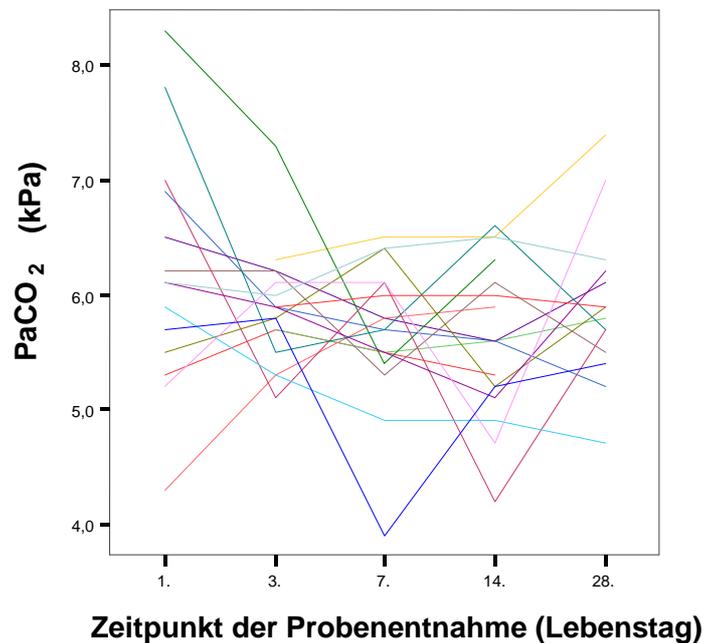


Abb. 13 Liniendiagramm der Werte für PaCO<sub>2</sub> in Abhängigkeit vom Lebensalter der Probanden

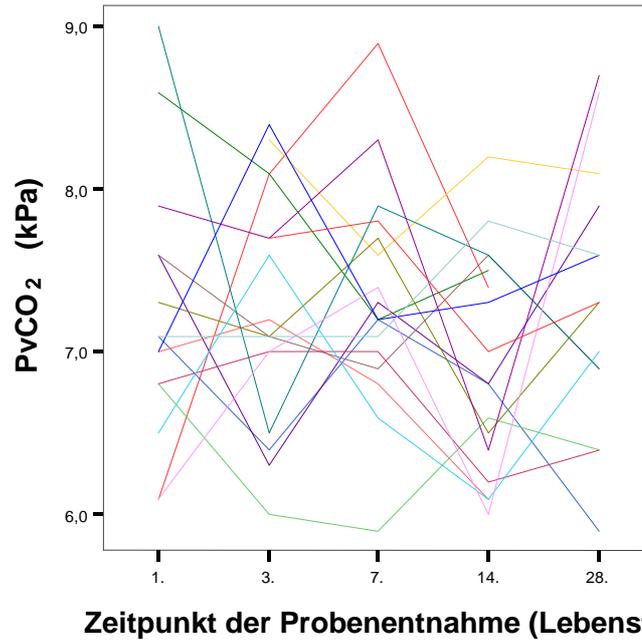


Abb. 14 Liniendiagramm der Werte für  $PvCO_2$  in Abhängigkeit vom Lebensalter der Probanden

Anhand der Verläufe der Liniendiagramme des  $PaCO_2$  und  $PvCO_2$  war kein altersabhängiger Unterschied zwischen den Werten sichtbar. Die Werte für  $PvCO_2$  waren fast alle über 6,0kPa. Für  $PaCO_2$  galt, dass viele Werte unter 6,0kPa lagen. Die Streuung der Werte erschien in beiden Diagrammen relativ groß.

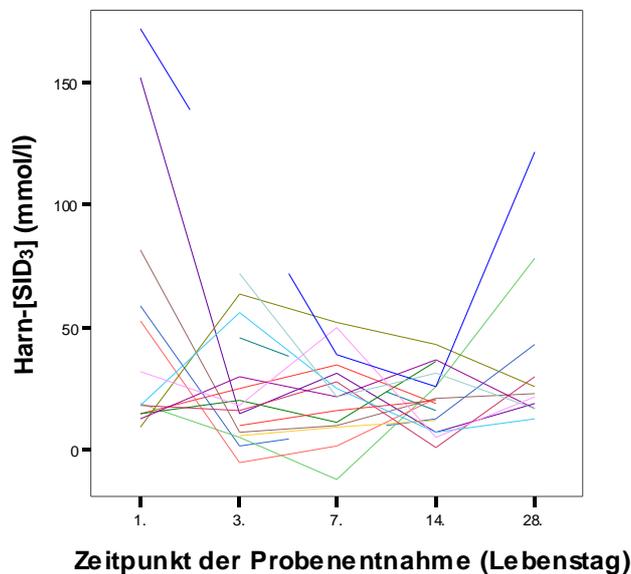


Abb. 15 Liniendiagramm der  $[SID_3]$ -Werte im Harn in Abhängigkeit vom Lebensalter der Probanden

Das Liniendiagramm der Werte für Harn- $[SID_3]$  ließ erkennen, dass sich ein Großteil der Werte etwa zwischen 0 und 75mmol/l befand. Wenige Werte waren außerhalb dieses

Bereichs, lagen unter 0 bzw. über 100mmol/l. Vor allem am ersten und 28. Lebenstag war die Streuung der Werte groß.

#### 4.1.2 Statistische Maßzahlen von Messdaten des SBS im venösen und arteriellen Blut und Harn bei n = 17 klinisch gesunden Kälbern am 1., 3., 7., 14. und 28. Lebenstag

Tab. 27 Maßzahlen für Serum-[SID<sub>3</sub>] (mmol/l)

Parameter	Lebenstag				
	1.	3.	7.	14.	28.
<b>N</b>	15	17	17	17	14
<b>α-Werte<sup>Δ</sup></b>	0,999	0,743	0,987	0,886	0,552
<b>Min-Max</b>	47,1-54,6	45,9-55,3	44,6-54,0	42,2-50,3	43,0-50,8
<b><math>\bar{x} \pm s</math></b>	50,7 $\pm$ 2,34	51,1 $\pm$ 2,58	49,2 $\pm$ 2,65	47,2 $\pm$ 2,09	47,1 $\pm$ 2,12
<b>Referenzbereich</b> ( $\bar{x} \pm 1,96xs$ ) <sup>o</sup>	46,1-55,3	46,0-56,2	44,0-54,4	43,1-51,3	42,9-51,3
<b>Median</b> (1.- 3. Quartil)	50,9 <sup>a</sup> (48,7-52,0)	52,0 <sup>a</sup> (49,8-52,9)	49,5 <sup>a</sup> (46,8-51,3)	47,8 <sup>b</sup> (46,2-48,4)	46,3 <sup>b</sup> (45,9-48,3)

[SID<sub>3</sub>]=[Na<sup>+</sup>]+[K<sup>+</sup>]-[Cl<sup>-</sup>]

Werte einer Zeile mit ungleichen Buchstaben unterscheiden sich für p<0,01 signifikant.

Tab. 28 Maßzahlen für Serum-[SID<sub>4</sub>] (mmol/l)

Parameter	Lebenstag				
	1.	3.	7.	14.	28.
<b>N</b>	15	17	17	17	14
<b>α-Werte<sup>Δ</sup></b>	0,690	0,945	0,952	0,425	0,825
<b>Min - Max</b>	44,2-54,6	44,0-53,6	42,9-51,8	39,2-48,3	41,9-48,4
<b><math>\bar{x} \pm s</math></b>	48,0 $\pm$ 2,51	48,9 $\pm$ 2,77	46,6 $\pm$ 2,42	45,0 $\pm$ 2,61	45,5 $\pm$ 1,84
<b>Referenzbereich</b> ( $\bar{x} \pm 1,96xs$ ) <sup>o</sup>	43,1-52,9	43,5-54,3	41,9-51,3	39,9-50,1	41,9-49,1
<b>Median</b> (1.-3. Quartil)	47,8 <sup>a</sup> (46,0-48,7)	48,4 <sup>a</sup> (47,2-50,8)	46,5 <sup>a</sup> (44,4-48,5)	45,5 <sup>b</sup> (42,9-47)	45,0 <sup>b</sup> (44,1-47,0)

[SID<sub>4</sub>]=[Na<sup>+</sup>]+[K<sup>+</sup>]-[Cl<sup>-</sup>]-[Lak<sup>-</sup>]

Werte einer Zeile mit ungleichen Buchstaben unterscheiden sich für p<0,01 signifikant.

Tab. 29 Maßzahlen für Serum-[A<sub>tot-Alb</sub>] (mmol/l)

Parameter	Lebenstag				
	1.	3.	7.	14.	28.
<b>N</b>	15	17	17	17	14
<b>α-Werte<sup>Δ</sup></b>	0,982	0,986	0,694	0,908	0,626
<b>Min - Max</b>	12,7-17,0	13,6-18,4	15,3-20,1	17,3-22,9	20,3-26,2
<b><math>\bar{x} \pm s</math></b>	15,0±1,43	16,1±1,25	17,7±1,46	19,8±1,59	22,5±1,87
<b>Referenzbereich</b> ( $\bar{x} \pm 1,96xs$ ) <sup>o</sup>	12,2-17,8	13,7-18,6	14,8-20,6	16,7-22,9	18,8-26,2
<b>Median</b> (1.-3. Quartil)	14,7 <sup>a</sup> (13,9-16,2)	16,2 <sup>b</sup> (14,9-17,0)	17,2 <sup>c</sup> (16,8-19,3)	19,9 <sup>d</sup> (18,5-20,8)	22,2 <sup>e</sup> (20,9-24,1)

[A<sub>tot-Alb</sub>]=7,6x[Alb] (g/dl)

Werte einer Zeile mit ungleichen Buchstaben unterscheiden sich für p&lt;0,01 signifikant.

Tab. 30 Maßzahlen für Serum-[A<sub>tot-Pro</sub>] (mmol/l)

Parameter	Lebenstag				
	1.	3.	7.	14.	28.
<b>N</b>	15	17	17	17	14
<b>α-Werte<sup>Δ</sup></b>	0,420	0,605	0,972	0,817	0,975
<b>Min - Max</b>	15,4 – 29,0	16,3 – 26,7	15,6 – 26,7	16,3 – 25,6	17,9 – 23,7
<b><math>\bar{x} \pm s</math></b>	20,1±4,24	21,5±3,62	21,1±3,29	20,7±3,12	20,8±1,99
<b>Referenzbereich</b> ( $\bar{x} \pm 1,96xs$ ) <sup>o</sup>	11,8 – 28,4	14,4 – 28,6	14,7 – 27,5	14,6 – 26,8	16,9 – 24,7
<b>Median</b> (1.-3. Quartil)	17,9* (15,9 – 24,1)	22,6* (17,4 – 24,9)	20,4* (18,5 – 23,7)	21,2 (17,7 – 23,3)	21,1 (18,7 – 22,2)

[A<sub>tot-Pro</sub>]=3,6x[GE] (g/dl)\*Signifikante Unterschiede zu Serum-[A<sub>tot-Alb</sub>] am selben Lebenstag (Wilcoxon-Test, p<0,01)

Tab. 31 Maßzahlen für PaCO<sub>2</sub> (kPa)

Parameter	Lebenstag				
	1.	3.	7.	14.	28.
<b>N</b>	14	17	17	17	14
<b>α-Werte<sup>Δ</sup></b>	0,938	0,872	0,799	0,999	0,906
<b>Min - Max</b>	4,3-8,3	5,1-7,3	3,9-6,5	4,2-6,6	4,7-7,4
<b><math>\bar{x} \pm s</math></b>	6,2±1,05	5,9±0,5	5,7±0,63	5,6±0,69	5,9±0,69
<b>Referenzbereich</b> ( $\bar{x} \pm 1,96xs$ ) <sup>○</sup>	4,1-8,3	4,9-6,9	4,5-6,9	4,2-7,0	4,5-7,3
<b>Median</b> (1.-3. Quartil)	6,1 (5,5-6,9)	5,9 (5,6-6,2)	5,7 (5,5-6,1)	5,6 (5,2-6,2)	5,9 (5,5-6,2)

Tab. 32 Maßzahlen für PvCO<sub>2</sub> (kPa)

Parameter	Lebenstag				
	1.	3.	7.	14.	28.
<b>N</b>	15	17	17	17	15
<b>α-Werte<sup>Δ</sup></b>	0,810	0,946	0,982	0,975	1,000
<b>Min - Max</b>	6,1-9,0	6,0-8,4	5,9-8,9	6,0-8,2	5,9-8,7
<b><math>\bar{x} \pm s</math></b>	7,2±0,82	7,3±0,72	7,3±0,68	6,9±0,68	7,3±0,82
<b>Referenzbereich</b> ( $\bar{x} \pm 1,96xs$ ) <sup>○</sup>	5,6-8,8	5,9-8,7	6,0-8,6	5,6-8,2	5,7 – 8,9
<b>Median</b> (1.-3. Quartil)	7,1 (6,8-7,6)	7,1 (6,8-7,9)	7,2 (7,0-7,8)	6,8 (6,3-7,6)	7,3 (6,8-8,0)

Tab. 33 Maßzahlen für Harn-[SID<sub>3</sub>] (mmol/l)

Parameter	Lebenstag				
	1.	3.	7.	14.	28.
<b>N</b>	13	16	15	17	14
<b>α-Werte<sup>Δ</sup></b>	0,351	0,567	1,000	0,976	0,231
<b>Min - Max</b>	9,0-172,0	-4,9-72,0	-12,0-52,0	1,0-43,0	13,0-122,0
<b><math>\bar{x} \pm s</math></b>	50,5±54,2	24,2±23,3	22,7±17,5	20,1±12,1	37,3±33,5
<b>Referenzbereich</b> ( $\bar{x} \pm 1,96xs$ ) <sup>○</sup>	-55,7-156,7	-21,5-69,9	-11,6-57,0	-3,6-43,8	-28,4-103,0
<b>Median</b> (1.-3. Quartil)	19,0 (15,0-70,5)	17,0 (6,3-42)	22,0 (10,0-35,0)	20,0 (9,5-28,5)	23,0 (17,0-43,0)

Tab. 34 Maßzahlen für Serum-[SIG<sub>Alb-art</sub>] (mmol/l)

Parameter	Lebenstag				
	1.	3.	7.	14.	28.
<b>N</b>	14	17	17	17	14
<b>α-Werte<sup>Δ</sup></b>	0,875	0,948	0,970	0,933	0,502
<b>Min - Max</b>	-0,88- -0,55	-0,92- -0,63	-1,15- -0,63	-1,23- -0,71	-1,51- -0,99
<b><math>\bar{x} \pm s</math></b>	-0,69±0,09	-0,77±0,07	-0,89±0,13	-0,99±0,15	-1,23±0,18
<b>Referenzbereich<sup>○</sup></b> ( $\bar{x} \pm 1,96xs$ )	-0,87- -0,51	-0,91- -0,63	-1,14 - -0,64	-1,28 - -0,70	-1,58 - -0,88
<b>Median</b> (1.-3. Quartil)	-0,68 <sup>a</sup> (-0,73- -0,62)	-0,76 <sup>b</sup> (-0,80- -0,72)	-0,91 <sup>c</sup> (-0,96- -0,83)	-1,03 (-1,07- -0,88)	-1,18 <sup>d</sup> (-1,43- -1,10)

$$[\text{SIG}_{\text{Alb-art}}] = \frac{A_{\text{tot-Alb}}}{((1 + 10^{\text{pKa}-\text{pHarteriell}}) - \text{AG})} \quad \text{pK}_a=7,01$$

Werte einer Zeile mit ungleichen Buchstaben unterscheiden sich für  $p < 0,01$  signifikant.

Tab. 35 Maßzahlen für Serum-[SIG<sub>Alb-ven</sub>] (mmol/l)

Parameter	Lebenstag				
	1.	3.	7.	14.	28.
<b>N</b>	15	17	17	17	14
<b>α-Werte<sup>Δ</sup></b>	0,911	0,930	0,972	0,808	0,502
<b>Min - Max</b>	-0,88- -0,28	-0,92- -0,63	-1,15- -0,63	-1,23- -0,71	-1,51- -0,99
<b><math>\bar{x} \pm s</math></b>	-0,66±0,14	-0,77±0,07	-0,89±0,13	-0,99±0,15	-1,23±0,18
<b>Referenzbereich<sup>○</sup></b> ( $\bar{x} \pm 1,96xs$ )	-0,93- -0,38	-0,91- -0,63	-1,14- -0,64	-1,28- -0,70	-1,58- -0,88
<b>Median</b> (1.-3. Quartil)	-0,68 <sup>a</sup> (-0,73- -0,62)	-0,76 <sup>b</sup> (-0,80- -0,72)	-0,91 <sup>c</sup> (-0,96- -0,83)	-1,04 (-1,07- -0,88)	-1,18 <sup>d</sup> (-1,43- -1,10)

$$[\text{SIG}_{\text{Alb-ven}}] = \frac{A_{\text{tot-Alb}}}{((1 + 10^{\text{pKa}-\text{pHvenös}}) - \text{AG})}$$

Werte einer Zeile mit ungleichen Buchstaben unterscheiden sich für  $p < 0,01$  signifikant.

Tab. 36 Maßzahlen für Serum-[SIG<sub>Pro-art</sub>] (mmol/l)

Parameter	Lebenstag				
	1.	3.	7.	14.	28.
<b>N</b>	14	17	17	17	14
<b>α-Werte<sup>Δ</sup></b>	0,756	0,741	0,877	0,809	0,614
<b>Min - Max</b>	-1,30- -0,65	-1,23- -0,77	-1,40- -0,67	-1,36- -0,73	-1,44- -0,92
<b><math>\bar{x} \pm s</math></b>	-0,92±0,2	-1,02±0,14	-1,05±0,19	-1,04±0,19	-1,14±0,17
<b>Referenzbereich</b> ( $\bar{x} \pm 1,96xs$ ) <sup>○</sup>	-1,31- -0,53	-1,29- -0,75	-1,42- -0,68	-1,41- -0,67	-1,47- -0,81
<b>Median</b> (1.-3. Quartil)	-0,90* (-1,07- -0,72)	-1,00* (-1,14- -0,93)	-1,00* (-1,22- -0,92)	-1,03 (-1,25- -0,86)	-1,08* (-1,29- -1,00)

$$[\text{SIG}_{\text{Pro-art}}] = \frac{A_{\text{tot-Pro}}}{((1+10^{\text{pKa-pHarteriell}}) - \text{AG})}$$

\*Signifikante Unterschiede zu Serum-[SIG<sub>Alb-art</sub>] am selben Lebenstag (Wilcoxon-Test, p<0,01).

Tab. 37 Maßzahlen für Serum-[SIG<sub>Pro-ven</sub>] (mmol/l)

Parameter	Lebenstag				
	1.	3.	7.	14.	28.
<b>N</b>	15	17	17	17	14
<b>α-Werte<sup>Δ</sup></b>	0,942	0,727	0,877	0,810	0,587
<b>Min - Max</b>	-1,30- -0,37	-1,23- -0,77	-1,40- -0,67	-1,36- -0,74	-1,44- -0,92
<b><math>\bar{x} \pm s</math></b>	-0,88±0,24	-1,02±0,14	-1,05±0,19	-1,04±0,19	-1,14±0,17
<b>Referenzbereich</b> ( $\bar{x} \pm 1,96xs$ ) <sup>○</sup>	-1,35- -0,41	-1,29- -0,75	-1,42- -0,68	-1,41- -0,67	-1,47- -0,81
<b>Median</b> (1.-3. Quartil)	-0,89* (-1,06- -0,72)	-1,00* (-1,14- -0,93)	-1,00* (-1,22- -0,92)	-1,03 (-1,25- -0,86)	-1,08* (-1,29- -1,00)

$$[\text{SIG}_{\text{Pro-ven}}] = \frac{A_{\text{tot-Pro}}}{((1+10^{\text{pKa-pHvenös}}) - \text{AG})}$$

\*Signifikante Unterschiede zu Serum-[SIG<sub>Alb-ven</sub>] am selben Lebenstag (Wilcoxon-Test, p<0,01).

<sup>Δ</sup>Kolmogorow-Smirnow-Anpassungstest (Normalverteilung bei α>0,05); <sup>○</sup>angeben sind obere und untere Grenze

Der Kolmogorow-Smirnow-Test lieferte für die Verteilung der Messdaten Irrtumswahrscheinlichkeiten von α>0,05 (Tab. 27-37, 2. Zeile). Für die arithmetischen Mittelwerte und die Mediane der Stewart-Variablen konnten gleiche bzw. nahe beieinander liegende Werte ermittelt werden. Eine Ausnahme bildeten die ermittelten Maßzahlen für Harn-[SID<sub>3</sub>]. Hier unterschieden sich arithmetischer Mittelwert und Median vor allem am 1. und 28. Lebenstag deutlich voneinander, da hier einige Ausreißer in den Einzelwerten

auftraten (s. Abb. 15). Die statistische Auswertung bezüglich der Unterschiede zwischen den Werten in Abhängigkeit vom Lebensalter der Probanden zeigte, dass sich der Eindruck, den man durch den Verlauf der Liniendiagramme erhält, bestätigen lässt. Für die Stewart-Variablen Serum-[SID<sub>3</sub>] und Serum-[SID<sub>4</sub>] ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Zeitpunkten der Probenentnahme. Für den statistischen Test wurden 2 Altersgruppen ( $\leq 7d$  und  $\geq 14d$ ) gebildet, die sich an der Einteilung von Naylor (1987) und am aus den Liniendiagrammen für die Parameter gewonnenen Eindruck orientierten. Die Werte für Serum-[SID<sub>3</sub>] und Serum-[SID<sub>4</sub>] der Alterklasse  $\leq 7d$  unterschieden sich signifikant von denen der Alterklasse  $\geq 14d$ . Serum-[A<sub>tot-Alb</sub>] nahm signifikant mit steigendem Lebensalter zu. Entgegengesetzt dazu verhielten sich die daraus berechneten Parameter Serum-[SIG<sub>Alb-art</sub>] und Serum-[SIG<sub>Alb-ven</sub>]. Sie nahmen im Verlauf der Probenentnahmen niedrigere Werte an. Dies war auch statistisch signifikant, außer für den Zeitpunkt 14. Lebenstag. Für die Serum-[SIG<sub>Alb</sub>] bzw. Serum-[SIG<sub>Pro</sub>]-Werte ergaben sich keine signifikanten Differenzen, wenn sie aus dem pH-Wert des arteriellen oder dem des venösen Blutes berechnet wurden. Serum-[A<sub>tot-Pro</sub>] zeigte keine statistisch signifikante Veränderung mit zunehmendem Lebensalter der Probanden. Am 1., 3. und 7. Lebenstag differierte Serum-[A<sub>tot-Pro</sub>] signifikant von Serum-[A<sub>tot-Alb</sub>], am 14. und 28. Lebenstag ergab sich kein signifikanter Unterschied. Die Werte für Serum-[SIG<sub>Alb</sub>] und Serum-[SIG<sub>Pro</sub>] unterschieden sich außer am 14. Lebenstag signifikant voneinander.

### 4.1.3 Albumin-Globulin-Verhältnis im Serum

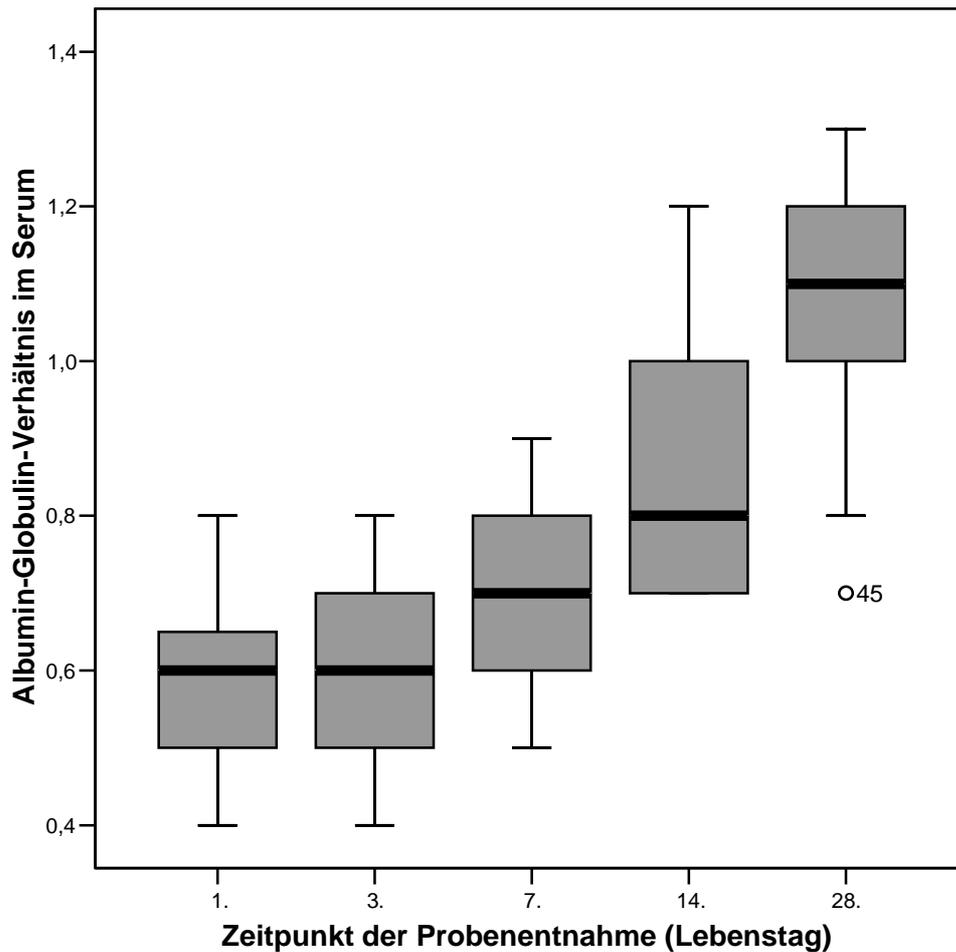


Abb. 16 Boxplots für das Albumin-Globulin-Verhältnis im Serum in Abhängigkeit vom Lebensalter der Probanden

Das Albumin-Globulin-Verhältnis stieg mit zunehmendem Alter der Probanden an. Am 1. und 3. Lebenstag waren die Boxplots nahezu gleich. Vom 3. auf den 7. Lebenstag und vom 7. auf den 14. Lebenstag stieg der Median des Albumin-Globulin-Quotienten um 0,1 Einheit an. Die Boxplots waren zu den ersten drei Zeitpunkten der Probenentnahme fast symmetrisch. Am 14. Lebenstag wurde ein asymmetrisches Ergebnis erzielt. Am letzten Tag der Probenentnahme lag das Albumin-Globulin-Verhältnis im Median bei 1,1 und die Box war wieder nahezu symmetrisch. Ein Ausreißer befand sich unterhalb des unteren Ausläufers der Box-Whisker-Plots.

#### 4.1.4 Phosphatkonzentration im Serum

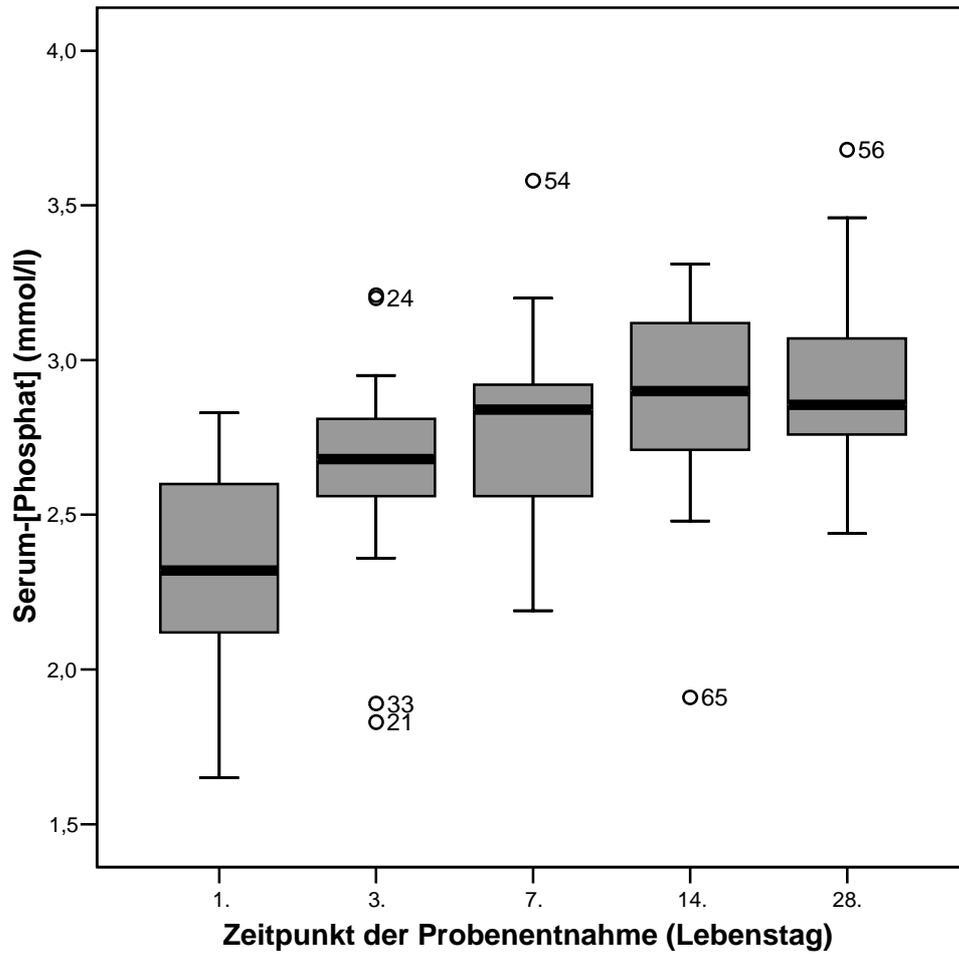


Abb. 17 Boxplots für die Phosphatkonzentration im Serum in Abhängigkeit vom Lebensalter der Probanden

Der Median der Serum-[Phosphat] stieg vom 1. bis zum 7. Lebenstag um 0,5mmol auf ca. 2,8mmol/l an und blieb dann bis zum 28. Lebenstag auf diesem Niveau. Zu allen Zeitpunkten der Probenentnahme - außer am 1. Lebenstag - wurden Ausreißerwerte, die sich sowohl unter- als auch oberhalb der Boxplots befanden, gemessen.

#### 4.1.5 Berechnung des pH-Wertes aus den Stewart-Variablen

Tab. 38 Differenzen des Blut-pH aus gemessenen und errechneten Werten ( $\bar{x} \pm s$ )

Berechnungsgrundlage	$\Delta\text{pH}_{\text{gemessen-pH}_{\text{berechnet}}} (\bar{x} \pm s)$
$\text{pH}_{\text{arteriell}} - \text{pH}(\text{SID}_4, \text{PaCO}_2, A_{\text{tot-Alb}})$	$-0,106 \pm 0,0499$
$\text{pH}_{\text{venös}} - \text{pH}(\text{SID}_4, \text{PvCO}_2, A_{\text{tot-Alb}})$	$-0,084 \pm 0,0383$
$\text{pH}_{\text{arteriell}} - \text{pH}(\text{SID}_4, \text{PaCO}_2, A_{\text{tot-Pro}})$	$-0,083 \pm 0,0454$
$\text{pH}_{\text{venös}} - \text{pH}(\text{SID}_4, \text{PvCO}_2, A_{\text{tot-Pro}})$	$-0,063 \pm 0,0336$
$\text{pH}_{\text{arteriell}} - \text{pH}(\text{SID}_3, \text{PaCO}_2, A_{\text{tot-Alb}})$	$-0,158 \pm 0,0976$
$\text{pH}_{\text{venös}} - \text{pH}(\text{SID}_3, \text{PvCO}_2, A_{\text{tot-Alb}})$	$-0,110 \pm 0,0413$
$\text{pH}_{\text{arteriell}} - \text{pH}(\text{SID}_3, \text{PaCO}_2, A_{\text{tot-Pro}})$	$-0,110 \pm 0,0467$
$\text{pH}_{\text{venös}} - \text{pH}(\text{SID}_3, \text{PvCO}_2, A_{\text{tot-Pro}})$	$-0,089 \pm 0,0356$

$$\text{pH} = \log \frac{2 \times \text{SID}}{(K_1 \times S \times \text{pCO}_2) + (K_a \times A_{\text{tot}}) - (K_a \times \text{SID}) + \sqrt{((K_1 \times S \times \text{pCO}_2) + (K_a \times \text{SID}) + (K_a \times A_{\text{tot}})^2 - (4K_a^2 \times \text{SID} \times A_{\text{tot}}))}}$$

$K_1 = 7,43 \times 10^{-7}$  meq/l;  $K_a = 0,87 \times 10^{-7}$  meq/l;  $S = (0,0307 \text{ mmol/l})/\text{mmHg}$ ; Einheiten: [SID] in mmol/l;  $A_{\text{tot}}$  in mmol/l;  $\text{PCO}_2$  in mmHg

Die aus den drei Stewart-Variablen berechneten pH-Werte lagen im Mittel 0,063 bis 0,158 Einheiten höher als die im arteriellen sowie venösen Blut gemessenen pH-Werte. Die niedrigste Abweichung von den gemessenen pH-Werten erzielte die Berechnung anhand der Werte von  $[\text{SID}_4]$ ,  $\text{PvCO}_2$  und  $[A_{\text{tot-Pro}}]$ . Die höchste Differenz zwischen berechneten und gemessenen pH-Werten wurde auf der Grundlage der Werte für  $[\text{SID}_3]$ ,  $\text{PaCO}_2$  und  $[A_{\text{tot-Alb}}]$  erzielt.

## 4.2 Ergebnisse der Fütterungsversuche

### 4.2.1 pH-Wert und Osmolalität des MAT und der eingesetzten ORT

Tab. 39 Werte für pH und Osmolalität des MAT und der im Fütterungsversuch eingesetzten ORT

Tränke	pH ( $\bar{x} \pm s$ )	Osmolalität (mosmol/kg)
MAT	6,3±0,04	287
ORT-1A <sub>MAT</sub>	6,1±0,06	602
ORT-1B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	6,0±0,03	298
ORT-1C <sub>MAT</sub>	6,0±0,03	920
ORT-2A <sub>MAT</sub>	6,1±0,05	823
ORT-2B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	6,3±0,03	501
ORT-3A <sub>MAT</sub>	6,9±0,09	665
ORT-3B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	7,8±0,07	365
ORT-4A <sub>MAT</sub>	6,3±0,03	593
ORT-4B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	6,2±0,02	299

Die arithmetischen Mittelwerte des pH der MAT-ORT-Gemische stimmten nur in einem Fall (ORT-4A<sub>MAT</sub>) mit dem pH-Wert des MAT überein. Drei der in MAT zubereiteten ORT (ORT-1A<sub>MAT</sub>, -1C<sub>MAT</sub> und 2A<sub>MAT</sub>) hatten im Mittel einen niedrigeren (=saureren) pH-Wert als der MAT. Ein MAT-ORT-Gemisch (ORT-3A<sub>MAT</sub>) wies einen höheren (=alkalischeren) arithmetischen Mittelwert für pH auf als der MAT. Die Mittelwerte des pH der Wasser-ORT-Gemische lagen zwischen 6,0 und 7,8. Die Osmolalität der MAT-ORT-Gemische war erwartungsgemäß höher als die des MAT. Für die Osmolalität der Wasser-ORT-Gemische wurden ebenfalls höhere Werte gemessen als für den MAT. Die Osmolalitäten der in Wasser zubereiteten ORT waren allerdings niedriger als die der MAT-ORT-Gemische

#### 4.2.2 pH-Zeit-Kurven der Labmageningesta

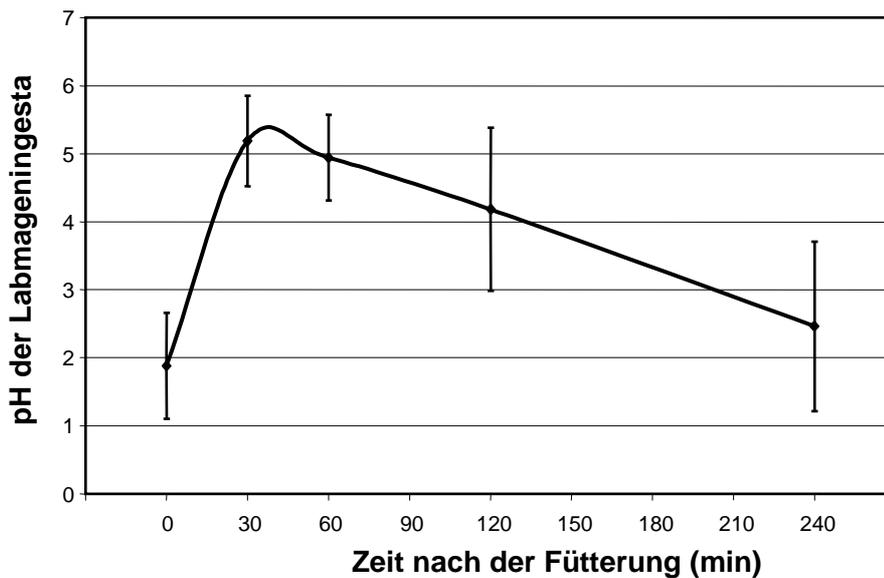


Abb. 18 Zeitabhängiger Verlauf des pH-Wertes ( $\bar{x} \pm s$ ) der Labmageningesta vor sowie nach Fütterung (n=10) von MAT ([SID<sub>3</sub>]=42mmol/l)

Nach Fütterung von MAT stieg der pH in den Labmageningesta von  $1,88 \pm 0,78$  auf maximale Werte von  $5,19 \pm 0,67$  zum Zeitpunkt 30min nach der Verabreichung der Tränke an. Anschließend fiel der pH der Labmageningesta langsam ab, nach 240min konnten Werte von  $2,46 \pm 1,25$  gemessen werden.

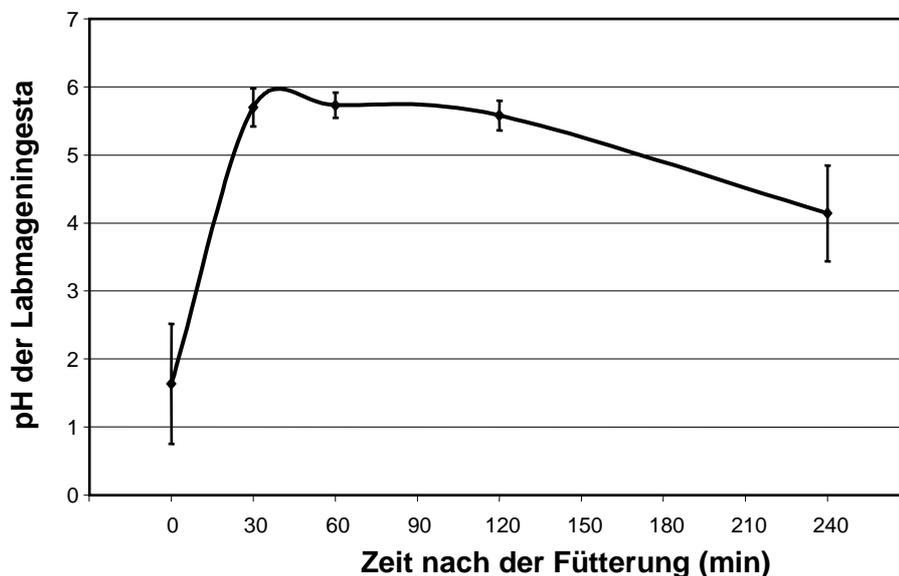


Abb. 19 Zeitabhängiger Verlauf des pH-Wertes ( $\bar{x} \pm s$ ) der Labmageningesta vor sowie nach Fütterung (n=8) von ORT-1A<sub>MAT</sub> ([SID<sub>3</sub>]=115mmol/l)

Nach Fütterung von ORT-1A<sub>MAT</sub> konnten höhere pH-Werte in den Labmageningesta gemessen werden als nach Fütterung von MAT. Die maximalen pH-Werte lagen bei  $5,73 \pm 0,19$  zum Zeitpunkt 60min nach der Fütterung. Die pH-Werte blieben auch nach

120min auf einem ähnlich hohen Niveau ( $5,58 \pm 0,22$ ). 240min nach der Fütterung lagen die pH-Werte bei  $4,14 \pm 0,70$ .

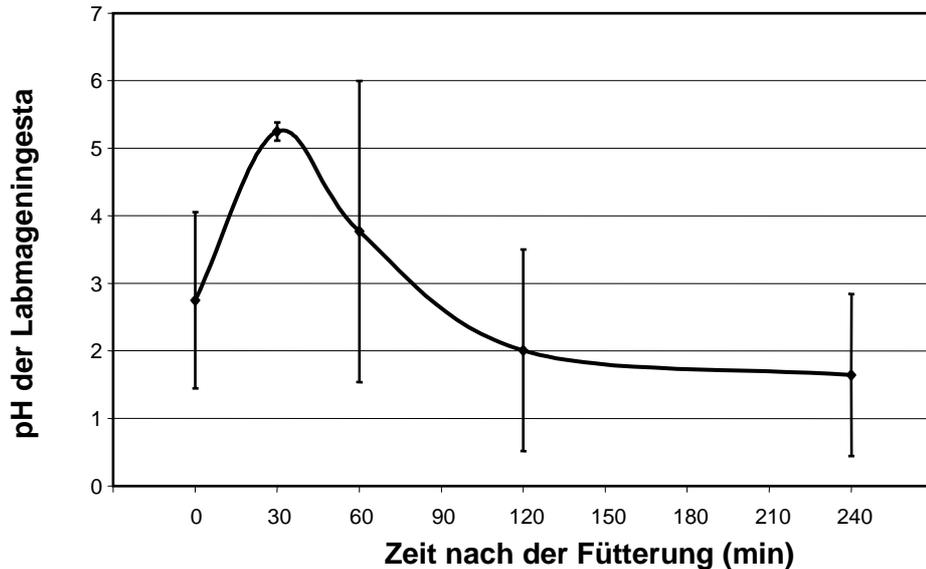


Abb. 20 Zeitabhängiger Verlauf des pH-Wertes ( $\bar{x} \pm s$ ) der Labmageningesta vor sowie nach Fütterung (n=5) von ORT-1B<sub>H2O</sub> ([SID<sub>3</sub>]=74mmol/l)

Nach Fütterung von ORT-1B<sub>H2O</sub> stiegen die pH-Werte in den Labmageningesta von  $3,09 \pm 1,36$  auf Werte von  $5,25 \pm 0,14$  an. Anschließend wurden nach kürzerer Zeit wieder niedrigere Mittelwerte des pH als bei der Fütterung von MAT und ORT-1A<sub>MAT</sub> gemessen. Nach 120min lagen die pH-Werte mit  $2,01 \pm 1,49$  unter dem Ausgangsniveau. Zum Zeitpunkt 60 und 120min nach Fütterung von ORT-1B<sub>H2O</sub> war die Streuung der Einzelwerte relativ hoch.

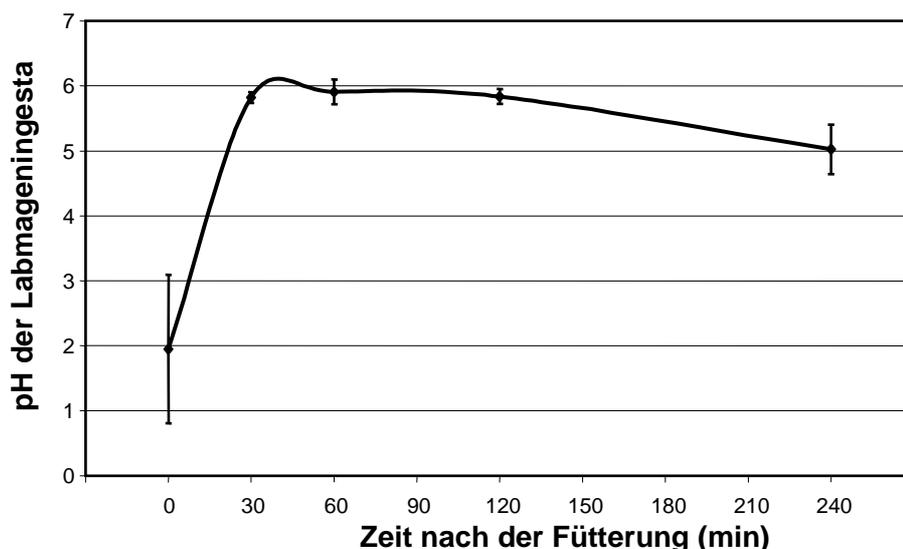


Abb. 21 Zeitabhängiger Verlauf des pH-Wertes ( $\bar{x} \pm s$ ) der Labmageningesta vor sowie nach Fütterung (n=5) von ORT-1C<sub>MAT</sub> ([SID<sub>3</sub>]=189mmol/l)

Nach der Fütterung von ORT-1C<sub>MAT</sub> wurden die maximalen pH-Werte ( $5,91 \pm 0,19$ ) wie bei ORT-1A<sub>MAT</sub> zum Zeitpunkt 60min nach der Fütterung gemessen. 120min nach der Fütterung waren die pH-Werte mit  $5,84 \pm 0,11$  noch nahezu unverändert. Nach 240min fielen die pH-Werte nur mäßig auf  $5,02 \pm 0,38$ . Insgesamt war die Streuung der Einzelwerte nach Fütterung von ORT-1C<sub>MAT</sub> relativ gering.

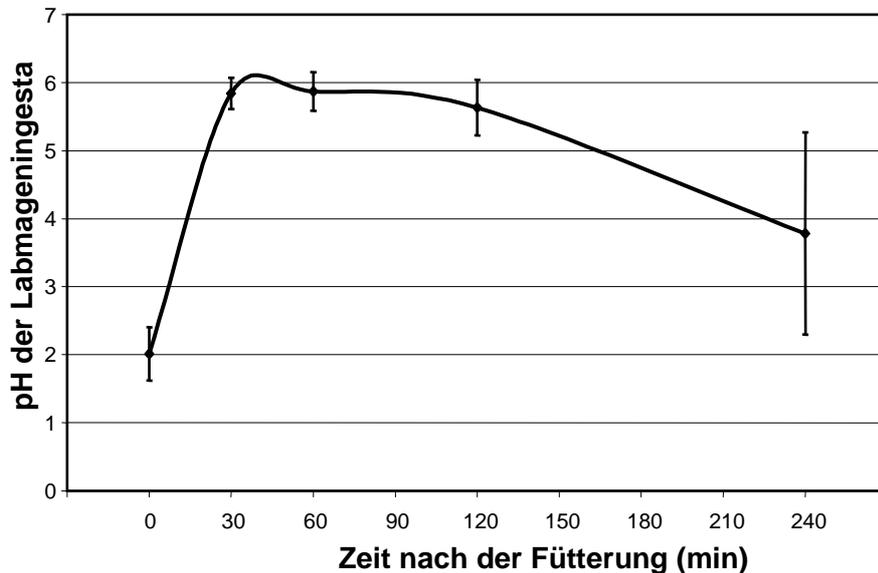


Abb. 22 Zeitabhängiger Verlauf des pH-Wertes ( $\bar{x} \pm s$ ) der Labmageningesta vor sowie nach Fütterung ( $n=5$ ) von ORT-2A<sub>MAT</sub> ( $[\text{SID}_3]=119\text{mmol/l}$ )

Nach Fütterung von ORT-2A<sub>MAT</sub> kam es wie bei ORT-1A<sub>MAT</sub> und -1C<sub>MAT</sub> zum höchsten Anstieg des pH in den Labmageningesta 60min nach der Fütterung auf Werte von  $5,87 \pm 0,28$ . Auch hier war die Abnahme des pH ( $5,63 \pm 0,41$ ) zum Zeitpunkt 120min nach der Fütterung geringer als bei MAT-Fütterung. Nach 240min konnten pH-Werte der Labmageningesta von  $3,78 \pm 1,49$  ermittelt werden.

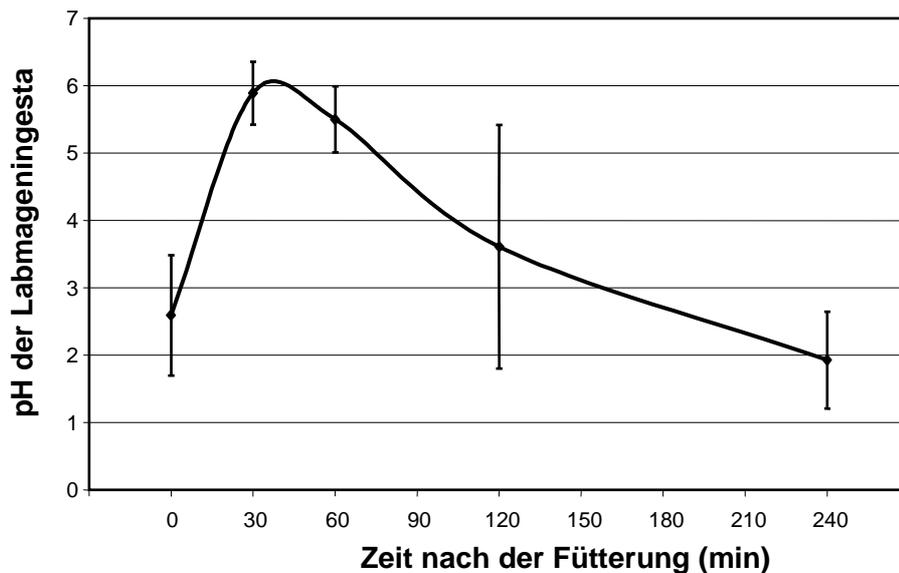


Abb. 23 Zeitabhängiger Verlauf des pH-Wertes ( $\bar{x} \pm s$ ) der Labmageningesta vor sowie nach Fütterung (n=5) von ORT-2B<sub>H<sub>2</sub>O</sub> ([SID<sub>3</sub>]=77mmol/l)

Nach Fütterung von ORT-2B<sub>H<sub>2</sub>O</sub> konnten die maximalen pH-Werte ( $5,86 \pm 0,45$ ) in den Labmageningesta zum Zeitpunkt 30min nach der Fütterung gemessen werden. Anschließend fielen die Werte ab. 120min nach der Fütterung war das Ausgangsniveau wie bei den anderen Wasser-ORT-Gemischen noch nicht wieder erreicht. Allerdings war die Streuung der Einzelwerte zu diesem Zeitpunkt relativ hoch. Nach 240min konnten Werte unterhalb der Nüchternwerte des pH ermittelt werden.

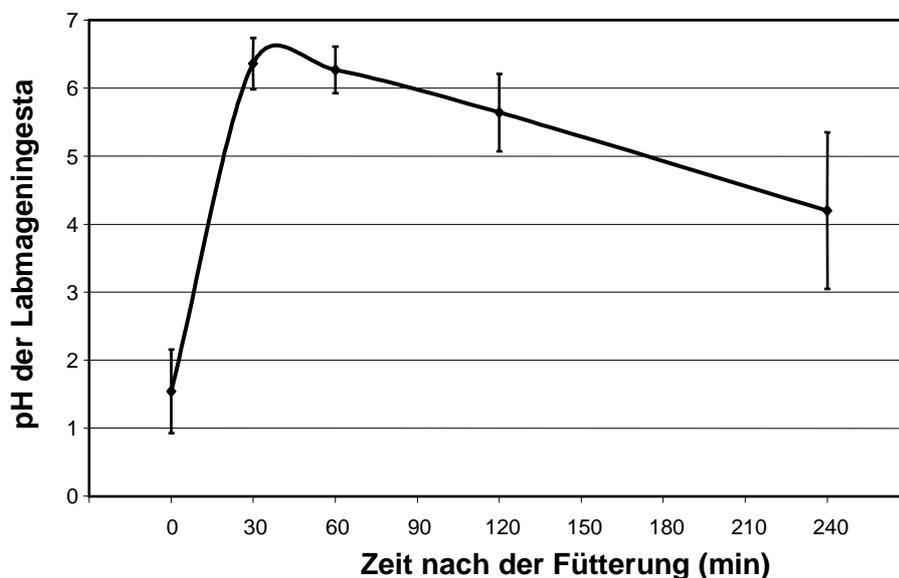


Abb. 24 Zeitabhängiger Verlauf des pH-Wertes ( $\bar{x} \pm s$ ) der Labmageningesta vor sowie nach Fütterung (n=5) von ORT-3A<sub>MAT</sub> ([SID<sub>3</sub>]=92mmol/l)

Nach Fütterung von ORT-3A<sub>MAT</sub> stiegen die pH-Werte in den Labmageningesta von  $1,54 \pm 0,61$  auf  $6,36 \pm 0,38$  zum Zeitpunkt 30min nach der Fütterung an. Nach 60min konnten

ähnlich hohe Werte gemessen werden. Anschließend sanken sie langsam ab. Nach 240min lagen die pH-Werte der Labmagingesta bei  $4,20 \pm 1,15$ .

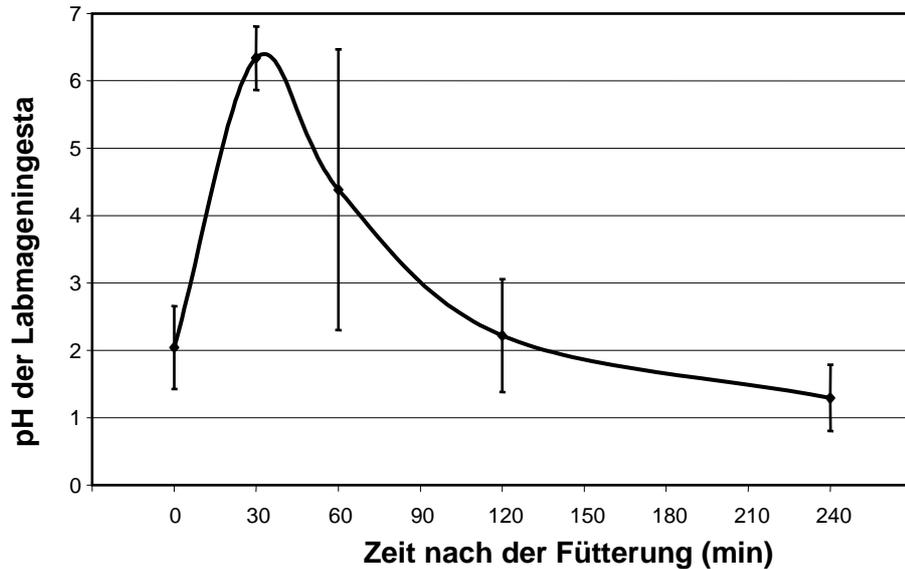


Abb. 25 Zeitabhängiger Verlauf des pH-Wertes ( $\bar{x} \pm s$ ) der Labmagingesta vor sowie nach Fütterung (n=5) von ORT-3B<sub>H2O</sub> ([SID<sub>3</sub>]=49mmol/l)

Nach Fütterung von ORT-3B<sub>H2O</sub> stiegen die pH-Werte in den Labmagingesta auf Maximalwerte von  $6,34 \pm 0,47$  an. Nach 120min waren die Nüchternwerte des pH der Labmagingesta mit  $2,22 \pm 0,84$  annähernd wieder erreicht, nach 240min lagen sie unterhalb des Ausgangsniveaus.

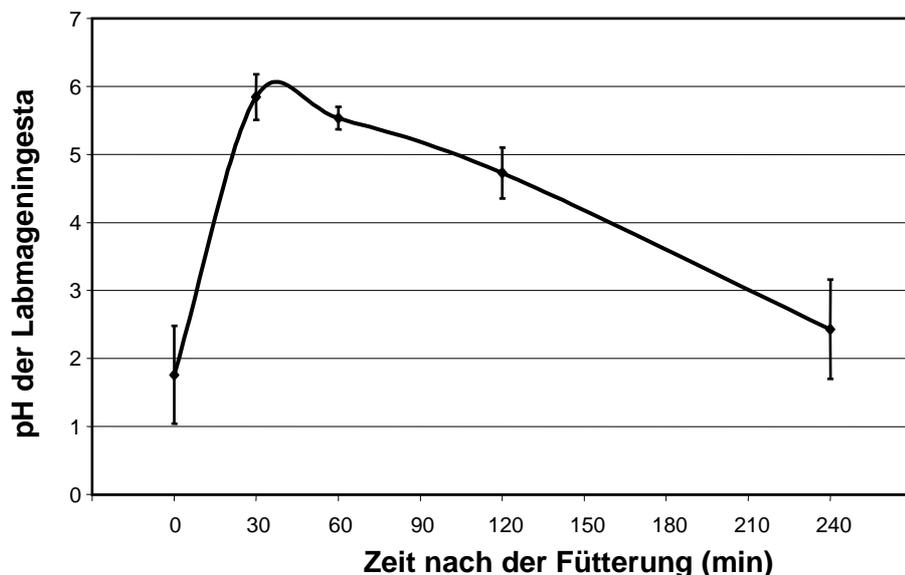


Abb. 26 Zeitabhängiger Verlauf des pH-Wertes ( $\bar{x} \pm s$ ) der Labmagingesta vor sowie nach Fütterung (n=5) von ORT-4A<sub>MAT</sub> ([SID<sub>3</sub>]=73mmol/l)

Nach Fütterung von ORT-4A<sub>MAT</sub> stiegen die in den Labmagingesta gemessenen pH-Werte von  $1,76 \pm 0,72$  auf  $5,85 \pm 0,33$  an und nahmen dann langsam ab. Nach 240min konnten bei

dieser Tränke im Gegensatz zu den Fütterungen der anderen MAT-ORT-Gemische die Ausgangswerte des pH annähernd wieder gemessen werden.

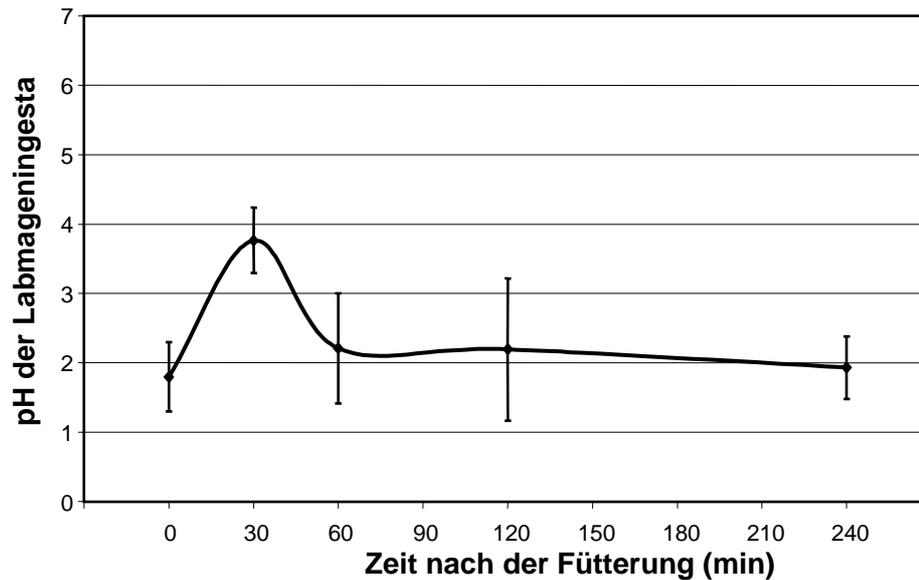


Abb. 27 Zeitabhängiger Verlauf des pH-Wertes ( $\bar{x} \pm s$ ) der Labmageningesta vor sowie nach Fütterung (n=5) von ORT-4B<sub>H2O</sub> ([SID<sub>3</sub>]=31mmol/l)

Nach Fütterung von ORT-4B<sub>H2O</sub> war der Anstieg der pH-Werte in den Labmageningesta mit  $3,76 \pm 0,47$  am geringsten ausgeprägt. Hier wurden schon nach 60min wieder pH-Werte in den Labmageningesta gemessen, die im Bereich des Ausgangsniveaus lagen.

#### 4.2.3 Area under curve (AUC) der pH-Zeit-Kurven für die Labmageningesta

Tab. 40 Werte für AUC ( $\bar{x} \pm s$ ) der pH-Zeit-Kurven für die Labmageningesta bei unterschiedlich zusammengesetzten Tränken

Tränke	AUC
MAT	937±200
ORT-1A <sub>MAT</sub>	1204±66*
ORT-1B <sub>H2O</sub>	647±256
ORT-1C <sub>MAT</sub>	1297±26*
ORT-2A <sub>MAT</sub>	1203±73*
ORT-2B <sub>H2O</sub>	904±181
ORT-3A <sub>MAT</sub>	1256±124*
ORT-3B <sub>H2O</sub>	695±105*
ORT-4A <sub>MAT</sub>	1022±73
ORT-4B <sub>H2O</sub>	553±171*

\*AUC der Tränken sind statistisch signifikant verschieden zur MAT-Fütterung (Mann-Whitney-U-Test, p<0,05).

Die Werte für die AUC der pH-Zeit-Kurven nach Fütterung von MAT-ORT-Gemischen an die Kälber lagen über dem arithmetischen Mittelwert der Ergebnisse nach alleiniger MAT-Fütterung (s. Tab. 40). Alle AUC-Werte der pH-Zeit-Kurven nach Fütterung von Wasser-ORT-Gemischen waren niedriger als die AUC-Werte nach MAT-Fütterung. Außer nach der Fütterung von  $ORT-4A_{MAT}$ ,  $-1B_{H_2O}$  und  $-2B_{H_2O}$  unterschieden sich diese Werte auch signifikant von der AUC nach MAT-Fütterung.

Die AUC-Werte wurden entsprechend der verschiedenen Fütterungsregimes in 2 Gruppen eingeteilt: AUC nach Fütterung von (1) MAT und MAT-ORT-Gemischen und (2) Wasser-ORT-Gemischen. Im Gruppenvergleich ergaben sich signifikante Unterschiede, d. h. die abomasale pH-Wert-Auslenkung nach Fütterung von MAT und MAT-ORT-Gemischen war verschieden von der nach Fütterung der ORT-Wasser-Gemische (Mann-Whitney-U-Test,  $p < 0,05$ ).

Die AUC-Werte der pH-Auslenkung in den Labmageningesta nach Fütterung von MAT-ORT-Gemischen war statistisch signifikant verschieden von den AUC-Werten nach Fütterung derselben ORT, die in Wasser zubereitet wurden, d. h. die AUC der pH-Zeit-Kurve von  $ORT-1A_{MAT}$  unterschied sich signifikant von  $ORT-1B_{H_2O}$ ,  $ORT-1C_{MAT}$  von  $-1B_{H_2O}$ ,  $ORT-2A_{MAT}$  von  $-2B_{H_2O}$  usw. (Mann-Whitney-U-Test,  $p < 0,05$ ).

#### 4.2.4 Beziehung zwischen AUC der pH-Zeit-Kurve für die Labmageningesta und der $[SID_3]$ der eingesetzten Tränken

Tab. 41 Korrelation nach Pearson zwischen den Werten für  $[SID_3]$  in den Tränken und den AUC-Werten der pH-Zeit-Kurven in den Labmageningesta

		AUC	$[SID_3]$ der Tränke
AUC	Korrelation nach Pearson	1	0,674*
	Signifikanz (2-seitig)		0,000
	n	58	58

\*Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

Die AUC-Werte der pH-Zeit-Kurve und die  $[SID_3]$ -Werte der Tränken korrelierten signifikant miteinander.

#### 4.2.5 Beziehung zwischen AUC der pH-Zeit-Kurve der Labmageningesta und pH der eingesetzten Tränken

Tab. 42 Korrelation nach Pearson zwischen den Werten für pH in den Tränken und den AUC-Werten der pH-Zeit-Kurven in den Labmageningesta

		AUC	pH der Tränke
AUC	Korrelation nach Pearson	1	-0,207
	Signifikanz (2-seitig)		0,120
	n	58	58

Zwischen den pH-Werten der Tränken und den Werten für die AUC der pH-Zeit-Kurven in den Labmageningesta bestand keine signifikante Korrelation.

#### 4.2.6 Osmolalität in den Labmageningesta

Tab. 43 Werte für Osmolalität ( $\bar{x} \pm s$ ) in den Labmageningesta vor sowie nach Fütterung von MAT und unterschiedlich zusammengesetzten ORT

Tränke	Osmolalität (mosmol/kg) in den Labmageningesta				
	Fütterung				
	Vor	Nach 30min	Nach 60min	Nach 120min	Nach 240min
MAT	341±82	372±58	405±117	391±53	339±51
ORT-1A <sub>MAT</sub>	335±58	570±53	611±115	564±84	457±42
ORT-1B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	387±60	319±68	352±58	334±73	318±80
ORT-1C <sub>MAT</sub>	330±70	749±170	724±69	701±78	564±89
ORT-2A <sub>MAT</sub>	305±26	619±54	663±84	647±94	496±104
ORT-2B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	420±100	451±93	434±62	392±92	326±59
ORT-3A <sub>MAT</sub>	330±46	519±33	505±34	609±222	423±96
ORT-3B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	335±73	271±26	286±27	292±15	310±36
ORT-4A <sub>MAT</sub>	301±17	489±36	465±46	448±34	324±39
ORT-4B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	296±47	297±25	295±34	302±29	267±36

Nach Fütterung von MAT stieg die Osmolalität in den Labmageningesta im Mittel von 341±82 auf maximale Werte von 405±117mosmol/kg an. Nach der Tränkung der MAT-ORT-Gemische lagen die durchschnittlichen Werte höher (489-746mosmol/kg). Die Veränderung der Osmolalität in der Labmageningesta war nach Fütterung der Wasser-ORT-Gemische insgesamt geringer. Sie stieg leicht an (ORT-2B<sub>H<sub>2</sub>O</sub>), fiel gering ab (ORT-1B<sub>H<sub>2</sub>O</sub> und -3B<sub>H<sub>2</sub>O</sub>) oder blieb annähernd gleich (ORT-4B<sub>H<sub>2</sub>O</sub>).

#### 4.2.7 [SID<sub>3</sub>] in den Labmagingesta

Der Verlauf der Mediane der [SID<sub>3</sub>]-Werte zeigte das gleiche Muster nach jeder Fütterung. Sie lagen vor der Fütterung im negativen Bereich und nahmen nach der Fütterung positive Zahlenwerte an und sanken dann wieder ab. Die Absenkung war unterschiedlich stark ausgeprägt.

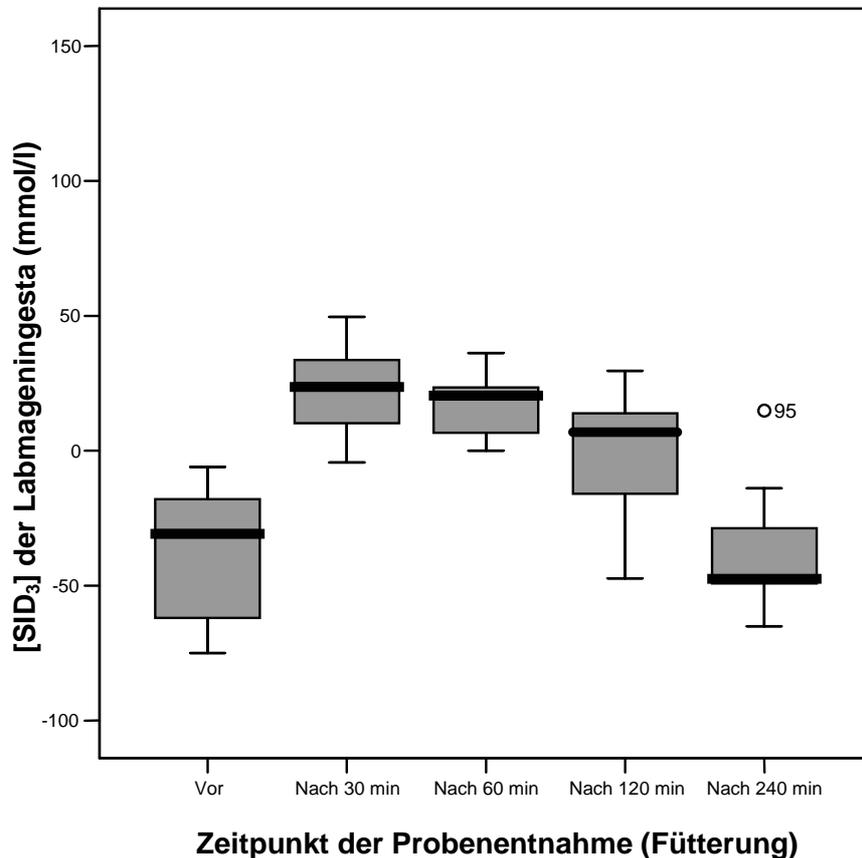


Abb. 28 Boxplots der [SID<sub>3</sub>]-Werte in den Labmagingesta vor sowie nach Fütterung (n=10) von MAT ([SID<sub>3</sub>]=42mmol/l)

Nach Fütterung von MAT nahm [SID<sub>3</sub>] positive Werte zwischen 0 und 50mmol/l zu den Zeitpunkten 30 und 60min nach der Fütterung an, die dann 240min nach der Fütterung wieder negativ waren. Ein Ausreißer der [SID<sub>3</sub>]-Werte hatte noch einen positiven Zahlenwert.

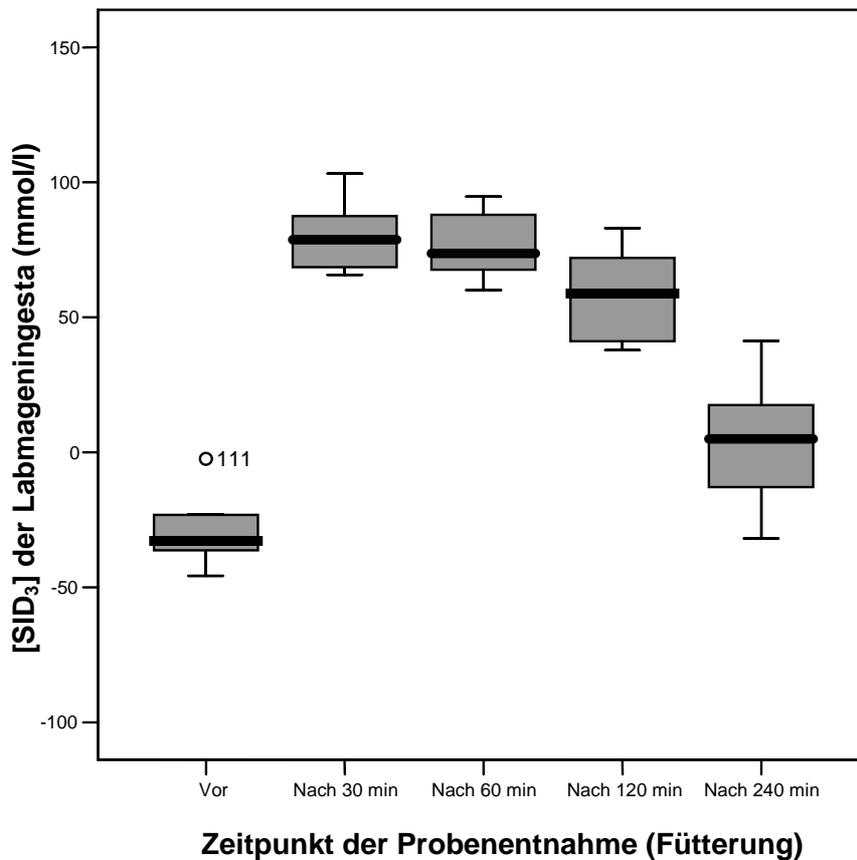


Abb. 29 Boxplots der [SID<sub>3</sub>]-Werte in den Labmageningesta vor sowie nach Fütterung (n=8) von ORT-1A<sub>MAT</sub> ([SID<sub>3</sub>]=115mmol/l)

Nach Fütterung von ORT-1A<sub>MAT</sub> war der Anstieg der [SID<sub>3</sub>]-Werte größer als nach alleiniger MAT-Fütterung. Die Werte lagen zwischen 50 und 100mmol/l zu den Zeitpunkten 30 und 60min nach der Fütterung. 240min nach der Gabe von ORT-1A<sub>MAT</sub> waren die [SID<sub>3</sub>]-Werte höher als nach Fütterung des MAT.

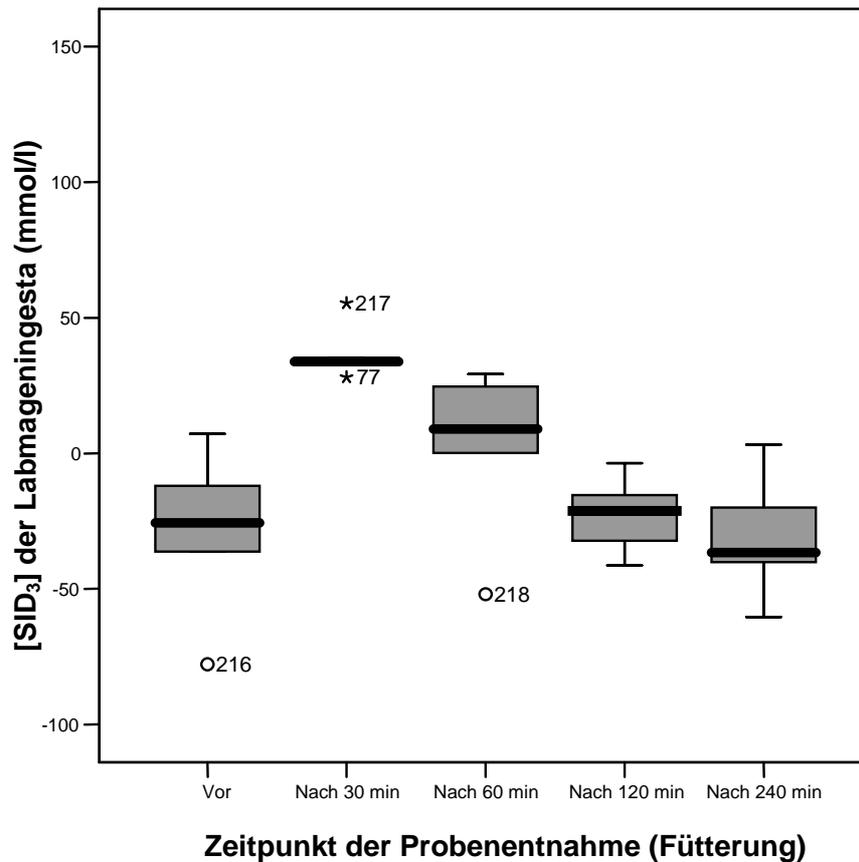


Abb. 30 Boxplots der [SID<sub>3</sub>]-Werte in den Labmageningesta vor sowie nach Fütterung (n=5) von ORT-1B<sub>H<sub>2</sub>O</sub> ([SID<sub>3</sub>]=74mmol/l)

Nach Fütterung von ORT-1B<sub>H<sub>2</sub>O</sub> war der Anstieg der [SID<sub>3</sub>] zum Zeitpunkt 30min nach der Fütterung wie bei MAT-Fütterung auf Werte etwa zwischen 0 und 50mmol/l. 60min nach der Fütterung waren diese Werte schon abgefallen und hatten bereits nach 120min wieder negative Werte angenommen.

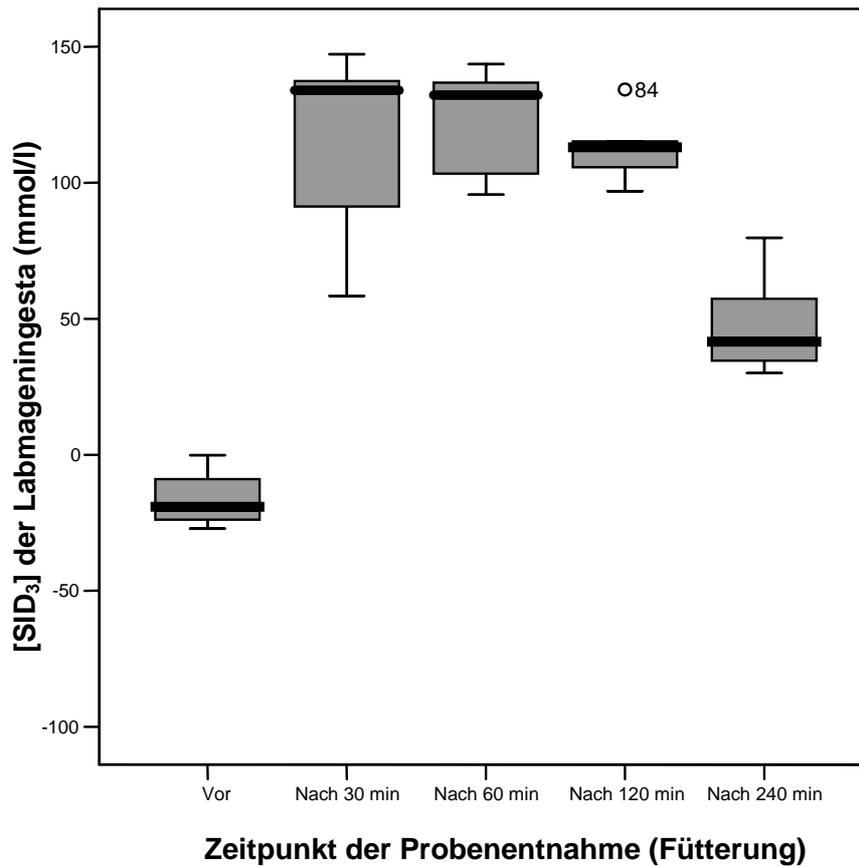


Abb. 31 Boxplots der [SID<sub>3</sub>]-Werte in den Labmageningesta vor sowie nach Fütterung (n=5) von ORT-1C<sub>MAT</sub> ([SID<sub>3</sub>]=189mmol/l)

Nach Fütterung von ORT-1C<sub>MAT</sub> war der Anstieg der [SID<sub>3</sub>]-Werte in den Labmageningesta relativ stark ausgeprägt. Der Median der Werte lag über 100mmol/l. 120min nach der Fütterung waren die Werte immer noch über bzw. knapp unter 100mmol/ und nach 240min wurden keine negativen Zahlenwerte erreicht.

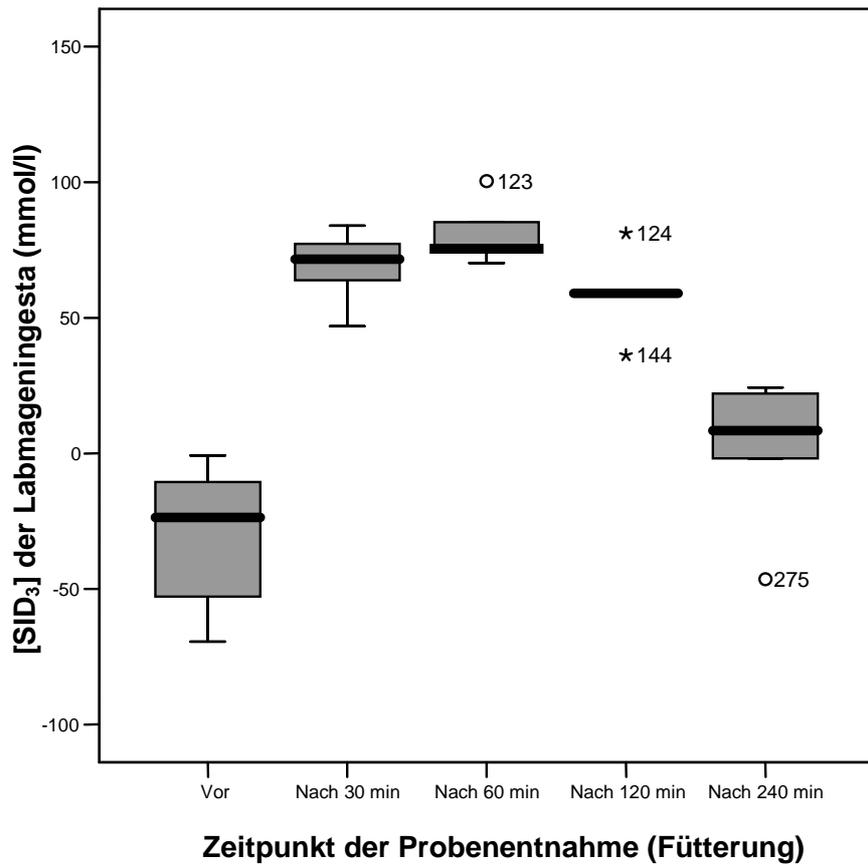


Abb. 32 Boxplots der  $[SID_3]$ -Werte in den Labmageningesta vor sowie nach Fütterung ( $n=5$ ) von ORT-2A<sub>MAT</sub> ( $[SID_3]=119\text{mmol/l}$ )

Die  $[SID_3]$ -Werte in den Labmageningesta stiegen nach Fütterung von ORT-2A<sub>MAT</sub> wie bei ORT-1A<sub>MAT</sub> auf Werte zwischen 50 und 100mmol/l 30min nach der Fütterung an. Auch zu den Zeitpunkten 60 und 120min wurden ähnliche Werte gemessen. Nach 240min war der negative Bereich mit Ausnahme eines Ausreißerwertes noch nicht wieder erreicht.

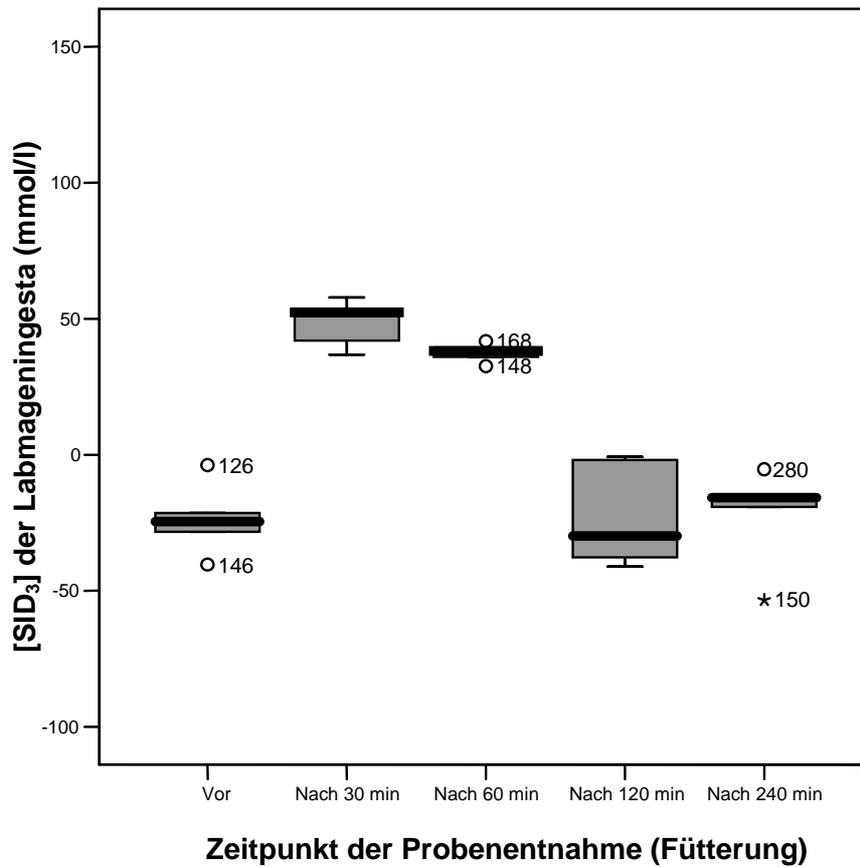


Abb. 33 Boxplots der [SID<sub>3</sub>]-Werte in den Labmagingesta vor sowie nach Fütterung (n=5) von ORT-2B<sub>H2O</sub> ([SID<sub>3</sub>]=77mmol/l)

Nach Fütterung von ORT-2B<sub>H2O</sub> stiegen die Werte für [SID<sub>3</sub>] in den Labmagingesta im Median auf 50mmol/l an. Im Gegensatz zu den anderen Wasser-ORT-Gemischen waren diese Werte zum Zeitpunkt 60min nach der Fütterung knapp unter 50mmol/l und hatten sich noch nicht dem Nullwert angenähert. Nach 120min konnten Werte unter 0mmol/l gemessen werden.

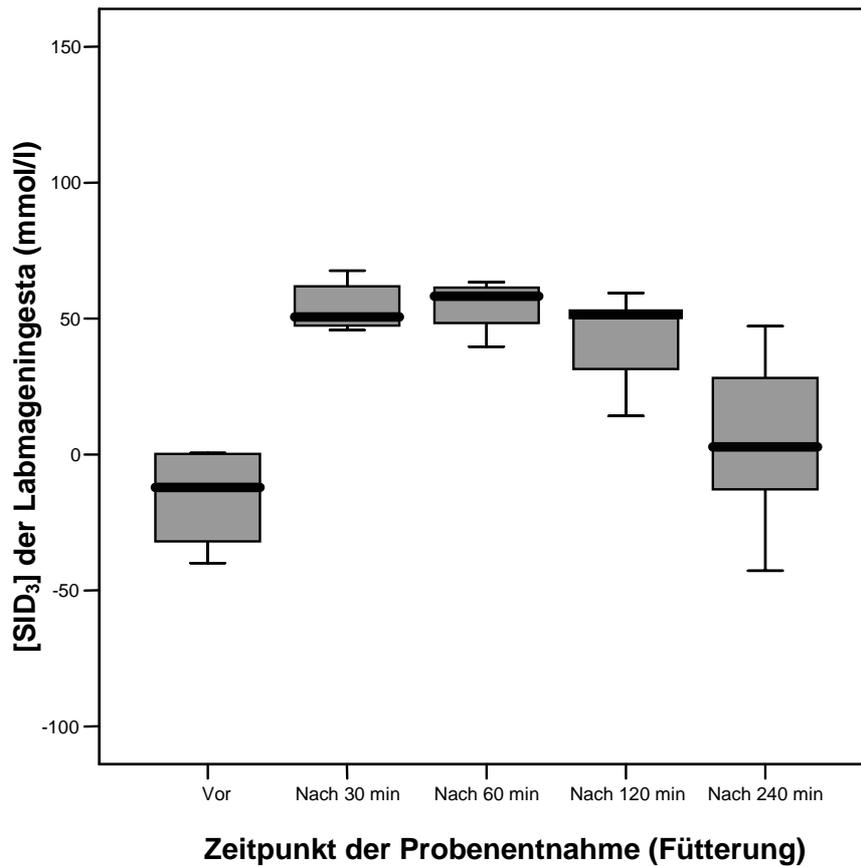


Abb. 34 Boxplots der [SID<sub>3</sub>]-Werte in den Labmageningesta vor sowie nach Fütterung (n=5) von ORT-3A<sub>MAT</sub> ([SID<sub>3</sub>]=92mmol/l)

Die [SID<sub>3</sub>]-Werte stiegen nach Gabe von ORT-3A<sub>MAT</sub> auf Werte um die 50mmol/l zu den Zeitpunkten 30 und 60min nach der Fütterung an. Anschließend fielen die Werte langsam ab. Nach 240min konnten z. T. negative Zahlenwerte gemessen werden. Die Streuung der [SID<sub>3</sub>]-Werte war zu diesem Zeitpunkt höher als zu den anderen Zeitpunkten der Probenentnahme.

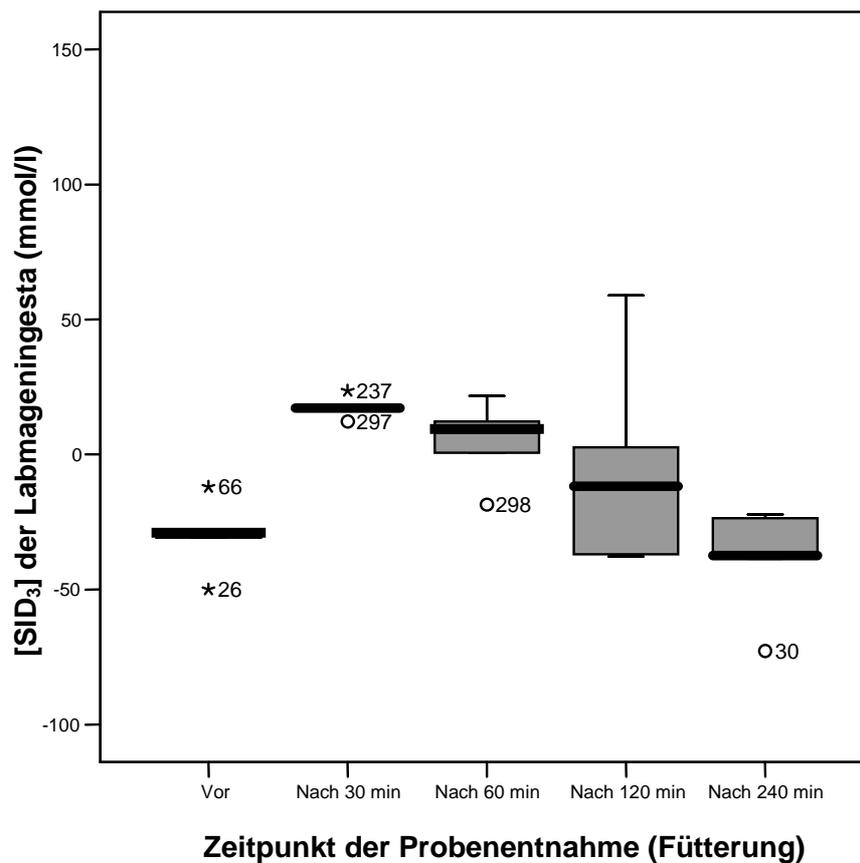


Abb. 35 Boxplots der [SID<sub>3</sub>]-Werte in den Labmageningesta vor sowie nach Fütterung (n=5) von ORT-3B ([SID<sub>3</sub>]=49mmol/l)

Nach Fütterung von ORT-3B<sub>H<sub>2</sub>O</sub> stiegen die Werte für [SID<sub>3</sub>] im Median nur auf etwa 25mmol/l an und fielen dann wieder ab. Ein Ausreißer lag 60min nach der Fütterung schon im negativen Zahlenbereich. Zum Zeitpunkt 120min nach der Fütterung war der Median negativ, die Werte streuen allerdings stark. Der Maximalwert liegt über 50mmol/l. Bei der letzten Probenentnahme wurden ausschließlich negative Werte erzielt.

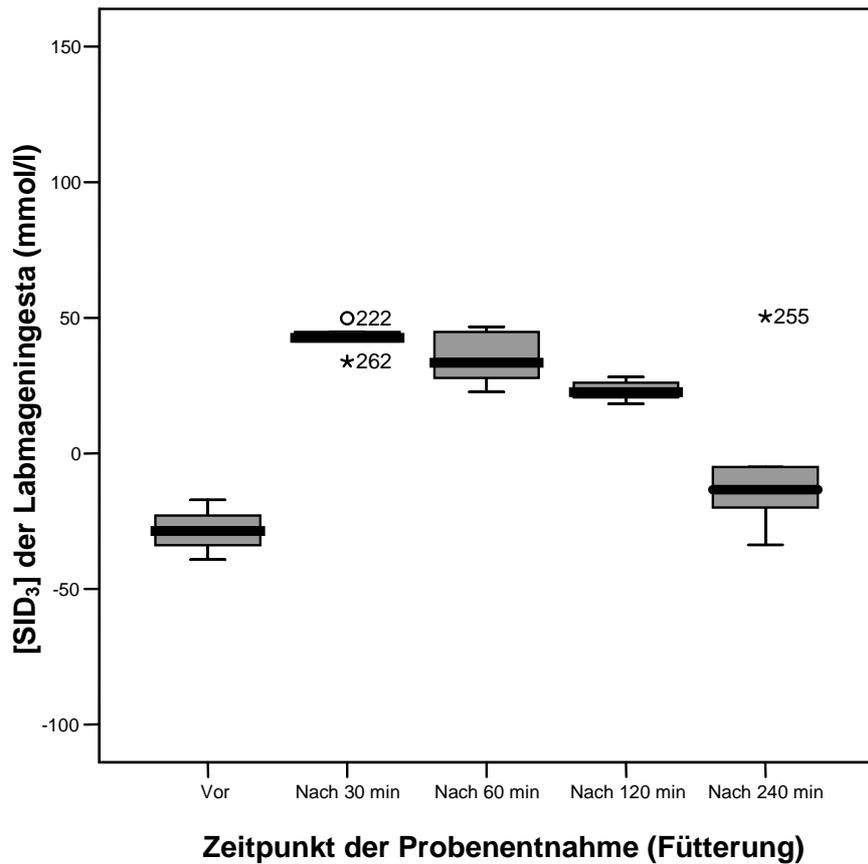


Abb. 36 Boxplots der [SID<sub>3</sub>]-Werte in den Labmageningesta vor sowie nach Fütterung (n=5) von ORT-4A<sub>MAT</sub> ([SID<sub>3</sub>]=73mmol/l)

Die [SID<sub>3</sub>]-Werte stiegen nach Fütterung von ORT-4A<sub>MAT</sub> wie bei Fütterung von ORT-2B<sub>H2O</sub> und ORT-3A<sub>MAT</sub> auf etwa 50mmol/l an. Die Werte fielen dann kontinuierlich zu den nächsten Probenentnahmen hin ab. 240min nach der Fütterung konnten mit Ausnahme eines Extremwertes wieder negative Zahlenwerte gemessen werden.

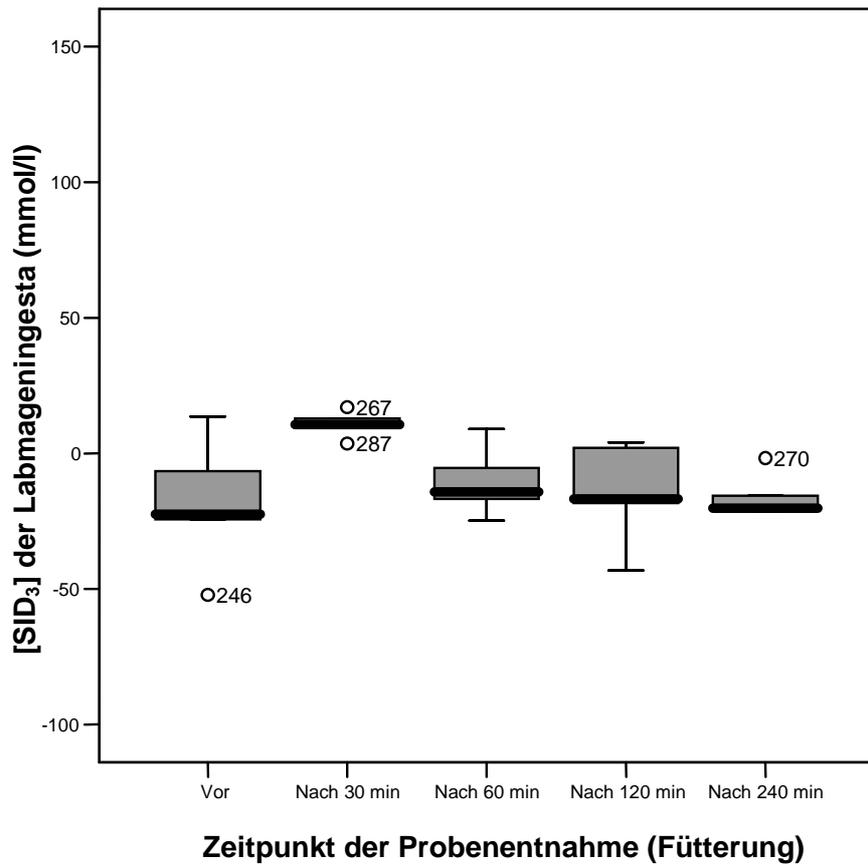


Abb. 37 Boxplots der [SID<sub>3</sub>]-Werte in den Labmageningesta vor sowie nach Fütterung (n=5) von ORT-4B<sub>H<sub>2</sub>O</sub> ([SID<sub>3</sub>]=31mmol/l)

Nach Fütterung von ORT-4B<sub>H<sub>2</sub>O</sub> stieg der Median der [SID<sub>3</sub>]-Werte zum Zeitpunkt 30min nach der Fütterung auf Werte knapp über Null an. Zu allen anderen Zeitpunkten der Probenentnahme lag der Median im negativen Bereich.

#### 4.2.8 Beziehung zwischen $[SID_3]$ und pH-Wert in den Labmageningesta

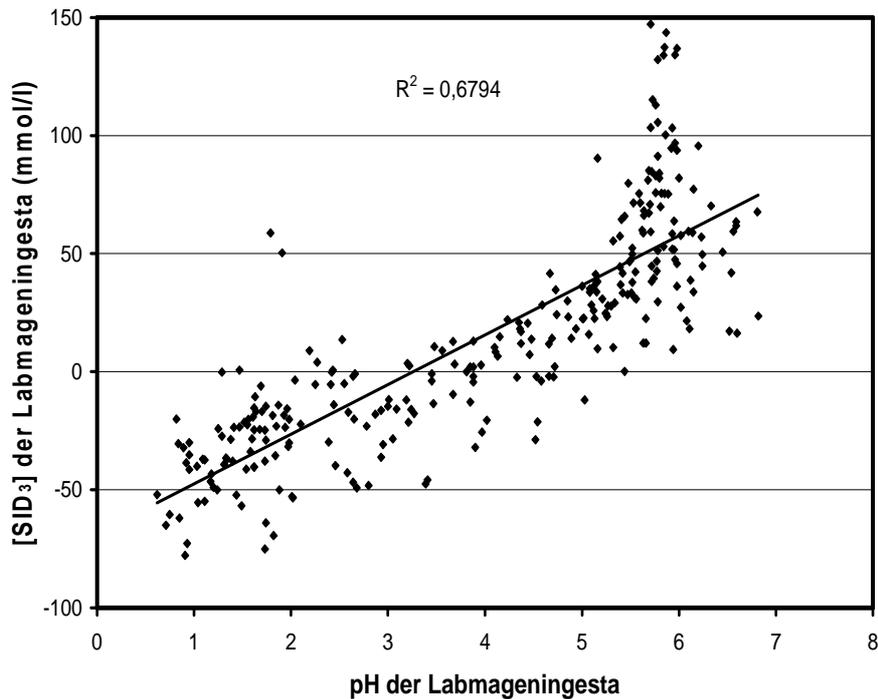


Abb. 38 Beziehung zwischen den Werten für  $[SID_3]$  und pH in den Labmageningesta als Punktdiagramm mit eingezeichneter linearer Trendlinie und Bestimmtheitsmaß ( $R^2$ )

Die Verteilung der Punkte in diesem Diagramm war nah um die eingezeichnete Trendlinie herum. Anhand dieses Diagramms war zu erkennen, dass zwischen den Werten für pH und  $[SID_3]$  in den Labmageningesta folgende Beziehung bestand: Je niedrigere Werte für  $[SID_3]$  gemessen wurden, desto niedriger war der dazu bestimmte pH-Wert. War der Wert für  $[SID_3]$  hoch, wies auch der korrespondierende pH einen hohen Wert auf.

Tab. 44 Korrelation nach Pearson zwischen den Werten für pH und  $[SID_3]$  in den Labmageningesta

		pH der Labmageningesta	$[SID_3]$ der Labmageningesta
pH der Labmageningesta	Korrelation nach Pearson	1	0,824*
	Signifikanz (2-seitig)		0,000
	n	287	286

\*Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

Die Werte für pH und  $[SID_3]$  in den Labmageningesta korrelierten signifikant miteinander.

#### 4.2.9 Nüchternwerte des pH, der Osmolalität und der [SID<sub>3</sub>] in den Labmageningesta

Tab. 45 Werte ( $\bar{x} \pm s$ ) des pH, der Osmolalität (mosmol/kg) und der [SID<sub>3</sub>] (mmol/l) in den Labmageningesta vor der Morgen- und Nachmittagsfütterung

Tageszeit	pH	Osmolalität (mosmol/kg)	[SID <sub>3</sub> ] (mmol/l)
8.00 Uhr	1,83±0,86	314±50	-24,5±17,5
14.00 Uhr	2,41±1,1	360±74	-32,0±22,8

Die Nüchterwerte des pH und der Osmolalität waren vor der Morgenfütterung (8.00 Uhr) etwas niedriger als vor der Nachmittagsfütterung (14.00 Uhr). Die [SID<sub>3</sub>]-Werte waren vor der Fütterung um 14.00 Uhr niedriger als morgens.

#### 4.2.10 Parameter des SBS nach Stewart im Serum vor und nach der Fütterung

Tab. 46 Werte für Serum-[SID<sub>3</sub>] (mmol/l) vor sowie nach Fütterung von MAT und ORT

Tränke	[SID <sub>3</sub> ] (mmol/l)		
	Fütterung		
	Vor	Nach 120 min	Nach 240 min
MAT	46,0±1,63	45,6±1,67	44,8±1,65
ORT-1A <sub>MAT</sub>	46,8±1,73	47,8±1,59*	47,3±1,95
ORT-1B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	46,2±2,68	46,1±2,07	45,0±1,43
ORT-1C <sub>MAT</sub>	46,3±2,01	48,7±1,91*	48,1±2,34
ORT-2A <sub>MAT</sub>	47,8±2,46	48,9±2,29*	48,5±2,16
ORT-2B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	47,1±2,23	47,1±2,20	45,2±2,54
ORT-3A <sub>MAT</sub>	44,8±1,41	46,6±1,54	45,8±0,78
ORT-3B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	46,3±1,08	45,1±1,39	44,8±1,30
ORT-4A <sub>MAT</sub>	46,2±1,74	45,8±2,12	45,1±1,35
ORT-4B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	44,7±1,60	43,8±1,31	43,0±0,75

\*Signifikant höher als vor der Fütterung (Vorzeichentest nach Dixon und Mood,  $p < 0,05$ ).

Nach Fütterung der MAT-ORT-Gemische ORT-1A<sub>MAT</sub>, -1C<sub>MAT</sub>, -2A<sub>MAT</sub> und -3A<sub>MAT</sub> kam es zu einem geringen durchschnittlichen Anstieg der Werte für Serum-[SID<sub>3</sub>] zum Zeitpunkt 120min nach der Fütterung, der z. T. auch statistisch signifikant war.

Tab. 47 Werte für Serum-[A<sub>tot-Alb</sub>] (mmol/l) vor sowie nach Fütterung von MAT und ORT

Tränke	[A <sub>tot-Alb</sub> ] (mmol/l)		
	Fütterung		
	Vor	Nach 120 min	Nach 240 min
MAT	18,4±0,61	17,8±0,53*	17,9±0,71
ORT-1A <sub>MAT</sub>	18,9±1,17	18,1±0,72*	17,5±0,95*
ORT-1B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	18,8±1,31	18,2±1,10*	18,3±1,32*
ORT-1C <sub>MAT</sub>	19,2±1,30	18,1±0,69	18,2±0,91
ORT-2A <sub>MAT</sub>	18,2±0,74	18,0±0,87	17,6±0,45
ORT-2B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	17,7±0,98	17,6±1,14*	17,8±0,83
ORT-3A <sub>MAT</sub>	18,6±0,92	18,1±0,55	18,1±0,53
ORT-3B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	18,4±0,34	17,6±0,67	18,2±0,56
ORT-4A <sub>MAT</sub>	18,0±,68	17,7±0,30	17,5±0,44
ORT-4B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	17,6±,52	17,3±0,31	17,3±0,53

\*Signifikant niedriger als vor der Fütterung (Vorzeichentest nach Dixon und Mood, p<0,05).

Tab. 48 Werte für Serum-[A<sub>tot-Pro</sub>] (mmol/l) vor sowie nach Fütterung von MAT und ORT

Tränke	[A <sub>tot-Pro</sub> ] (mmol/l)		
	Fütterung		
	Vor	Nach 120 min	Nach 240 min
MAT	19,4±1,43	19,1±1,51*	19,0±1,35*
ORT-1A <sub>MAT</sub>	20,2±1,14	19,3±1,02*	18,9±0,98*
ORT-1B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	19,2±1,62	18,7±1,24	18,8±1,47
ORT-1C <sub>MAT</sub>	19,8±1,68	19,0±1,54	18,9±1,43
ORT-2A <sub>MAT</sub>	19,1±0,27	18,8±0,30	18,6±0,33
ORT-2B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	18,4±0,31	18,1±0,23	18,4±0,27
ORT-3A <sub>MAT</sub>	19,7±1,75	19,3±1,19	18,9±0,99
ORT-3B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	19,5±1,25	19,3±1,12	19,5±1,47
ORT-4A <sub>MAT</sub>	18,6±0,84	17,6±0,59*	17,9±0,82*
ORT-4B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	18,0±0,45	17,7±0,62	17,9±0,65

\*Signifikant niedriger als vor der Fütterung (Vorzeichentest nach Dixon und Mood, p<0,05).

Nach Fütterung des MAT und der unterschiedlich zusammengesetzten ORT fielen die arithmetischen Mittelwerte für Serum-[A<sub>tot-Alb</sub>] und -[A<sub>tot-Pro</sub>] gering ab. Diese Absenkung war bei einigen Fütterungsregimes statistisch signifikant für die Zeitpunkte 120 sowie 240min nach der Fütterung.

Tab. 49 Werte für Serum-[SIG<sub>Alb-ven</sub>] (mmol/l) vor sowie nach Fütterung von MAT und ORT

Tränke	[SIG <sub>Alb-ven</sub> ] (mmol/l)		
	Fütterung		
	Vor	Nach 120 min	Nach 240 min
MAT	-1,50±0,44	-1,38±0,17	-1,48±0,20
ORT-1A <sub>MAT</sub>	-1,51±0,60	-1,48±0,14	-1,59±0,40*
ORT-1B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	-1,55±0,17	-1,77±0,24	-1,74±0,16
ORT-1C <sub>MAT</sub>	-1,51±0,25	-1,57±0,16	-1,59±0,25
ORT-2A <sub>MAT</sub>	-1,22±0,15	-1,38±0,09	-1,42±0,14*
ORT-2B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	-1,46±0,21	-1,59±0,15	-1,76±0,30*
ORT-3A <sub>MAT</sub>	-1,39±0,18	-1,45±0,07	-1,52±0,06
ORT-3B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	-1,50±0,07	-1,73±0,32	-1,71±0,20
ORT-4A <sub>MAT</sub>	-1,26±0,11	-1,44±0,06*	-1,55±0,19*
ORT-4B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	-1,58±0,14	-1,58±0,13	-1,87±0,19*

\*Signifikant niedriger als vor der Fütterung (Vorzeichentest nach Dixon und Mood, p<0,05).

Tab. 50 Werte für Serum-[SIG<sub>Pro-ven</sub>] (mmol/l) vor sowie nach Fütterung von MAT und ORT

Tränke	[SIG <sub>Pro-ven</sub> ] (mmol/l)		
	Fütterung		
	Vor	Nach 120 min	Nach 240 min
MAT	-1,60±0,54	-1,48±0,24	-1,58±0,24
ORT-1A <sub>MAT</sub>	-1,62±0,66	-1,57±0,19	-1,72±0,43*
ORT-1B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	-1,58±0,20	-1,82±0,29	-1,80±0,29*
ORT-1C <sub>MAT</sub>	-1,56±0,28	-1,64±0,16	-1,66±0,35*
ORT-2A <sub>MAT</sub>	-1,28±0,15	-1,45±0,14	-1,50±0,15*
ORT-2B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	-1,52±0,16	-1,64±0,15	-1,81±0,27
ORT-3A <sub>MAT</sub>	-1,47±0,20	-1,54±0,15	-1,58±0,08
ORT-3B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	-1,59±0,14	-1,90±0,38*	-1,83±0,19
ORT-4A <sub>MAT</sub>	-1,30±0,11	-1,43±0,10*	-1,58±0,22*
ORT-4B <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	-1,62±0,18	-1,63±0,14	-1,93±0,24*

\*Signifikant niedriger als vor der Fütterung (Vorzeichentest nach Dixon und Mood, p<0,05).

Die Werte für Serum-[SIG<sub>Alb-ven</sub>] und -[SIG<sub>Pro-ven</sub>] waren außer 120 und 240min nach Fütterung von MAT und 120min nach Fütterung von ORT-1A<sub>MAT</sub> niedriger als vor der Fütterung. Die Abnahme war nach Fütterung einiger ORT statistisch signifikant für die Zeitpunkte 120 bzw. 240min nach der Fütterung.

#### 4.2.11 Visuelle Gerinnung der entnommenen Labmagingestaprobe zum Zeitpunkt 30min nach Fütterung von MAT-ORT-Gemischen



MAT    ORT-1A<sub>MAT</sub>    ORT-3A<sub>MAT</sub>    ORT-2A<sub>MAT</sub>    ORT-4A<sub>MAT</sub>    ORT-1C<sub>MAT</sub>

Abb. 39 Native Proben der Labmagingesta zum Zeitpunkt 30min nach Fütterung von MAT und in MAT zubereiteten ORT

Die Gerinnung der Labmagingestaprobe, die 30min nach der Fütterung durch die Labmagenkanüle gewonnen wurden, konnte visuell durch das Vorliegen von zwei unterschiedlichen Phasen, der flüssigen Molke sowie den festen Koagula, erkannt werden.

#### 4.2.12 Auswirkungen auf klinische Befunde

Während der Fütterungsversuche wurden keine abweichenden Befunde anhand der klinischen Untersuchung bei den drei Kälbern ermittelt. Auch die Gabe von MAT-ORT-Gemischen führte weder zu Veränderungen der Kotkonsistenz noch der Kotabsatzfrequenz.

### 4.3 Ergebnisse der Versuche zur *in vitro* Milchgerinnung

#### 4.3.1 $\text{Ca}^{2+}$ -Gehalt (mmol/l) der für die Gerinnungsmessung eingesetzten Tränken

Tab. 51  $\text{Ca}^{2+}$ -Gehalt in mmol/l in den für die Gerinnungsmessung eingesetzten Tränken

Tränke	$\text{Ca}^{2+}$ -Gehalt
Rohmilch	32
MAT	21,5
ORT-1A <sub>MAT</sub>	20
ORT-2A <sub>MAT</sub>	30,5
ORT-3A <sub>MAT</sub>	21,5
ORT-4A <sub>MAT</sub>	19,5

Der  $\text{Ca}^{2+}$ -Gehalt der Rohmilch, die für die Gerinnungsmessungen verwendet wurde, war größer als der des eingesetzten MAT. Die MAT-ORT-Gemische hatten mit Ausnahme von ORT-2A<sub>MAT</sub> einen  $\text{Ca}^{2+}$ -Gehalt, der genauso hoch war wie der im MAT bzw. etwas darunter lag. Der  $\text{Ca}^{2+}$ -Gehalt von ORT-2A<sub>MAT</sub> war fast so hoch wie der bei der Rohmilch gemessene Wert. Am niedrigsten war der  $\text{Ca}^{2+}$ -Gehalt von ORT-4A<sub>MAT</sub>.

#### 4.3.2 Prozessviskosität *in vitro* von Rohmilch, MAT und MAT-ORT-Gemischen bei enzymatischer Gerinnung und nativem pH

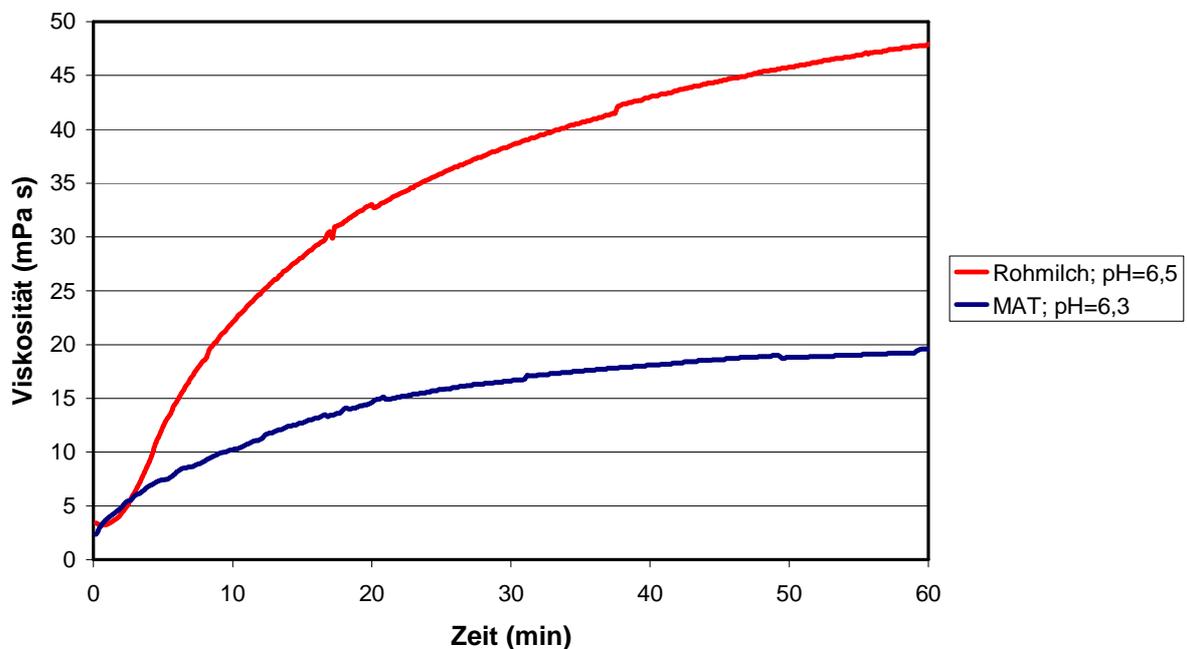


Abb. 40 Zeitabhängiger Verlauf der dynamischen Viskosität von nativer Rohmilch und nativem MAT nach Zugabe von Chymosin

Die Rohmilch erreichte bei den Gerinnungsmessungen höhere Werte für die Viskosität als der verwendete MAT. Die Viskosität stieg von 3,2 mPa s auf Werte zwischen 45 und 50 mPa s nach einem 60-minütigem Messintervall. Bei der Viskositätsmessung des MAT nach Chymosinzugabe konnten nach 60 min Werte von fast 20 mPa s detektiert werden. Der Ausgangswert für die Viskosität lag bei nativem MAT um 2,0 mPa s.

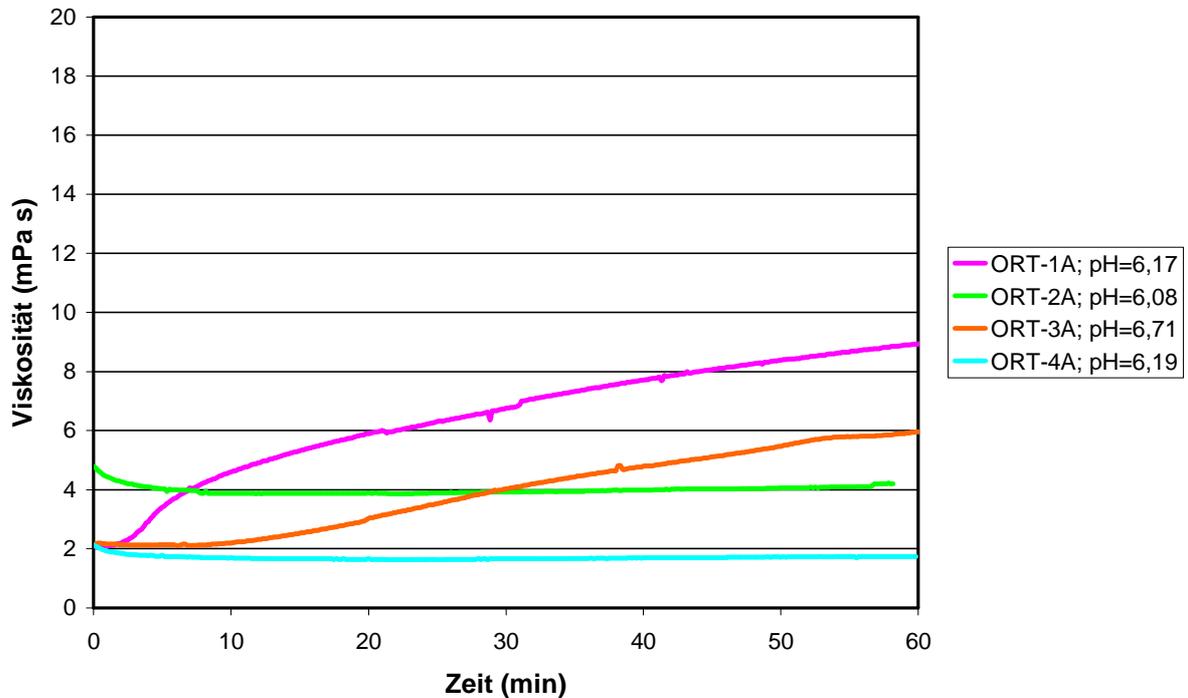


Abb. 41 Zeitabhängiger Verlauf der dynamischen Viskosität von MAT-ORT-Gemischen nach Zugabe von Chymosin

Bei der Viskositätsmessung der MAT-ORT-Gemische konnte bei zwei der untersuchten Zubereitungen eine Erhöhung der Viskosität gemessen werden. Die Viskositätswerte der MAT-ORT-Gemische lagen zu Beginn der Messungen wie bei nativem MAT um die 2,0 mPa s. Eine Ausnahme bildete ORT-2A<sub>MAT</sub>. Bei dieser Zubereitung war die Ausgangsviskosität mit Werten um 4,0 mPa s größer als bei den anderen MAT-ORT-Gemischen. Bei ORT-2A<sub>MAT</sub> und -4A<sub>MAT</sub> änderte sich die Viskosität im Verlauf der 60-minütigen Messungen im Wesentlichen nicht. Nach Chymosinzugabe nahm die Viskosität von ORT-1A<sub>MAT</sub> schnell zu und erreichte Werte bis 9,0 mPa s. Nach Beginn der Messung veränderten sich die Viskositätswerte von ORT-3A<sub>MAT</sub> erst einmal nicht. Nach etwa 10 min stiegen die Werte für die Viskosität langsam an. Nach 60 min konnten Werte um die 6,0 mPa s gemessen werden.

### 4.3.3 Prozessviskosität *in vitro* von MAT-ORT-Gemischen bei enzymatischer Gerinnung und Ansäuerung (pH ~5,5)

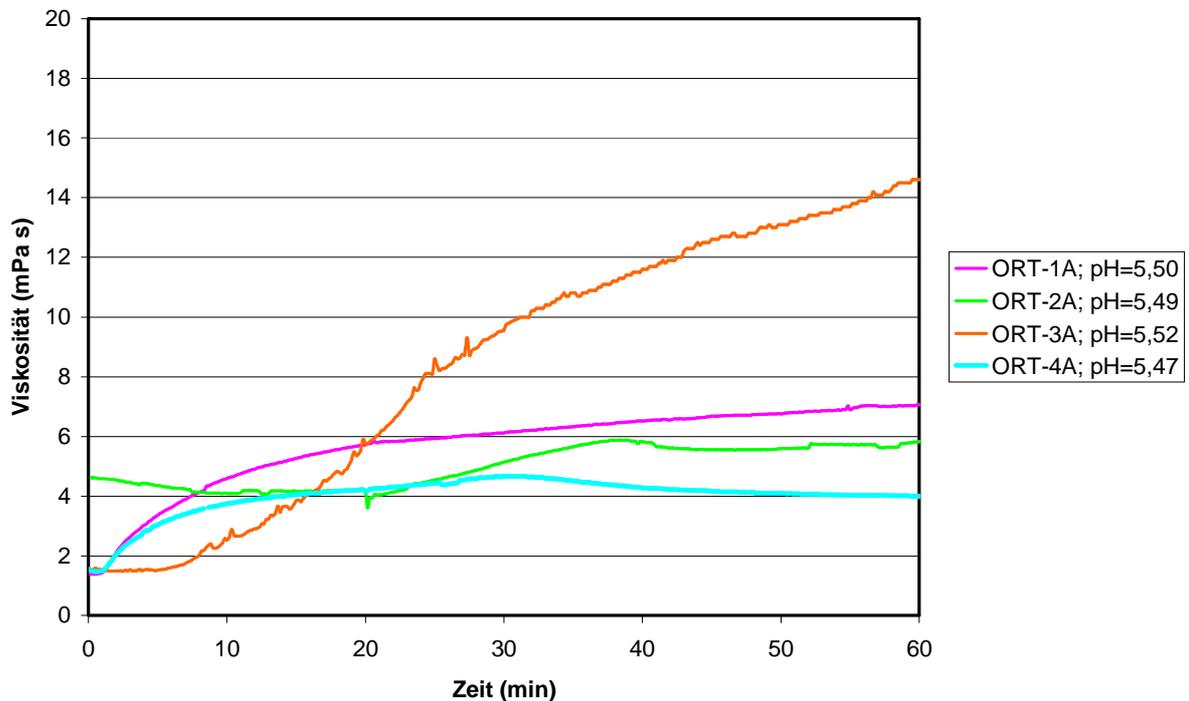


Abb. 42 Zeitabhängiger Verlauf der dynamischen Viskosität von MAT-ORT-Gemischen nach Zugabe von Salzsäure und Chymosin

Nach Zugabe von Chymosin und Salzsäure zu den MAT-ORT-Gemischen konnte bei jeder Tränke eine Erhöhung der Viskosität verzeichnet werden. Die Ausgangsviskosität lag bei  $ORT-1A_{MAT}$ ,  $-3A_{MAT}$  und  $-4A_{MAT}$  knapp unter  $2\text{mPa s}$ , bei  $ORT-2A_{MAT}$  um  $4\text{mPa s}$ . Der Kurvenverlauf von  $ORT-1A_{MAT}$  ähnelt dem der Gerinnungsmessung ohne Salzsäure. Die maximal erreichten Werte für Viskosität liegen mit  $\sim 7,0\text{mPa s}$  etwas unter des vorhergehenden Versuches. Bei  $ORT-2A_{MAT}$  konnte im Gegensatz zur Messung ohne Säurezusatz eine Zunahme der Viskosität ermittelt werden. Die Ausgangsviskosität änderte sich bis etwa zur 23. Minute nicht wesentlich. Anschließend stieg sie langsam auf Werte um  $6,0\text{mPa s}$  an. In dieser Messung mit Säurezugabe unterschied sich der Kurvenverlauf von  $ORT-3A_{MAT}$  deutlich von der vorhergehenden. Etwa 5min nach Beginn der Messung stieg die Viskosität steil an. Nach 60-minütigem Messintervall konnten Werte über  $14\text{mPa s}$  detektiert werden.  $ORT-4A_{MAT}$  zeigte nach der Ansäuerung mit Salzsäure auf pH  $\sim 5,5$  und Zusatz von Chymosin eine Erhöhung der Viskositätswerte auf  $\sim 4,0\text{mPa s}$ .

#### 4.3.4 Strukturviskosität *in vitro* von MAT und MAT-ORT-Gemischen bei Säuregerinnung

Tab. 52 Werte der Strukturviskosität\* ( $\bar{x} \pm s$ ) von MAT und MAT-ORT-Gemischen vor und nach Zugabe von Salzsäure bei  $\text{pH} \leq 4,7$

Tränke	Viskosität (mPa s) vor Säurezugabe	Viskosität (mPa s) nach Säurezugabe
MAT	1,69±0,06	5,23±0,36
ORT-1A <sub>MAT</sub>	1,78±0,07	6,35±0,66
ORT-2A <sub>MAT</sub>	4,88±0,04	7,09±0,56
ORT-3A <sub>MAT</sub>	1,66±0,08	1,57±0,10
ORT-4A <sub>MAT</sub>	1,76±0,04	4,89±0,62

\*arithmetischer Mittelwert eines 10 minütigen Messbereiches

Nach Zusatz von Salzsäure zum MAT und zu den MAT-ORT-Gemischen auf  $\text{pH} \leq 4,7$  konnten, außer bei der Messung von ORT-3A<sub>MAT</sub>, höhere Werte für die Viskosität als vor der Ansäuerung ermittelt werden.

#### 4.4 Messung des Caseinomakropeptids (CMP) in den Labmageningesta

##### 4.4.1 AUC der CMP-Peaks aus den Proben der Labmageningesta nach Fütterung von MAT und MAT-ORT-Gemischen

Tab. 53 AUC der CMP-Peaks in den Labmageningesta nach Fütterung von MAT und MAT-ORT-Gemischen ( $\bar{x} \pm s$ )

Tränke	n	AUC
MAT	6	294.955±362.455
ORT-1A <sub>MAT</sub>	8	601.257±492.178
ORT-1C <sub>MAT</sub>	5	734.510±383.110
ORT-2A <sub>MAT</sub>	5	197.657±97.245
ORT-3A <sub>MAT</sub>	5	313.259±181.974
ORT-4A <sub>MAT</sub>	5	2.360.500±1.718.060

In jeder Probe der Labmageningesta nach Fütterung von MAT-ORT-Gemischen konnte CMP mittels HPLC detektiert werden. In vier von zehn Labmageningestaprobe nach Fütterung von MAT war kein CMP nachweisbar. Die AUC-Mittelwerte der CMP-Peaks variieren stark und weisen außerdem eine hohe Standardabweichung auf. Die AUC-Werte der CMP-Peaks unterscheiden sich statistisch nicht signifikant voneinander (Mann-Whitney-U-Test).

#### 4.4.2 HPLC-Chromatogramme des MAT und der MAT-ORT-Gemische im Vergleich zu den entsprechenden Labmageningestapen zum Zeitpunkt 30min nach der Fütterung

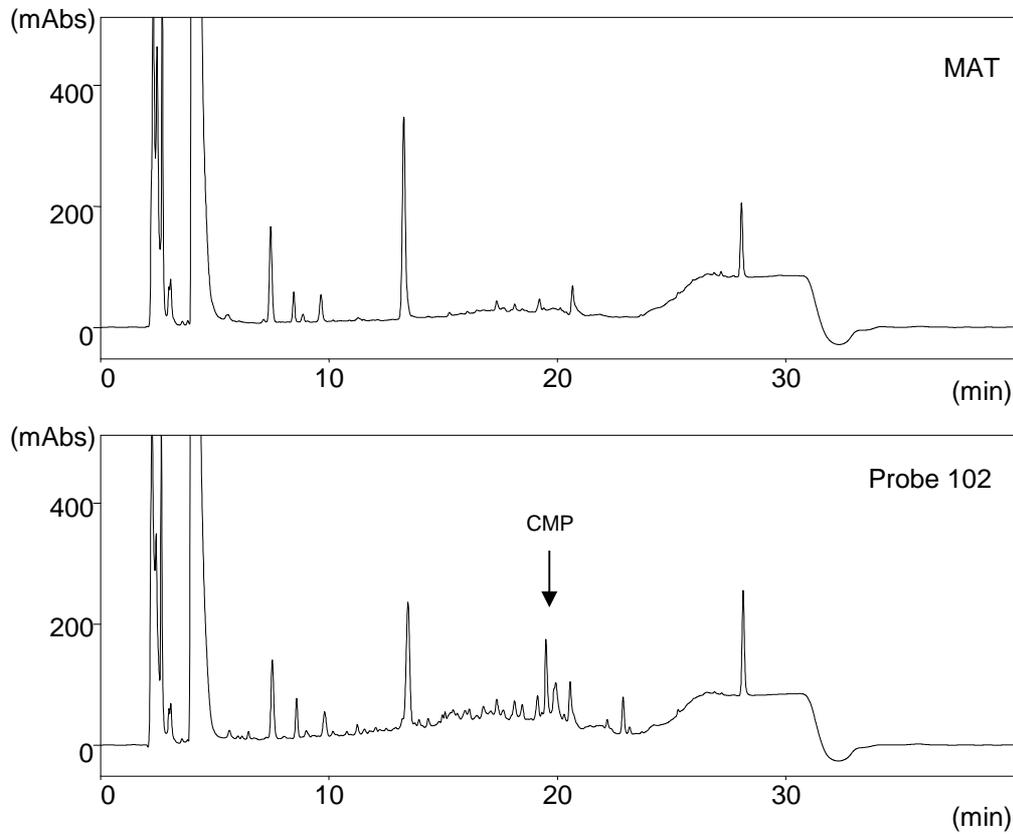


Abb. 43 HPLC-Chromatogramme des MAT und einer Labmageningestapenprobe (102) 30min nach Fütterung von MAT im Vergleich

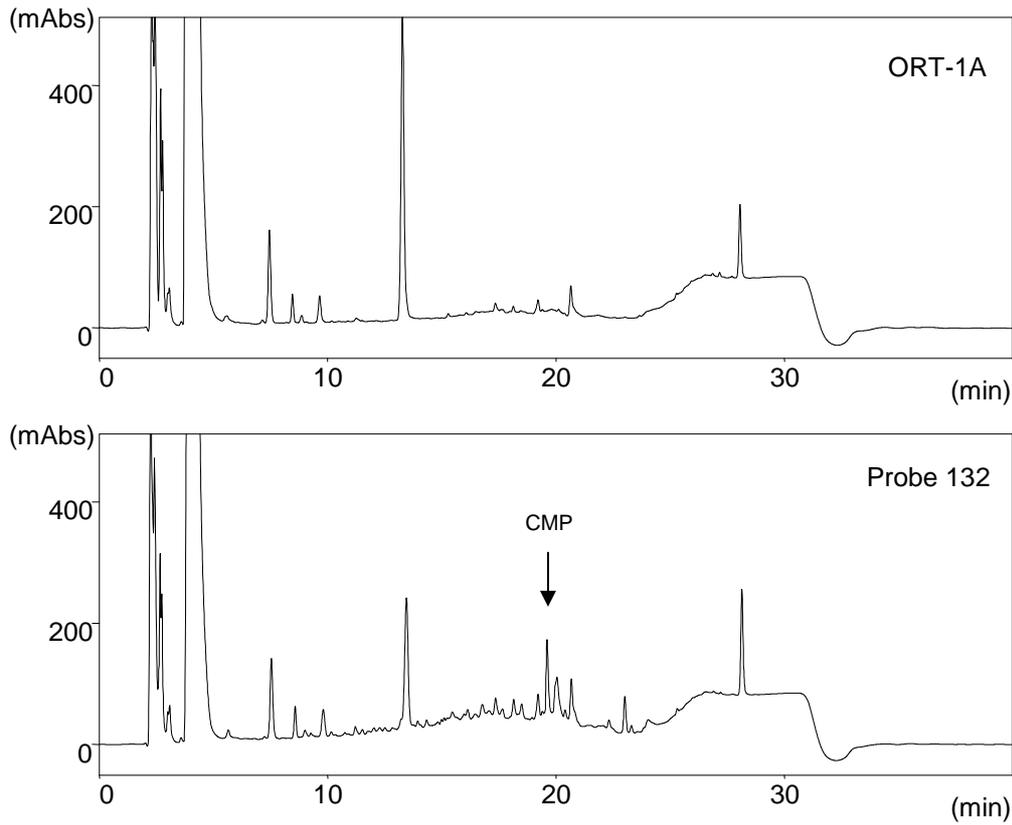


Abb. 44 HPLC-Chromatogramme von ORT-1A<sub>MAT</sub> und einer Labmagingestaprobe (132) 30min nach Fütterung von ORT-1A<sub>MAT</sub> im Vergleich

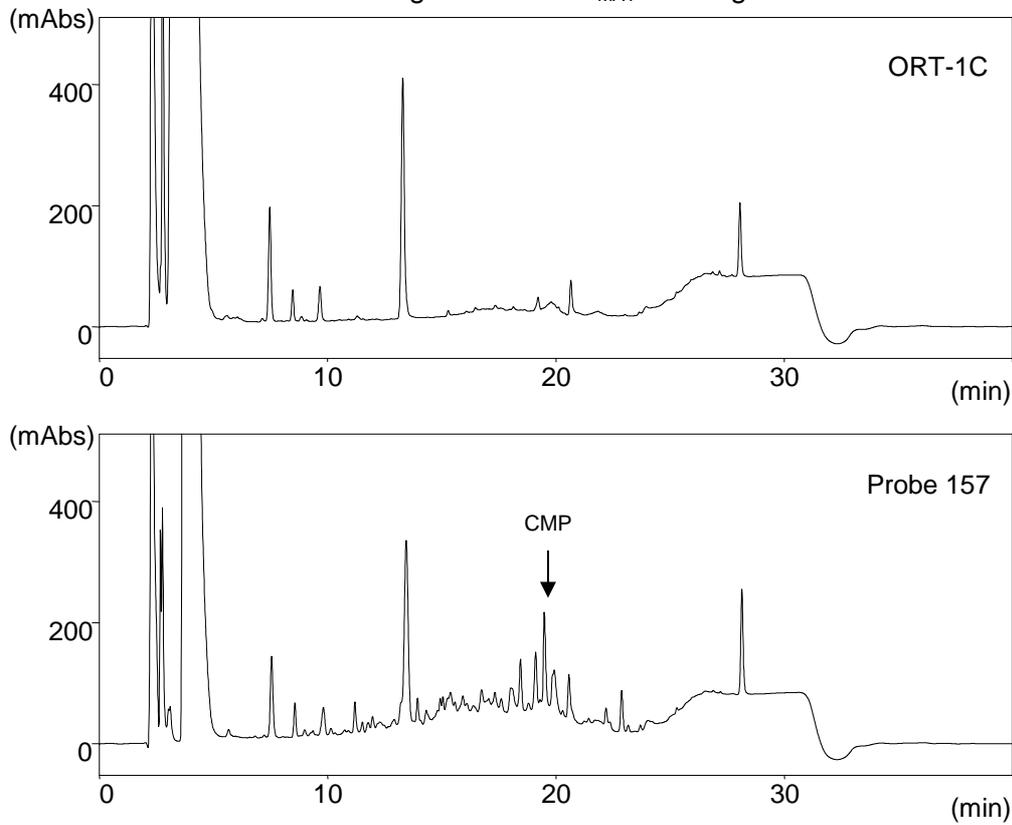


Abb. 45 HPLC-Chromatogramme von ORT-1C<sub>MAT</sub> und einer Labmagingestaprobe (157) 30min nach Fütterung von ORT-1C<sub>MAT</sub> im Vergleich

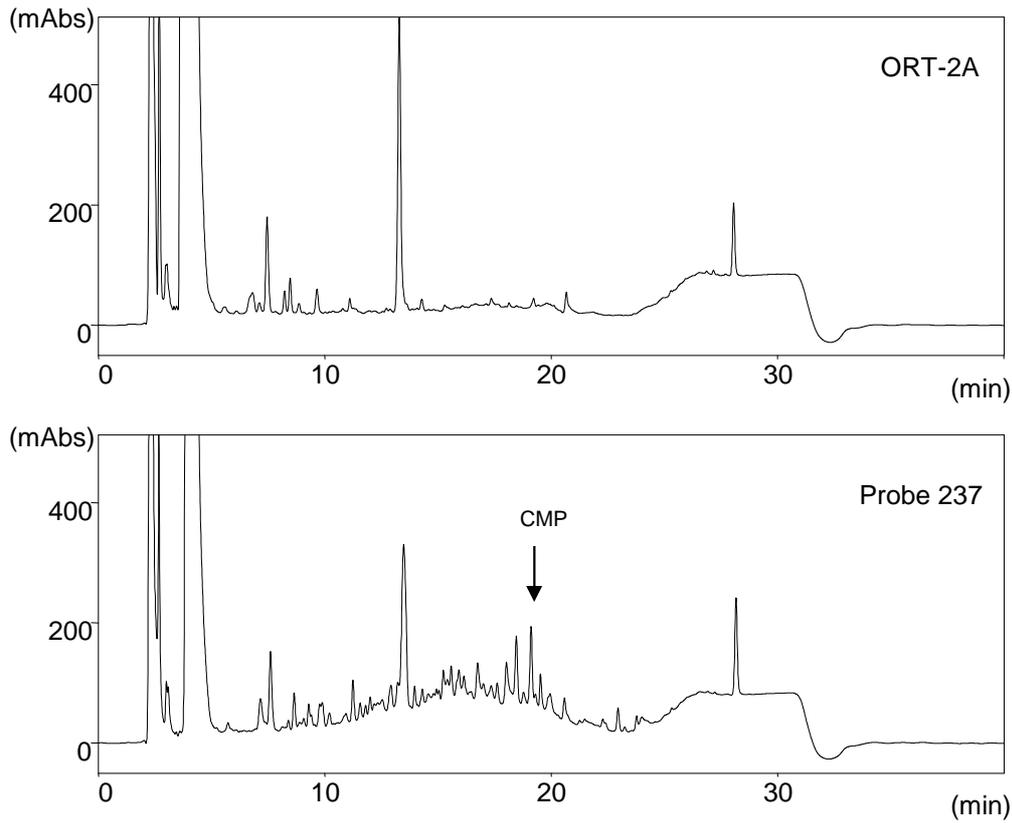


Abb. 46 HPLC-Chromatogramme von ORT-2A<sub>MAT</sub> und einer Labmageningestaprobe (237) 30min nach Fütterung von ORT-2A<sub>MAT</sub> im Vergleich

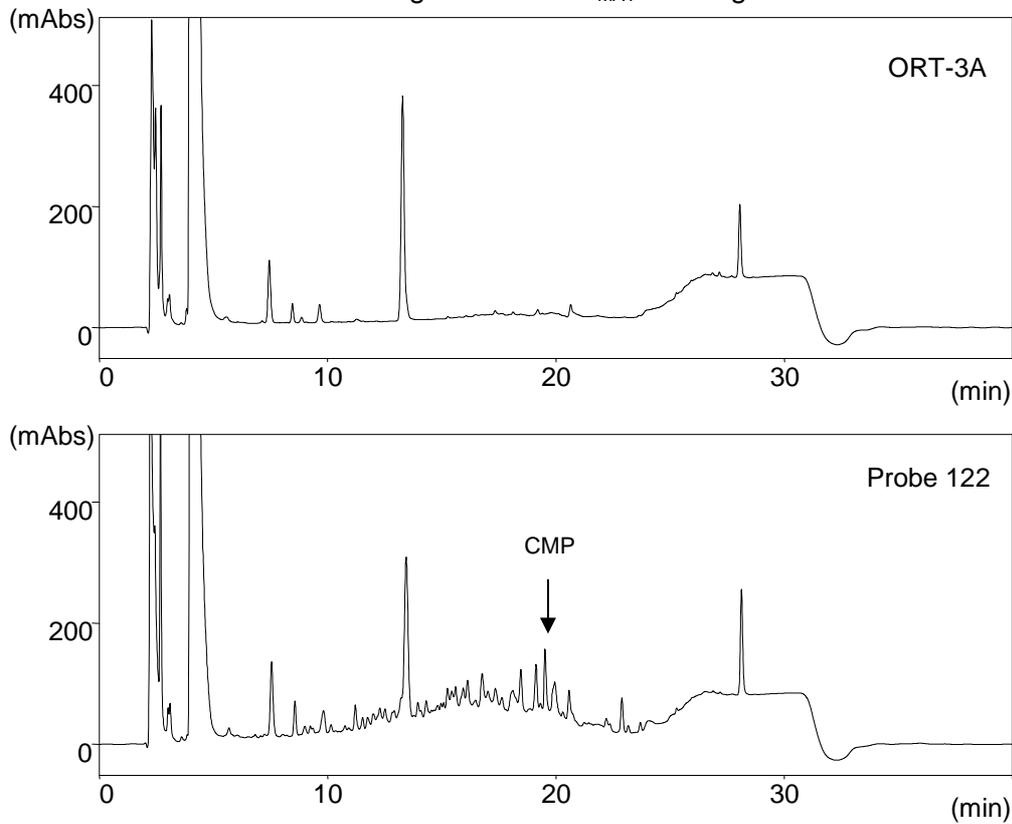


Abb. 47 HPLC-Chromatogramme von ORT-3A<sub>MAT</sub> und einer Labmageningestaprobe (122) 30min nach Fütterung von ORT-3A<sub>MAT</sub>

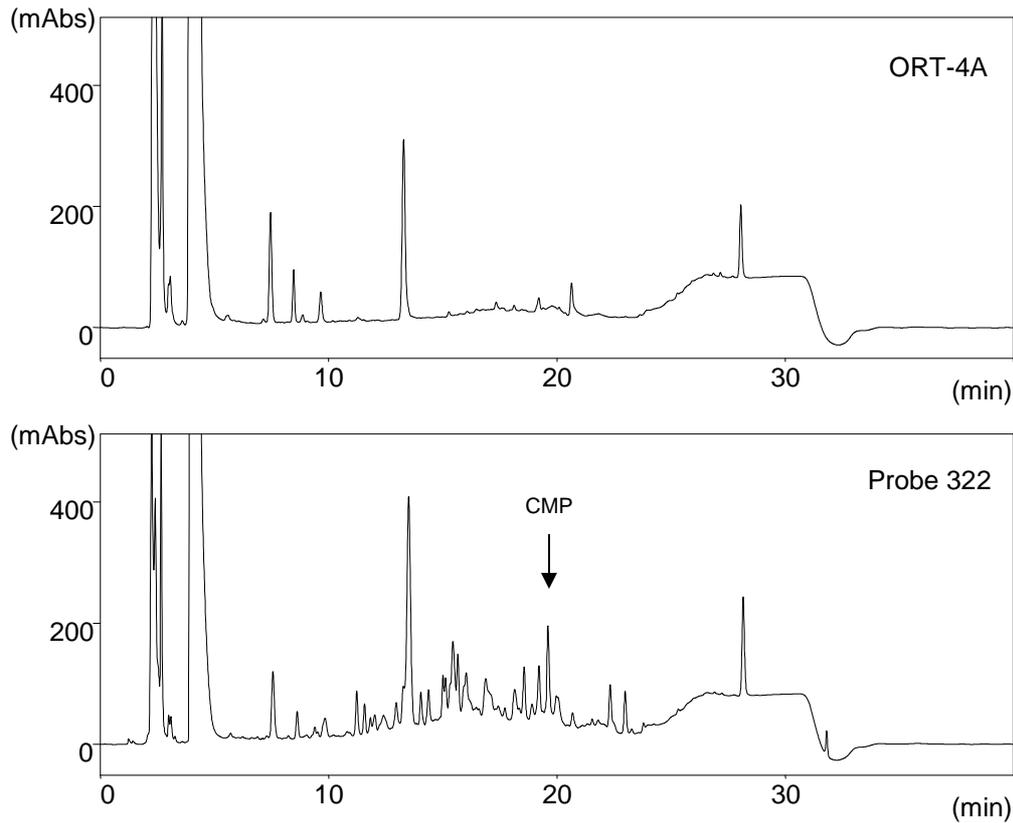
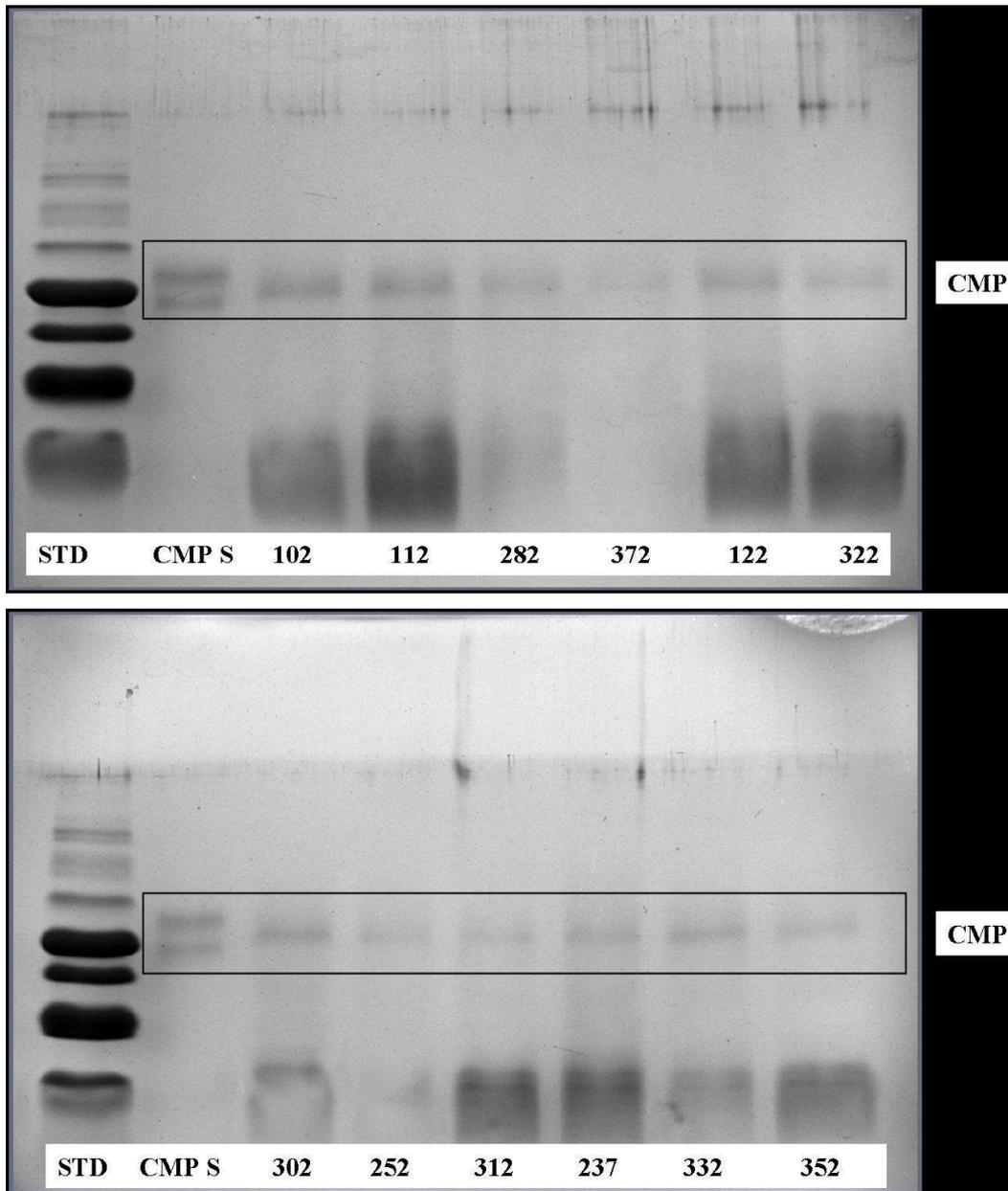


Abb. 48 HPLC-Chromatogramme von  $ORT-4A_{MAT}$  und einer Labmageningestaprobe (322) 30min nach Fütterung von  $ORT-4A_{MAT}$

In den Chromatogrammen der Labmageningestaprobten waren mehr Peptide, die einen Peak im HPLC-Chromatogramm hervorriefen, vorhanden als in den entsprechenden Tränkezubereitungen. Der CMP-Peak wurde mit einem Pfeil ( $\downarrow$ ) gekennzeichnet. Der CMP-Peak war weder im MAT noch in den MAT-ORT-Gemischen nachweisbar. Die Chromatogramme des MAT und der MAT-ORT-Gemische unterschieden sich kaum.

## 4.4.3 Ergebnisse der SDS-Page



STD= Standardpeptidmischung; CMP S= CMP-Standard (SIGMA); 102/302= Labmagingestapoben nach MAT-Fütterung; 112/252= Labmagingestapoben nach ORT-1A<sub>MAT</sub>-Fütterung; 282/312= Labmagingestapoben nach ORT-1C<sub>MAT</sub>-Fütterung; 372/237= Labmagingestapoben nach ORT-2A<sub>MAT</sub>-Fütterung; 122/332= Labmagingestapoben nach ORT-3A<sub>MAT</sub>-Fütterung; 322/352= Labmagingestapoben nach ORT-4A<sub>MAT</sub>-Fütterung

Abb. 49 Elektropherogramme von Labmagingestapoben nach Fütterung von MAT und MAT-ORT-Gemischen

In den Elektropherogrammen der Labmagingestapoben war nur eine Bande im Bereich 20kDa sichtbar. Der CMP-Standard (SIGMA) zeigte zwei Banden um die 20kDa. Alle anderen Peptide, die nach der TCA-Fällung noch in den Proben vorhanden waren, hatten geringere Molmassen. Sie waren als breite Bande unten in den Elektropherogrammen erkennbar.

#### 4.4.4 CMP-Gehalte in den Labmagingestapoben

Tab. 54 CMP-Gehalt in den Labmagingestapoben in  $\mu\text{g/ml}$  zum Zeitpunkt 30min nach Fütterung von MAT und MAT-ORT-Gemischen

Fütterung	CMP-Gehalt ( $\mu\text{g/ml}$ )
MAT	1250
ORT-1A <sub>MAT</sub>	1013
ORT-1C <sub>MAT</sub>	865
ORT-2A <sub>MAT</sub>	881
ORT-3A <sub>MAT</sub>	1048
ORT-4A <sub>MAT</sub>	946

Der CMP-Gehalt der Labmagingestapoben nach Fütterung von MAT und MAT-ORT-Gemischen, die für die Elektrophorese eingesetzt wurden, lag im Mittel um die  $1000\mu\text{g/ml}$ . Da nicht von allen Proben ein Elektropherogramm durchgeführt wurde, wurde keine statistische Auswertung vorgenommen.

## 5 DISKUSSION

### 5.1 Referenzwerte

Zur diagnostischen Interpretation der z. B. bei durchfallkranken Kälbern auftretenden Stewart-Variablen des SBS sind Kenntnisse über die Referenzbereiche der Parameter notwendig (Kaneko, 1989). Die in dieser Arbeit ermittelten Referenzwerte für die Stewart-Variablen mussten hinsichtlich ihrer Eignung zur Übertragung auf die Grundgesamtheit überprüft werden. Als Möglichkeit zur Überprüfung wurde die Formel zur Bestimmung des minimal erforderlichen Stichprobenumfangs (22) genutzt. Die Grundlage dieser Überlegungen war, dass eine normalverteilte Grundgesamtheit mit einem Mittelwert  $\gamma$  und einer Streuung  $\delta$  existiert. Für das Konfidenzintervall wurde  $\Delta=1$  festgelegt. Das heißt, dass das Mittel  $\gamma$  der Werte für  $x$  in der Grundgesamtheit bei einer gewählten Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha=0,05$  nicht mehr als eine Einheit (z. B. 1mmol/l) vom Mittelwert der gewählten Stichprobe abweichen darf. Anhand der Stichprobe von  $n=17$  klinisch gesunden und als repräsentativ angesehenen Kälbern konnte  $\bar{x}$  für das Mittel  $\gamma$  und  $s$  für die Streuung  $\delta$  geschätzt werden. Für die Berechnung wurden die Werte von den Stewart-Parametern Serum-[SID<sub>4</sub>] und -[A<sub>tot-Alb</sub>] genutzt. Die Standardabweichungen der Werte, der zu unterschiedlichen Zeiten entnommenen Proben, wurden gemittelt, so dass für [SID<sub>4</sub>]  $s=2,43$  und für [A<sub>tot-Alb</sub>]  $s=1,52$  jeweils in die Formel 22 eingesetzt wurden:

$$n_{\text{Min}} \geq \left(\frac{1,96}{1}\right)^2 \times 2,43^2 = 22,68 = 23\text{Tiere} \quad (29)$$

$$n_{\text{Min}} \geq \left(\frac{1,96}{1}\right)^2 \times 1,52^2 = 8,88 = 9\text{Tiere} \quad (30)$$

Die Ergebnisse lassen erkennen, dass für die Ermittlung der Referenzwerte für Serum-[SID<sub>4</sub>] eine größere Anzahl von Kälbern für die Erstellung von geeigneten Grenzwerten erforderlich gewesen wäre. Die Anzahl der Tiere für die Erstellung von Referenzwerten von Serum-[A<sub>tot</sub>] kann als genügend beurteilt werden. Die Eignung der ermittelten Referenzwerte ist demnach von der Standardabweichung des Parameters abhängig. Dabei ist anzumerken, dass die Antwort auf die Frage, ob Referenzbereiche geeignet sind, nicht nur auf wahrscheinlichkeitstheoretischen Überlegungen beruht (Weiß, 2005).

Zur Beurteilung der Eignung der erhobenen Referenzbereiche wurden außerdem die Mittelwerte der Stewart-Variablen der drei klinisch gesunden Kälber aus den Fütterungsversuchen hinzugezogen. Durch Vergleich der Werte der Fistelkälber für Serum-[SID<sub>3</sub>]=43,0-48,9mmol/l, Serum-[A<sub>tot-Alb</sub>]=17,3-19,2mmol/l und [A<sub>tot-Pro</sub>]=17,6-20,2mmol/l mit den entsprechenden ermittelten Referenzwerten zum Zeitpunkt 14. bzw. 28. Lebenstag konnte erkannt werden, dass diese innerhalb der Referenzbereiche lagen. Die Werte für [SIG<sub>Alb-ven</sub>]= -1,87 bis -1,22mmol/l und [SIG<sub>Pro-ven</sub>]= -1,93 bis -1,28mmol/l lagen sowohl

innerhalb als auch knapp unterhalb der ermittelten Bereiche von  $[\text{SIG}_{\text{Alb-ven}}] = -1,58$  bis  $-0,88 \text{ mmol/l}$  und  $[\text{SIG}_{\text{Pro-ven}}] = -1,47$  bis  $-0,81 \text{ mmol/l}$ .

Die für die verschiedenen Stewart-Parameter errechneten Referenzbereiche setzen die Normalverteilung der Einzelwerte voraus. Für die Stewart-Variablen Serum- $[\text{SID}_3]$ ,  $-\text{[SID}_4]$ ,  $\text{PaCO}_2$ ,  $\text{PvCO}_2$ , Serum- $[\text{A}_{\text{tot-Alb}}]$ ,  $-\text{[A}_{\text{tot-Pro}}]$  und Harn- $[\text{SID}_3]$  und die davon abgeleiteten Variablen Serum- $[\text{SIG}_{\text{Alb-art}}]$ , Serum- $[\text{SIG}_{\text{Alb-ven}}]$ , Serum- $[\text{SIG}_{\text{Pro-art}}]$  sowie Serum- $[\text{SIG}_{\text{Pro-ven}}]$  wurden mit dem Kolmogorow-Smirnow-Anpassungstest nicht signifikante  $\alpha$ -Werte ermittelt (s. Tab. 27-37, 2. Zeile). Demzufolge existieren keine Einwände für die Annahme der Normalverteilung dieser Variablen in der Grundgesamtheit (Werner, 1992).

Aufgrund der vorangestellten Betrachtungen werden die ermittelten Referenzbereiche - mit Ausnahme von Harn- $[\text{SID}_3]$  - vorläufig als repräsentativ angesehen und können zur Diagnostik von Störungen des SBS nach dem Stewart-Modell bei Kälbern genutzt werden. Um die Genauigkeit der Schätzung der Referenzbereiche zu erhöhen, sollte durch weitere Untersuchungen an klinisch gesunden Kälbern die Stichprobengröße erweitert werden.

### 5.1.1 Serum- $[\text{SID}_3]$ und $-\text{[SID}_4]$

Unter der SID verstand Stewart die Summe aller starken Kationen minus die Summe aller starken Anionen. In der vorliegenden Arbeit wurden Referenzwerte für Serum- $[\text{SID}_3] = [\text{Na}^+] + [\text{K}^+] - [\text{Cl}^-]$  und  $-\text{[SID}_4] = [\text{Na}^+] + [\text{K}^+] - [\text{Cl}^-] - [\text{Lak}^-]$  erhoben. Anhand der Liniendiagramme der Werte für Serum- $[\text{SID}_3]$  und  $-\text{[SID}_4]$  konnte eine Altersabhängigkeit ermittelt werden, die durch die statistische Auswertung bestätigt wurde. Die Serum- $[\text{SID}_3]$  bzw.  $-\text{[SID}_4]$ -Werte der Kälber  $\leq 7$ . Lebenstag sind signifikant höher als die der 14 und 28 Tage alten Individuen (s. Abb. 9 und 10 sowie Tab. 27 und 28). Aufgrund dieser Ergebnisse wurden die ermittelten Referenzbereiche folgendermaßen zusammengefasst:

Tab. 55 Referenzbereiche für Serum- $[\text{SID}_3]$  sowie  $-\text{[SID}_4]$  von Kälbern  $\leq 7$  Lebenstage und  $> 7$  Lebenstage

Parameter	Referenzbereiche	
	Kälber $\leq 7\text{d}$	Kälber $> 7\text{d}$
$[\text{SID}_3]$ (mmol/l)	45,2-55,4	43,0-51,2
$[\text{SID}_4]$ (mmol/l)	42,5-53,1	40,8-49,6

Etwas niedrigere Werte für Serum- $[\text{SID}_3] = 43 \pm 2,4$  und  $-\text{[SID}_4] = 41,1 \pm 2,7$  stammen aus einer Untersuchung von Constable *et al.* (2005b). Allerdings wurden für diese Bestimmung der  $[\text{SID}]$ -Werte nur 9 klinisch gesunde Kälber, deren Alter nicht angegeben wurde, verwendet. Adulte Rinder haben etwas niedrigere  $[\text{SID}]$ -Werte als Kälber ( $[\text{SID}_4] = 40,5 \pm 1,2 \text{ mmol/l}$ ) (Constable, 2002a), evtl. waren die von Constable beprobten Tiere deutlich älter als 28d.

In welchem Zusammenhang die beobachteten Altersunterschiede der Werte für  $[\text{SID}]$  mit den in einigen Studien ermittelten Altersabhängigkeiten (Binding *et al.*, 2000; Demigne *et al.*,

1980; Grove-White, 1996; Naylor, 1987; Tremblay, 1990), die Ausprägung und den Schweregrad der Azidose durchfallkranker Kälber  $\leq 7d$  und  $>7d$  betreffend, stehen, muss in weiteren Untersuchungen ermittelt werden.

### 5.1.2 Serum-[ $A_{\text{tot-Alb}}$ ] und -[ $A_{\text{tot-Pro}}$ ]

Die Gesamtsumme der Konzentrationen aller schwachen Säuren (Albumin, Globuline, Phosphat) wird nach dem Stewart-Modell als  $A_{\text{tot}}$  bezeichnet. Beim Menschen ist Albumin der Hauptbestandteil von  $[A_{\text{tot}}]$ . Globuline spielen eine untergeordnete Rolle (Figge *et al.*, 1991; 1992). Beim Rind weisen die Globuline eine negative Nettoladung auf (Darrow und Hartmann, 1929), deswegen ist ihre Beteiligung an  $A_{\text{tot}}$  nicht gänzlich zu verneinen (Constable, 2002a). Constable (2002a) und Constable *et al.* (2005b) ermittelten in Titrationsversuchen Werte für Serum-[ $A_{\text{tot}}$ ] von Rindern und Kälbern. Die Serum-[ $A_{\text{tot}}$ ]-Werte von Kälbern waren etwas geringer als die von Rindern, unterschieden sich statistisch aber nicht voneinander. Aus den ermittelten Serum-[ $A_{\text{tot}}$ ] wurden Faktoren für die Kalkulation dieses Parameters entwickelt, die sich an den Referenzbereichen von Serum-[Alb]=33g/l und Serum-[GE]=70g/l orientieren. Eine Voraussetzung für die Ermittlung von Serum-[ $A_{\text{tot}}$ ] durch die Serum-[Alb] oder die Serum-[GE] ist, dass der Proband eine normale Serum-[Phosphat] aufweist. Für die Serum-[ $A_{\text{tot-Pro}}$ ]-Berechnung gilt außerdem, dass das Albumin-Globulin-Verhältnis im Referenzbereich liegt. Für Serum-[ $A_{\text{tot-Alb}}$ ] wurden in der vorliegenden Studie mit zunehmendem Alter der Kälber ansteigende Werte ermittelt (s. Abb. 11 und Tab. 29). Diese Ergebnisse decken sich mit den für Serum-[Alb] ermittelten Werten anderer Autoren (Knowles *et al.*, 2000; Steinhardt *et al.*, 1993). Die Werte für Serum-[ $A_{\text{tot-Pro}}$ ] zeigten keine Altersabhängigkeit (s. Abb. 12 und Tab. 30) und gleichen denen von Constable *et al.* ermittelten  $[A_{\text{tot}}]$ -Werten. Ab dem 14. Lebensstag waren keine statistischen Unterschiede zwischen Serum-[ $A_{\text{tot-Alb}}$ ] und -[ $A_{\text{tot-Pro}}$ ] mehr gegeben, so dass ab diesem Zeitpunkt die Bestimmung von  $[A_{\text{tot}}]$  sowohl aus Serum-[GE] wie aus Serum-[Alb] möglich scheint. Betrachtet man das Albumin-Globulin-Verhältnis der Probanden, erfährt obige Schlussfolgerung weitere Unterstützung, da zum Zeitpunkt 14. Lebensstag der Albumin-Globulin-Quotient annähernd in den Referenzbereichen lag, die in entsprechender Fachliteratur angegeben werden (Kaneko, 1989; Kraft und Dürr, 2005; Rosenberger, 1990; Smith, 2002). Die Serum-[Phosphat] der herangezogenen Kälber befand sich über den gesamten Untersuchungszeitraum in den für Kälber angegebenen Referenzbereichen (Kraft und Dürr, 2005; Rosenberger, 1990) (s. Abb. 17). Die durch Titrationsversuche von Constable für Serum-[ $A_{\text{tot}}$ ] ermittelten Werte bei Kälbern waren 19,2-23,1mmol/l.  $[A_{\text{tot}}]$ -Werte in dieser Größenordnung konnten anhand der durchgeführten Berechnung mit [Alb] erst ab dem 14. Lebensstag ermittelt werden, obwohl in den eigenen Untersuchungen Serum-[ $A_{\text{tot-Alb}}$ ] mit dem etwas höheren Faktor 0,76 statt 0,622 berechnet wurde. Ein Problem in der Berechnung von  $[A_{\text{tot}}]$  beim Kalb ist, dass sich die Berechnungsfaktoren an den

Referenzwerten orientieren, die für adulte Rinder gelten. Es stellt sich also die Frage, wie hoch ist Serum-[A<sub>tot</sub>] bei Kälbern mit ≤7 Lebenstagen? Dies lässt sich mit den Untersuchungsergebnissen dieser Arbeit nicht eindeutig festlegen. Bei der weiteren Bearbeitung des Stewart-Modells beim Kalb sollten die Einflüsse von Albumin, Phosphat und Globulinen auf [A<sub>tot</sub>] weiter geklärt werden. Nur so scheint eine genauere Betrachtung von Serum-[A<sub>tot</sub>] bei Kälbern möglich zu sein.

### 5.1.3 PaCO<sub>2</sub> und PvCO<sub>2</sub>

Anhand des PCO<sub>2</sub> kann die respiratorische Komponente des SBS beurteilt werden. Die in dieser Untersuchung ermittelten Referenzbereiche für PaCO<sub>2</sub> und PvCO<sub>2</sub> bei Kälbern lagen im Bereich der in entsprechender Fachliteratur angegebenen Werte für das adulte Rind. Die Schwankungsbreite war etwas größer. Die Werte für PvCO<sub>2</sub> lagen erwartungsgemäß im Durchschnitt 1,0-1,6kPa über denen für PaCO<sub>2</sub>. Es konnte keine Altersabhängigkeit der Werte nachgewiesen werden (s. Abb. 13 und 14 sowie Tab. 31 und 32).

### 5.1.4 Harn-[SID<sub>3</sub>]

Die Streuung der für Harn-[SID<sub>3</sub>] ermittelten Werte ist erheblich größer als die der entsprechenden Serumparameter (s. Abb. 15). Am 1. und 28. Lebenstag unterscheiden sich arithmetischer Mittelwert und Median deutlich voneinander (s. Tab. 33). Aufgrund dieser Resultate können die Werte für Harn-[SID<sub>3</sub>] nicht als repräsentativ angesehen werden, sondern geben Anlass für weitere Untersuchungen mit einem größeren Stichprobenumfang, da die Bestimmung der Harn-[SID<sub>3</sub>] evtl. die Diagnostik des SBS verbessern könnte (Constable, 2007; Gattinoni *et al.*, 2006a).

### 5.1.5 Serum-[SIG]

Zur Identifikation von starken Anionen im Serum, die routinemäßig nicht bestimmt werden bzw. gegenwärtig noch nicht gemessen werden können, wurde die SIG entwickelt. Sie setzt sich aus der Differenz der ungemessenen starken Kationen und Anionen zusammen und soll im Gegensatz zur AG unabhängig von [Alb], [Phosphat] und [Globulinen] sein (Kellum *et al.*, 1995). Die Werte für Serum-[SIG] der unterschiedlich alten Kälber streuten sehr gering. Die aus [A<sub>tot-Alb</sub>] ermittelten Werte Serum-[SIG<sub>Alb-art</sub>] und -[SIG<sub>Alb-ven</sub>] verhielten sich entgegengesetzt zu Serum-[A<sub>tot-Alb</sub>]. Sie nahmen im Laufe der Probenahmen niedrigere Werte an. Die aus [A<sub>tot-Pro</sub>] berechneten Varianten blieben über den Zeitraum der Probenentnahmen auf dem gleichen Niveau. Zwischen den Berechnungen anhand der venösen und arteriellen pH-Werte ergaben sich keine signifikanten Unterschiede, so dass für die [SIG]-Bestimmung venöses Blut ausreichend erscheint. Aufgrund der oben angeführten Schwierigkeiten in der Ermittlung von [A<sub>tot</sub>] ist die hier benutzte Berechnung von [SIG] noch mit Mängeln behaftet. Trotz dieser Unzulänglichkeit sollte die Berechnung der [SIG] benutzt

werden, da diese in der Detektion von ungemessenen Ionen der traditionellen AG überlegen ist (Constable *et al.*, 1998; Kellum, 2003; 2007; Story *et al.*, 2001). Dies erscheint vor allem zur Diagnostik der D-Laktazidose durchfallkranker Kälber sinnvoll zu sein (Constable *et al.*, 2005b). Da die Streuung der hier ermittelten Werte sehr gering war, sollte ein Referenzbereich, der für alle Berechnungsvarianten der [SIG] gilt, etwas weiter gefasst werden, z. B. von 0 bis -2mmol/l. Diese Überlegung deckt sich mit den Ergebnissen der Werte für Serum-[SIG] der drei klinisch gesunden Kälber mit Labmagenfistel, die etwas unterhalb der entsprechenden Referenzbereiche lagen (s. Tab. 49 und 50).

### 5.1.6 Berechnung des pH-Wertes im Blut anhand der Stewart-Variablen

Anhand der Kalkulation des Blut-pH aus den Stewart-Variablen konnte gezeigt werden, dass die Stewart-Variablen entscheidenden Einfluss auf den SBS besitzen bzw. allein den Blut-pH bestimmen. Die berechneten pH-Werte lagen nur 0,063-0,158 Einheiten über den gemessenen Ergebnissen (s. Tab. 38). Diese relativ geringen Abweichungen sind allerdings wichtig, da der Blut-pH in sehr engen Grenzen reguliert wird. Die Berechnung des Blut-pH stellt somit keinen Ersatz für die Blut-pH-Messung dar. Der berechnete Blut-pH war in jedem Fall höher als der gemessene Wert. Dies ist als systematischer, stets gleich wiederkehrender Fehler zu werten, der in der Ungenauigkeit der Bestimmung der Stewart-Variablen begründet liegt. Gleicher Ansicht ist Constable (2002a), der die Abweichungen des berechneten vom gemessenen Blut-pH vor allem auf die nicht exakte Bestimmung von [SID] zurückführt, aber auch einräumt, dass seine Methode der  $[A_{\text{tot}}]$ -Berechnung für Kälber Unzulänglichkeiten aufweisen könnte.

#### Zusammenfassung

Die in dieser Arbeit ermittelten Referenzbereiche werden mit Ausnahme der Harn-[SID<sub>3</sub>] als repräsentativ angesehen und können für die Interpretation der Stewart-Parameter von Kälbern genutzt werden. Ohne Antwort gebliebene Fragen, vor allem die Berechnung von  $[A_{\text{tot}}]$  beim Kalb betreffend, sollten in weiteren Untersuchungen geklärt werden.

## 5.2 Luminale Bedingungen des Kälberlabmagens nach Fütterung von MAT, MAT-ORT-Gemischen und Wasser-ORT-Gemischen

### 5.2.1 Abomasaler pH-Wert

Die nüchtern gemessenen pH-Werte in den Labmagingesta werden im Mittel mit pH~2,0 angegeben, vereinzelt sollen auch Werte von <1,0 auftreten (Ahmed *et al.*, 2001; 2002a; 2002b; 2005; Constable *et al.*, 2005a; 2006; Williams *et al.*, 1976). Diese Werte konnten in den eigenen Untersuchungen bestätigt werden. Die pH-Werte, die vor der Fütterung gemessen wurden, lagen bei  $2,13 \pm 1,03$ . Die Nüchternwerte vor der Morgenfütterung mit der

für die Kälber längeren Nahrungskarenz von 9½h waren  $1,83 \pm 0,86$  (s. 4.2.9). Die Ausgangswerte des pH wurden fütterungsabhängig frühestens 60min nach Nahrungsaufnahme (ORT-4B<sub>H2O</sub>) wieder erreicht. Bei ORT-1B<sub>H2O</sub> und -3B<sub>H2O</sub> konnten nach 2h, bei ORT-2B<sub>H2O</sub> nach 3h wieder die Nüchternwerte des pH gemessen werden. Nach MAT-Fütterung betrug die abomasale basische pH-Wert-Auslenkung 4h. Nach Fütterung von ORT-4A<sub>MAT</sub> wurden die Nüchternwerte des abomasalen pH früher erreicht als nach Fütterung der anderen MAT-ORT-Gemische (s. Abb. 18-27). Vor der Nachmittagsfütterung, also 5,5-6h nach der Morgenfütterung, konnten die Ausgangswerte des abomasalen pH wieder gemessen werden ( $\text{pH}=2,41 \pm 1,1$ ). Die Ergebnisse bestätigen die Untersuchungen von Ahmed *et al.* (2002b), dass bei einer häufigeren als dreimaligen Fütterung (=wie unter natürlichen Bedingungen gegeben) und unter Beibehaltung der täglichen Tränkemenge das Niveau der Nüchtern-pH-Werte höher ist und die postprandialen pH-Wert-Auslenkungen weniger deutlich ausfallen. Der niedrigste pH, der in den Labmagingesta in den eigenen Untersuchungen gemessen wurde, betrug  $\text{pH}=0,62$ . Diese Beobachtung stützt die These, dass die „moderne“ Kälberfütterung, d. h. niedrigere Fütterungsfrequenz und damit auch evtl. rationierte Tränkemenge im Vergleich zur Aufzucht beim Muttertier, die Entstehung von Labmagengeschwüren beim Kalb begünstigen kann (Ahmed *et al.*, 2002b). Andererseits stellt ein niedriger abomasaler pH-Wert eine Säurebarriere für Mikroorganismen dar und soll die Inzidenz und den Schweregrad der neonatalen Kälberdiarrhoe vermindern (Jaster *et al.*, 1990).

Nach Fütterung von MAT stieg der abomasale pH-Wert auf  $5,19 \pm 0,67$  ( $\text{AUC}=937 \pm 200$ ) an (s. Abb. 18). In dieser Hinsicht gleiche Befunde erzielten Constable *et al.* (2005a) und Williams *et al.* (1976). Wie die Studie von Constable *et al.* außerdem zeigt, ist die abomasale pH-Wert-Auslenkung nach Fütterung von MAT größer als nach Fütterung von Milch. Vergleicht man die in den eigenen Untersuchungen gefundene pH-Wert-Auslenkung nach MAT-Fütterung mit denen von Reinhold (2007) nach Milchfütterung, können die Ergebnisse von Constable *et al.* bestätigt werden. Nach Milchfütterung stiegen in der Studie von Reinhold die Werte auf  $\text{pH}=4,7 \pm 0,41$  ( $\text{AUC}=912 \pm 75$ ). Constable *et al.* (2005a) führen die höhere pH-Wert-Auslenkung in den Labmagingesta nach MAT-Fütterung auf die fehlende Gerinnbarkeit des in seiner Studie eingesetzten MAT zurück. Molke, die bei der Milchgerinnung entsteht, hat einen niedrigeren pH als Milch. Diese Erklärung für die höhere abomasale pH-Auslenkung nach Fütterung von MAT als nach Fütterung von Milch kann für die eigene Untersuchung nicht gelten, da der verfütterte MAT Gerinnung zeigte.

Nach Fütterung von MAT-ORT-Gemischen stieg der pH in den Labmagingesta postprandial auf höhere Werte als nach alleiniger MAT-Fütterung (s. Abb. 19-27). Die AUC der pH-Zeit-Kurve war mit Ausnahme der von ORT-4A<sub>MAT</sub> für alle in MAT gelösten ORT signifikant größer als die AUC der pH-Zeit-Kurve von MAT (s. Tab. 40). Dabei ist es

bemerkenswert, dass nicht von dem pH-Wert der verabreichten Tränke auf die pH-Wert-Auslenkung in den Labmagingesta geschlossen werden konnte. So wies z. B. der MAT einen pH-Wert von 6,3 und  $ORT-1C_{MAT}$ , nach deren Fütterung die stärkste basische abomasale Auslenkung mit  $AUC=1297\pm 26$  gemessen wurde, einen pH-Wert von 6,0 auf. Auch die in den ORT verwendete Puffersubstanz hatte keinen Einfluss auf die postprandiale Entwicklung des pH in den Labmagingesta. Diese Beobachtung bestätigt die Ergebnisse von Reinhold *et al.* (2006), wonach nicht allein vom  $HCO_3^-$ -Gehalt einer ORT eine Aussage über das Ausmaß der postprandialen pH-Wert-Auslenkung im Labmagen getroffen werden kann. Dagegen bestand ein Zusammenhang zwischen der  $[SID_3]$  in den Tränken und den postprandial auftretenden pH-Wert-Auslenkungen im Labmagen (s. Tab. 41). Die Korrelation nach Pearson zwischen  $[SID_3]$  in den Tränken und der AUC der korrespondierenden pH-Zeit-Kurven in den Labmagingesta war mit  $r_s=0,674$  und  $p<0,01$  signifikant. Das heißt, je höher die  $[SID_3]$ -Werte in den Tränken sind, desto höher ist die Auslenkung des pH-Wertes in den Labmagingesta. Milch hat eine durchschnittliche  $[SID_3]=31\text{mmol/l}$  (Kolb, 1989). Diese Tatsache kann erklären, warum die durchschnittlich erreichten pH-Werte nach Milchfütterung in der Untersuchung von Reinhold (2007) geringer waren als nach Fütterung des in der eigenen Untersuchung eingesetzten MAT ( $[SID_3]=42\text{mmol/l}$ ).

Die relativ hohen pH-Werte, die nach Fütterung von MAT-ORT-Gemischen in den Labmagingesta gemessen wurden, hatten keine Veränderungen in der Kotkonsistenz sowie -absatzfrequenz der Kälber zur Folge. Inwieweit niedrigere pH-Werte die Entstehung von Durchfallerkrankungen verhindern können, kann anhand der Ergebnisse nicht beurteilt werden. Allerdings scheinen höhere abomasale pH-Werte als nach Milchfütterung das Auftreten von Diarrhoe bei gesunden Kälbern nicht herbeiführen zu können.

Nach Fütterung von  $ORT-2B_{H_2O}$  wurden ähnliche AUC-Werte wie nach der MAT-Fütterung erzielt ( $904\pm 181$ ). Für diese hohe pH-Wert-Auslenkung nach Fütterung einer in Wasser gelösten ORT können die quellenden Inhaltsstoffe und die höhere Osmolalität von  $ORT-2B_{H_2O}$  verantwortlich gemacht werden. Diese Schlussfolgerung erfährt Unterstützung durch die Untersuchungen von (Sen *et al.*, 2006), wonach hypertone Lösungen ( $>300\text{mosmol/l}$ ) länger im Labmagen verweilen als isotone. Die AUC der pH-Zeit-Kurve der anderen drei untersuchten Wasser-ORT-Gemische lag deutlich unterhalb der AUC nach MAT-Fütterung, dies war statistisch signifikant für  $ORT-3B_{H_2O}$  und  $-4B_{H_2O}$ , deren  $[SID_3]$  mit 49 bzw. 31mmol/l geringer war als die der beiden anderen wasserbasierten ORT (74 bzw. 77mmol/l). In der statistischen Auswertung konnten signifikante Unterschiede für die AUC der pH-Zeit-Kurve nach wasser- bzw. MAT-basierter Tränkung festgestellt werden (s. 4.2.3). Ein außer der erhöhten Osmolalität weiterer Grund für eine längere Verweildauer im Labmagen ist eine hohe Energiedichte der Nahrung (Nouri und Constable, 2006). Der Energiegehalt der in Wasser zubereiteten ORT ist niedriger als der der MAT-ORT-Gemische. Die geringere AUC

nach Fütterung der Wasser-ORT-Gemische ergibt sich aus der abgesenkten Höhe und verkürzten zeitlichen Dauer der pH-Wert-Auslenkung in den Labmagingesta. In Untersuchungen von Marshall *et al.* (2004) konnte dargestellt werden, dass der Verlauf der abomasalen pH-Werte Erkenntnisse über die Entleerung des Labmagens liefert. Anhand der geringeren Auslenkung des pH-Wertes in den Labmagingesta nach Fütterung von Wasser-ORT-Gemischen ist demnach die Schlussfolgerung zulässig, dass die abomasale Passage der Ingesta nach Gabe dieser Zubereitungen verkürzt ist. Die oral zugeführten Elektrolyte werden bekanntlich erst im Dünndarm aktiv absorbiert und nehmen auf diesem Weg das Wasser osmotisch in den Blutkreislauf der Tiere mit. Dies ist der gewünschte Behandlungseffekt von ORT, wodurch die Dehydratation der durchfallkranken Kälber bekämpft wird (Nappert *et al.*, 1997). Durch die kürzere abomasale Transitzeit können die wirksamen Inhaltstoffe der ORT schneller im Dünndarm absorbiert werden (Sen *et al.*, 2006). Dies erscheint für die Rehydratation der Durchfallkälber vorteilhaft.

### 5.2.2 Osmolalität in den Labmagingesta

Durch die Osmolalität in den Ingesta wird u. a. die Entleerung des Labmagens reguliert (Constable *et al.*, 2006). In Untersuchungen von Bell und Razig (1973) und Sen *et al.* (2006) wurde die abomasale Entleerungsrate nach Gabe hypertoner Lösungen gesenkt. Anhand der pH-Zeit-Kurve in den Labmagingesta nach Fütterung der hypertonen ORT-MAT-Gemische und ORT-2B<sub>H<sub>2</sub>O</sub> war erkennbar, dass die Labmagenentleerung verzögert stattgefunden hat. Nach Fütterung der hypertonen Tränken erfolgte je nach Osmolalität der entsprechenden Zubereitung ein Anstieg der Osmolalität in den Labmagingesta (s. Tab. 43). Nach Gabe des isotonen MAT (287mosmol/kg) war ebenfalls ein Anstieg der Osmolalität zu verzeichnen. Diese Beobachtung gleicht den Ergebnissen der Untersuchung von Ash (1964) an Kälbern, deren Osmolalität in den Ingesta nach Gabe von Milch leicht anstieg und nach etwa 2h wieder abnahm. Der Anstieg der Osmolalität nach MAT-Fütterung kann durch die beginnende proteolytische Aktivität von Chymosin und Pepsin erklärt werden. Die Osmolalität wird allein von der Anzahl der Moleküle (=osmotisch wirksame Teilchen) pro Masseinheit (z. B. kg) bestimmt. Mit einsetzender Spaltung der Proteine durch die Endopeptidasen nimmt die Anzahl der Moleküle in den Ingesta zu, d. h. die Osmolalität steigt an.

### 5.2.3 [SID<sub>3</sub>]-Werte in den Labmagingesta

In den Untersuchungen von Williams *et al.* (1976) wurden die [Na<sup>+</sup>], [K<sup>+</sup>] und [Cl<sup>-</sup>] im abomasalen Sekret bei pH=1,6 ermittelt. Aus den Werten ergibt sich eine [SID<sub>3</sub>] von -70mmol/l. In den Untersuchungen von Reinhold (2007) wurden ähnliche Nüchternwerte der Elektrolyte gemessen. Die präprandialen Werte in den eigenen Untersuchungen lagen mit [SID<sub>3</sub>]= -28,5±20,6 höher. Die [SID<sub>3</sub>]-Werte in den Labmagingesta waren vor der Morgen-

etwas höher als vor der Nachmittagsfütterung ( $-24,5 \pm 17,5$  und  $-32,0 \pm 22,8$ ). Diese negativen  $[\text{SID}_3]$ -Werte sind das Ergebnis des im nüchternen Zustand quantitativ überwiegenden Anteils an  $\text{Cl}^-$ -Ionen durch die gastrale  $\text{HCl}$ -Sekretion in Relation zu den geringer vorhandenen  $\text{Na}^+$ - und  $\text{K}^+$ -Ionen. Durch die Gabe der Tränken mit einer positiven  $[\text{SID}_3]$  stiegen die Werte für die abomasale  $[\text{SID}_3]$  durchschnittlich auf  $48,7 \pm 33,2$  an. Je nach Höhe der  $[\text{SID}_3]$  in den Tränken fiel der Anstieg der  $[\text{SID}_3]$  in den Labmagingesta unterschiedlich hoch aus. Nach Fütterung von  $\text{ORT-1C}_{\text{MAT}}$  ( $[\text{SID}_3]=189\text{mmol/l}$ ) wurden maximale Werte für  $[\text{SID}_3]$  in den Labmagingesta von  $>100\text{mmol/l}$  gemessen. Der geringste Anstieg der abomasalen  $[\text{SID}_3]$ -Werte erfolgte nach Fütterung von  $\text{ORT-4B}_{\text{H}_2\text{O}}$  ( $[\text{SID}_3]=31\text{mmol/l}$ ) (s. Abb. 28-37). Zwischen den Ergebnissen für  $[\text{SID}_3]$  in den Labmagingesta und den korrespondierenden pH-Werten ergab sich eine signifikante Korrelation ( $r_s=0,824$ ,  $p<0,01$ ) (s. Tab. 44). Diese Beobachtung unterstreicht die Bedeutung des Parameters  $[\text{SID}_3]$  für die Einstellung des abomasalen pH-Wertes bei Kälbern.

### Zusammenfassung

In Abhängigkeit von der  $[\text{SID}_3]$  der Nahrung wird der pH-Wert im Labmagen bei Kälbern eingestellt. Wasser-ORT-Gemische passieren aufgrund ihrer geringeren Osmolalität und Energiedichte den Labmagen in kürzerer Zeit und gelangen so schneller an den Ort ihrer Absorption, den Dünndarm.

## 5.3 Einfluss der ORT auf die Milchgerinnung *in vitro* und *in vivo*

### 5.3.1 Enzymatische Milchgerinnung *in vitro*

Wie die eigenen und die Untersuchungen anderer Autoren zeigen, können ORT die Milchgerinnung *in vitro* stören bzw. verhindern. Die stattgefundenen Gerinnung wurde durch den Anstieg der Viskositätswerte nach Zugabe von Chymosin quantifiziert. Die Viskosität des Caseingerüstes mit eingelagerter Molke war bei der enzymatischen Gerinnung von Rohmilch wesentlich höher als bei der Gerinnung des MAT (s. Abb. 40). Ursache hierfür könnte die Hitzebehandlung der Milchproteine in der Herstellung des MAT sein. Die Hitzebehandlung von Milchproteinen beeinflusst vor allem die Sekundärphase der Milchgerinnung (Fox *et al.*, 1996). Die enzymatische Aktivität von Chymosin wird also nicht behindert. Bei den nativen pH-Werten zwischen 6,1 und 6,7 zeigten zwei der vier geprüften MAT-ORT-Gemische Gerinnung in Form ansteigender Viskositätswerte (s. Abb. 41). Im Gegensatz zu den Untersuchungen von Nappert und Spennick (2003) und Naylor (1992) hatte die propionathaltige  $\text{ORT-2A}_{\text{MAT}}$  trotz der im Vergleich zum MAT erhöhten  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration einen störenden Einfluss in Bezug auf die Caseinausfällung. Die Beeinflussung der Milchgerinnung stand vermutlich nicht in ursächlichem Zusammenhang mit der enthaltenen Puffersubstanz, sondern war den anderen enthaltenen Inhaltsstoffen, wie Probiotika,

Blutwurz-, Kamille-, Anis- und Fenchelpulver sowie Reisquellmehl geschuldet. Letzteres dürfte auch für die höhere Ausgangsviskosität von ORT-2A<sub>MAT</sub> verantwortlich sein. Eine Diskrepanz zu den Untersuchungen von Nappert und Spennick (2003) und Naylor (1992) bestand auch in Bezug auf die bikarbonathaltige ORT-3A<sub>MAT</sub>, die Gerinnung zeigte, obwohl sie eine  $[\text{HCO}_3^-] > 40 \text{ mmol/l}$  aufwies. Die citrathaltige ORT-4A<sub>MAT</sub> verhinderte bei unverändertem pH die Caseinausfällung *in vitro*. Dieses Ergebnis bestätigt die Ergebnisse der anderen Autoren. Ursache für das Ausbleiben der Milchgerinnung könnte die Bildung von Calciumchelaten sein. Dadurch stehen die für die Milchgerinnung unbedingt erforderlichen  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen nicht mehr zur Verfügung. Die ORT-4A<sub>MAT</sub> hatte mit  $19,5 \text{ mmol/l}$  den niedrigsten  $\text{Ca}^{2+}$ -Gehalt. Da die ORT bei der Aufnahme durch Kälber im Labmagen durch die HCl-Sekretion angesäuert werden, wurde zusätzlich die enzymatische Gerinnung bei  $\text{pH} \sim 5,5$  geprüft. In dieser Versuchsreihe zeigten alle MAT-ORT-Gemische Gerinnung in Form ansteigender Viskositätswerte (s. Abb. 42). Die Gerinnung der azetathaltigen ORT-1A<sub>MAT</sub> blieb nahezu unverändert. Bei ORT-2A<sub>MAT</sub> und -4A<sub>MAT</sub> konnte in dieser Messung ein geringer Anstieg der Viskosität nach Säure- sowie Enzymzugabe detektiert werden. Die Gerinnung der ORT-3A<sub>MAT</sub> wurde durch die Ansäuerung verbessert, da höhere Viskositätswerte als in der vorhergehenden Messung vom Rheometer erfasst wurden. Die Verbesserung der Gerinnungsfähigkeit könnte auf die Absenkung des pH-Wertes zurück zu führen sein, da die Angaben für das pH-Optimum von Chymosin je nach experimenteller Bedingung zwischen 5,0 und 6,0 liegen (Fox *et al.*, 1996; Miyoshi *et al.*, 1976; van Hooydonk *et al.*, 1986a; Visser *et al.*, 1980).

### 5.3.2 Säuregerinnung *in vitro*

In der vorliegenden Untersuchung konnte keine Störung der Säuregerinnung am isoelektrischen Punkt der Caseine durch die Zugabe von ORT zum MAT festgestellt werden. Mit Ausnahme von ORT-3A<sub>MAT</sub> stieg die statische Viskosität des MAT und der MAT-ORT-Gemische nach Säurezugabe auf  $\text{pH} \leq 4,7$  um etwa 3,0 bis 5,0 mPa s an (s. Tab. 52). Die statische Viskosität von ORT-3A<sub>MAT</sub> nahm nach der HCl-Zugabe um  $0,1 \text{ mPa s}$  ab. Dieses Ergebnis ist nicht darauf zurück zu führen, dass die Inhaltsstoffe von ORT-3A<sub>MAT</sub> die Säuregerinnung der Caseine verhinderten. Das in ORT-3A<sub>MAT</sub> enthaltene  $\text{HCO}_3^-$  reagierte mit den Protonen zu  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$ . Das in Gasbläschen aufsteigende  $\text{CO}_2$  führte zur sofortigen Entmischung der gefällten Caseine und der Molke (s. Abb. 50). Der Sensor des Rheometers ermittelte die Viskosität in der Molkephase. Die Viskosität von Molke ist etwas niedriger als die von Milch.



Abb. 50 ORT-3A<sub>MAT</sub> nach Zugabe von HCl auf pH≤4,7

### 5.3.3 Milchgerinnung im Kälberlabmagen

Im Kälberlabmagen kann die Milchgerinnung sowohl enzymatisch als auch durch die Wirkung von HCl auf die Caseine herbeigeführt werden. Anhand der Labmagingestapoben, die 30min nach Fütterung von MAT und MAT-ORT-Gemischen entnommen wurden, konnte visuell Gerinnung durch das Vorliegen der zwei Phasen, Koagula und Molke, in jedem Fall nachgewiesen werden (s. Abb. 39). Nach der gleichzeitigen Gabe von MAT und ORT wurde kein Durchfall bei den Kälbern in den Befundbögen der klinischen Allgemeinuntersuchung dokumentiert. Anhand der CMP-Bestimmung durch HPLC und SDS-Page in den entsprechenden Ingestapoben konnte bestätigt werden, dass enzymatische Gerinnung nach Fütterung von MAT-ORT-Gemischen im Labmagen stattgefunden hat (s. Tab. 53 und 54 sowie Abb. 43-49). Die AUC-Mittelwerte der CMP-Peaks der HPLC nach Fütterung der verschiedenen Tränkezubereitungen unterschieden sich statistisch nicht voneinander. Dieses Ergebnis lässt die Schlussfolgerung zu, dass die Milchgerinnung im Labmagen durch die gleichzeitige Gabe von MAT und ORT nicht nachweisbar gestört wird. Nach MAT-Fütterung konnte in vier von zehn Ingestapoben kein CMP nachgewiesen werden. Für dieses Ergebnis existieren zwei Erklärungsmöglichkeiten: (1) Es hat keine enzymatische Gerinnung stattgefunden. Die Ingestapoben, in denen kein CMP nachweisbar war, wiesen niedrigere durchschnittliche pH-Werte auf (pH=4,7) als die Proben nach MAT-Fütterung, in denen CMP detektiert wurde (pH=5,5). Sie könnten hauptsächlich durch die Wirkung der HCl im Labmagen geronnen sein. Die Aktivität von Chymosin könnte durch die bereits säuregefällten Caseine behindert worden sein (Dalglish, 1992). (2) Die enzymatische Gerinnung hat stattgefunden und das abgespaltene CMP ist durch Chymosin oder Pepsin in kleinere Peptide zerlegt worden. In Untersuchungen von Coolbear *et al.* (1996b) wurde CMP *in vitro* bei niedrigen pH-Werten von Chymosin in mehrere Fragmente gespalten.

**Zusammenfassung**

*In vitro* ist ein Einfluss von ORT auf die enzymatische Milchgerinnung nachweisbar. Die Säuregerinnung der Caseine ist auch bei Zusatz von ORT zum MAT bei  $\text{pH} \leq 4,7$  gegeben. Die Milchgerinnung im Labmagen wird durch die gleichzeitige Gabe von Milch bzw. MAT und ORT nicht nachweisbar gestört.

## **5.4 Wirkungen des MAT und der ORT auf die Stewart-Parameter des SBS**

Der Azidose durchfallkranker Kälber wird eine wesentliche Bedeutung für das Verenden der erkrankten Tiere zugeschrieben (Berchtold, 1998; Constable, 2002b). Die schnelle Korrektur des SBS kann verhindern, dass der Saugreflex bei Durchfallkälbern ausfällt (Kasari und Naylor, 1985; 1986). Daher sollten ORT zur Behandlung von an Diarrhoe erkrankten Tieren auch zur Bekämpfung der Azidose geeignet sein. In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss von ORT auf die Stewart-Parameter des SBS untersucht. Grove-White und Michell (2001) ermittelten einen Zusammenhang zwischen dem Anstieg der  $[\text{SID}_3]$  und der erfolgreichen Korrektur der Azidose bei durchfallkranken Kälbern. Die erniedrigte Serum- $[\text{SID}]$ , hervorgerufen durch Hyponaträmie, Hyper-D- und L-Laktatämie begleitet von Normo- bis Hyperchlorämie beim durchfallkranken Kalb, ist als Hauptursache für die metabolische Azidose zu sehen (Constable *et al.*, 2005b).

### **5.4.1 Serum- $[\text{SID}_3]$**

In den Fütterungsversuchen wiesen die klinisch gesunden Kälber eine durchschnittliche Serum- $[\text{SID}_3]=46,2\text{mmol/l}$  auf. In Abhängigkeit vom  $[\text{SID}_3]$ -Wert der verabreichten Tränke stieg die Serum- $[\text{SID}_3]$  an oder fiel ab. Zum Zeitpunkt 120min nach Fütterung von ORT mit einer  $[\text{SID}_3] \geq 92\text{mmol/l}$  kam es bei den Kälbern zu einem geringen durchschnittlichen Anstieg der Werte für Serum- $[\text{SID}_3]$ , der außer nach der Fütterung von ORT-3A<sub>MAT</sub> auch statistisch signifikant war. Nahmen die Tiere MAT oder ORT mit der niedrigeren  $[\text{SID}_3] \leq 77\text{mmol/l}$  auf, wurde die Serum- $[\text{SID}_3]$  nicht verändert oder sogar etwas vermindert (s. Tab. 46). Ein Anstieg von  $[\text{SID}_3]$  bedeutet alkalische, ein  $[\text{SID}_3]$ -Abfall saure Reaktionslage (Reinhold *et al.*, 2006). Daraus lässt sich die Schlussfolgerung ableiten, dass ORT eine  $[\text{SID}_3] > 90\text{mmol/l}$  aufweisen sollten, um die Azidose durchfallkranker Kälber wirkungsvoll bekämpfen zu können. Betrachtet man die Ergebnisse einer klinischen Studie von Stämpfli *et al.* (1996), in der die Wirksamkeit einer ORT anhand der Stewart-Theorie überprüft wurde, erfährt obige Schlussfolgerung weitere Unterstützung. In dieser Untersuchung wurde festgestellt, dass eine ORT mit einer  $\text{SID} \sim 90\text{mmol/l}$  ( $88,0 \pm 4,7$ ) erfolgreich die Azidose der durchfallkranken Kälber bekämpfen kann. Die Beurteilung der Wirksamkeit von ORT anhand des Stewart-Parameters  $\text{SID}_3$  erwies sich in der eigenen Untersuchung als geeignet. Dies wird durch

andere Autoren bestätigt, die das Stewart-Modell als wichtiges Element für die Formulierung von Infusionslösungen und ORT bewerten (Constable *et al.*, 2005b; Kaske und Kunz, 2003; Morgan, 2005).

#### 5.4.2 Serum-[A<sub>tot</sub>]

Nach der Fütterung des MAT und den unterschiedlich zusammengesetzten ORT an die Kälber fielen die durchschnittlichen Werte für Serum-[A<sub>tot-Pro</sub>] und -[A<sub>tot-Alb</sub>] ab, was ebenso wie ein Anstieg von [SID] eine alkalische Reaktionslage bedeutet. Die Absenkung von Serum-[A<sub>tot</sub>] war z. T. statistisch signifikant (s. Tabellen 47 und 48). Nach der Aufnahme des MAT und der ORT führten die aufgenommenen Elektrolyte und die Flüssigkeit zu einer Zunahme des Wasseranteils im Blut der Tiere. Dies ging mit einer relativen Absenkung der Serum-[GE] bzw. der Serum-[Alb] einher. Da Serum-[A<sub>tot</sub>] bei der in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Berechnung auf der Grundlage der Gesamteiweiß- und Albuminkonzentrationen im Serum erfolgte, ist Serum-[A<sub>tot</sub>] postprandial vermindert. ORT dürften allerdings kaum Einfluss auf die Synthese von Albumin in den Hepatozyten nehmen. Der absolute Gehalt von A<sub>tot</sub> im Blut bleibt demnach gleich.

#### 5.4.3 Serum-[SIG]

Die durchschnittlichen Werte für Serum-[SIG] lagen vor der Fütterung bei [SIG<sub>Alb-ven</sub>]= -1,45mmol/l und [SIG<sub>Pro-ven</sub>]= -1,51mmol/l. Nach der Fütterung wurden mit einigen Ausnahmen etwas niedrigere Werte erzielt (s. Tab. 49 und 50). Ursache für eine deutliche Absenkung der Serum-[SIG] ist eine Zunahme der ungemessenen starken Ionen (Funk, 2007). Dies kann für die Diagnostik der L- oder D-Laktazidose durchfallkranker Kälber bedeutend sein (Constable *et al.*, 2005b). In den vorliegenden Untersuchungen ist der Abfall von Serum-[SIG] durch die Absenkung von Serum-[A<sub>tot</sub>] zu erklären. Da die Bestimmung der [SIG] anhand [A<sub>tot</sub>] erfolgt, kann ein geringer Einfluss der Serumproteine auf Serum-[SIG] nicht von der Hand gewiesen werden. Wie in 5.1.2 angeführt, sollte die Ermittlung von Serum-[A<sub>tot</sub>] für Kälber noch weiter präzisiert werden.

#### Zusammenfassung

Die Fütterung von ORT, die [SID<sub>3</sub>]-Werte >90mmol/l aufweisen, führen zum nachweisbaren Anstieg von [SID<sub>3</sub>] im Blut. Solche ORT können die Azidose durchfallkranker Kälber wirkungsvoll bekämpfen. Die Serum-[A<sub>tot</sub>] ist nach der oralen Rehydratationstherapie durch den Anstieg des Wasseranteils im Blutserum geringgradig vermindert.

## Empfehlungen für die orale Rehydratation durchfallkranker Kälber

Durchfallkranke Kälber sollten weiterhin mit Milch oder MAT gefüttert werden, um den Energiebedarf der Tiere zu decken (Garthwaite *et al.*, 1994). Dabei sollte die normale Kuhmilch bevorzugt werden, da sie für durchfallkranke Kälber besser verdaulich ist als MAT (Kunz, 2003; Naylor, 1991). Eventuell kann auch die geringere abomasale pH-Wert-Auslenkung nach Milchfütterung dazu beitragen, dass säuresensitive Mikroorganismen abgetötet und die Inzidenz und der Schweregrad der Diarrhoe vermindert werden (Constable *et al.*, 2006). Eine häufigere als dreimal tägliche Milchfütterung (=wie unter natürlichen Bedingungen gegeben) ist vorteilhaft, da extreme Nüchtern-pH-Werte <1,0 nicht auftreten, die für die Entstehung von Labmagengeschwüren verantwortlich gemacht werden (Ahmed *et al.*, 2002b). MAT, die keine Caseine enthalten (Nullaustauscher), können negative Auswirkungen auf die gastrointestinalen Funktionen von durchfallkranken Kälber haben, da diese im Labmagen nicht gerinnen (Khorasani *et al.*, 1989). Nicht nur eine evtl. vorzeitige Labmagenentleerung, auch das Fehlen von CMP als Produkt der enzymatischen Milchgerinnung, das als erstes nach Milchfütterung in den Dünndarm übertritt (Scanff *et al.*, 1992; Yvon und Pelissier, 1987), ist als ungünstig anzusehen. Die biologischen Funktionen von CMP, wie Unterdrückung der bakteriellen und viralen Adhäsion an das Darmepithel (Brody, 2000), könnten sich positiv auf das Vorkommen bzw. den Verlauf von Durchfallerkrankungen auswirken.

Nach Auftreten erster Symptome einer Durchfallerkrankung sollten Kälber sofort eine in Wasser zubereitete, isotope ORT erhalten. Diese Wasser-ORT-Gemische passieren den Labmagen in kürzerer Zeit als hypertone ORT oder die energiereiche Milchration und gelangen schneller an den Ort ihrer Absorption, den Dünndarm. So kann die Dehydratation und Azidose der durchfallkranken Kälber besser bekämpft werden und u. a. der Ausfall des Saugreflexes vermieden werden. Diese in Wasser zubereiteten ORT sollten keine quellenden Inhaltstoffe, wie Reisquellmehl o. ä., enthalten, da diese die Transitzeit durch den Labmagen verlängern können. Außerdem löste in einer Untersuchung von Sweeney (2000) eine reisbasierte ORT sogar Durchfall bei gesunden Kälbern aus.

Zur Minimierung oder Beseitigung der bei durchfallkranken Kälbern auftretenden negativen Flüssigkeitsbilanz sowie der azidotischen Stoffwechsellage können die ORT zusätzlich in Milch gelöst verabreicht werden. Die ORT muss nicht zeitlich versetzt zur Milchtränke gegeben werden, da ORT *in vivo* zu keiner nachweisbaren Störung der Milchgerinnung führen. Die Stewart-Variable SID eignet sich für die Beurteilung von ORT (Stämpfli, 1996). ORT mit einer  $[SID_3] > 90 \text{ mmol/l}$  können effektiv die Azidose durchfallkranker Kälber ausgleichen.

## 6 LITERATURVERZEICHNIS

- ADAMS, L. G. POLZIN, D. J. (1989)  
Mixed acid-base disorders.  
Vet Clin North Am Small Anim Pract **19**(2): 307-26
- AHMED, A. F., CONSTABLE, P. D. MISK, N. A. (2002a)  
Effect of an orally administered antacid agent containing aluminum hydroxide and magnesium hydroxide on abomasal luminal pH in clinically normal milk-fed calves.  
J Am Vet Med Assoc **220**(1): 74-9
- AHMED, A. F., CONSTABLE, P. D. MISK, N. A. (2001)  
Effect of orally administered cimetidine and ranitidine on abomasal luminal pH in clinically normal milk-fed calves.  
Am J Vet Res **62**(10): 1531-8
- AHMED, A. F., CONSTABLE, P. D. MISK, N. A. (2002b)  
Effect of feeding frequency and route of administration on abomasal luminal pH in dairy calves fed milk replacer.  
J Dairy Sci **85**(6): 1502-8
- AHMED, A. F., CONSTABLE, P. D. MISK, N. A. (2005)  
Effect of orally administered omeprazole on abomasal luminal pH in dairy calves fed milk replacer.  
J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med **52**(5): 238-43
- ANDREN, A. BJORCK, L. (1986)  
Milk-feeding maintains the prochymosin production in cells of bovine abomasal mucosa.  
Acta Physiol Scand **126**(3): 419-27
- ANDREN, A., BJORCK, L. CLAESSON, O. (1982)  
Immunohistochemical studies on the development of prochymosin- and pepsinogen-containing cells in bovine abomasal mucosa.  
J Physiol **327**: 247-54
- ANONYMOUS (2001)  
Rehydratationstränken für Durchfallkälber.  
Nutztierspiegel **Sonderdruck**
- ANSTEY, C. M. (2005)  
Comparison of three strong ion models used for quantifying the acid-base status of human plasma with special emphasis on the plasma weak acids.  
J Appl Physiol **98**(6): 2119-25
- ARGENZIO, R. A. (1985)  
Pathophysiology of neonatal calf diarrhea.  
Vet Clin North Am Food Anim Pract **1**(3): 461-9
- ARGENZIO, R. A. (1992)  
Pathophysiology of diarrhoea.  
Veterinary Gastroenterology. London, Lea & Feibiger: 163-172

- ASH, R. W. (1964)  
Abomasal Secretion and Emptying in Suckled Calves.  
J Physiol **172**: 425-38
- ASTRUP, P., JORGENSEN, K., ANDERSEN, O. S. ENGEL, K. (1960)  
The acid-base metabolism. A new approach.  
Lancet **1**: 1035-9
- AUSTIN, W. H., LACOMBE, E., RAND, P. W. CHATTERJEE, M. (1963)  
Solubility of carbon dioxide in serum from 15 to 38 C.  
J Appl Physiol **18**: 301-4
- AVERY, M. E. SNYDER, J. D. (1990)  
Oral therapy for acute diarrhea. The underused simple solution.  
N Engl J Med **323**(13): 891-4
- BAILEY, J. E. PABLO, L. S. (1998)  
Practical approach to acid-base disorders.  
Vet Clin North Am Small Anim Pract **28**(3): 645-62
- BALASUBRAMANYAN, N., HAVENS, P. L. HOFFMAN, G. M. (1999)  
Unmeasured anions identified by the Fencl-Stewart method predict mortality better than base excess, anion gap, and lactate in patients in the pediatric intensive care unit.  
Crit Care Med **27**(8): 1577-81
- BALJER, G. WIELER, L. (1989)  
Ätiologie, Pathogenese und Immunprophylaxe der neonatalen Durchfallerkrankungen der Kälber.  
VET **4**: 18-26
- BARRATT, M. E., STRACHAN, P. J. PORTER, P. (1978)  
Antibody mechanisms implicated in digestive disturbances following ingestion of soya protein in calves and piglets.  
Clin Exp Immunol **31**(2): 305-12
- BELL, F. R. RAZIG, S. A. (1973)  
Gastric emptying and secretion in the milk-fed calf.  
J Physiol **228**(2): 499-512
- BERCHTOLD, J. (1998)  
Untersuchungen zur Diagnose und Behandlung systemischer Azidosen bei Kälbern.  
Klinik für Klauentiere, Vet Med Diss  
Berlin, Freie Universität
- BERCHTOLD, J. (1999)  
Intravenous fluid therapy of calves.  
Vet Clin North Am Food Anim Pract **15**(3): 505-31
- BERCHTOLD, J., HARTMANN, H. HOFMANN, W. (2000)  
Bedeutung respiratorischer Kompensationsvorgänge bei Azidosen des Kalbes.  
Deutsche tierärztliche Wochenschrift **107**: 10-16
- BERCHTOLD, J. PRECHTL, J. (2002)  
Orale und parenterale Flüssigkeitstherapie.  
Nutztierpraxis aktuell **2**

- BERCHTOLD, M., RÜSCH, P. BURKHARDT, H. (1982)  
Azidose: Ein Hauptproblem bei kranken Kälbern.  
Tierärztliche Umschau **7**: 490-492
- BERCHTOLD, M., WEISS, G. THALLER, M. (1974)  
Infusionstherapie bei Kälbern unter spezieller Berücksichtigung der Azidose.  
Dtsch Tierarztl Wochenschr **81**(12): 279-81
- BERGHEN, P., DORNY, P. VERCRUYSSSE, J. (1987)  
Evaluation of a simplified blood pepsinogen assay.  
Am J Vet Res **48**(4): 664-9
- BINDING, U., SEEMANN, G. KLEE, W. (2000)  
Investigations on the type and on the correction of acidosis in young calves with  
diarrhea.  
Praktische Tierarzt **81**(4): 314-17
- BLAXTER, K. WOOD, W. (1953)  
Some observations on the biochemical and physiological events associated with  
diarrhea in calves.  
Vet Rec **60**(50): 889-92
- BOOTH, A. J. NAYLOR, J. M. (1987)  
Correction of metabolic acidosis in diarrheal calves by oral administration of  
electrolyte solutions with or without bicarbonate.  
J Am Vet Med Assoc **191**(1): 62-8
- BREUKINK, H. J., WENSING, T., VAN WEEREN-KEVERLING BUISMAN, A., VAN  
BRUINESSEN-KAPSENBERG, E. G. DE VISSER, N. A. (1988)  
Consequences of failure of the reticular groove reflex in veal calves fed milk replacer.  
Vet Q **10**(2): 126-35
- BRINGE, N. A. KINSELLA, J. E. (1986)  
Inhibition of Chymosin and the Coagulation of Para-Casein Micelles by Anions.  
Journal of Dairy Science **69**(4): 965-70
- BRINGE, N. A. KINSELLA, J. E. (1991)  
Effects of Cations and Anions on the Rate of the Acidic Coagulation of Casein  
Micelles - the Possible Roles of Different Forces.  
Journal of Dairy Research **58**(2): 195-209
- BROBST, D. (1983)  
Pathophysiologic and adaptive changes in acid-base disorders.  
J Am Vet Med Assoc **183**(7): 773-80
- BRODY, E. P. (2000)  
Biological activities of bovine glycomacropeptide.  
Br J Nutr **84 Suppl 1**: S39-46
- BROOKS, H. W., HALL, G. A., WAGSTAFF, A. J. MICHELL, A. R. (1998)  
Detrimental effects on villus form during conventional oral rehydration therapy for  
diarrhoea in calves; alleviation by a nutrient oral rehydration solution containing  
glutamine.  
Vet J **155**(3): 263-74

- BROOKS, H. W., WHITE, D. G., WAGSTAFF, A. J. MICHELL, A. R. (1996)  
Evaluation of a nutritive oral rehydration solution for the treatment of calf diarrhoea.  
Br Vet J **152**(6): 699-708
- BROOKS, H. W., WHITE, D. G., WAGSTAFF, A. J. MICHELL, A. R. (1997)  
Evaluation of a glutamine-containing oral rehydration solution for the treatment of calf diarrhoea using an Escherichia coli model.  
Vet J **153**(2): 163-9
- BRUEGGER, D., JACOB, M., SCHEINGRABER, S., CONZEN, P., BECKER, B. F.,  
FINSTERER, U. REHM, M. (2005)  
Changes in acid-base balance following bolus infusion of 20% albumin solution in humans.  
Intensive Care Med **31**(8): 1123-7
- BYWATER, R. J. (1977)  
Evaluation of an oral glucose-glycine-electrolyte formulation and amoxicillin for treatment of diarrhea in calves.  
Am J Vet Res **38**(12): 1983-7
- BYWATER, R. J. (1980)  
Comparison between milk deprivation and oral rehydration with a glucose-glycine-electrolyte formulation in diarrhoeic and transported calves.  
Vet Rec **107**(24): 549-51
- BYWATER, R. J. LOGAN, E. F. (1974)  
The site and characteristics of intestinal water and electrolyte loss in Escherichia coli-induced diarrhoea in calves.  
J Comp Pathol **84**(4): 599-610
- BYWATER, R. J. PENHALE, W. J. (1969)  
Depressed lactase activity in the intestinal mucous membrane of calves after neonatal diarrhoea.  
Res Vet Sci **10**(6): 591-3
- CAUGANT, I., PETIT, H. V., CHARBONNEAU, R., SAVOIE, L., TOULLEC, R., THIROUIN, S. YVON, M. (1992)  
In vivo and in vitro gastric emptying of protein fractions of milk replacers containing whey proteins.  
J Dairy Sci **75**(3): 847-56
- CEBRA, M. L., GARRY, F. B., CEBRA, C. K., ADAMS, R., MCCANN, J. P. FETTMAN, M. J. (1998)  
Treatment of neonatal calf diarrhea with an oral electrolyte solution supplemented with psyllium mucilloid.  
J Vet Intern Med **12**(6): 449-55
- CHARNEY, A. N. FELDMAN, G. M. (1984)  
Systemic acid-base disorders and intestinal electrolyte transport.  
Am J Physiol **247**(1 Pt 1): G1-12
- CHITPINITYOL, S. CRABBE, M. J. C. (1998)  
Chymosin and aspartic proteinases.  
Food Chemistry **61**(4): 395-418

- CHUNG, A. W. VISCOROVA, B. (1948)  
The Effect of Early Oral Feeding Versus Early Oral Starvation on the Course of Infantile Diarrhea.  
Journal of Pediatrics **33**(1): 14-22
- CONSTABLE, P. D. (1997)  
A simplified strong ion model for acid-base equilibria: application to horse plasma.  
J Appl Physiol **83**(1): 297-311
- CONSTABLE, P. D. (1999a)  
Clinical assessment of acid-base status - Strong ion difference theory.  
Vet Clin North Am Food Anim Pract **15**(3): 447-71
- CONSTABLE, P. D. (1999b)  
The physicochemical approach for evaluating acid-base balance in exercising horses.  
Equine Vet J Suppl **30**: 636-8
- CONSTABLE, P. D. (2000)  
Clinical assessment of acid-base status: comparison of the Henderson-Hasselbalch and strong ion approaches.  
Vet Clin Pathol **29**(4): 115-128
- CONSTABLE, P. D. (2002a)  
Calculation of variables describing plasma nonvolatile weak acids for use in the strong ion approach to acid-base balance in cattle.  
Am J Vet Res **63**(4): 482-90
- CONSTABLE, P. D. (2002b)  
The treatment of the diarrheic calf: an update.  
World Buiatrics Congress, Hannover
- CONSTABLE, P. D. (2003)  
Hyperchloremic acidosis: the classic example of strong ion acidosis.  
Anesth Analg **96**(4): 919-22
- CONSTABLE, P. D. (2004)  
Antimicrobial use in the treatment of calf diarrhea.  
J Vet Intern Med **18**(1): 8-17
- CONSTABLE, P. D. (2007)  
Strong Ion Difference Theory explains the relationship between urine pH and net base excretion in cattle.  
International Conference on Production Diseases in Farm Animals, Leipzig, Merkur Druck
- CONSTABLE, P. D., AHMED, A. F. MISK, N. A. (2005a)  
Effect of suckling cow's milk or milk replacer on abomasal luminal pH in dairy calves.  
J Vet Intern Med **19**(1): 97-102
- CONSTABLE, P. D., HINCHCLIFF, K. W. MUIR, W. W., 3RD (1998)  
Comparison of anion gap and strong ion gap as predictors of unmeasured strong ion concentration in plasma and serum from horses.  
Am J Vet Res **59**(7): 881-7

- CONSTABLE, P. D. STAMPFLI, H. R. (2005)  
Experimental determination of net protein charge and A(tot) and K(a) of nonvolatile buffers in canine plasma.  
J Vet Intern Med **19**(4): 507-14
- CONSTABLE, P. D., STAMPFLI, H. R., NAVETAT, H., BERCHTOLD, J. SCHELCHER, F. (2005b)  
Use of a quantitative strong ion approach to determine the mechanism for acid-base abnormalities in sick calves with or without diarrhea.  
J Vet Intern Med **19**(4): 581-9
- CONSTABLE, P. D., STREETER, R. N., KOENIG, G. J., PERKINS, N. R., GOHAR, H. M. MORIN, D. E. (1997)  
Determinants and utility of the anion gap in predicting hyperlactatemia in cattle.  
J Vet Intern Med **11**(2): 71-9
- CONSTABLE, P. D., THOMAS, E. BOISRAME, B. (2001)  
Comparison of two oral electrolyte solutions for the treatment of dehydrated calves with experimentally-induced diarrhoea.  
Vet J **162**(2): 129-41
- CONSTABLE, P. D., WALKER, P. G., MORIN, D. E. FOREMAN, J. H. (1998)  
Clinical and laboratory assessment of hydration status of neonatal calves with diarrhea.  
J Am Vet Med Assoc **212**(7): 991-6
- CONSTABLE, P. D., WITTEK, T., AHMED, A. F., MARSHALL, T. S., SEN, I. NOURI, M. (2006)  
Abomasal pH and emptying rate in the calf and dairy cow and the effect of commonly administered therapeutic agents.  
World Buiatrics Congress 2006, Nizza
- COOLBEAR, K. P., ELGAR, D. F. AYERS, J. S. (1996a)  
Profiling of genetic variants of bovine kappa-casein by electrophoretic and chromatographic techniques.  
International Dairy Journal **6**: 1055-1068
- COOLBEAR, K. P., ELGAR, D. F., COOLBEAR, T. AYERS, J. S. (1996b)  
Comparative study of methods for the isolation and purification of bovine kappa-casein and its hydrolysis by chymosin.  
J Dairy Res **63**(1): 61-71
- COREY, H. E. (2003)  
Stewart and beyond: new models of acid-base balance.  
Kidney Int **64**(3): 777-87
- COREY, H. E., VALLO, A. RODRIGUEZ-SORIANO, J. (2006)  
An analysis of renal tubular acidosis by the Stewart method.  
Pediatr Nephrol **21**(2): 206-11
- CUSACK, R. J., RHODES, A., LOCHHEAD, P., JORDAN, B., PERRY, S., BALL, J. A., GROUNDS, R. M. BENNETT, E. D. (2002)  
The strong ion gap does not have prognostic value in critically ill patients in a mixed medical/surgical adult ICU.  
Intensive Care Med **28**(7): 864-9

- DALGLEISH, D. G. (1983)  
Coagulation of Renneted Bovine Casein Micelles - Dependence on Temperature, Calcium-Ion Concentration and Ionic-Strength.  
Journal of Dairy Research **50**(3): 331-40
- DALGLEISH, D. G. (1992)  
The enzymatic Coagulation of milk.  
Advanced Dairy Chemistry Volume 1 Proteins. P. F. Fox. London, Elsevier Applied Science: 579-619
- DALTON, R. G., FISHER, E. W. MCINTYRE, W. I. (1965)  
Changes in Blood Chemistry, Body Weight and Haematocrit of Calves Affected with Neonatal Diarrhoea.  
Br Vet J **121**: 34-42
- DARGEL, D. HARTMANN, H. (1984)  
Aktivität der  $\beta$ -Galaktosidase im Darmkanal von klinisch gesunden und durchfallkranken Kälbern sowie Ferkeln.  
Monatshefte Für Veterinarmedizin **39**(21): 742-5
- DARROW, D. C. HARTMANN, A. F. (1929)  
A comparison of the calculated and determined osmolar concentration of normal serum.  
Am J Dis Child **37**: 51-60
- DE BARROS FILHO, I. R. (2002)  
Perioperative Veränderungen im Säuren-Basen- und Elektrolythaushalt von abomasopexierten oder omentopexierten Kühen mit linksseitiger Labmagenverlagerung. Klinik für Rinderkrankheiten, Vet Med Diss Hannover, Tierärztliche Hochschule
- DE KRUIF, C. G. (1999)  
Casein micelle interactions.  
International Dairy Journal **9**(3-6): 183-8
- DE MORAIS, H. S. A. (1992)  
A nontraditional approach to acid-base disorders.  
Fluid Therapy in Small Animal Practice. d. Bartola, WB Saunders Comp.: 297-320
- DE MORAIS, H. S. A. (2005)  
Editorial: Has Stewart finally arrived in the clinic?  
J Vet Intern Med **19**: 489-490
- DE MORAIS, H. S. A. MUIR, W. W. (1995)  
Strong ions and acid-base disorders.  
Current Veterinary Therapy. R. W. Kirk, WB Saunders Comp.: 121-7
- DEMIGNE, C., CHARTIER, F. REMESY, C. (1980)  
Evidence of different types of acidosis associated with diarrhea in the neonatal calf.  
Ann Rech Vet **11**(3): 267-72
- DEMIGNE, C. REMESY, C. (1979)  
Evolution of the postnatal metabolism in the healthy or diarrhoeic calf.  
Ann Rech Vet **10**(1): 23-31

- DEMIGNE, C., REMESY, C., CHARTIER, F. KALIGIS, D. (1983)  
Utilization of volatile fatty acids and improvement of fluid therapy for treatment of dehydration in diarrheic calves.  
Ann Rech Vet **14**(4): 541-7
- DIBARTOLA, H. S. A. (1992)  
Fluid therapy in small animal practice.  
Philadelphia, WB Saunders
- DIRKSEN, G., GRÜNDER, H.-D. STÖBER, M. H. (2006)  
Innere Medizin und Chirurgie des Rindes.  
Stuttgart, Paul Parey
- DOBERER, D., FUNK, G. C. SCHNEEWEISS, B. (2003)  
Dilutional acidosis: an endless story of confusion.  
Crit Care Med **31**(1): 337-8.
- DOLL, K. (1992)  
Untersuchungen über die Bedeutung unspezifischer Faktoren in der Pathogenese der Diarrhoe beim Kalb. Tierärztliche Fakultät, Habil.  
München, Universität München
- DOLL, K. (2006)  
Neugeborenenendiarrhoe.  
Innere Medizin und Chirurgie des Rindes. G. Dirksen, H.-D. Gründer and M. H. Stöber. Stuttgart, MVS Medizinverlage GmbH: 561-572
- DOLL, K., RIEPL, H. DIRKSEN, G. (2004)  
Pathophysiologische Bedeutung von Steatorrhoe sowie von Hydroxystearinsäuren im Kot von Durchfallkälbern.  
Dtsch Tierarztl Wochenschr **111**(1): 22-8
- DONDORP, A. M., CHAU, T. T., PHU, N. H., MAI, N. T., LOC, P. P., CHUONG, L. V., SINH, D. X., TAYLOR, A., HIEN, T. T., WHITE, N. J. DAY, N. P. (2004)  
Unidentified acids of strong prognostic significance in severe malaria.  
Crit Care Med **32**(8): 1683-8
- DUAL, J., GOODBREAD, M. SAYIR, M. (1992)  
Prozessrheometer-PHYSICA RHEOSWING. Bericht aus der ETH Zürich-Ein neues Gerät zur Messung der Viskosität.  
Zürich, Institut für Mechanik: 7
- DUBIN, A., MENISES, M. M., MASEVICIUS, F. D., MOSEINCO, M. C., KUTSCHERAUER, D. O., VENTRICE, E., LAFFAIRE, E. ESTENSSORO, E. (2007)  
Comparison of three different methods of evaluation of metabolic acid-base disorders.  
Crit Care Med **35**(5): 1264-70
- DUPE, R. J., GODDARD, M. E. BYWATER, R. J. (1989)  
A comparison of two oral rehydration solutions in experimental models of dehydration and diarrhoea in calves.  
Vet Rec **125**(25): 620-4

- DURWARD, A., SKELLETT, S., MAYER, A., TAYLOR, D., TIBBY, S. M. MURDOCH, I. A. (2001)  
The value of the chloride: sodium ratio in differentiating the aetiology of metabolic acidosis.  
*Intensive Care Med* **27**(5): 828-35
- DURWARD, A., TIBBY, S. M., SKELLETT, S., AUSTIN, C., ANDERSON, D. MURDOCH, I. A. (2005)  
The strong ion gap predicts mortality in children following cardiopulmonary bypass surgery.  
*Pediatr Crit Care Med* **6**(3): 281-5
- EHRLEIN, H. J. (2005)  
Motorik des einhöhligen Magens und des Labmagens.  
*Physiologie der Haustiere*. W. von Engelhardt and G. Breves. Stuttgart, Enke Verlag
- EICKER, S. W. (1990)  
An introduction to strong ion difference.  
*Vet Clin North Am Food Anim Pract* **6**(1): 45-9
- EL-MOUGI, M., EL-AKKAD, N., HENDAWI, A., HASSAN, M., AMER, A., FONTAINE, O. PIERCE, N. F. (1994)  
Is a low-osmolarity ORS solution more efficacious than standard WHO ORS solution?  
*J Pediatr Gastroenterol Nutr* **19**(1): 83-6
- EWASCHUK, J. B., NAYLOR, J. M., BARABASH, W. A. ZELLO, G. A. (2004)  
High-performance liquid chromatographic assay of lactic, pyruvic and acetic acids and lactic acid stereoisomers in calf feces, rumen fluid and urine.  
*J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* **805**(2): 347-51
- EWASCHUK, J. B., NAYLOR, J. M., PALMER, R., WHITING, S. J. ZELLO, G. A. (2004)  
D-lactate production and excretion in diarrheic calves.  
*J Vet Intern Med* **18**(5): 744-7
- EWASCHUK, J. B., NAYLOR, J. M. ZELLO, G. A. (2005)  
D-lactate in human and ruminant metabolism.  
*J Nutr* **135**(7): 1619-25
- PECTEAU, G., VAN METRE, D. C., PARE, J., SMITH, B. P., HIGGINS, R., HOLMBERG, C. A., JANG, S. GUTERBOCK, W. (1997)  
Bacteriological culture of blood from critically ill neonatal calves.  
*Can Vet J* **38**(2): 95-100
- FENCL, V., JABOR, A., KAZDA, A. FIGGE, J. (2000)  
Diagnosis of metabolic acid-base disturbances in critically ill patients.  
*Am J Respir Crit Care Med* **162**(6): 2246-51
- FENCL, V. LEITH, D. E. (1993)  
Stewart's quantitative acid-base chemistry: applications in biology and medicine.  
*Respir Physiol* **91**(1): 1-16
- FENCL, V. ROSSING, T. H. (1989)  
Acid-base disorders in critical care medicine.  
*Annu Rev Med* **40**: 17-29

- FETTMAN, M. J., BROOKS, P. A., BURROWS, K. P. PHILLIPS, R. W. (1986)  
Evaluation of commercial oral replacement formulas in healthy neonatal calves.  
J Am Vet Med Assoc **188**(4): 397-401
- FIGGE, J., MYDOSH, T. FENCL, V. (1992)  
Serum-Proteins and Acid-Base Equilibria - a Follow-Up.  
J of Lab Clin Med **120**(5): 713-9
- FIGGE, J., ROSSING, T. H. FENCL, V. (1991)  
The Role of Serum-Proteins in Acid-Base Equilibria.  
Journal of Laboratory and Clinical Medicine **117**(6): 453-67
- FISHER, E. W. (1971)  
Hydrogen ion and electrolyte disturbances in neonatal calf diarrhea.  
Ann N Y Acad Sci **176**: 223-30
- FISHER, E. W. MARTINEZ, A. A. (1976)  
Aspects of body fluid dynamics of neonatal calf diarrhoea.  
Res Vet Sci **20**(3): 302-5
- FLYNN, W. J., JR., GOSCHE, J. R. GARRISON, R. N. (1992)  
Intestinal blood flow is restored with glutamine or glucose suffusion after hemorrhage.  
J Surg Res **52**(5): 499-504
- FOLTMANN, B. (1969)  
Prochymosin and Chymosin (Prorennin and Rennin).  
Biochemical Journal **115**(3): 3-4
- FOLTMANN, B., PEDERSEN, V. B., KAUFFMAN, D. WYBRANDT, G. (1979)  
The primary structure of calf chymosin.  
J Biol Chem **254**(17): 8447-56
- FOX, P. F. (1969)  
Milk-Clotting and Proteolytic Activities of Rennet, and of Bovine Pepsin and Porcine Pepsin.  
Journal of Dairy Research **36**(3): 427-33
- FOX, P. F., O'CONNOR, T. P. MCSWEENEY, P. L. H. (1996)  
Cheese: physical, biochemica and nutritional aspects.  
Advances in food and nutrition research **39**: 163-93
- FROMM, M. GÄBEL, G. (2005)  
Niere.  
Physiologie der Haustiere. W. von Engelhardt and G. Breves. Stuttgart, Enke Verlag:  
277-306
- FUNK, G. C. (2007)  
Das Säure-Basen-Modell nach Stewart.  
Wien Klin Wochenschr **119**(13-14): 390-403
- GÄBEL, G. (2005)  
Säure-Basen-Haushalt.  
Physiologie der Haustiere. W. von Engelhardt and G. Breves. Stuttgart, Enke Verlag:  
268-276

- GARG, S. K. JOHRI, B. N. (1994)  
Rennet - Current Trends and Future-Research.  
Food Reviews International **10**(3): 313-355
- GARNOT, P., TOULLEC, R. THAPON, J. L., MARTIN, T. P., HOANG, M. (1977)  
Influence of age, dietary protein and weaning on calf abomasal enzymatic secretion  
J Dairy Sci **44**(1): 9-23
- GARTHWAITE, B. D., DRACKLEY, J. K., MCCOY, G. C. JASTER, E. H. (1994)  
Whole milk and oral rehydration solution for calves with diarrhea of spontaneous origin.  
J Dairy Sci **77**(3): 835-43
- GATTINONI, L., CARLESSO, E., CADRINGHER, P. CAIRONI, P. (2006a)  
Strong ion difference in urine: new perspectives in acid-base assessment.  
Crit Care **10**(2): 137
- GATTINONI, L., TACCONE, P. CARLESSO, E. (2006b)  
Respiratory acidosis: is the correction with bicarbonate worth?  
Minerva Anestesiol **72**(6): 551-7
- GEISHAUSER, T., REICHE, D., SEEH, C., THUNKER, B., VERWOHLT, S. FAILING, K. (1996)  
pH, Natrium, Kalium, Magnesium, Calcium, Phosphat und Chlorid im Pansen- und Labmageninhalt von Kühen mit Labmagenverlagerung.  
Dtsch Tierarztl Wochenschr **103**(1): 16-20
- GIESECKE, D., BARTELMUS, C. STANGASSINGER, M. (1976)  
Untersuchungen zur Genese und Biochemie der Pansenazidose. 3.  
Stoffwechselfynamik von D(-)- und L(+)-Milchsäure nach Verabreichung von Zuckern und Überfütterung mit Stärke.  
Zentralbl Veterinarmed A **23**(05): 353-63
- GILFIX, B. M., BIQUE, M. MAGDER, S. (1993)  
A physical chemical approach to the analysis of acid-base balance in the clinical setting.  
J Crit Care **8**(4): 187-97
- GLAWISCHNIG, E., GREBER, N. SCHLERKA, G. (1990)  
Die Dauertropfinfusion bei Kälbern mit hochgradiger Azidose.  
Tierärztliche Umschau **45**: 562-9
- GOFF, J. P. HORST, R. L. (2003)  
Role of acid-base physiology on the pathogenesis of parturient hypocalcaemia (milk fever)--the DCAD theory in principal and practice.  
Acta Vet Scand Suppl **97**: 51-6
- GRAPPIN, R. RIBADEAU-DUMAS, B. (1992)  
Analytical methods for milk proteins.  
Advanced Dairy Chemistry. P. F. Fox. Essex, Elsevier Science Publishers. **1**: 1-62
- GREINER, M. (2003)  
Serodiagnostische Tests - Evaluierung und Interpretation in der Veterinärmedizin und anderen Fachgebieten.  
Heidelberg, Springer Verlag

- GROUTIDES, C. MICHELL, A. R. (1990a)  
Evaluation of acid-base disturbances in calf diarrhoea.  
Vet Rec **126**(2): 29-31
- GROUTIDES, C. P. MICHELL, A. R. (1990b)  
Changes in plasma composition in calves surviving or dying from diarrhoea.  
Br Vet J **146**(3): 205-10
- GROUTIDES, C. P. MICHELL, A. R. (1990c)  
Intravenous solutions for fluid therapy in calf diarrhoea.  
Res Vet Sci **49**(3): 292-7
- GROVE-WHITE, D. H. (1996)  
Pathophysiology and treatment of metabolic acidosis in diarrhoeic calf.  
BCVA: 102-107
- GROVE-WHITE, D. H. (1998)  
Monitoring and management of acidosis in calf diarrhoea.  
J R Soc Med **91**(4): 195-8
- GROVE-WHITE, D. H. MICHELL, A. R. (2001)  
Comparison of the measurement of total carbon dioxide and strong ion difference for the evaluation of metabolic acidosis in diarrhoeic calves.  
Vet Rec **148**(12): 365-70
- GROVE-WHITE, D. H. WHITE, D. G. (1993)  
Diagnosis and treatment of metabolic acidosis in calves: a field study.  
Vet Rec **133**(20): 499-501
- GUILLOTEAU, P., CORRING, T., TOULLEC, R. GUILHERMET, R. (1985)  
Enzyme potentialities of the abomasum and pancreas of the calf. II. Effects of weaning and feeding a liquid supplement to ruminant animals.  
Reprod Nutr Dev **25**(3): 481-93
- GUILLOTEAU, P., CORRING, T., TOULLEC, R. ROBELIN, J. (1984)  
Enzyme potentialities of the abomasum and pancreas of the calf. I.--Effect of age in the preruminant.  
Reprod Nutr Dev **24**(3): 315-25
- GUNNERSON, K. J. KELLUM, J. A. (2003)  
Acid-base and electrolyte analysis in critically ill patients: are we ready for the new millennium?  
Curr Opin Crit Care **9**(6): 468-73
- HALPIN, C. G. CAPLE, I. W. (1976)  
Changes in intestinal structure and function of neonatal calves infected with reovirus-like agent and Escherichia coli.  
Aust Vet J **52**(10): 438-41
- HARBOE, M., ANDERSEN, P. M., FOLTMANN, B., KAY, J. KASSELL, B. (1974)  
The activation of bovine pepsinogen. Sequence of the peptides released, identification of a pepsin inhibitor.  
J Biol Chem **249**(14): 4487-94

- HARTMANN, H. (1995)  
Flüssigkeitstherapie bei Tieren. Grundlagen - Indikationen - Technik - Fallbeispiele.  
Jena, G. Fischer Verlag
- HARTMANN, H. (2002)  
Gastrointestinale Funktionen beim durchfallkranken Kalb und wirksamer Einsatz von  
Diättränken.  
Tierärztliche Praxis Ausgabe Grosstiere Nutztiere **30**(3): 201-6
- HARTMANN, H. (2005)  
Säuren-Basen-Haushalt.  
Rinderkrankheiten. W. H. H. (Hrsg.). Stuttgart, Eugen Ulmer KG: 90-5
- HARTMANN, H. BERCHTOLD, J. (1997)  
Pathogenese und Diagnostik von systemischen Azidosen bei Tieren mit  
Schlussfolgerungen für wirksame Therapieverfahren.  
Tierärztliche Praxis Ausgabe Grosstiere Nutztiere **25**(6): 611-24
- HARTMANN, H., BERCHTOLD, J. HOFMANN, W. (1997)  
Pathophysiological aspects of acidosis in diarrhoeic calves.  
Tierärztliche Umschau **52**(10): 568-74
- HARTMANN, H., JOEL, B., LAUE, R., WEINER, R. DANOWSKI, H. (1985)  
Die funktionelle Erfassung der Absorptionsfähigkeit des Dünndarms von  
durchfallkranken Kälbern mit Schlussfolgerungen für die Zweckmäßigkeit der oralen  
Behandlung.  
Arch Exp Veterinarmed **39**(4): 573-84
- HARTMANN, H., MEYER, H., STEINBACH, G., SCHWEINITZ, P. LUSTERMANN, S. (1984)  
Zum Säuren-Basen-Haushalt durchfallkranker Kälber.  
Monatshefte Für Veterinarmedizin **39**(21): 738-42
- HASKINS, S. C. (1977)  
An overview of acid-base physiology.  
J Am Vet Med Assoc **170**(4): 423-8
- HASKINS, S. C. (1977)  
Sampling and storage of blood for pH and blood gas analysis.  
J Am Vet Med Assoc **170**(4): 429-33
- HASKINS, S. C., HOPPER, K. REZENDE, M. L. (2006)  
The acid-base impact of free water removal from, and addition to, plasma.  
J Lab Clin Med **147**(3): 114-20
- HASSELBALCH, K. A. (1916)  
Die Berechnung der Wasserstoffzahl des Blutes aus der freien und gebundenen  
Kohlensäure desselben, und die Sauerstoffbindung des Blutes als Funktion der  
Wasserstoffzahl.  
Biochem Z **78**: 112-44
- HAYHOE, M., BELLOMO, R., LIU, G., MCNICOL, L. BUXTON, B. (1999)  
The aetiology and pathogenesis of cardiopulmonary bypass-associated metabolic  
acidosis using polygeline pump prime.  
Intensive Care Med **25**(7): 680-5

- HEATH, S. E., NAYLOR, J. M., GUEDO, B. L., PETRIE, L., ROUSSEAU, C. G.  
RADOSTITS, O. M. (1989)  
The effects of feeding milk to diarrheic calves supplemented with oral electrolytes.  
Can J Vet Res **53**(4): 477-85
- HENSCHHEL, M. J. (1973)  
Comparison of the development of proteolytic activity in the abomasum of the  
preruminant calf with that in the stomach of the young rabbit and guinea-pig.  
Br J Nutr **30**(2): 285-96
- HINDERER, A., SEEMANN, G. KLEE, W. (1999)  
Effect of ad lib and restricted milk feeding on the course of illness and body weight in  
young calves with diarrhea.  
Dtsch Tierarztl Wochenschr **106**(1): 14-7
- HOU, W. SCHUBERT, M. L. (2006)  
Gastric secretion.  
Curr Opin Gastroenterol **22**(6): 593-8
- HOWARD, J. L. (1993)  
Current Veterinary Therapy 3, Food Animal Practice.  
Philadelphia, WB Saunders
- HU, W., MURPHY, M. R., CONSTABLE, P. D. BLOCK, E. (2007)  
Dietary cation-anion difference effects on performance and acid-base status of dairy  
cows postpartum.  
J Dairy Sci **90**(7): 3367-75
- HUNT, E. (1985)  
Symposium on Calf Diarrhea. Appendix 4. Field technique for estimating severity of  
dehydration, volume of fluid necessary for rehydration, and average bicarbonate  
deficit for a 40-kg neonatal calf with acute diarrhea.  
Vet Clin North Am Food Anim Pract **1**(3): 655-6
- JASTER, E. H., MCCOY, G. C., TOMKINS, T. DAVIS, C. L. (1990)  
Feeding acidified or sweet milk replacer to dairy calves.  
J Dairy Sci **73**(12): 3563-6
- JASTER, H. J., SCHESSLER, A., GROSSE-SIESTRUP, C. BUCHERL, E. (1977)  
Papierelektrophoretische Untersuchung von Blutseren 61 gesunder Kälber.  
Berl Münch Tierarztl Wochenschr **90**(4): 72-4
- KAMMERLEHNER, J. (1999)  
Milchgerinnungsenzyme. Von der manuellen Labbereitung bis zur Großfabrikation  
von tierischem Lab und von Labaustauschstoffen - ihre Attribute.  
Deutsche Molkerei Zeitung **120**: 554-64
- KANEKO, J. J. (1989)  
Clinical Biochemistry of Domestic Animals.  
London, Academic Press
- KAPLAN, L. J. (2005)  
It's all in the charge.  
Crit Care Med **33**(3): 680-1

- KAPLAN, L. J. KELLUM, J. A. (2004)  
Initial pH, base deficit, lactate, anion gap, strong ion difference, and strong ion gap predict outcome from major vascular injury.  
Crit Care Med **32**(5): 1120-4
- KASARI, T. R. (1990)  
Metabolic acidosis in diarrheic calves: the importance of alkalinizing agents in therapy.  
Vet Clin North Am Food Anim Pract **6**(1): 29-43
- KASARI, T. R. (1999)  
Metabolic acidosis in calves.  
Vet Clin North Am Food Anim Pract **15**(3): 473-86
- KASARI, T. R. NAYLOR, J. M. (1985)  
Clinical evaluation of sodium bicarbonate, sodium L-lactate, and sodium acetate for the treatment of acidosis in diarrheic calves.  
J Am Vet Med Assoc **187**(4): 392-7
- KASARI, T. R. NAYLOR, J. M. (1986)  
Further studies on the clinical features and clinicopathological findings of a syndrome of metabolic acidosis with minimal dehydration in neonatal calves.  
Can J Vet Res **50**(4): 502-8
- KASKE, M. (1993)  
Physiologische Funktionen des Gastrointestinaltrakts und pathophysiologische Veränderungen bei der neonatalen Diarrhoe des Kalbes.  
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift **100**(11): 434-9
- KASKE, M. (1994)  
Pathophysiologische Aspekte der neonatalen Kälberdiarrhoe.  
Tierärztliche Umschau **49**(6): 336-8
- KASKE, M. (2002)  
Pathophysiologie der neonatalen Kälberdiarrhoe und Konsequenzen für die Therapie.  
Nutztierpraxis aktuell **2**
- KASKE, M. (2005)  
Vormagenmotorik und Ingestapassage.  
Physiologie der Haustiere. W. von Engelhardt and G. Breves. Stuttgart, Enke Verlag
- KASKE, M. KUNZ, H.-J. (2003)  
Handbuch Durchfallerkrankungen der Kälber.  
Osnabrück, Kamlage Verlag
- KAWASAKI, Y., KAWAKAMI, H., TANIMOTO, M., DOSAKO, S., TOMIZAWA, A., KOTAKE, M. NAKAJIMA, I. (1993)  
Ph-Dependent Molecular-Weight Changes of Kappa-Casein Glycomacropetide and Its Preparation by Ultrafiltration.  
Milchwissenschaft-Milk Science International **48**(4): 191-6
- KELLUM, J. A. (2000)  
Determinants of blood pH in health and disease.  
Crit Care **4**(1): 6-14

- KELLUM, J. A. (2003)  
Closing the gap on unmeasured anions.  
Crit Care **7**(3): 219-20
- KELLUM, J. A. (2005)  
Clinical review: reunification of acid-base physiology.  
Crit Care **9**(5): 500-7
- KELLUM, J. A. (2007)  
Acid-base disorders and strong ion gap.  
Contrib Nephrol **156**: 158-66
- KELLUM, J. A., KRAMER, D. J. PINSKY, M. R. (1995)  
Strong ion gap: a methodology for exploring unexplained anions.  
J Crit Care **10**(2): 51-5
- KHORASANI, G. R., OZIMEK, L., SAUER, W. C. KENNELLY, J. J. (1989)  
Substitution of milk protein with isolated soy protein in calf milk replacers.  
J Anim Sci **67**(6): 1634-41
- KIELWEIN, G. (1994)  
Zusammensetzung und Bildung der Milch.  
Leitfaden der Milchkunde und Milchhygiene.  
Berlin, Blackwell Wissenschafts-Verlag: 18-49
- KILSHAW, P. J. SISSONS, J. W. (1979)  
Gastrointestinal allergy to soyabean protein in preruminant calves. Allergenic constituents of soyabean products.  
Res Vet Sci **27**(3): 366-71
- KLEE, W., SEITZ, A. ELMER-ENGLHARD, D. (1985)  
Untersuchungen über den Kreatinin- und Harnstoff-Blutspiegel gesunder neugeborener Kälber im Hinblick auf deren Nierenfunktion.  
Dtsch Tierarztl Wochenschr **92**(10): 405-7
- KLEINERT, T., LANGE, I., ROSICKE, B., HONIG, A. SCHLEUSENER, R. (1988)  
Characterization and Preparation of Chymosin from Calf Rennet Samples by Means of Isoelectric-Focusing.  
Acta Biotechnologica **8**(4): 367-75
- KNOWLES, T. G., EDWARDS, J. E., BAZELEY, K. J., BROWN, S. N., BUTTERWORTH, A. WARRISS, P. D. (2000)  
Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age.  
Vet Rec **147**(21): 593-8
- KOLB, E. (1989)  
Lehrbuch der Physiologie der Haustiere.  
Jena, Gustav Fischer Verlag
- KRAFT, W. DÜRR, U. M. (2005)  
Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin.  
Stuttgart, Schattauer

- KUNZ, H.-J. (2003)  
Die Kälbertränke: Beurteilungskriterien für Milchaustauscher.  
Nutztierpraxis aktuell **6**
- LANG, F. (2005)  
Säure-Basen-Haushalt.  
Physiologie des Menschen. R. F. Schmidt, F. Lang and G. Thews. Heidelberg,  
Springer Medizin Verlag: 795-806
- LARSSON, K. I. ANDREN, A. (1997)  
Affinity between chymosin and individual caseins at varying pH-values.  
International Dairy Journal **7**(10): 615-8
- LARSSON, K. I., ANDREN, A., GEURTS, T. J., DEROOS, A. L. WALSTRA, P. (1997)  
Association of chymosin with artificial casein micelles as influenced by micelle  
composition and pH.  
International Dairy Journal **7**(1): 43-6
- LAST, W.-J. (2005)  
Rehydratationstränken für Durchfallkälber.  
Veterinärspiegel **Sonderdruck**: 1-5
- LE HUEROU-LURON, I., GUILLOTEAU, P., WICKER-PLANQUART, C., CHAYVIALLE, J.  
A., BURTON, J., MOUATS, A., TOULLEC, R. PUIGSERVER, A. (1992)  
Gastric and pancreatic enzyme activities and their relationship with some gut  
regulatory peptides during postnatal development and weaning in calves.  
J Nutr **122**(7): 1434-45
- LEVINE, G. M., DEREN, J. J., STEIGER, E. ZINNO, R. (1974)  
Role of oral intake in maintenance of gut mass and disaccharide activity.  
Gastroenterology **67**(5): 975-82
- LEWIS, L. D. PHILLIPS, R. W. (1972)  
Water and electrolyte losses in neonatal calves with acute diarrhea. A complete  
balance study.  
Cornell Vet **62**(4): 596-607
- LEWIS, L. D. PHILLIPS, R. W. (1979)  
Treatment of the calf with diarrhea.  
Vet Clin North Am Large Anim Pract **1**(2): 395-409
- LEWIS, L. D., PHILLIPS, R. W. ELLIOTT, C. D. (1975)  
Changes in plasma glucose and lactate concentrations and enzyme activities in the  
neonatal calf with diarrhea.  
Am J Vet Res **36**(4 Pt.1): 413-6
- LOFSTEDT, J., DOHOO, I. R. DUIZER, G. (1999)  
Model to predict septicemia in diarrheic calves.  
J Vet Intern Med **13**(2): 81-8
- LORENZ, I., GENTILE, A. KLEE, W. (2005)  
Investigations of D-lactate metabolism and the clinical signs of D-lactataemia in  
calves.  
Vet Rec **156**(13): 412-5

- MAACH, L., GRUNDER, H. D. BOUJAJA, A. (1992)  
Klinische und hämatologische Untersuchungen bei schwarzbunten an Durchfall erkrankten neugeborenen Aufzuchtälbern in Marokko.  
Dtsch Tierarztl Wochenschr **99**(4): 133-40
- MACDONALD, C. A., THOMAS, M. A. W. (1970)  
Rennin-sensitive bond of bovine kappa-casein.  
Biochemica et Biophysica Acta **207**(1): 139-&
- MADIAS, N. E. ADROGUE, H. J. (2003)  
Cross-talk between two organs: how the kidney responds to disruption of acid-base balance by the lung.  
Nephron Physiol **93**(3): 61-6
- MALONEY, D. G., APPADURAI, I. R. VAUGHAN, R. S. (2002)  
Anions and the anaesthetist.  
Anaesthesia **57**(2): 140-54
- MARSHALL, T. S., CONSTABLE, P. D., CROCHIK, S. S. WITTEK, T. (2005)  
Determination of abomasal emptying rate in suckling calves by use of nuclear scintigraphy and acetaminophen absorption.  
Am J Vet Res **66**(3): 364-74
- MARSHALL, T. S., CONSTABLE, P. D. WITTEK, T. (2004)  
Ability of the abomasal luminal pH-time relationship to predict the abomasal emptying rate in Holstein bull calves.  
World Buiatrics Congress, Quebec, Canada
- MARSHALL, W. J. (1995)  
Hydrogen ion homeostasis, tissue oxygenation and their disorders.  
Clinical Biochemistry. Metabolic and Clinical Aspects. W. J. u. B. Marshall, S. K. New York, Churchill Livingstone: S. 61-86
- MARSHALL, W. J. (1995)  
The interpretation of biochemical data.  
Clinical Biochemistry. Metabolic and Clinical Aspects. W. J. Marshall and S. K. Bangert. New York, Churchill Livingstone
- MCCAMAN, M. T., ANDREWS, W. H. FILES, J. G. (1985)  
Enzymatic-Properties and Processing of Bovine Prochymosin Synthesized in Escherichia-Coli.  
Journal of Biotechnology **2**(3-4): 177-90
- MCCULLOUGH, S. M. CONSTABLE, P. D. (2003)  
Calculation of the total plasma concentration of nonvolatile weak acids and the effective dissociation constant of nonvolatile buffers in plasma for use in the strong ion approach to acid-base balance in cats.  
Am J Vet Res **64**(8): 1047-51
- MCLEAN, D. M. BAILEY, L. F. (1972)  
The effectiveness of three treatments for scouring in calves.  
Aust Vet J **48**(6): 336-8
- MELOUN, B., MORAVEK, L. KOSTKA, V. (1975)  
Complete amino acid sequence of human serum albumin.  
FEBS Lett **58**(1): 134-7

- MICHELL, A. R. (1998)  
Oral rehydration for diarrhoea: symptomatic treatment or fundamental therapy.  
J Comp Pathol **118**(3): 175-93
- MICHELL, A. R. (2005)  
Why has oral rehydration for calves and children diverged: direct vs. indirect criteria of efficacy.  
Res Vet Sci **79**(3): 177-81
- MICHELL, A. R., BROOKS, H. W., WHITE, D. G. WAGSTAFF, A. J. (1992)  
The comparative effectiveness of three commercial oral solutions in correcting fluid, electrolyte and acid-base disturbances caused by calf diarrhoea.  
Br Vet J **148**(6): 507-22
- MINIKIEWICZ, P., SLANGEN, C. J., LAGERWERF, F. M., HAVERKAMP, J., ROLLEMA, H. S. VISSER, S. (1996)  
Reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of bovine kappa-casein macropeptide and characterization of isolated fractions.  
J Chromatogr A **743**(1): 123-35
- MIRANDA, G., ANGLADE, P., MAHE, M. F. ERHARDT, G. (1993)  
Biochemical characterization of the bovine genetic kappa-casein C and E variants.  
Anim Genet **24**(1): 27-31
- MIYOSHI, M., YOON, C. H., IBUKI, F. KANAMORI, M. (1976)  
Characterization of Rennin Action on K-Casein Using Cm-Cellulose.  
Agricultural and Biological Chemistry **40**(2): 347-52
- MOON, P. F. KRAMER, G. C. (1995)  
Hypertonic saline-dextran resuscitation from hemorrhagic shock induces transient mixed acidosis.  
Crit Care Med **23**(2): 323-31
- MORGAN, T. J. (2005)  
Clinical review: The meaning of acid-base abnormalities in the intensive care unit - effects of fluid administration.  
Critical Care **9**(2): 204-11
- MORGAN, T. J., VENKATESH, B. HALL, J. (2004)  
Crystalloid strong ion difference determines metabolic acid-base change during acute normovolaemic haemodilution.  
Intensive Care Med **30**(7): 1432-7
- MORNET, P. ESPINASSE, J. (1990)  
Das Kalb.  
Hengersberg, Schober Verlags-GmbH
- MOVIAT, M., PICKKERS, P., VAN DER VOORT, P. H. VAN DER HOEVEN, J. G. (2006)  
Acetazolamide-mediated decrease in strong ion difference accounts for the correction of metabolic alkalosis in critically ill patients.  
Crit Care **10**(1): 1-6
- MÜLLER-PLATHE, O. (1982)  
Säure-Basen-Haushalt und Blutgase.  
Klinische Chemie in Einzeldarstellungen Band I. H. Breuer, H. Büttner and D. Stamm.  
Stuttgart, Georg Thieme Verlag

- MURER, H. BERGER, E. G. (1992)  
Physiologie des Magen-Darm-Traktes.  
Physiologie. P. Deetjen and E.-J. Speckmann. München, Urban & Schwarzenberg:  
397-438
- MYLREA, P. J. (1966a)  
Digestion in young calves fed whole milk ad lib. and its relationship to calf scours.  
Res Vet Sci **7**(4): 407-16
- MYLREA, P. J. (1966b)  
Digestion of milk in young calves. I. Flow and acidity of the contents of the small  
intestine.  
Res Vet Sci **7**(3): 333-41
- MYLREA, P. J. (1966c)  
Digestion of milk in young calves. II. The absorption of nutrients from the small  
intestine.  
Res Vet Sci **7**(4): 394-406
- MYLREA, P. J. (1968)  
Functioning of the digestive tract of young fasted calves.  
Res Vet Sci **9**(1): 1-4
- NAPPERT, G. (2003)  
Praktische Aspekte bei der oralen Rehydratationstherapie durchfallkranker Kälber.  
Nutztierpraxis aktuell **7**
- NAPPERT, G., HAMILTON, D., PETRIE, L. NAYLOR, J. M. (1993)  
Determination of lactose and xylose malabsorption in preruminant diarrheic calves.  
Can J Vet Res **57**(3): 152-8
- NAPPERT, G. LATTIMER, J. C. (2001)  
Comparison of abomasal emptying in neonatal calves with a nuclear scintigraphic  
procedure.  
Canadian Journal of Veterinary Research-Revue Canadienne De Recherche  
Veterinaire **65**(1): 50-4
- NAPPERT, G. SPENNICK, H. (2003)  
Effects of neonatal calf oral rehydration therapy solutions on milk clotting time.  
Cattle Practice **11**: 285-8
- NAPPERT, G., ZELLO, G. A. NAYLOR, J. M. (1997)  
Oral rehydration therapy for diarrheic calves.  
Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian **19**(8): S181-9
- NAVETAT, H., BIRON, P. CONTREPOIS, M. (1997)  
Les gastroenterites paralysantes: maladie ou syndrome?  
Bull Acad Vet de France **70**: 327-36
- NAYLOR, J. M. (1987)  
Severity and Nature of Acidosis in Diarrheic Calves over and under One Week of  
Age.  
Canadian Veterinary Journal-Revue Veterinaire Canadienne **28**(4): 168-73

- NAYLOR, J. M. (1990)  
Oral fluid therapy in neonatal ruminants and swine.  
Vet Clin North Am Food Anim Pract **6**(1): 51-67
- NAYLOR, J. M. (1991)  
Nutritional support for sick cattle and calves.  
Large Animal Clinical Nutrition. J. M. Naylor and S. Ralston. St. Louis, Mosby: 393-6
- NAYLOR, J. M. (1992)  
Effects of electrolyte solutions for oral administration on clotting of milk.  
J Am Vet Med Assoc **201**(7): 1026-9
- NAYLOR, J. M. (1999)  
Oral electrolyte therapy.  
Vet Clin North Am Food Anim Pract **15**(3): 487-504
- NAYLOR, J. M. (2002)  
Neonatal ruminant diarrhea.  
Large Animal Internal Medicine. B. P. Smith. St. Louis, Mosby: 352-365
- NAYLOR, J. M. FORSYTH, G. W. (1986)  
The alkalinizing effects of metabolizable bases in the healthy calf.  
Can J Vet Res **50**(4): 509-16
- NAYLOR, J. M., LIEBEL, T. MIDDLETON, D. M. (1997)  
Effect of glutamine or glycine containing oral electrolyte solutions on mucosal morphology, clinical and biochemical findings, in calves with viral induced diarrhea.  
Can J Vet Res **61**(1): 43-8
- NAYLOR, J. M. LIEBEL, T. (1995)  
Effect of psyllium on plasma concentration of glucose, breath hydrogen concentration, and fecal composition in calves with diarrhea treated orally with electrolyte solutions.  
Am J Vet Res **56**(1): 56-9
- NAYLOR, J. M., PETRIE, L., RODRIGUEZ, M. I. SKILNICK, P. (1990)  
A comparison of three oral electrolyte solutions in the treatment of diarrheic calves.  
Can Vet J **31**: 753-60
- NOURI, M. CONSTABLE, P. D. (2006)  
Comparison of two oral electrolyte solutions and route of administration on the abomasal emptying rate of Holstein-Friesian calves.  
J Vet Intern Med **20**(3): 620-6
- OH, M. S. CARROLL, H. J. (1977)  
The anion gap.  
N Engl J Med **297**(15): 814-7
- OH, M. S., URIBARRI, J., ALVERANGA, D., LAZAR, I., BAZILINSKI, N. CARROLL, H. J. (1985)  
Metabolic utilization and renal handling of D-lactate in men.  
Metabolism **34**(7): 621-5
- OMOLE, O. O., NAPPERT, G., NAYLOR, J. M. ZELLO, G. A. (2001)  
Both L- and D-lactate contribute to metabolic acidosis in diarrheic calves.  
J Nutr **131**(8): 2128-31

- PAYENS, T. A. J. VISSER, S. (1981)  
What Determines the Specificity of Chymosin Towards Kappa-Casein.  
Netherlands Milk and Dairy Journal **35**(3-4): 387-9
- PEDERSEN, V. B., CHRISTENSEN, K. A. FOLTMANN, B. (1979)  
Investigations on the activation of bovine prochymosin.  
Eur J Biochem **94**(2): 573-80
- PEREZ GARCIA, J. (1999)  
A practitioner's views on fluid therapy in calves.  
Vet Clin North Am Food Anim Pract **15**(3): 533-43
- PFEFFER, E. (1987)  
Verdauung.  
Lehrbuch der Veterinär-Physiologie. A. Scheunert and A. Trautmann. Berlin und  
Hamburg, Paul Parey Verlag: 29-57
- PHILLIPS, R. W. (1985)  
Fluid therapy for diarrheic calves. What, how, and how much.  
Vet Clin North Am Food Anim Pract **1**(3): 541-62
- PHILLIPS, R. W. KNOX, K. L. (1969)  
Diarrheic acidosis in calves.  
J Comp Lab Med **3**: 1-3
- PHILLIPS, R. W., LEWIS, L. D. KNOX, K. L. (1971)  
Alterations in body water turnover and distribution in neonatal calves with acute  
diarrhea.  
Ann N Y Acad Sci **176**: 231-43
- PROUGH, D. S. BIDANI, A. (1999)  
Hyperchloremic metabolic acidosis is a predictable consequence of intraoperative  
infusion of 0.9% saline.  
Anesthesiology **90**(5): 1247-9
- PUTNAM, R. W. ROOS, A. (1991)  
Which value for the first dissociation constant of carbonic acid should be used in  
biological work?  
Am J Physiol **260**(5 Pt 1): C1113-6
- RADEMACHER, G. (2001a)  
Kälber mit Durchfall richtig tränken.  
TORO: Organ des schweizerischen Verbandes für künstliche Besamung  
Swissgenetics: 20-21
- RADEMACHER, G. (2001b)  
Kälber mit Durchfall richtig tränken, Fortsetzung.  
TORO: Organ des schweizerischen Verbandes für künstliche Besamung  
Swissgenetics: 20-21
- RADEMACHER, G. (2003)  
Kälberkrankheiten.  
Stuttgart, Eugen Ulmer GmbH

- RADEMACHER, G., LORENZ, I. KLEE, W. (2002)  
Tränkung und Behandlung von Kälbern mit Neugeborenenendurchfall.  
Tierärztliche Umschau **57**: 177-89
- RADOSTITS, O. M. (1965)  
Clinical management of neonatal diarrhea in calves, with special reference to  
pathogenesis and diagnosis.  
J Am Vet Med Assoc **147**(12): 1367-76
- RADOSTITS, O. M., GAY, C. C., HINCHCLIFF, K. W. CONSTABLE, P. D. (2007)  
Veterinary Medicine - A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and  
goats.  
Philadelphia, Saunders Elsevier
- RADOSTITS, O. M., RHODES, C. S., MITCHELL, M. E., SPOTSWOOD, T. P. WENKOFF,  
M. S. (1975)  
A clinical evaluation of antimicrobial agents and temporary starvation in the treatment  
of acute undifferentiated diarrhea in newborn calves.  
Can Vet J **16**(8): 219-27
- RAYMOND, M. N., GARNIER, J. BRICAS, E. (1972)  
Studies on the specificity of chymosin (rennin). I. Kinetic parameters of the hydrolysis  
of synthetic oligopeptide substrates.  
Biochimie **54**(2): 145-54
- REEVES, R. B. (1976)  
Temperature-induced changes in blood acid-base status: pH and PCO<sub>2</sub> in a binary  
buffer.  
J Appl Physiol **40**(5): 752-61
- REHM, M., CHAPPELL, D. HOFMANN-KIEFER, K. (2007)  
Paradigmenwechsel durch das Stewart-Modell des Säure-Basen-Haushalts? Wir  
müssen nicht um-, sondern weiterlernen!  
Wien Klin Wochenschr **119**(13-14): 387-9
- REHM, M., CONZEN, P. F., PETER, K. FINSTERER, U. (2004)  
The Stewart model. "Modern" approach to the interpretation of the acid-base  
metabolism.  
Anaesthesist **53**(4): 347-57
- REINHOLD, S. (2007)  
Wirkung von Milch und unterschiedlich zusammengesetzten Diättränken auf den  
intraluminalen pH-Wert des Labmagens sowie den systemischen Säuren-Basen-  
Status beim Kalb.  
Veterinär-Physiologie, Vet Med Diss.  
Berlin, Freie Universität
- REINHOLD, S., HERTSCH, B.-W., HÖPPNER, S., HEUWIESER, W. HARTMANN, H. (2006)  
Wirkung von Milch und Diättränken mit und ohne Bikarbonationen auf den  
intraluminalen pH-Wert im Labmagen und den systemischen Säuren-Basen-Status  
beim Kalb.  
Tierärztliche Praxis Ausgabe Grosstiere Nutztiere **34**: 368-76

- RICHTER, C., TANAKA, T. YADA, R. Y. (1998)  
Mechanism of activation of the gastric aspartic proteinases: pepsinogen, progastricsin and prochymosin.  
Biochem J **335** ( Pt 3): 481-90
- RING, T., FRISCHE, S. NIELSEN, S. (2005)  
Clinical review: Renal tubular acidosis--a physicochemical approach.  
Crit Care **9**(6): 573-80
- ROCKTAESCHEL, J., MORIMATSU, H., UCHINO, S. BELLOMO, R. (2003)  
Unmeasured anions in critically ill patients: can they predict mortality?  
Crit Care Med **31**(8): 2131-6
- ROLLEMA, H. S. (1992)  
Casein Association and Micelle Formation.  
Advanced Dairy Chemistry Volume 1 Proteins. P. F. Fox. London, Elsevier Applied Science: 11-140
- ROSENBERGER, G. (1990)  
Die klinische Untersuchung des Rindes.  
Berlin, Paul Parey
- ROSSING, T. H., BOIXEDA, D., MAFFEO, N. FENCL, V. (1988)  
Hyperventilation with hypoproteinemia.  
J Lab Clin Med **112**(5): 553-9
- ROUSSEL, A. J., JR. BRUMBAUGH, G. W. (1991)  
Treatment of diarrhea of neonatal calves.  
Vet Clin North Am Food Anim Pract **7**(3): 713-28
- RUCKEBUSCH, Y., DARDILLAT, C. GUILLOTEAU, P. (1983)  
Development of digestive functions in the newborn ruminant.  
Ann Rech Vet **14**(4): 360-74
- RUETTIMANN, K. W. LADISCH, M. R. (1987)  
Casein Micelles - Structure, Properties and Enzymatic Coagulation.  
Enzyme and Microbial Technology **9**(10): 578-89
- RUSSELL, K. E., HANSEN, B. D. STEVENS, J. B. (1996)  
Strong ion difference approach to acid-base imbalances with clinical applications to dogs and cats.  
Vet Clin North Am Small Anim Pract **26**(5): 1185-201
- SACHS, L. (1992)  
Angewandte Statistik. Anwendung statistischer Methoden.  
Berlin, Springer-Verlag
- SADIEK, A. SCHLERKA, G. (1996)  
Untersuchungen über die Rehydratation bei an Durchfall erkrankten Milchkälbern.  
Tierärztliche Umschau **51**(9): 544-&
- SARASHINA, T., ICHIJO, S., TAKAHASHI, J. OSAME, S. (1990)  
Origin of abomasum gas in the cows with displaced abomasum.  
Nippon Juigaku Zasshi **52**(2): 371-8

- SCANFF, P., YVON, M., THIROUIN, S. PELISSIER, J. P. (1992)  
Characterization and Kinetics of Gastric-Emptying of Peptides Derived from Milk-Proteins in the Preruminant Calf.  
Journal of Dairy Research **59**(4): 437-47
- SCHARRER, E. WOLFFRAM, S. (2005)  
Funktionen des einhöhligen Magens.  
Physiologie der Haustiere. W. von Engelhardt and G. Breves. Stuttgart, Enke Verlag
- SCHEID, P. (1996)  
Säure-Basen-Gleichgewicht.  
Lehrbuch der Physiologie. R. Klinke and S. Silbernagl.  
Stuttgart, Georg Thieme Verlag: 269-82
- SCHEINGRABER, S., REHM, M., SEHMISCH, C. FINSTERER, U. (1999)  
Rapid saline infusion produces hyperchloremic acidosis in patients undergoing gynecologic surgery.  
Anesthesiology **90**(5): 1265-70
- SCHEUNERT, A., TRAUTMANN, A. (1987)  
Lehrbuch der Veterinär-Physiologie.  
Berlin, Paul Parey Verlag
- SCHLERKA, G., BAUMGARTNER, W. WEHRLE, A. (1996)  
Über die Aussagekraft des Harn-pH-Wertes für die Beurteilung einer Blutzidose beim durchfallkranken Milchkalb.  
Tierärztliche Umschau **51**(2): 96-99
- SCHLIMME, E. BUCHHEIM, W. (1995)  
Milch und ihre Inhaltsstoffe. Chemische und physikalische Eigenschaften.  
Gelsenkirchen-Buer, Verlag Th. Mann
- SCHMIDT, D. G. PAYENS, T. A. J. (1976)  
Colloidal aspects of caseins.  
Surface Colloid Science **9**: 165
- SCHULTE-MÄRTER, F. (2000)  
Kälberkrankheiten im Verlauf von 16 Jahren (Erhebungen an einer Hochschulklinik von 1980-1995)  
Klinik für Rinder, Vet Med Diss.  
Hannover, Tierärztliche Hochschule
- SEN, I., CONSTABLE, P. D. MARSHALL, T. S. (2006)  
Effect of suckling isotonic or hypertonic solutions of sodium bicarbonate or glucose on abomasal emptying rate in calves.  
Am J Vet Res **67**(8): 1377-84
- SHAMMET, K. M., BROWN, R. J. MCMAHON, D. J. (1992)  
Proteolytic activity of proteinases on macropeptide isolated from kappa-casein.  
J Dairy Sci **75**(6): 1380-8
- SIEGLING-VLITAKIS, C., KOHN, B., KELLERMEISTER, C., SCHMITZ, R. HARTMANN, H. (2007)  
Eignung der Stewart-Variablen zur Beurteilung des Säuren-Basen-Status bei gesunden und unterschiedlich erkrankten Hunden.  
Berl Munch Tierarztl Wochenschr **120**: 148-55

- SIGGAARD-ANDERSEN, O. FOGH-ANDERSEN, N. (1995)  
Base excess or buffer base (strong ion difference) as measure of a non-respiratory acid-base disturbance.  
*Acta Anaesthesiol Scand Suppl* **107**: 123-8
- SINGER, R. HASTINGS, A. (1948)  
An improved clinical method for the estimation of disturbances of the acid-base balance of human blood.  
*Medicine (Baltimore)* **27**: 223-42
- SKELLETT, S., MAYER, A., DURWARD, A., TIBBY, S. M. MURDOCH, I. A. (2000)  
Chasing the base deficit: hyperchloraemic acidosis following 0.9% saline fluid resuscitation.  
*Arch Dis Child* **83**(6): 514-6
- SMITH, B. P. (2002)  
Large Animal Internal Medicine.  
St. Louis, Mosby
- SOARES, A. M., FREIRE JUNIOR, J. E. LIMA, A. A. (1991)  
Transport of glutamine, alanine and glucose by rabbit intestinal membrane.  
*Braz J Med Biol Res* **24**(1): 111-3
- SOUCI, S. W., FACHMANN, W. KRAUT, H. (1986/87)  
Die Zusammensetzung der Lebensmittel, Nährwert-Tabellen.  
Stuttgart, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH
- STÄMPFLI, H. R. CONSTABLE, P. D. (2003)  
Experimental determination of net protein charge and A(tot) and K(a) of nonvolatile buffers in human plasma.  
*J Appl Physiol* **95**(2): 620-30
- STÄMPFLI, H., TAYLOR, M., MCNICOLL, C., GANCZ, A. Y. CONSTABLE, P. D. (2006)  
Experimental determination of net protein charge, [A]tot, and Ka of nonvolatile buffers in bird plasma.  
*J Appl Physiol* **100**(6): 1831-6
- STÄMPFLI, H. R., MISIASZEK, S., LUMSDEN, J. H., CARLSON, G. P. HEIGENHAUSER, G. J. (1999)  
Weak acid-concentration Atot and dissociation constant Ka of plasma proteins in racehorses.  
*Equine Vet J Suppl* **30**: 438-42
- STÄMPFLI, H. R., PRINGLE, J. H., LUMSDEN, J. H., OLIVER, O., KILMER, B. BAIRD, J. D. (1996)  
Experimental evaluation of a novel oral electrolyte solution in the treatment of natural occurring neonatal calf diarrhoea.  
*BCVA*: 98-101
- STEINHARDT, M., GOLLNAST, I., LANGANKE, M., BUNGER, U. KUTSCHKE, J. (1993)  
Klinisch-chemische Blutwerte bei neugeborenen Kälbern. 2. Wiederholte Untersuchungen an den gleichen Tieren.  
*Tierärztl Prax* **21**(5): 405-11

- STEWART, P. A. (1978)  
Independent and dependent variables of acid-base control.  
*Respir Physiology* **33**: 9-26
- STEWART, P. A. (1981)  
How to understand acid-base.  
New York, Elsevier North Holland, Inc.
- STEWART, P. A. (1983)  
Modern quantitative acid-base chemistry.  
*Can J Physiology Pharmacology* **61**: 1444-61
- STORY, D. A., MORIMATSU, H. BELLOMO, R. (2004)  
Strong ions, weak acids and base excess: a simplified Fencil-Stewart approach to clinical acid-base disorders.  
*Br J Anaesth* **92**(1): 54-60
- STORY, D. A., POUSTIE, S. BELLOMO, R. (2001)  
Comparison of three methods to estimate plasma bicarbonate in critically ill patients: Henderson-Hasselbalch, enzymatic, and strong-ion-gap.  
*Anaesth Intensive Care* **29**(6): 585-90
- SWAISGOOD (1992)  
Chemistry of the Caseins.  
Advanced Dairy Chemistry Volume 1 Proteins. P. F. Fox. London, Elsevier Applied Science: 63-110
- SWEENEY, R. W. (2000)  
Tolerance of a rice-based oral rehydration solution given to normal calves.  
*J Vet Intern Med* **14**(4): 463-7
- SZENCI, O., TOROS, I. SARI, A. (1981)  
Changes of acid-base balance in Holstein-Friesian calves during the first two days after birth.  
*Acta Vet Acad Sci Hung* **29**(2): 143-51
- TAKAHASHI, N., TAKAHASHI, Y., ISOBE, T., PUTNAM, F. W., FUJITA, M., SATOH, C. NEEL, J. V. (1987)  
Amino acid substitutions in inherited albumin variants from Amerindian and Japanese populations.  
*Proc Natl Acad Sci U S A* **84**(22): 8001-5
- TANFORD, C., SWANSON, S. A. SHORE, W. S. (1955)  
Hydrogen Ion Equilibria of Bovine Serum Albumin.  
*J Am Chem Soc* **77** (24): 6414-21
- TENNANT, B., HARROLD, D. REINA-GUERRA, M. (1972)  
Physiologic and metabolic factors in the pathogenesis of neonatal enteric infections in calves.  
*J Am Vet Med Assoc* **161**(9): 993-1007
- TOLKACH, A. KULOZIK, U. (2005)  
Fractionation of whey proteins and caseinomakropeptide by means of enzymatic crosslinking and membrane separation techniques.  
*Journal of Food Engineering* **67**: 13-20

- TREMBLAY, R. R. (1990)  
Intravenous fluid therapy in calves.  
Vet Clin North Am Food Anim Pract **6**(1): 77-101
- TUBBS, P. K. (1965)  
The metabolism of D-alpha-hydroxy acids in animal tissues.  
Ann N Y Acad Sci **119**(3): 920-6
- URIBARRI, J., OH, M. S. CARROLL, H. J. (1998)  
D-lactic acidosis. A review of clinical presentation, biochemical features, and pathophysiologic mechanisms.  
Medicine (Baltimore) **77**(2): 73-82
- 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**(6): 1643-52
- VAN HOOYDONK, A. C. M., BOERRIGTER, I. J. HAGEDOORN, H. G. (1986a)  
pH-induced physico-chemical changes of casein micelles in milk and their effect on renneting. 2. Effect of pH on renneting of milk.  
Neth. Milk Dairy J. **40**: 297-313
- VAN HOOYDONK, A. C. M., HAGEDOORN, H. G., BOERRIGTER, I. J. (1986b)  
The effect of various cations on the renneting of milk.  
Netherlands Milk and Dairy Journal **40**(4):369-90
- VAN LEEUWEN, A. M. (1964)  
Net cation equivalency ("base binding power") of the plasma proteins.  
Acta Med Scand 176: Suppl 422: 1-&
- VAN SLYKE, D. D., HASTINGS, A. B., HILLER, A. SENDROY, J. J. (1928)  
Studies of gas and electrolyte equilibria in blood. XIV. Amounts of alkali bound by serum globulin an globulin.  
J Biol Chem **79**: 769-80
- VAN WINDEN, S. C., MULLER, K. E., KUIPER, R. NOORDHUIZEN, J. P. (2002)  
Studies on the pH value of abomasal contents in dairy cows during the first 3 weeks after calving.  
J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med **49**(3): 157-60
- VERLANDER, J. W. (1997)  
Acid-Base Balance.  
Veterinary Physiology. J. G. Cunningham.  
Philadelphia, W. B. Saunders Company: 546-54
- VISSER, S., VAN ROOIJEN, P. J. SLANGEN, C. J. (1980)  
Peptide substrates for chymosin (rennin). Isolation and substrate behaviour of two tryptic fragments of bovine kappa casein.  
Eur J Biochem **108**(2): 415-21
- WALSTRA, P. (1990)  
On the stability of casein micelles.  
J Dairy Sci **73**(8): 1965-79

- WANG, F., BUTLER, T., RABBANI, G. H. JONES, P. K. (1986)  
The acidosis of cholera. Contributions of hyperproteinemia, lactic acidemia, and hyperphosphatemia to an increased serum anion gap.  
N Engl J Med **315**(25): 1591-5
- WATSON, P. D. (1999)  
Modeling the effects of proteins on pH in plasma.  
J Appl Physiol **86**(4): 1421-7
- WEIß, C. (2005)  
Basiswissen Medizinische Statistik.  
Heidelberg, Springer Verlag
- WEIß, H. (1999)  
Unterlagen für die Pflichtveranstaltung Biometrie am Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin.
- WERNER, J. (1992)  
Biomathematik und Medizinische Statistik. Urban und Schwarzenberg
- WHITEHAIR, K. J., HASKINS, S. C., WHITEHAIR, J. G. PASCOE, P. J. (1995)  
Clinical applications of quantitative acid-base chemistry.  
J Vet Intern Med **9**(1): 1-11
- WHITLOCK, R. H. (1992)  
Diarrhea in Cattle.  
Veterinary Gastroenterology. London, Lea & Feibiger: 755-&
- WHITNEY, R. M., BRUNNER, J. R., EBNER, K. E., FARRELL, H. M., JOSEPHSON, R. V., MORR, C. V. SWAISGOOD, H. E. (1976)  
Nomenclature of Proteins of Cows Milk - 4th Revision.  
Journal of Dairy Science **59**(5): 795-815
- WILKES, N. J., WOOLF, R., MUTCH, M., MALLETT, S. V., PEACHEY, T., STEPHENS, R. MYTHEN, M. G. (2001)  
The effects of balanced versus saline-based hetastarch and crystalloid solutions on acid-base and electrolyte status and gastric mucosal perfusion in elderly surgical patients.  
Anesth Analg **93**(4): 811-6
- WILKES, P. (1998)  
Hypoproteinemia, strong-ion difference, and acid-base status in critically ill patients.  
J Appl Physiol **84**(5): 1740-8
- WILLIAMS, V. J., ROY, J. H. GILLIES, C. M. (1976)  
Milk-substitute diet composition and abomasal secretion in the calf.  
Br J Nutr **36**(3): 317-35
- WITTEK, T., CONSTABLE, P. D., MARSHALL, T. S. CROCHIK, S. S. (2005)  
Ultrasonographic measurement of abomasal volume, location, and emptying rate in calves.  
Am J Vet Res **66**(3): 537-44
- WONG, D. W., CAMIRAND, W. M. PAVLATH, A. E. (1996)  
Structures and functionalities of milk proteins.  
Crit Rev Food Sci Nutr **36**(8): 807-44

- WOODE, G. N., SMITH, C. DENNIS, M. J. (1978)  
Intestinal damage in rotavirus infected calves assessed by D-xylose malabsorption.  
Vet Rec **102**(15): 340-1
- WOOTEN, E. W. (2004)  
Science review: quantitative acid-base physiology using the Stewart model.  
Crit Care **8**(6): 448-52
- YOUANES, Y. D. HERDT, T. H. (1987)  
Changes in small intestinal morphology and flora associated with decreased energy digestibility in calves with naturally occurring diarrhea.  
Am J Vet Res **48**(4): 719-25
- YOUNG, J. A., COOK, D. I., LINGARD, J. M., VAN LENNEP, E. W. WIEGMANN, E. A. (1996)  
Funktion des Magen-Darm-Trakts.  
Lehrbuch der Physiologie. R. Klinke and S. Silbernagl. Stuttgart, Georg Thieme Verlag: 387-434
- YSTGAARD, O. A. (1982)  
Hypoalbuminemia as a cause of metabolic alkalosis.  
Tidsskr Nor Laegeforen **102**(23): 1151-2
- YVON, M. PELISSIER, J. P. (1987)  
Characterization and Kinetics of Evacuation of Peptides Resulting from Casein Hydrolysis in the Stomach of the Calf.  
Journal of Agricultural and Food Chemistry **35**(1): 148-56

## 7 ZUSAMMENFASSUNG

### **Eignung der Stewart-Variablen des Säuren-Basen-Status für Aussagen über Vorgänge im Labmagen und Blut bei unterschiedlich getränkten Kälbern**

In der vorliegenden Arbeit wurde im ersten Teil der Untersuchungen zur Einführung des Stewart-Modells in Diagnostik und Therapie Referenzbereiche der Stewart-Variablen bei Kälbern erstellt.

Dazu wurde bei 17 Kälbern am 1., 3., 7., 14. und 28. Lebenstag arterielles und venöses Blut sowie Harn entnommen. In den Blut- und Harnproben wurden Serum- $[\text{SID}_3]$ ,  $-\text{[SID}_4]$ ,  $-\text{[A}_{\text{tot-Alb}}]$ ,  $-\text{[A}_{\text{tot-Pro}}]$ ,  $-\text{[SIG]}$ ,  $\text{PaCO}_2$  und  $\text{PvCO}_2$  sowie Harn- $[\text{SID}_3]$  bestimmt. Die ermittelten Referenzbereiche werden - mit Ausnahme von Harn- $[\text{SID}_3]$  - als repräsentativ angesehen und stehen für die Diagnostik von Störungen des SBS nach dem Stewart-Modell zur Verfügung.

Ziel des zweiten Teils der Untersuchungen an Kälbern war, den Einfluss von oralen Rehydratationstränken (ORT) in unterschiedlichen Zusammensetzungen auf abomasale Bedingungen wie pH, Osmolalität und  $[\text{SID}_3]$  sowie den systemischen SBS nach dem Stewart-Modell zu prüfen. Gleichzeitig sollten die Auswirkungen von ORT auf die Milchgerinnung *in vitro* und *in vivo* untersucht werden.

Dazu wurde bei drei Kälbern im Alter von 14, 18 und 26 Tagen eine PVC-Kanüle in den Labmagen operativ eingesetzt. Bei den Kälbern wurde vor und  $\frac{1}{2}$ , 1, 2 und 4h nach Fütterung von Milchaustauscher (MAT), MAT-ORT-Gemischen und Wasser-ORT-Gemischen Proben von Labmagingesta entnommen. In den Labmagingesta wurden der pH-Wert, die Fläche unter der pH-Zeit-Kurve (area under curve= AUC), die Osmolalität sowie die  $[\text{SID}_3]$  ermittelt. Als Zeichen der stattgefundenen enzymatischen Gerinnung wurde außerdem Caseinomakropeptid (CMP) in den Labmagingestaprobe per HPLC und SDS-Page quantifiziert. Zur Beurteilung des systemischen SBS wurden die Stewart-Parameter Serum- $[\text{SID}_3]$ ,  $-\text{[A}_{\text{tot-Alb}}]$ ,  $-\text{[A}_{\text{tot-Pro}}]$  und  $-\text{[SIG]}$  in den venösen Blutproben, die vor der Fütterung und 2 bzw. 4h postprandial entnommen wurden, bestimmt.

*In vitro* wurde die enzymatische Milchgerinnung durch Chymosin bei nativem pH-Wert und nach Ansäuerung des MAT und der MAT-ORT-Gemische auf pH~5,5 durch Messung der dynamischen Viskosität geprüft. Die Säuregerinnung von MAT und MAT-ORT-Gemischen bei  $\text{pH} \leq 4,7$  wurde durch Messung der statischen Viskosität erfasst.

Nach Fütterung von MAT stieg der abomasale pH-Wert auf  $5,19 \pm 0,67$  ( $\text{AUC} = 937 \pm 200$ ) an und sank dann kontinuierlich ab. Vier Stunden nach der Tränkung konnten die Nüchternwerte des pH-Wertes in den Labmagingesta wieder gemessen werden. Nach Fütterung der MAT-ORT-Gemische war die Auslenkung des abomasalen pH-Wertes größer als nach alleiniger MAT-Fütterung. Die Ausgangswerte des pH-Wertes im Labmagen wurden

erst nach 5,5-6h wieder erzielt. Dabei ist es bemerkenswert, dass nicht der pH-Wert der Tränke mit der Auslenkung des pH-Wertes in den Labmagingesta korrelierte, sondern dass viel mehr eine Korrelation zwischen dem  $[\text{SID}_3]$ -Wert der Tränke und der AUC der pH-Zeit-Kurve nach Fütterung von MAT, MAT-ORT-Gemischen sowie Wasser-ORT-Gemischen bestand. Der abomasale pH-Wert korrelierte auch mit dem  $[\text{SID}_3]$ -Wert der Labmagingesta. Dies unterstreicht die Bedeutung der SID für die Einstellung des pH-Wertes im Labmagen.

Nach Fütterung der Wasser-ORT-Gemische war die abomasale pH-Wert-Auslenkung geringer und zeitlich verkürzt. Dies resultiert aus den niedrigen  $[\text{SID}_3]$ -Werten, der niedrigen Osmolalität, dem niedrigen Energiegehalt sowie der fehlenden Gerinnung der in Wasser zubereiteten ORT. Durch die verkürzte abomasale Transitzeit von Wasser-ORT-Gemischen können die wirksamen Inhaltsstoffe schneller im Dünndarm absorbiert werden. Das ist für die unverzügliche Rehydratation von durchfallkranken Kälbern vorteilhaft.

*In vitro* konnte eine Störung der Milchgerinnung bei zwei der geprüften MAT-ORT-Gemische durch einen ausbleibenden Anstieg der Viskosität nach Enzymzugabe dargestellt werden. Nach Ansäuerung auf pH~5,5 mit Salzsäure und Enzymzugabe - wie es unter natürlichen Umständen im Labmagen geschieht - konnte bei jeder Zubereitung Milchgerinnung durch die Erhöhung der Viskosität detektiert werden. Auch die alleinige Gerinnung durch Säure bei  $\text{pH} \leq 4,7$  war in allen MAT-ORT-Gemischen gegeben.

Die Milchgerinnung *in vivo* konnte durch das Vorliegen von zwei Phasen in den Labmagingestapoben nachgewiesen werden. Durch die CMP-Bestimmung in den Labmagingesta, die 30min nach der Fütterung entnommen wurden, mittels HPLC und SDS-Page konnte bestätigt werden, dass enzymatische Milchgerinnung stattgefunden hat. Durch Vergleich der AUC der CMP-Peaks der HPLC nach Fütterung der verschiedenen Tränken konnte kein statistisch signifikanter Unterschied ermittelt werden. Demnach wird die Milchgerinnung im Labmagen durch die gleichzeitige Gabe von Milch/MAT und handelsüblichen ORT nicht gestört.

Nach Fütterung von ORT, die  $[\text{SID}_3]$ -Werte  $\geq 92\text{mmol/l}$  aufwiesen, konnte ein Anstieg von Serum- $[\text{SID}_3]$  im Blut nachgewiesen werden. Die ansteigenden Serum- $[\text{SID}_3]$  und die zeitgleich nach jeder Tränkung auftretende Verminderung von Serum- $[\text{A}_{\text{tot}}]$  führen zur alkalischen Reaktionslage im Organismus, wodurch die Azidose durchfallkranker Kälber wirkungsvoll bekämpft wird.

## 8 SUMMARY

### **Suitability of the Stewart variables of acid-base status in the analysis of processes in the abomasum and blood of calves on differing diets**

The introduction of the Stewart model of acid-base status into standard veterinary diagnostics and clinical practice is limited by the lack of reliable reference values for calves. For this reason, the first part of the present publication is concerned with the establishment of such reference values.

For this purpose arterial and venous blood samples as well as urine samples of 17 calves were collected at days 1, 3, 7, 14 and 28 post natum. In the blood and urine samples Serum-[SID<sub>3</sub>], -[SID<sub>4</sub>], -[A<sub>tot-Alb</sub>], -[A<sub>tot-Pro</sub>], -[SIG], PaCO<sub>2</sub>, PvCO<sub>2</sub> and Urine-[SID<sub>3</sub>] were determined. The calculated reference values are representative - with the exception of Urine-[SID<sub>3</sub>] - and are available for clinical diagnostics of disturbances of acid-base status according to the Stewart model.

Aim of part two of the present study was to analyze the influence of differently prepared oral rehydration solutions (ORS) on abomasal parameters such as pH, osmolality and [SID<sub>3</sub>] as well as on the Stewart variables of acid-base status in blood. Simultaneously, the effects of ORS on milk clotting *in vitro* and *in vivo* were examined.

Three calves aged 14, 18 and 26 days were surgically instrumented with an abomasal plastic cannula. Samples of the abomasal fluid were taken before and ½, 1, 2 and 4h after feeding of milk replacer (MR), MR-ORS- and Water-ORS-mixtures. In abomasal ingesta pH, area under curve of the pH-time-curve (AUC), osmolality and [SID<sub>3</sub>] were determined. In order to quantify enzymatic milk clotting in the abomasum, Caseinomacropeptid (CMP) was measured in the abomasal fluid by HPLC and SDS-Page. For evaluation of the systemic acid-base status of the calves the Stewart variables Serum-[SID<sub>3</sub>], -[A<sub>tot-Alb</sub>], -[A<sub>tot-Pro</sub>] and -[SIG] were detected in venous blood samples, which were taken before and 2h respectively 4h after feeding.

The *in vitro* milk clotting by chymosin both at the original pH and after acidification at pH~5,5 of the MR and the MR-ORS-mixtures was quantified by measuring dynamic viscosity. The milk clotting by acid of MR and MR-ORS-mixtures at pH≤4,7 was registered via Measurement of static viscosity.

After feeding of MR the abomasal pH reached values of 5,19±0,67 (AUC=937±200) and then pH continuously dropped. Four hours after feeding the fasting values were re-established. After feeding of MR-ORS-mixtures the maximum performance of pH in the abomasal fluid was greater than after an exclusive MR feeding regime. The bench mark of abomasal pH was achieved 5,5-6h after feeding. It is remarkable that the pH of the MR and ORS do not correlate with the AUC of the pH-time-curve in the abomasal fluid. Instead, there was a

correlation between the [SID<sub>3</sub>]-values of the different feeding regimes and the AUC. The abomasal pH also correlated with the abomasal [SID<sub>3</sub>]-values. This emphasizes the meaning of SID for the adjustment of pH in the abomasal fluid.

After feeding of Water-ORS-mixtures, the deflection of abomasal pH was shortened, because of lower [SID<sub>3</sub>]-values, lower osmolality, less energy content and absent milk clotting of the ORS prepared in water. Due to shortened abomasal transit of Water-ORS-mixtures the absorption of the efficacious substances of the ORS occurs faster. This seems to be beneficial for the immediate rehydration of calves with diarrhoea.

*In vitro* two of the MR-ORS-mixtures failed to clot milk. After addition of chymosin no increase of viscosity was detected. After acidification at pH~5,5 with hydrochloric acid and addition of the enzyme - occurring naturally in the abomasum of calves - milk clotting was measured in every case. Also, acidification without chymosin at pH≤4,7 caused milk clotting in every MR-ORS-mixture.

The milk clotting *in vivo* was demonstrated by the existence of two phases, the coagulum and the whey, in the samples of abomasal fluid after feeding MR and MR-ORS-mixtures. By the use of HPLC and SDS-Page, CMP could be identified in every sample of abomasal fluid after feeding of MR-ORS-Mixtures. The comparison of the AUC of the CMP-Peaks in the abomasal content after feeding of MR and the different MR-ORS-mixtures was not statistically different. According to this, commercial ORS do not interfere with milk clotting in the abomasum.

After feeding of ORS with [SID<sub>3</sub>]-values ≥92mmol/l an increase of Serum-[SID<sub>3</sub>] was detected. The increased Serum-[SID<sub>3</sub>] and the simultaneously measured decrease of Serum-[A<sub>tot</sub>] cause an alkaline state in the organism, by which the acidosis of calves with diarrhoea is reduced effectively.

## 9 DANKSAGUNG

Ich danke Herrn Prof. H. Hartmann für die Überlassung des Promotionsthemas und die freundliche Betreuung dieser Arbeit. Besonders herausstellen möchte ich, dass Herr Hartmann mir die Möglichkeit geboten hat, schon während des Studiums mit der Promotion zu beginnen, wodurch ich mich sehr lange und umfassend mit den Inhalten und der praktischen Durchführung dieser Arbeit beschäftigen konnte.

Herrn Prof. Heuwieser, Herrn Dr. S. Arlt und allen Mitarbeitern der Tierklinik für Fortpflanzung der FU Berlin danke ich für die Unterstützung der praktischen Versuche, wie die Durchführung der Fisteloperation und die Betreuung der Kälber.

Ich bin Frau Dr. R. Schmitz sehr dankbar für ihre Hilfsbereitschaft bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

Frau Dipl. Ing. M. Brückner, Mitarbeiterin des Institutes für Lebensmittelchemie und Lebensmitteltechnologie der TU Berlin und Dr. habil. Harshad Rawel, Mitarbeiter des Institutes für Ernährungswissenschaften der Universität Potsdam, danke ich für die hervorragende Anleitung und Betreuung der Versuche in ihren Laboren.

Ich bedanke mich ganz herzlich bei allen Mitarbeitern des Institutes für Veterinär-Physiologie für ihre Hilfe bei der Erstellung dieser Arbeit und die angenehme Atmosphäre im Institut. Insbesondere danke ich Frau Dr. C. Siegling für die Unterstützung mit den für diese Dissertation benutzten PC-Programmen, Frau K. Wolff für Hilfestellungen aller Art, Frau Alexandra Fischer für die Anfertigung der Fistel und ihre Mithilfe bei den Versuchen, allen Mitarbeitern und Praktikanten, die mir bei den Probenentnahmen geholfen haben und Dana, Micha, Peter, Anna, Henni, Sabine und Gerhard für ihre Gesellschaft und die netten Gespräche.

Ich bedanke mich bei Luzifer, Mickey Maus und Ronaldo sowie den anderen 17 namenlosen Kälbern dafür, dass sie im Dienste der Wissenschaft die Operation und die Probenentnahmen über sich ergehen lassen haben.

Ich danke allen Tieren - besonders Pontus, Fjödúr und Lumpi - die mir in meinem Leben Freude bereitet haben und die einen großen Anteil daran hatten, dass ich angefangen habe Veterinärmedizin zu studieren.

Allen meinen Freunden und Kommilitonen danke ich für die seelische Unterstützung während des Studiums und der Promotion. Ohne Euch hätte ich während meiner Zeit in Berlin nicht annähernd so viel Spaß gehabt!

Die wichtigsten Personen werden zuletzt genannt: Ich danke meinen Eltern für die finanzielle Unterstützung und liebevolle Motivation während des Studiums und der Doktorarbeit. Timo bin ich dankbar für seine Liebe zu mir und für sein unendliches Verständnis für alle Sorgen und Nöte, die ich während der Arbeit an dieser Promotion durchlitten habe. Schön, dass wir uns gefunden haben! Unserem Sohn Bjarne danke ich dafür, dass es ihn gibt und dass er das pflegeleichteste, süßeste und herzallerliebste Kind auf der ganzen Welt ist!

## **10 SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG**

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, d. 22.11.2007

Lisa Bachmann