

**Referenzbereiche für die klinische Chemie und das Enzym
Transketolase bei fünf bis vierzehn Tage alten
Fleckviehkälbern**

Nicole Pöhler

Aus der II. Medizinischen Tierklinik

(Lehrstuhl für Innere Medizin und Chirurgie der Wiederkäuer: Prof. Dr. W. Klee)

der Ludwig – Maximilians – Universität München

**Referenzbereiche für die klinische Chemie und das Enzym
Transketolase bei fünf bis vierzehn Tage alten
Fleckviehkälbern**

Inaugural – Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde

der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig – Maximilians – Universität

München

von

Nicole Pöhler

aus Immenstadt

München 2004

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. A. Stolle
Referent:	Univ.-Prof. Dr. W. Klee
Koreferent:	Univ.-Prof. Dr. W. Kraft
Drittreferent:	Univ.-Prof. Dr. H.-J. Gabius

Tag der Promotion: 23. Juli 2004

Inhalt

1	Einleitung	5
2	Literaturübersicht	7
2.1	Referenzbereiche	7
2.2	Klinische Chemie	17
2.2.1	Elektrolyte	17
2.2.1.1	Calcium (CA)	18
2.2.1.2	Magnesium (MG)	20
2.2.1.3	Anorganisches Phosphat (PHOS)	22
2.2.2	Substrate	25
2.2.2.1	Harnstoff (HST)	25
2.2.2.2	Creatinin (CREA)	27
2.2.2.3	Bilirubin (BILI)	30
2.2.2.4	Gesamteiweiß (GE)	32
2.2.2.5	Albumin (ALB)	35
2.2.2.6	D-Laktat	37
2.2.3	Serumenzyme	38
2.2.3.1	Glutamat-Dehydrogenase, (GLDH)	39
2.2.3.2	Aspartat-Amino-Transferase, (AST)	41
2.2.3.3	Creatinkinase, (CK)	42
2.2.4	Transketolase (TK)	44
3	Eigene Untersuchungen	51
3.1	Material und Methodik	51
3.1.1	Material	51
3.1.1.1	Tiere	51
3.1.1.2	Parameter	52
3.1.1.3	Proben	52
3.1.2	Methoden	53
3.1.2.1	Untersuchungen durch den Hitachi 911 E Automatic Analyzer	53
3.1.2.2	Untersuchungen Transketolase	54
3.1.3	Auswertung	55
3.1.3.1	Sammlung und Aufbereitung der Daten	55
3.1.3.2	Graphische Darstellung	55
3.1.3.3	Ausreißerelimination	56
3.1.3.4	Test auf Normalverteilung	56
3.1.3.5	Anwendung der passenden Technik	56
3.2	Ergebnisse	57
3.2.1	Referenzbereichsbestimmung	57
3.2.1.1	Sammlung und Aufbereitung der Daten	57
3.2.1.2	Graphische Darstellung der Daten und ihre Verteilung	57
3.2.1.3	Ausreißerproblem	65
3.2.1.4	Test auf Normalverteilung	65
3.2.1.5	Anwendung der passenden Technik	66
3.2.2	Qualitätskontrolle	67
4	Diskussion	69
4.1	Referenzbereichsbestimmung	69
4.2	Referenzbereiche der einzelnen Parameter	70
4.2.1	Elektrolyte	71
4.2.1.1	Calcium	71
4.2.1.2	Magnesium	71

4.2.1.3	anorganisches Phosphat.....	72
4.2.2	Substrate.....	72
4.2.2.1	Harnstoff.....	72
4.2.2.2	Creatinin.....	73
4.2.2.3	Bilirubin.....	73
4.2.2.4	Gesamteiweiß.....	73
4.2.2.5	Albumin.....	74
4.2.2.6	D-Laktat.....	74
4.2.3	Serumenzyme.....	75
4.2.3.1	GLDH.....	75
4.2.3.2	AST.....	75
4.2.3.3	CK.....	75
4.2.4	Transketolase.....	76
5	Zusammenfassung.....	77
6	Summary.....	79
7	Literaturverzeichnis.....	81
8	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....	95
9	Originalwerte.....	97
10	Danksagung.....	101
11	Lebenslauf.....	103

1 Einleitung

Auch heute noch machen stark erkrankte Kälber in den ersten beiden Lebenswochen einen großen Teil des Patientengutes der tierärztlichen Rinderpraxis aus. Die Krankheiten sind durch ihren oft dramatischen Verlauf sowohl für den Tierarzt als auch für den Landwirt keinesfalls zur Routine geworden. Obwohl schon seit langem bekannt ist, dass 70 – 80 % der Aufzuchtverluste innerhalb der ersten beiden Lebenswochen auftreten (WALSER, 1973), beschäftigen sich bisher nur wenige Untersuchungen mit Blutwerten von Kälbern in den ersten vierzehn Lebenstagen.

Eine der ersten Arbeiten, die sich mit der Plasmazusammensetzung bei neugeborenen Kälbern beschäftigte, ist die von DALTON (1967). BIRGEL (1972) erstellte Referenzwerte für das rote und weiße Blutbild beim Deutschen Schwarzbunten Rind und auch VAGHER et al. (1973) begannen sich genauer mit Werten für bestimmte Rassen und Altersgruppen auseinanderzusetzen. Andere Autoren versuchten, die Unterschiede im Blutbild von erkrankten und gesunden Kälbern herauszuarbeiten (TENNANT et al., 1975), oder Normwerte in den ersten Lebensstunden und Tagen festzulegen (REINHARDT, 1977). Es folgte eine Vielzahl von Arbeiten, die aber durchaus wichtige Fragen unbeantwortet ließen und vor allem in der statistischen Planung und Auswertung fehlerhaft waren. Zu kleine Probandengruppen und unkritische Verwendung der Standardnormalverteilung sind als häufigste Fehlerquellen zu nennen. Auch die Forderung von BENSON (1972), jedes Labor müsse für die Klientel, die es bedient, mit den eigenen Analysemethoden definierte Referenzbereiche erstellen, blieb unbeachtet. So konnte auch für bestehende Referenzbereiche, die an der Klinik für Wiederkäuer der LMU München routinemäßig eingesetzt werden, nicht mehr zweifelsfrei Herkunft und Art der Erstellung geklärt werden.

Der Kern dieser Arbeit ist es also, nicht neue und verbesserte Labortechniken vorzuschlagen und Referenzbereiche über Rassengrenzen hinaus zu erstellen, sondern ganz im Gegenteil, es soll mit den in der Klinik standardmäßig eingesetzten Analysemethoden an einer genau definierten Probandengruppe, die in Altersstruktur, Rasse und Herkunft dem Patientenmaterial der Klinik entspricht, gearbeitet werden. Die erhaltenen Werte werden dann mit präzisen statistischen Methoden zu Referenzbereichen verarbeitet und können nun als Bezugsgröße für künftige Patienten zweifelsfrei eingesetzt werden.

Je nach Ergebnis müssen dann bestehende, bisher benutzte Referenzbereiche ersetzt werden oder erfahren Bestätigung.

2 Literaturübersicht

2.1 Referenzbereiche

„Ideale Personen existieren nur im Gehirn Gottes und sind theoretische Geschöpfe, die mathematische Kombination aller idealen oder perfekten menschlichen Eigenschaften. Wären unsere Normalwerte wirklich repräsentativ für diese Idealgeschöpfe, so würden wir in jedem einzelnen untersuchten Patienten Abnormalitäten finden“ (BENSON, 1972). Schon seit langem wird in der klinischen Chemie und der Medizin eine Diskussion um Begrifflichkeiten geführt, die aber auf den zweiten Blick durchaus mehr ist als reine Haarspalterei. So zeigt schon MURPHY (1965 – 1966) auf, dass der Begriff abnormal gemeinhin gleichgesetzt wird mit gemeingefährlich und die Normalität auch mit allergrößtem Bemühen wissenschaftlich nicht zu fassen ist. Deswegen bezeichnet er den Begriff „normal“ als Überbleibsel der unwissenschaftlichen Ära der Medizin. Da in jedem Individuum ein gewisses Ausmaß an „Krankheit“ wie die „Entropie in einem chemischen System“ vorhanden ist, haben GRÄSBECK und SARIS (1969) den Begriff Referenzwert geprägt.

Auch aus den verschiedenen Bedeutungen des Wortes normal erwachsen weitere Probleme. Zum einen wird es sowohl mit gesund als auch mit dem statistischen Begriff normalverteilt gleichgesetzt, aber auch mit dem populären Verständnis von ideal, gewohnt oder konventionell. Zum anderen schwingen emotionale Untertöne mit, bezeichnet man Individuen als abnormal. Deswegen hätten die Begriffe Normal- und Idealwerte schon längst aus der klinischen Chemie verbannt und durch den neutralen Begriff Referenzwert ersetzt werden müssen (SUNDERMAN, 1975).

Nach DYBKAER (1972) sind Referenzwerte eine Reihe quantitativer Werte einer genau definierten Untersuchungsart, die nach einer festgelegten Vorgehensweise von einem einzelnen Individuum oder einer Gruppe von Individuen gewonnen wurden. Diese Daten müssen offen gelegt und für alle zugänglich sein, die mit den Referenzwerten arbeiten wollen, denn nur für diese definierten Bedingungen sind sie ohne Einschränkungen anwendbar.

Es folgen einige Definitionen, die für das weitere Verständnis nützlich sind.

Ein **Referenzindividuum** ist ein Individuum, das mithilfe definierter Kriterien für eine Aussage über eine Population ausgesucht wurde.

Eine **Referenzpopulation** schließt alle möglichen Referenzindividuen ein, hat meist eine unbekannte Anzahl von Mitgliedern und ist somit eine hypothetische Gesamtheit.

Eine **Referenzgruppe** ist eine adäquate Zahl an Referenzindividuen, die die Referenzpopulation repräsentieren und vorzugsweise zufällig ausgewählt wurden.

Ein **Referenzwert** ist ein Wert, der in der Studie an einem Referenzindividuum gemessen wurde.

Eine **Referenzverteilung** ist die statistische Verteilung der Referenzwerte.

Das **Referenzlimit** wird aus der Referenzverteilung gewonnen und für beschreibende Zwecke genutzt. Man definiert die Grenze gewöhnlich so, dass mit einer festgelegten Wahrscheinlichkeit eine definierte Fraktion der Referenzwerte unter oder gleich dem Referenzlimit ist.

Ein **Referenzintervall oder -bereich** ist das Intervall zwischen und einschließlich der Referenzlimits, welches missverständlicherweise oft als Normal- oder Referenzwert bezeichnet wird.

Aus Referenzwerten, -verteilung, -limits und -intervall können Vergleiche mit von Patienten gewonnenen Werten angestellt werden (SOLBERG, 1987).

Vor jeder Erstellung von Referenzintervallen müssen folgende Anforderungen berücksichtigt werden:

- A) Genaue Darlegung der Referenzpopulation (Rasse, Alter, Geschlecht...); die Referenzgruppe repräsentiert genau die Population, aus der die Patienten stammen
- B) Definition von Ein- und Ausschlusskriterien
- C) Umweltbedingungen denen die Referenzindividuen unterliegen (Jahreszeit, Fütterung, Haltung, Stress, medikamentelle Behandlung...)
- D) Technik und Zeitpunkt der Probennahme, Transportdauer, Verarbeitung und Lagerung der Probe
- E) Sensivität, Spezifität, Präzision, Richtigkeit, Qualitätskontrolle der Analyse im Labor
- F) Statistische Methode
- G) Konfidenzintervalle über dem unteren und oberen Referenzlimit
(abgewandelt nach SUNDERMAN, 1975; SOLBERG, 1987; TRAUB-DARGATZ und DARGATZ, 1995; LUMSDEN, 1998)

Bewusst wurde auf das Kriterium „gesund“ verzichtet, fordert es nach Definition der Weltgesundheitsorganisation doch „einen Zustand vollkommenen physischen, mentalen und sozialen Wohlbefindens und nicht vor allem die Abwesenheit von Krankheit.“ Übereinstimmend werden Ein- und Ausschlusskriterien explizit angegeben, so dass ein subjektiver Eindruck von Gesundheit nicht zugelassen wird (SOLBERG, 1987).

Allein aus diesen Forderungen sind bestehende Referenzwerte immer kritisch zu hinterfragen, da sie in der Regel nicht unbesehen als Maßstab für eigene Untersuchungen anwendbar sind. Mit der Entwicklung immer neuer genauerer Analysemethoden müssen bestehende Referenzbereiche ständig auf ihre weitere Gültigkeit geprüft und bei Bedarf durch neue

ersetzt werden (BENSON, 1972). Zu oft wurden sie auch an nicht genau definierten oder zu kleinen Referenzgruppen mit einer abweichenden Analysemethode, ohne Aussagen über Präzision und Richtigkeit, ohne definierte Qualitätskontrolle und nicht zuletzt oft ungeprüft mit dem Gauss'schen Gesetz der Normalverteilung erstellt (SHEPHERD, 1970). Nach BENSON (1972) ergibt sich sogar für jedes Labor die Verpflichtung eigene Referenzwerte für die Population, die es bedient, mit den dafür routinemäßig benutzten Analysemethoden zu erstellen.

Soll dieser Forderung nach klaren Referenzbereichen nachgekommen werden, müssen nun vor allem statistische Probleme überwunden werden. Das in der Medizin gebräuchliche Gauss'sche Gesetz der Fehler wurde ursprünglich angewandt bei wiederholten Messungen für eine Eigenschaft eines physikalischen Objekts, z.B. der Länge eines Stabes. In Abwesenheit einer systematischen Ausrichtung werden Messfehler zufällig sein und eine graphische Darstellung wird eine symmetrische Glockenkurve rund um den Mittelwert, der wohl den wahren Wert darstellt, ergeben (BENSON, 1972).

Bei Messungen an Individuen folgen die Verteilungen aber meist nicht diesem Schema, so dass die Statistik der Normalverteilung (parametrische Methoden) nicht ohne weiteres angewendet werden kann, ohne falsche Ergebnisse in Kauf zu nehmen. Hier können nicht parametrische Methoden angewendet werden. Sie sind unabhängig von der vorliegenden Verteilung und so einfach, dass SOLBERG (1987) sie für den generellen Gebrauch vorschlägt. Allerdings erfordern sie größere Probenzahlen, nur dann können sie die gleiche Präzision liefern (REED et al., 1971). Von einer generellen Anwendung bestimmter Methoden sollte also abgesehen und für jeden Fall neu abgewogen werden. Schließlich sind statistische Methoden immer nur Werkzeuge und sollten nicht unter Missachtung ihrer zugrunde liegenden Bedingungen angewendet werden (SOLBERG, 1987).

Nach SOLBERG (1983) ergeben sich folgende Richtlinien zur Erstellung von interindividuellen Referenzbereichen:

1. Referenzwerte sammeln

Nach oben beschriebenen Anforderungen

2. Partitionen der Referenzwerte, falls notwendig oder erwünscht (Subklassen nach Geschlecht, Rasse, etc. schärfen die Grenzen für jede Unterklasse)

3. Verteilung inspizieren

Graphisch darstellen, z. B. in einem Histogramm. Bei bestehender Schiefe, Kurtosis, Ausreißern und Bi- oder Polymodalitäten müssen die Auswahlkriterien überprüft werden, evtl. sind Partitionen nötig.

4. Ausreißerelimination

Ausreißer sind Werte, die unerwartet weit weg von anderen Referenzwerten liegen. Früher wurden diese Werte oft nur nach graphischer Betrachtung subjektiv eliminiert, später schlugen mathematische Versuche oft fehl, da fälschlicherweise eine Normalverteilung zugrunde gelegt wurde. Bei unbekannter Verteilung ermöglicht die Formel von REED et al. (1971) größtmögliche Objektivität.

Nach REED et al. (1971) sind die nichtparametrischen Methoden Funktionen der wenigen größten oder kleinsten Messgrößen, d.h. man muss sicher gehen, dass gerade diese Werte nicht fehlerhaft sind, also entweder durch Messfehler entstanden sind, oder von wirklichen Ausreißern stammen. Schließlich wird ein Ausreißer, der für die Berechnung benutzt wird, den Normalbereich größer machen, als er wirklich ist und wird dessen Aussagekraft für "auffällig" oder "unauffällig" enorm schwächen. Dieser Ausschluss muss völlig objektiv erfolgen, sonst könnten z.B. hohe Werte, die in Wirklichkeit zur gesunden Population gehören, rein subjektiv eliminiert werden. Damit Ausreißern aufgrund technischer Fehler vorgebeugt wird, ist es ratsam, genug Probenmaterial für jeden Probanden zu gewinnen und bei den drei höchsten und drei niedrigsten Werten eine wiederholte Analyse vorzunehmen. Unterscheidet sich der wiederholte Wert stark vom ersten, sollte man beide vor Berechnung ausschließen (REED et al., 1971). Mindestens 120 Proben sollten zur Errechnung von Referenzwerten vorliegen, so dass zweiseitige Konfidenzintervalle erstellt werden können (SOLBERG, 1983).

Formel für Ausreißer nach oben bei linkssteilen Kurven
$$r = \frac{x_{(n)} - x_{(n-1)}}{x_{(n)} - x_{(1)}} > \frac{1}{3}$$

$x_{(n)}$ wird eliminiert, wenn die Distanz zwischen ihm und $x_{(n-1)}$ größer ist als $\frac{1}{3}$. Das gleiche Kriterium kann auch für den kleinsten Wert $x_{(1)}$ bei rechtssteilen Kurven angewendet werden:

$$r = \frac{x_{(2)} - x_{(1)}}{x_{(n)} - x_{(1)}} > \frac{1}{3}$$

$x_{(n)}$ größter Wert

$x_{(n-1)}$ zweitgrößter Wert

$x_{(1)}$ kleinster Wert

$x_{(2)}$ zweitkleinster Wert

Die vorgestellte Formel nach REED et al., (1971), modifiziert nach DIXON (1953), ist unabhängig von der Verteilung, bei Normalverteilung kann auch die T-Statistik nach GRUBBS (1969) zur Anwendung kommen.

5. Test auf Normalverteilung

Eine stetige Verteilung deren Dichte f durch $f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}}$ definiert ist, nennt man

Normalverteilung. Der Graph der Dichte der Normalverteilung ist eine Glockenkurve mit dem Maximum an der Stelle μ und den Wendepunkten $\mu \pm \sigma$. Hier kann man eine innere Ästhetik dieser Funktion erkennen, weil drei charakteristische Punkte der Dichte durch Erwartungswert μ und die Standardabweichung σ gegeben sind.

Die Normalverteilung mit $\mu = 0$ und $\sigma^2 = 1$ heißt Standardnormalverteilung. Ihre Verteilungswerte (Wahrscheinlichkeiten) sind in den Statistik-Tabellenwerken angeführt. Die zentrale Bedeutung der Normalverteilung besteht darin, dass eine Summe von vielen unabhängigen, beliebig verteilten Zufallsvariablen angenähert normalverteilt ist (zentraler Grenzwertsatz), und zwar um so besser angenähert, je größer ihre Anzahl ist (SACHS, 2002). Für die Bestimmung eines zweiseitigen Referenzbereichs wird die Normalkurve in einen zentralen 95 %-Normal-Bereich und an beiden Enden symmetrisch in je einen 2,5 % Bereich unterteilt.

$\bar{x} \pm ks$ gibt einen 95 % Normalbereich an, wobei k eine von der Probenzahl abhängige Konstante ist. Entsprechen die Daten für einen Parameter den Anforderungen der Normalverteilung, werden folgende Messgrößen berechnet:

Mittelwert (\bar{x}): Das arithmetische Mittel ist die Summe aller Beobachtungen, geteilt durch die Anzahl dieser Beobachtungen

$$\bar{x} = \frac{1}{n} (\bar{x}_1 + \bar{x}_2 + \dots + \bar{x}_n)$$

Standardabweichung (s): Sie ist gleich der Wurzel aus dem Mittelwert der quadrierten Abweichungen, wobei in der Wurzel im Nenner die um 1 verminderte Zahl der Werte steht. Die Standardabweichung ist ein Maß dafür, wie stark die Beobachtungen durchschnittlich von ihrem Mittelwert abweichen.

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Der klassische parametrische Referenzbereich $\bar{x} \pm 2s$ lässt sich für große n bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,05 hinreichend genau berechnen. In diesem Bereich liegen etwa 95 % der Werte (SACHS, 2002).

Tests auf Normalverteilung:

a) Graphische Darstellung

b) 4-Sigma-Bereich

Mittelwert μ und Standardabweichung σ werden ohne verdächtigen Wert berechnet. Bei Normalverteilungen umfasst der 4-Sigma-Bereich ($\mu \pm 4\sigma$) 99,99 %, bei beliebigen Verteilungen noch 94 % der Werte. Liegt der verdächtige Wert außerhalb, wird er verworfen (SACHS, 2002).

c) χ^2 -Test

Die Daten werden in k-Klassen umgewandelt, beobachtete und erwartete Werte für jede Klasse werden verglichen unter Benutzung der χ^2 -Verteilung.

d) Kolmogorov-Smirnov Test

Als Prüfgröße dient die größte zu beobachtende Ordinatendifferenz zwischen den beiden relativierten Summenkurven. Hierzu werden (bei gleichen Klassengrenzen für beide Stichproben) die empirischen Verteilungsfunktionen \hat{F}_1 und \hat{F}_2 sowie ihre Differenzen $\hat{F}_1 - \hat{F}_2$ berechnet. Das Maximum der Absolutbeträge dieser Differenzen ist (für die hier hauptsächlich interessierende zweiseitige Fragestellung) die gesuchte Prüfgröße \hat{D} (der maximale Absolutbetrag der Abweichungen der beiden empirischen Verteilungsfunktionen).
$$\hat{D} = \max |\hat{F}_1(x) - \hat{F}_2(x)|$$

Erreicht, oder überschreitet der aus zwei Stichproben ermittelte Wert \hat{D} den kritischen Wert \hat{D}_α (α ist gewählte Irrtumswahrscheinlichkeit), so liegt auf dem verwendeten Niveau hinsichtlich beider Verteilungsfunktionen ein statistisch signifikanter Unterschied vor (SACHS, 2002).

Da die diskriminative Fähigkeit des Kolmogorov-Smirnov-Test im allgemeinen größer ist, als die des χ^2 -Tests und er keine Gruppierung der Daten erfordert, ist der Kolmogorov-Smirnov-Test vorzuziehen (LUMSDEN und MULLEN, 1978). Er muss allerdings durch eine Signifikanzkorrektur nach Lilliefors abgesichert werden, da Mittelwert und Varianz aus den Stichprobenwerten geschätzt werden (SACHS, 2002).

6. Anwendung der passenden Technik

1. Parametrische Toleranzintervalle

Grenzen für einen Anteil der Grundgesamtheit werden als Toleranzgrenzen bezeichnet. Sie grenzen statistische Anteilsbereiche ab und schaffen damit

Toleranzintervalle. Toleranzgrenzen geben an, innerhalb welcher Grenzen ein bestimmter Anteil der Grundgesamtheit mit vorgegebener Wahrscheinlichkeit $P = (1 - \alpha)$ erwartet werden kann. Für eine normalverteilte Grundgesamtheit sind die Grenzen von der Form $\bar{x} \pm ks$, wobei k eine geeignete Konstante ist. Damit wird ein vorgeschriebener Anteil einer Population (meist 95 %) mit einer definierten Wahrscheinlichkeit (meist 0,90) eingeschlossen. Werte für k sind in Tabellen für beliebige Probengrößen zusammengefasst, für eine Probengröße von 150 gilt $k = 1,96$ (SACHS, 2002).

2. Parametrische Perzentilschätzungen

Das p te Perzentil P ist der Punkt der Verteilung unter dem p Prozent der Beobachtungen liegen. Das Interesse gilt dem 2,5 ten und 97,5 ten Perzentil (haben 95 % der Verteilung zwischen sich). Liegt eine Normalverteilung vor, mit Erwartungswert μ und bekannter Varianz σ^2 , dann gilt:

$$L = \mu - 1,96 \sigma \text{ und } U = \mu + 1,96 \sigma$$

μ : Erwartungswert

σ : Varianz

L = das 2,5 te Perzentil und U = das 97,5 te Perzentil

Wenn μ und σ unbekannt sind, können sie durch \bar{x} (arithmetisches Mittel) und s (Standardabweichung) ersetzt werden.

$$L_1 = \bar{x} - ks$$

$$U_1 = \bar{x} + ks$$

k ist definiert als $k=1,96c$, wobei c abhängig von der Probengröße ist. Ein Konfidenzintervall muss zusätzlich berechnet werden. Da p -Quantile außerdem für kleine Probenzahlen ungenauer sind, sollte bei erwiesener Normalverteilung bevorzugt mit Toleranzintervallen gearbeitet werden (SOLBERG,1983).

3. Nicht parametrische Toleranzintervalle

Erweisen sich die Daten nicht als normalverteilt und soll mit einer Vertrauenswahrscheinlichkeit von $P = 1 - \alpha$ ein Anteil γ der Elemente einer beliebigen Grundgesamtheit zwischen dem größten und dem kleinsten Stichprobenwert liegen, so lässt sich der benötigte Stichprobenumfang leicht abschätzen. Die Toleranzintervalle basieren auf vom kleinsten zum größten Wert geordneten Daten. Ist l_1 der kleinste und l_n der größte Messwert, ist die Wahrscheinlichkeit 0,90, dass 95 % der Population zwischen l_1 und l_n liegen, wenn n (Zahl der Proben) größer ist als 80 (SACHS, 2002). Liegen weniger als 80 Werte vor, ist die Wahrscheinlichkeit geringer oder es liegen

weniger als 95 % der Population im geschätzten Intervall. Alternativ können s_1 (zweitkleinster Wert) und s_n (zweitgrößter Wert) definiert werden. Liegen mehr als 140 Proben vor, liegen 95 % der Population mit einer Wahrscheinlichkeit von 0,90 zwischen s_1 und s_n (LUMSDEN und MULLEN, 1978).

4. Nicht parametrische Perzentilschätzungen

Liegt keine Normalverteilung vor, schätzt man die Populationswerte von L und U mithilfe der Proben der 2,5 ten und 97,5 ten Perzentile.

Die Werte werden der Größe nach geordnet und jeweils 2,5 % der größten und kleinsten Werte gestrichen.

Untere Grenze L: $x_{\frac{\alpha}{2}(n+1)}$ Obere Grenze U: $x_{(1-\frac{\alpha}{2})(n+1)}$

α : Irrtumswahrscheinlichkeit, üblicherweise mit 0,05 angenommen

n: Anzahl der Messungen

(n+1): Anzahl der möglichen Quantile

Ist der erste Index keine ganze Zahl, so wird zwischen den nächstgelegenen Ergebnissen linear interpoliert (SACHS, 2002).

Bei Probengrößen von $n > 120$ kann ein zweiseitiges Konfidenzintervall berechnet werden. Die Grenzen dieses Intervalls sind für beliebige Probengrößen in Tabellen nachzulesen (SOLBERG, 1983).

7. Transformationen

Wie oben dargestellt, besteht bei nicht normalverteilten Werten die Möglichkeit, nichtparametrische Techniken anzuwenden. Alternativ kann auch versucht werden, die Daten in eine Normalverteilung zu transformieren. Da es keine festen Regeln gibt, wann welche Transformation eingesetzt werden kann, muss das Trial and Error Prinzip angewendet werden. Zumeist nutzt man Logarithmus, Quadratwurzel oder Reziproke. Die „neuen“ Daten müssen nun in aufsteigende Reihenfolge gebracht und erneut dem Kolmogorov-Smirnov-Test unterzogen werden.

So können Toleranzlimits oder Perzentile für die transformierten Daten berechnet und durch Inversion der Transformation die Toleranzlimits und Perzentile für die Originaldaten gefunden werden. Laut REED et al. (1971) sind nicht parametrisch gewonnene Daten mindestens ebenso sicher und bergen weniger Fehlerquellen.

Neben den beschriebenen univariaten Referenzbereichen, die aus einer Population erstellt worden sind, gibt es weitere Möglichkeiten.

Personenbezogene Vergleichswerte schließen die interindividuelle Variation aus, indem sie am gleichen Individuum zu einem früheren Zeitpunkt bei definierter Gesundheit gewonnen wurden. So sind sie sensitiver in der Entdeckung von Veränderungen im biologischen und physiologischen Status, allerdings in der Tiermedizin kaum zu realisieren.

Multivariate Referenzbereiche ermöglichen die gleichzeitige Betrachtung mehrerer Parameter eines Individuums und sollen so Beeinflussungen unter diesen aufdecken.

Zeitspezifische Referenzbereiche sollen durch Probennahme zu definierten Zeiten die Einflüsse des Biorhythmus ausschließen (SOLBERG, 1987).

Diskriminationswerte sollen dem Kliniker nicht nur eine Richtlinie an die Hand geben, sondern direkt die Entscheidung gesund – krank abnehmen (SUNDERMAN, 1975).

Abschließend soll noch einmal betont werden, dass Referenzbereiche nur eine Reihe von möglichen Werten für eine bestimmte Charakteristik „gesunder“ Tiere sind und Werte außerhalb dieses Bereichs einen Mangel an Gesundheit vermuten lassen. Der Bereich ist nicht fest, sondern verändert sich je nach interessierender Population, verwendeter Analyse-methode, gewünschtem prädiktiven Wert und weiteren Einflussfaktoren.

Für den uneingeschränkten Einsatz der Referenzwerte ist eine ständige Qualitätskontrolle in jedem Labor unerlässlich. Sie soll kontrollieren und sicherstellen, dass Analysen stets zuverlässig und vergleichbar durchgeführt werden. Hierbei sind nicht nur Reagenzien, instrumentelle Analytik und Analyseverfahren, sondern auch Qualifikation und Sorgfalt des Laborpersonals einzubeziehen, die in einem kontrollierten Verbund alle zusammen die Qualität des Gesamtergebnisses bestimmen. In einem laborinternen Verfahren müssen stets Präzision und Richtigkeit überwacht werden (STAMM, 1982). Die Präzision ist die Genauigkeit, mit der Analyseergebnisse wiederholt erreicht werden können. Sie wird durch zufällige Fehler eingeschränkt, wobei es zu Streuungen der Einzelwerte um einen Mittelwert kommt. Bei einer kleinen Streuung ist eine gute Präzision gewährleistet.

Die Richtigkeit wird durch systematische Fehler beeinflusst. Sie ist die Übereinstimmung des Messwertes (=Istwert) mit dem tatsächlichen Wert (=Sollwert). Bei mangelnder Richtigkeit weichen die Werte immer nach einer Richtung vom Sollwert ab (DÜRR und KRAFT, 1999). Zu einer externen Qualitätskontrolle ist nach den Richtlinien der Bundesärztekammer jedes Labor mindestens drei Mal jährlich verpflichtet. Hierbei werden je eine Untersuchungsprobe mit niedriger und hoher Konzentration, aber mit anonymen Werten vom jeweiligen

Referenzlaboratorium an die Laboratorien versandt, von diesen untersucht und die Ergebnisse dann vom „Instand e. V. Ringversuche“ und der Deutschen Gesellschaft für klinische Chemie ausgewertet und beurteilt. Dabei wird nach den Richtlinien der Bundesärztekammer noch eine Abweichung der Messergebnisse bis $\pm 3\%$ toleriert. Ein Vergleich mehrerer Laboratorien ist dabei immer problematisch, selbst wenn die gleiche Analysemethode angewandt wird, können schließlich Veränderungen zum einen durch Versand und Lagerung, zum anderen wie oben erwähnt, durch unterschiedliches Laborpersonal eintreten (STAMM, 1982).

Schon hier soll erwähnt werden, dass keine der aufgeführten Studien alle geforderten Kriterien erfüllen kann. Oft werden die Begriffe Referenzwerte und Referenzbereiche synonym verwendet, teils sogar noch von Normalwerten gesprochen. Die meisten Studien bedienen sich einer viel zu kleinen Probandenzahl, die meist nicht eindeutig definiert worden ist. Auch die unkritische Verwendung der Normalverteilung ist weit verbreitet. Die Testmethoden stimmen ebenfalls zumeist nicht mit den an der Klinik eingesetzten überein, Aussagen zu Präzision, Richtigkeit und Qualitätskontrolle fehlen meist völlig.

2.2 Klinische Chemie

2.2.1 Elektrolyte

Elektrolyte, auch Mengenelemente, sind in Wasser gelöste Salze, die als Anionen und Kationen vorliegen. Ihre Konzentration gleicht bei Tieren geringer Entwicklungsstufe weitgehend der des Meerwassers. Höher organisierte Lebewesen hingegen können Ionen selektiv anreichern, extrazellulär Natrium, Calcium und Chlorid, intrazellulär Kalium und geringgradig Magnesium. So können auch hypo- (Magensaft, Speichel) bzw. hypertone (Harn) Flüssigkeiten hergestellt werden (HIERHOLZER und FROMM, 1987). Im Durchschnitt macht der Gesamtwassergehalt des Organismus 60 - 80 % des Körpergewichts aus, ist bei Neugeborenen hoch und nimmt mit zunehmendem Alter immer mehr ab (WIRTH, 1999).

Etwa zwei Drittel der Körperflüssigkeit verteilen sich auf den größeren Intrazellularraum, das restliche Drittel auf den Extrazellularraum. Da die Elektrolyte in beiden Flüssigkeitsräumen in identischer Gesamtkonzentration vorliegen, besteht zwischen beiden ein osmotisches Gleichgewicht. Durch aktive Transportmechanismen wird dieser Konzentrationsunterschied zwischen Zellraum und Extrazellularraum aufrechterhalten, außerdem ist auch der hohe Gehalt der Zelle an Proteinen (geladene Makromoleküle), für die die Zellmembran impermeabel ist (Gibbs-Donnan-Effekt), für den Konzentrationsunterschied verantwortlich (HIERHOLZER und FROMM, 1987; BUDDECKE, 1994). Aus diesen unterschiedlichen Verteilungsverhältnissen ergibt sich, dass Elektrolytwerte bei Laboruntersuchungen besonders kritisch betrachtet werden müssen, weil sie nur den intravasalen, nicht aber den intrazellulären bzw. interstitiellen Raum erfassen (WIRTH, 1999).

Neben der Aufrechterhaltung des osmotischen Drucks sind die Elektrolyte unter anderem auch an der Erstellung von Potentialdifferenzen für die Reizleitung, Hemmung und Förderung von Enzymsystemen, Puffersystemen und dem Aufbau von Knochen und Zähnen beteiligt (HIERHOLZER und FROMM, 1987).

2.2.1.1 Calcium (CA)

Calcium ist ein Erdalkalimetall, steht in der zweiten Hauptgruppe des Periodensystems und hat ein Molekulargewicht (MG) von 40,08 Dalton (D). Etwa 0,8 bis 1,7 % des Körpergewichtes entfallen auf Calcium, davon verteilen sich 99 % auf Knochen und Zähne, der Rest auf die extrazelluläre Flüssigkeit. Im Serum kommt es zu 55 % als ionisiertes Calcium, zu 40 % an Proteine und zu 5 % komplex an organische Säuren gebunden vor. Im Knochen liegt das Calcium in Form komplexer Salze aus Hydroxylapatit bzw. Carbonatapatit und Calciumphosphat vor. Ein Teil des Knochencalciums wird ständig mit der extrazellulären Flüssigkeit ausgetauscht. Die Ausscheidung erfolgt vor allem über den Darm, der Rest über die Nieren und zum Teil über die Haut (Schweiß). Der biologisch wirksame Teil ist das ionisierte Calcium. Es wird unmittelbar vom Säure-Basen-Status determiniert und steigt bei sinkendem pH-Wert. Für eine differenzierte Beurteilung des Calcium-Stoffwechsels ist die Messung des ionisierten Calciums notwendig. Seine Konzentration, sowie der Anteil des ionisierten Calciums am Gesamt-Calcium liefern die besten diagnostischen Aussagen. Für praktische Verhältnisse genügt jedoch die einfachere und billigere Bestimmung des Gesamt-Calciums (KRAFT, 1999, KAUNE, 2000).

Der Calciumhaushalt ist eng mit dem des Phosphats verbunden und die Calciumhomöostase wird besonders von drei Hormonen gesteuert. Durch das Parathormon der Nebenschilddrüse und dem DHCC (1α , 25-Dihydroxycholecalciferol) aus der Niere wird vermehrt Calcium zur Verfügung gestellt. Calcitonin aus den C-Zellen der Schilddrüse hemmt die Calciumfreisetzung. Intrazellulär erfüllt der Calcium-Calmodulin-Komplex zahlreiche biologische Funktionen.

Calcium ist am Wachstum und an der Entwicklung der Zellen beteiligt. Es spielt eine Rolle für die Permeabilität der Zellmembranen, bei der Blutgerinnung, der neuromuskulären Erregungsübertragung, der Sekretion verschiedener Enzyme, der Muskelkontraktion und bei Enzymreaktionen. Es ist eines der Kationen, welche für einen ausgewogenen Elektrolytstatus im Blut sorgen und hat außerdem einen Einfluss auf die zelluläre Abwehr (MANNER und BRONSCH, 1987).

STEINHARDT et al. (1993a) beobachten bei Rinderfeten höhere Werte als beim Muttertier. Die Regulationsmechanismen sind bei Feten auf ein anderes Niveau eingestellt. So kann die Freigabe von Parathormon bei unterschiedlichen CA-Konzentrationen ausgelöst werden. Die CA-Versorgung des Fetus durch die Mutter wird durch Steigerung der Resorption aus dem Darm gewährleistet. Bei hypocalcämischen Kühen findet man höhere Plasmakonzentrationen bei den Kälbern, aber keine Korrelation mit Werten der Mütter.

Tabelle 1: Referenzbereiche in der Literatur zu Calcium

Autor	Alter	Tiere	Referenzbereiche
STÖCKL et al., 1965	12 Tage p.n.	27 Kälber	3,29 mmol/l
CABELLO und MICHEL, 1977	15 Tage p.n.	32 HF-Kälber	2,89 ± 0,07 mmol/l
SATO und IMAMURA, 1980	6 – 8 Tage p.n.	12 HF-Kälber	2,49 mmol/l
YOUSSEF, 1980	7 Tage p.n.	Kälber	3,08 ± 0,46 mmol/l
	8 Tage p.n.		2,93 ± 0,08 mmol/l
	14 Tage p.n.		3,21 ± 0,18 mmol/l
BOSTEDT und SCHRAMMEL, 1982	6 Tage p.n.	20 DFV-Kälber	2,57 ± 0,09 mmol/l
	10 Tage p.n.		2,58 ± 0,20 mmol/l
	14 Tage p.n.		2,59 ± 0,19 mmol/l
JEKEL, 1986	4 Tage p.n.	45 Kälber DSB, DFV, DRB	3,02 ± 0,18 mmol/l
	7 Tage p.n.		2,92 ± 0,09 mmol/l
	14 Tage p.n.		2,77 ± 0,14 mmol/l
SCHULTE – LANGFORTH, 1990	7 Tage p.n.	Kälber	3 mmol/l
AGNES et al., 1993	1 Monat p.n.	340 Friesen-Kälber (w)	2,60 ± 0,22 mmol/l
STEINHARDT et al., 1993b	5 – 23 Tage p.n.	77 Kälber aus Niederungsrassen und Mastanpaarungen	2,51 ± 0,22 mmol/l
EGLI und BLUM, 1998	7 Tage p.n.	19 DFV-Kälber	2,7 mmol/l
	14 Tage p.n.		2,65 mmol/l
KRAFT, 1999		Rinder	2,3 – 2,8 mmol/l
STEINHARDT UND THIELSCHER; 2000b	15 Tage p.n.	38 Milchrindkälber	2,8 ± 0,1 mmol/l
Klinik		Kälber	2 – 3 mmol/l

Bei Calcium sind keine Geschlechts- und Rasseunterschiede festzustellen (SCHISSLER et al., 1977). Übereinstimmend finden die meisten Autoren bei neugeborenen Kälbern deutlich höhere Werte, die nach dem ersten Lebenstag absinken und sich bis zum Ende der ersten Lebenswoche auf die Werte der adulten Tiere eingependelt haben.

So finden BAUMGARTNER et al. (1980) bei der Geburt Werte von $2,3 \pm 0,3$ mmol/l die sich dann auf Werte zwischen 2,0 und 2,1 mmol/l einpendeln. YOUSSEF (1980) erhebt etwas höhere Werte bei Geburt ($3,68 \pm 0,90$ mmol/l) und berichtet auch nach vierzehn Tagen ($3,21 \pm 0,18$ mmol/l) von höheren Werten. Diese ähneln dem Referenzbereich adulter Tiere.

Allein STÖCKL et al. (1965) beschreiben den umgekehrten Fall, hier steigen die Serumcalciumwerte an.

2.2.1.2 Magnesium (MG)

Magnesium ist nach Kalium das zweithäufigste Kation in den Körperzellen. Es finden sich 98 - 99 % des Gesamtkörpermagnesiums intrazellulär. Etwa ein Viertel des extrazellulären Restes liegt im Plasma vor und zwar 55 % frei ionisiert, 32 % an Eiweiß (v.a. an Albumin) und 13 % komplex an Phosphate, Citrate und andere Substanzen gebunden. Das Erdalkalimetall kommt in allen Geweben vor, zu drei Vierteln aber im Skelett. Magnesium erfüllt im Körper vielfältige Funktionen. Als Enzymaktivator ist es an allen oxidativen Phosphorylierungen beteiligt, es ist Strukturelement des Knochens und außerdem an der neuromuskulären Erregungsleitung beteiligt, indem es regulierend auf die AcetylcholinKonzentration einwirkt. Somit führt eine Verminderung des Serummagnesiumgehalts (Hypomagnesiämie) zu tetanischen Krämpfen, eine Vermehrung (Hypermagnesiämie) zu einer schlaffen Lähmung (MANNER und BRONSCH, 1987; PFEFFER und FLACHOWSKY, 2000).

Eine der wichtigsten zellulären Funktionen des Magnesiums ist außerdem die Kontrolle der Zellpermeabilität, entweder durch seine Rolle der Verformbarkeit in der Zelle, die strukturelle und elektrostatische Veränderungen induziert, oder durch seinen Effekt auf die Na-K-ATPase in der Zellmembran. Aus diesem Grund könnte sein Absinken andere intrazelluläre Ionen, vor allem Na- und K-Ionen, die extrem wichtig zum Beibehalt der intrazellulären elektrochemischen Balance sind, beeinflussen (MULEI und DANIEL, 1989).

Die Resorption von Magnesium vollzieht sich hauptsächlich im Dünndarm, wobei allerdings tierartige Unterschiede zu bestehen scheinen. Die Ausscheidung geschieht mit den Fäzes, weniger mit Urin und Milch. Trotzdem besteht in der Hochlaktation ein erheblicher Verlust über die Milch. Der Bedarf muss laufend über die Nahrung gedeckt werden (KRAFT, 1999).

Ein Magnesiummangel tritt bei Kälbern auf, die es nicht schaffen, genug Magnesium aus ihrem Futter aufzunehmen und so ihre Bedürfnisse für Ausgeglichenheit und Wachstum zu befriedigen. Bei ausreichender Milchnahrung wird in der Regel eine adäquate Magnesiumversorgung gewährleistet. Die Körpervorräte an MG, vor allem im Skelett, können für eine kurze Zeit zur Verhütung einer Hypomagnesiämie mobilisiert werden. Bleibt aber das Defizit in der MG-Aufnahme bestehen, ist die Hypomagnesiämie unausweichlich. Die klinischen Befunde (Tetanie, Übererregbarkeit) werden deutlicher, wenn der Grad der Hypomagnesiämie steigt, zusätzlich sinkt die Menge an Calcium in Knochen und Serum. Liegt bei einem gesunden Kalb ein Verhältnis von CA : MG = 55 : 1 vor, kann es bei einer Hypomagnesiämie bei bis 90 : 1 liegen, es werden 40 % des Magnesiums aus den Speichern freigesetzt (SANSOM, 1981). Normale Plasmamagnesiumkonzentrationen liegen bei 0,8 – 1,3 mmol/l

(KRAFT, 1999), klinische Erscheinungen stellen sich meist erst ab 0,4 mmol/l ein (SANSOM, 1981).

Werte für Kälber unterscheiden sich nur wenig von Referenzwerten für Rinder (STÖCKL et al., 1965). Allerdings ist die fetale Magnesiumkonzentration im Serum (auch bei Unterversorgung der Mutter) größer als die maternale, da im letzten Drittel des fetalen Lebens die Plasmaproteinkonzentration steigt. Das Hauptprotein des Kalbes, das α -Fetoprotein, welches später durch Albumin ersetzt wird, ist in der Lage, dreimal mehr Magnesium und Zink zu binden, als die gleiche Menge Rinderserumalbumin (STEINHARDT et al., 1993).

Tabelle 2: Referenzbereiche in der Literatur zu Magnesium

Autoren	Alter	Tiere	Referenzbereiche
STÖCKL et al., 1965	12 Tage p.n.	27 Kälber	0,92 ± 0,04 mmol/l
CABELLO und MICHEL, 1977	11 Tage p.n.	32 HF-Kälber	0,73 ± 0,03 mmol/l
LITTLE et al., 1977	14 Tage p.n.	30 Kälber (w)	1,07 mmol/l
SATO und IMAMURA, 1980	7 Tage p.n.	12 HF-Kälber	0,96 ± 0,04 mmol/l
YOUSSEF, 1980	7 Tage p.n.	Kälber	0,98 ± 0,05 mmol/l
	8 Tage p.n.		0,91 ± 0,04 mmol/l
	14 Tage p.n.		1,08 ± 0,03 mmol/l
BOSTEDT und SCHRAMMEL, 1982	6 Tage p.n.	20 DFV-Kälber	0,83 ± 0,04 mmol/l
	10 Tage p.n.		0,86 ± 0,04 mmol/l
	14 Tage p.n.		0,87 ± 0,03 mmol/l
TÜRKÖZKAN et al., 1985	1 – 30 Tage p.n.	35 Kälber	0,67 ± 1,90 mmol/l
JEKEL, 1986	7 Tage p.n.	45 Kälber DSB, DFV, DRB	0,93 ± 0,07 mmol/l
	14 Tage p.n.		0,89 ± 0,07 mmol/l
STEINHARDT et al., 1993b	5 – 23 Tage p.n.	77 Kälber aus Niederungsrassen und Mastanpaarungen	0,72 ± 0,09 mmol/l
EGLI und BLUM, 1998	7 Tage p.n.	19 DFV-Kälber	0,95 mmol/l
	14 Tage p.n.		0,9 mmol/l
KRAFT, 1999		Rinder	0,8 – 1,3 mmol/l
STEINHARDT und THIELSCHER, 2000b	15 Tage p.n.	38 Milchrindkälber	0,81 ± 0,07 mmol/l
STEINHARDT und THIELSCHER, 2000a	10 Tage p.n.	52 Saugkälber einer Mutterkuhhaltung	0,84 ± 0,08 mmol/l
Klinik		Kälber	0,74 – 1,44 mmol/l

SATO und IMAMURA (1980) bestätigen an HF-Kälbern bei Geburt leicht erhöhte Werte gegenüber Normalwerten von Milchkuhen (1,14 ± 0,04 mmol/l), während der ersten zwei Stunden fallen sie dann leicht auf 0,97 ± 0,04 mmol/l.

Für DFV-Kälber können BOSTEDT und SCHRAMEL (1982) gleiche Tendenzen feststellen. Bewegen sich die Werte bei Geburt um $1,00 \pm 0,06$ mmol/l, fallen sie am ersten Tag deutlich, und pendeln sich nach einem erneuten kleinen Anstieg bei einem Level von 0,85 mmol/l ein. Die Studien zeigen einen deutlichen Anstieg der Magnesiumkonzentration nach der Kolostrumaufnahme, was STEINHARDT et al. (1993b) und EGLI und BLUM (1998) bestätigen können.

Andere Autoren stellen in den ersten vierzehn Lebenstagen keine Veränderungen in der Magnesiumkonzentration fest. Hier bleiben die Werte relativ konstant bei 0,93 mmol/l (STÖCKL et al., 1965). Auch LITTLE et al. (1977) können für Magnesium kaum eine Altersabhängigkeit zeigen. Einen entgegengesetzten Verlauf beschreibt YOUSSEF (1980). Hier fallen die Werte bis zum achten Lebenstag und steigen bis zum vierzehnten Tag p.n. noch einmal an.

2.2.1.3 Anorganisches Phosphat (PHOS)

Unter anorganischem Phosphat versteht man die Summe von ionisiertem, komplex- und proteingebundenem Phosphat, das im Blut bei einem pH von 7,4 als (sekundäres) Hydrogenphosphat vorliegt. Phosphor macht bei einem erwachsenen Tier 0,1 bis 1 % des Gesamtgewichtes aus, wovon circa 85 % in Knochen und Zähnen, 15 % in den übrigen Körperzellen (vor allem Muskelzellen) und nur 1 % im EZR verteilt sind (MANNER und BRONSCH, 1987). Diagnostisch wichtig ist das anorganische Serumphosphat. Da sich auch in den Erythrozyten größere Phosphormengen befinden, die bei längerem Stehen lassen des Blutes, besonders bei unsachgemäßer Gewinnung und Aufbewahrung, ins Serum übertreten können, muss die Blutprobe vorsichtig behandelt und möglichst bald zentrifugiert werden (KRAFT, 1999).

Das Phosphat erfüllt vielfältige Aufgaben im Körper. Es ist Bestandteil von Knochen und Zähnen, Energiereserve für eine Vielzahl von physiologischen Prozessen (ATP, Creatinphosphat), Bestandteil der Nukleinsäuren, Puffersubstanz in Blut und Zellen (circa 2 %) und Bestandteil wichtiger Enzyme und Eiweiße (MANNER und BRONSCH, 1987).

Für eine Diagnosestellung ist der Phosphatwert allein nicht aussagekräftig, es sollte immer auch der Calciumwert betrachtet werden. Da die Elimination fast komplett über die Nieren erfolgt, besteht bei einem erhöhten Serumspiegel der Verdacht einer beeinträchtigten glomerulären Filtrationsrate. Es wäre also sinnvoll, auch die Harnstoff- und Creatinin-Werte in die Untersuchungen mit einzubeziehen (KRAFT, 1999; KAUNE, 2000). Nach BOEHNCKE et al. (1981) gelten diese Verhältnisse allerdings nur beim Saugkalb, verliert die

Niere doch mit zunehmender Pansenentwicklung ihre vorherrschende Rolle als Regulations- und Exkretionsorgan zugunsten des Darmes.

Tabelle 3: Referenzbereiche der Literatur für anorganische Phosphat

Autoren	Alter	Tiere	Referenzbereiche
STÖCKL et al., 1965	12. Tag p.n	27 Kälber	2,87 ± 0,12 mmol/l
CABELLO und MICHEL, 1977	5 Tage p.n.	32 HF-Kälber	2,26 ± 0,24 mmol/l
LITTLE et al., 1977	8 Tage p.n.	30 Kälber (w)	2,64 ± 0,13 mmol/l
SATO und IMAMURA, 1980	14 Tage p.n.	12 HF-Kälber	4,1 mmol/l
JEKEL, 1986	7 Tage p.n.	45 Kälber DSB, DFV, DRB	2,32 mmol/l
SCHULTE-LANGFORTH, 1990	7 Tage p.n.	Kälber	3,17 ± 0,68 mmol/l
STEINHARDT et al., 1993b	2 Wochen p.n.	77 Kälber aus Niederungsrassen und Mastanpaarungen	2,5 mmol/l
EGLI und BLUM, 1998	5 – 23 Tage p.n.	19 DFV-Kälber	2,54 ± 0,42 mmol/l
KRAFT, 1999	7 Tage p.n.	Kälber	2,7 mmol/l
STEINHARDT und THIELSCHER, 2000b	14 Tage p.n.	38 Milchrindkälber	2,6 – 3,5 mmol/l
STEINHARDT und THIELSCHER, 2000a	Bis 2 Monate p.n.	52 Saugkälber aus Mutterkuhhaltung	2,6 ± 0,3 mmol/l
Klinik	15 Tage p.n.	Kälber	3,0 ± 0,4 mmol/l
	10 Tage p.n.	Kälber	2 – 3 mmol/l

KRAFT (1999) gibt für erwachsene Rinder einen Referenzwert von 1,6 - 2,3 mmol/l und für Tiere unter 2 Monaten von 2,6 – 3,5 mmol/l an, berücksichtigt also die Altersabhängigkeit durch Knochenwachstum, sie korreliert auch mit Futteraufnahme und Gewichtsentwicklung (LITTLE et al., 1977; STEINHARDT et al., 1993b). Auch Rasseunterschiede bestehen, so haben DFV-Kälber signifikant höhere Plasmaphosphatgehalte als SB- und RB-Kälber, allerdings verliert sich der Unterschied nach dem erstem Tag (JEKEL, 1986).

STÖCKL et al. (1965) beschreiben erstmals den Verlauf des anorganischen Phosphats im Kälberserum. Nach der Geburt finden sie $2,27 \pm 0,06$ mmol/l, die Werte steigen auf $2,85 \pm 0,11$ mmol/l am vierten, bzw. zwölften Tag p.n. und weiter auf $2,94 \pm 0,09$ mmol/l am 20. – 22. Tag p.n..

Diese Werte sind höher als bei Kühen (1,5 - 1,6 mmol/l), da bei neugeborenen Kälbern ein stark vermehrter Zerfall an Erythrozyten auftritt, sie mehr Erythrozyten (7 - 14 Millionen gegenüber 5 - 7 Millionen beim Rind) besitzen und das anorganische Phosphat einen größeren Teil am gesamten Phosphat ausmacht als beim erwachsenen Tier.

Bei Messungen während der ersten Lebensstunden finden MCMURRAY et al. (1978) bei Geburt Werte von $2,74 \pm 0,08$ mmol/l, nach vier Stunden von $2,13 \pm 0,12$ mmol/l und nach 48 Stunden von $3 \pm 0,13$ mmol/l. Den anfänglichen Abfall von PHOS erklären sie mit einer Erhöhung der Nierenkapazität, die aber nicht ausreicht um das in großen Mengen aus dem Kolostrum kommende Phosphat ausscheiden zu können. BRAUN et al. (1983) führen den Anstieg des anorg. Phosphats ebenfalls auf die Kolostrum- und Milchaufnahme zurück.

Bei durchfallkranken Kälbern steigen die Werte ebenfalls, aber weit niedriger. Aus der Arbeit von CABELLO und MICHEL (1977) kann eine Schwellenkonzentration von 2,24 mmol/l abgelesen werden (72 % der Kälber, die bei Geburt Werte unter 2,24 mmol/l aufweisen, erkranken in der Folge an Durchfall, während dies nur bei 26 % mit Werten über 2,24 mmol/l der Fall ist).

TENNANT et al. (1972) stellen bei Kälbern mit Neugeborenenendurchfall erhöhte Werte an anorganischem Phosphat im Serum fest und führen dies auf eine massive Niereninsuffizienz zurück. Auch GRYS und MALINOWSKA (1974) beschreiben bei Kälbern mit Koli-bakteriose eine leichte Erhöhung von anorganischem PHOS im Jejunum, aber auch einen unveränderten Gesamtphosphorgehalt.

Weitere Unterschiede sind anhand der Ernährung auszumachen. Kälber, die über einen Tränkeautomaten gefüttert werden, weisen niedrigere Werte ($2,6 \pm 0,3$ mmol/l) auf, als gleichaltrige, die aus einer Mutterkuhhaltung stammen ($3,0 \pm 0,4$ mmol/l) (STEINHARDT und THIELSCHER, 2000).

2.2.2 Substrate

Substrate sind Stoffe, die von Enzymen umgesetzt werden. Ihre Werte besitzen im Gegensatz zu denen von Enzymen keine Aussagekraft über momentane Situation und Zellintegrität eines Gewebes oder Organs, sondern befähigen zur Abschätzung der Gesamtleistung eines Organs oder geben Einblicke in allgemeine Stoffwechselfvorgänge.

Erst wenn eine Erkrankung weit vorangeschritten und eine Organschädigung von großem Ausmaß eingetreten ist, wird man eine veränderte Konzentration organabhängiger Substrate im Serum feststellen. Bei erhöhten Enzymaktivitäten im Serum hingegen kann allein eine Desintegration einzelner Zellen vorliegen, ohne wesentliche Beeinträchtigung der Stoffwechselfunktion des Organs.

Bei chronischen Krankheiten findet man allerdings auch Substratveränderungen ohne Steigerung der Enzymaktivität, wenn momentan oder temporär keine weitere Zellschädigung eintritt, aber die Zerstörung des betroffenen Organs schon so weit fortgeschritten ist, dass seine Stoffwechselfunktion beeinträchtigt ist (KARLSON, 1994).

2.2.2.1 Harnstoff (HST)

Bei den Säugetieren ist Harnstoff das von der Leber gebildete Hauptprodukt der Ammoniakentgiftung, einem Zellgift, das beim Aminosäurestoffwechsel frei wird (FROMM und HIERHOLZER, 2000). Harnstoff ist ungeladen und nichttoxisch. Eine vermehrte Proteinzufuhr oder vermehrter Eiweißabbau (Katabolismus) führen ebenso zum Anstieg der Harnstoffwerte im Blut wie Durst, Oligurie und Exsikkose (KLEE et al., 1979; HARTMANN et al., 1987).

Physiologischerweise findet eine freie Filtration des Harnstoffs in den Glomerula statt, zu einer gewissen Rate diffundiert er aus den Tubuli zurück in den Körper (FINCO, 1989). Die Höhe dieser Reabsorption hängt von der glomerulären Filtrationsrate ab und vollzieht sich sowohl im proximalen als auch im distalen Tubulus. Werden im proximalen Tubulus etwa 40 % des ultrafiltrierten Harnstoffs unabhängig von der Harnabflussrate reabsorbiert, so schwankt die Reabsorptionsrate im distalen Tubulus und in den Sammelrohren. Es kann bei höherer Durchflussrate weniger Harnstoff reabsorbiert werden (FINCO, 1989). Ein renal bedingter erhöhter Harnstoffwert sagt zudem nur aus, dass mehr als zwei Drittel der Nephronen bereits geschädigt sind (FROMM und HIERHOLZER, 2000). Erfolgt eine renal bedingte starke Erhöhung, kann Harnstoff auch über die Schleimhäute des Magen-Darm-Trakts ausgeschieden und durch Urease spaltende Bakterien wieder zu toxischem Ammoniak gespalten werden (KRAFT und DÜRR, 1999c). Nach TRAUTWEIN (1991) steigt daraufhin durch eine

Umstellung der Darmflora, bedingt durch eine schwere hämorrhagische Gastritis, der Blutspiegel für die Fäulnisprodukte Indol und Phenol, zudem reichern sich Phenole, Kresolate und Methylguanidin in Blut und Gewebe an und können zu einem komatösen Zustand (Coma uraemicum) führen. Nach ROTHE (1994) kann bisher aber kein oberer Grenzwert genannt werden, der mit dem Überleben nicht vereinbar wäre.

Niedrige Harnstoff-Werte im Serum können zum einen durch einen Mangel an Protein in der Nahrung (SCHMIDL und von FORSTNER, 1985) zum anderen auch durch anabole Steroide und schwere Leberinsuffizienz hervorgerufen werden (FINCO, 1989).

Begründet in seiner Nahrungsabhängigkeit ist Harnstoff als diagnostischer Parameter weniger sensitiv als Creatinin und sollte immer zusammen mit diesem und dem Hämatokrit betrachtet werden (KRAFT und DÜRR, 1999c).

Tabelle 4: Referenzbereiche der Literatur für Harnstoff

Autoren	Alter	Tiere	Referenzbereich
FISCHER und BUTTE, 1974	Bis 14 Tage p.n.	38 SB-Kälber	4,35 ± 1,02 mmol/l
YOUSSEF, 1980	7 Tage p.n.	Kälber	2,78 ± 0,69 mmol/l
	8 Tage p.n.		2,87 ± 0,82 mmol/l
			3,95 ± 2,91 mmol/l
	14 Tage p.n.		
KLEE et al., 1985	7 Tage p.n.	58 Kälber	3,56 ± 1,78 mmol/l
HARTMANN et al., 1987	7 Tage p.n.	51 Kälber	2,5 mmol/l
SCHULTE-LANGFORTH, 1990	7 – 14 Tage p.n.	Kälber	3 – 3,8 mmol/l
STEINHARDT et al., 1993b	5 – 23 Tage p.n.	77 Kälber aus Niederungsrassen und Mastanpaarungen	3,09 ± 0,84 mmol/l
EGLI und BLUM, 1998	7 Tage p.n.	19 DFV-Kälber	3,99 ± 0,34 mmol/l
KRAFT und DÜRR, 1999c		Rinder	3,3 – 6,7 mmol/l
STEINHARDT und THIELSCHER, 2000b	15 Tage p.n.	38 Milchrindkälber	3,2 ± 0,7 mmol/l
STEINHARDT und THIELSCHER, 2000a	10 Tage p.n.	52 Saugkälber aus Mutterkuhhaltung (DRB, DSB)	3,3 ± 1 mmol/l
Klinik		Kälber	≤ 5,5 mmol/l

Erste Verlaufsuntersuchungen zeigen eine sehr hohe Harnstoffkonzentration bei Geburt (7,49 ± 0,78 mmol/l), die innerhalb der ersten 24 Lebensstunden deutlich abnimmt (4,16 ± 0,57 mmol/l) (McMURRAY et al., 1978). Nach DALTON (1968) weisen Neugeborene bei Geburt stark erhöhte Harnstoffwerte auf, da die Harnstoffkonzentration bei den

Feten in den letzten 120 Tagen vor Geburt steigt. Nach der Geburt kann überschüssiger Harnstoff allerdings ausgeschieden werden, da eine Messung der Harnstoff-Clearance bei zwei bis sieben Tage alten Kälbern nachgewiesen hat, dass diese voll entwickelt ist. Auch KLEE et al. (1985) können bei Kälbern nach der Geburt keine Einschränkung der Nierenfunktion feststellen.

HARTMANN et al. (1987) messen ebenfalls einen Abfall der Werte von Geburt (5 mmol/l) bis sieben Tage p.n. (2,5 mmol/l), sehen diesen Abfall aber als Ausdruck einer effektiver werdenden Nierenfunktion und zunehmender funktioneller Reife, wie auch BRAUN et al. (1983) vor allem hämodynamische und metabolische Veränderungen sowie verbesserte Nierenarbeit für den Abfall verantwortlich machen. Verfolgt man die Blutwerte über einen längeren Zeitraum, fallen sie von Geburt ($5,69 \pm 1,55$ mmol/l) bis zum siebten Tag ab ($2,78 \pm 0,69$ mmol/l) und steigen bis vierzehn Tage p.n. auf $3,95 \pm 2,91$ mmol/l (YOUSSEF, 1980). Einen sehr ähnlichen Verlauf beschreibt auch SCHULTE-LANGFORTH (1990), allerdings führt er die etwas niedrigeren Werte (3,8 mmol/l bei Geburt) auf mögliche Rassenunterschiede zurück. Keine altersabhängigen Veränderungen der Harnstoffwerte in den ersten Lebenswochen, sondern um 3 - 4 mmol/l pendelnde Werte, werden von KLEE et al. (1985), STEINHARDT et al. (1993), EGLI und BLUM (1998) sowie STEINHARDT und THIELSCHER (2000b) beschrieben.

In Arbeiten über Harnstoffwerte bei durchfallkranken Kälbern wird der Grund für die Erhöhung der Werte bis auf das Dreifache (HARTMANN et al., 1987) vor allem in einer Insuffizienz der Niere aufgrund mangelnder Nierendurchblutung vermutet (MASSIP, 1979). Eine andere Erklärung wird in einem angestiegenen Katabolismus stickstoffhaltiger Verbindungen und dem Absinken der Harnausscheidung gesucht, wobei auch festgestellt wird, dass eine komplette Erholung nur langsam vor sich geht und noch nach drei Wochen höhere Werte als bei immer gesunden Kälbern festzustellen sind (DEMIGNÉ und RÉMÉSY, 1979). KLEE et al. (1979) machen eine Einengung des Verteilungsraumes bei gleichbleibender oder erhöhter Anflutungsrate sowie eine Verringerung der renalen Ausscheidung für den Anstieg der Harnstoffwerte verantwortlich.

2.2.2.2 Creatinin (CREA)

Das Substrat Creatinin ist ein Produkt des endogenen Muskelstoffwechsels und stellt neben dem Adenosintriphosphat (ATP) ein weiteres energiereiches Phosphat dar. Es befindet sich in einem Gleichgewicht mit ATP und dient zu dessen Regeneration (KARLSON, 1994). CREA entsteht, wenn bei einer Muskelkontraktion aus Creatinphosphat Creatin freigesetzt wird und

sich unter Wasseraustritt in Creatinin umwandelt. Die entstehende Menge ist der Muskelmasse proportional und eine „individuelle Konstante“ (KARLSON, 1994). Sie beträgt 1,6 - 2 % des Creatininpools (BLOCH et al., 1941). Bei neugeborenen Kälbern beläuft sich die endogene Produktion von Creatinin auf etwa 0,25 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{kg}$ (KLEE et al., 1985).

Nach FINCO (1989) ist CREA im gesamten Körperwasser verteilt und wird bei allen Säugetieren durch die Glomerula frei filtriert, tubulär nicht rückresorbiert und bei hohem Blutspiegel sogar tubulär sezerniert. Unter den harnpflichtigen Substraten im Serum ist es der beste Indikator für die Nierenfunktion (SCHMIDL und von FORSTNER, 1985), da es gegenüber Harnstoff den Vorteil besitzt, nicht nahrungsabhängig zu sein und auch vom endogenen Proteinmetabolismus nicht beeinflusst wird (KRAFT und DÜRR, 1999c). Es ist daher durch Nahrungskarenz nicht scheinbar „normal“ und kann durch diätetische Maßnahmen nicht erniedrigt werden. Deshalb ist seine Serumkonzentration auch in Verlaufsuntersuchungen bei Tieren in Behandlung zuverlässiger. Unter Gleichgewichtsbedingungen ist die CREA-Plasmakonzentration von folgenden Faktoren abhängig:

$$\text{CREA-Plasmaspiegel} = \text{Creatininproduktionsrate} / \text{glomeruläre Filtrationsrate}$$

(KUHLMANN und WALB, 1987).

Können aufgrund organischer oder funktioneller Störungen harnpflichtige Substanzen durch die Niere nicht mehr genügend eliminiert werden, ist CREA erhöht. Allerdings zeigt eine Erhöhung immer eine schwere Schädigung an, denn Werte innerhalb des Referenzbereichs können noch bis zu einer Einschränkung der GFR um 50 % erreicht werden. Dabei ist der Anstieg des Creatinins im Blut direkt proportional zur Abnahme des Glomerulumfiltrates. Bei Verdacht sollten zusätzliche Untersuchungen mittels eines Konzentrationsversuches und der Creatinin-Clearance durchgeführt werden (KRAFT und DÜRR, 1999c).

Auffallend hohe Creatinin-Werte können bei Kälbern unmittelbar nach der Geburt ($304,9 \pm 113,1 \mu\text{mol}/\text{l}$) festgestellt werden, innerhalb von sieben Tagen sinken sie auf $106,95 \pm 19,45 \mu\text{mol}/\text{l}$. Somit liegt die glomeruläre Filtrationsrate in vergleichbarer Höhe wie bei älteren Kälbern. Der anfänglich hohe Blutspiegel wird als Ausdruck einer intrauterinen Anhäufung von Creatinin im System Foetus-Allantoisflüssigkeit gesehen. Es bestehen keine Hinweise auf Vorliegen einer eingeschränkten Nierenfunktion bei neugeborenen Kälbern (KLEE et al., 1985). In weiteren Untersuchungen von KLEE (1985) wird ebenfalls ein Absinken des CREA-Blutspiegels um fast 60 % von $257,2 \pm 104,3 \mu\text{mol}/\text{l}$ am ersten Lebenstag auf $107,8 \pm 28,3 \mu\text{mol}/\text{l}$ während des 4. bis 14. Lebenstages festgestellt. Es findet sich eine signifikante Korrelation von CREA-Blutspiegel und Alter. Dem tragen auch KRAFT und DÜRR (1999c) Rechnung, die Referenzbereiche für Kälber bei Geburt mit $256 \pm 106 \mu\text{mol}/\text{l}$,

für ältere Kälber mit $108 \pm 28 \mu\text{mol/l}$ und für erwachsene Rinder von $88 - 177 \mu\text{mol/l}$ angeben. Der Abfall kann nach BRAUN et al. (1983) mit einer Zunahme der Nierenfunktion innerhalb der ersten Stunden und Tage erklärt werden.

Tabelle 5: Referenzbereiche der Literatur für Creatinin

Autoren	Alter	Tiere	Referenzbereiche
KLEE et al., 1985	7 Tage p.n.	Kälber	$106,95 \pm 19,45 \mu\text{mol/l}$
KLEE, 1985	4 – 14 Tage p.n.	Kälber	$107,8 \pm 28,3 \mu\text{mol/l}$
HARTMANN et al., 1987	7 Tage p.n.	51 Kälber	$120 \mu\text{mol/l}$
SCHULTE-LANGFORTH, 1990	7 – 14 Tage p.n.	Kälber	$100 \mu\text{mol/l}$
KURZ und WILLET, 1991	6 Tage p.n.	8 HF-Kälber	$106,08 \pm 8,8 \mu\text{mol/l}$
SCHÜRSMANN, 1992	5 Tage p.n.	Kälber	$110,33 \pm 25,89 \mu\text{mol/l}$
EGLI und BLUM, 1998	7. und 14. Tag p.n.	19 DFV-Kälber	$95 \mu\text{mol/l}$
KRAFT und DÜRR, 1999c		Kälber	$108 \pm 28 \mu\text{mol/l}$
STEINHARDT und THIELSCHER, 2000b	15 Tage p.n.	38 Milchrindkälber	$99,8 \pm 16,2 \mu\text{mol/l}$
STEINHARDT und THIELSCHER, 2000a	10 Tage p.n.	52 Saugkälber aus Mutterkuhhaltung	$105,8 \pm 13,6 \mu\text{mol/l}$
Klinik		Kälber	$\leq 110 \mu\text{mol/l}$

Bei allen Autoren bewegen sich die Referenzbereiche in einem ziemlich eng definierten Bereich um $100 \mu\text{mol/l}$. Auch wenn keine großen Altersunterschiede im Bereich zwischen fünf und vierzehn Tagen auszumachen sind, liegen die Werte der jüngeren Tiere, z.B. bei HARTMANN et al. (1987) etwas höher, als die der älteren, z.B. STEINHARDT und THIELSCHER (2000a).

Während SCHULTE-LANGFORTH (1990) klare Rasseunterschiede beschreibt, berichten SCHIESSLER et al. (1977) weder von Geschlechts- noch von Rasseunterschieden. Laut STEINHARDT und THIELSCHER (2000) sind Unterschiede zwischen Kälbern aus konventioneller und Mutterkuhhaltung marginal. Kranke Kälber weichen allerdings deutlich von obigen Werten ab. So kommt es bei akuten Durchfallerkrankungen junger Kälber regelmäßig zu einer mehr oder weniger ausgeprägten Erhöhung des Blutspiegels stickstoffhaltiger harnpflichtiger Substanzen (vor allem Harnstoff und Creatinin), also zur Azotämie. Hierfür sind im Wesentlichen zwei pathophysiologische Prozesse, auch in Kombination, verantwortlich: Einengung des Verteilungsraumes bei gleichbleibender oder erhöhter Anflutungsrate sowie Verringerung der renalen Ausscheidung (WIEST und KLEE, 1998). Allerdings ist noch kein oberer Grenzwert gefunden worden, der mit Überleben nicht mehr vereinbar wäre (ROTHE, 1994).

2.2.2.3 Bilirubin (BILI)

Bilirubin ist zu 85 % ein Zwischenprodukt des Hämoglobinabbaus, der geringere Teil entsteht aus Myoglobin, Zytochromen und Katalasen. Zunächst wird aus dem Hämoglobin Eisen abgespalten und im retikuloendothelialen System (Milz, Kupffer-Zellen, Knochenmark, nach Blutungen auch in anderen Geweben) primäres Bilirubin (Bilirubin I) gebildet. Da es wegen seiner Lipidlöslichkeit toxisch und schlecht wasserlöslich ist, wird es an Albumin als Transportvehikel gebunden. Mit dem Blutstrom gelangt das Bilirubin I in die Leber und wird ohne Albumin durch aktiven Transport von den Hepatozyten aufgenommen. Durch Konjugation mit Glucuronsäure entsteht wasserlösliches Bilirubin-Diglucuronid oder Bilirubin II, das aktiv in die Gallekanälchen ausgeschieden wird. Durch bakteriellen Abbau entstehen Urobilinogen und Sterkobilinogen, diese werden zum Teil weiter zu Urobilin und Sterkobilin abgebaut und mit den Fäzes ausgeschieden (PFEFFER, 1987; KRAFT und DÜRR, 1999a).

Ein erhöhter Serumbilirubinspiegel wird als Ikterus bezeichnet und manifestiert sich durch Gelbfärbung von Haut und Schleimhäuten. Die Ursachen hierfür können in drei Gruppen eingeteilt werden:

1. Prähepatischer oder hämolytischer Ikterus

Durch Hämolyse oder fehlerhafte Erythrozytenbildung vermehrtes primäres Bilirubin

2. Intrahepatischer oder hepatozellulärer Ikterus

Intrahepatische Cholestase mit Übertritt von konjugiertem Bilirubin ins Blut, da die Leberzellen das unkonjugierte Bilirubin entweder nicht aufnehmen, konjugieren oder es nach Glukuronidierung nicht in den Gallenkanalikulus sezernieren können

3. Posthepatischer- oder Verschlussikterus

Übertritt von sekundärem Bilirubin ins Blut, da das in den Leberzellen konjugierte und in die Gallengänge sezernierte Bilirubin nicht abfließen kann, es kommt zu Leberzellschädigung (KRAFT und DÜRR, 1999a)

Der Inanitionsikterus ist Folge einer Stimulation der Lipolyse, falls bei unzureichender Energieaufnahme die Menge freier Fettsäuren steigt, die in den Hepatozyten um dieselben Transportproteine konkurrieren. Bei Rind und Pferd können schon kurz nach Beginn einer Nahrungskarenz erhöhte Bilirubinwerte im Serum gemessen werden, sie können auf bis zu 20 $\mu\text{mol/l}$ ansteigen, während der Referenzbereich für Rinder bei unter 5,0 $\mu\text{mol/l}$ liegt (KRAFT und DÜRR, 1999a).

Während beim Menschen der Bilirubinspiegel im Blut nach Nahrungsaufnahme sinkt, spielt bei Saugkälbern der Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme keine Rolle, wenn diese regelmäßig

gefüttert werden. Außerdem handelt es sich um eine Eigentümlichkeit von Kälbern, dass das direkte Bilirubin das indirekte sehr oft beträchtlich übersteigt (KLAUS, 1958).

SCHIESSLER et al. (1977) können zudem keinerlei Geschlechts- und Altersunterschiede nachweisen und ermitteln für 8 – 12 Wochen alte Kälber einen Bilirubinwert bis 5,17 µmol/l.

FISCHER und BUTTE (1974) ermitteln einen Referenzbereich von $4,45 \pm 2,05$ µmol/l und können auch feststellen, dass der Bilirubinwert immer mehr steigt, je schlimmer ein Kalb an Durchfall erkrankt. Aber nicht nur bei Durchfall, vor allem bei Bronchopneumonien und Nabelentzündungen kann der Wert sich verdoppeln, hierbei liegen zumeist Leberschäden vor, da in den meisten Fällen die Werte für AP und GLDH ebenfalls erhöht sind. Bilirubin ist also ein empfindlicher Indikator für eine Leberbeteiligung auch bei anderen Primärerkrankungen (PETERS, 1981; FRERKING et al., 1983). Auch durch unspezifische hämodynamische und metabolische Faktoren kommt es leicht zu einer Hyperbilirubinämie (BRAUN et al., 1983).

Hohe Werte unmittelbar nach der Geburt lassen sich auf einen Ikterus neonatorum zurückführen. Dieser wird klinisch nur selten sichtbar und entsteht durch einen hochgradigen Zerfall fetaler Erythrozyten oder eine Isoerythrolyse. Der so vermehrt anfallende Blutfarbstoff muss über die Leber ausgeschieden werden, die aber durch ihre Unreife das anfallende Bilirubin noch nicht glukuronidieren kann. Zusammen mit einer hohen Konzentration ungesättigter Fettsäuren, die ebenfalls um die Bindung an Albumin und die Bilirubinbehandlung in der Leber konkurrieren, folgt daraus eine steigende Plasmakonzentration von Bilirubin (FRERKING et al., 1983).

Tabelle 6: Referenzbereiche der Literatur für Bilirubin

Autor	Alter	Tiere	Referenzbereiche
FISCHER und BUTTE, 1974	Bis 14 Tage p.n.	38 SB-Kälber	$4,45 \pm 2,05$ µmol/l
SCHIESSLER et al., 1977	8 – 12 Wochen p.n.	125 Jersey- und SB-Kälber	$\leq 5,17$ µmol/l
FRERKING et al., 1983	1 Woche p.n. 2 Wochen p.n.	22 SB-Kälber	$2,91 \pm 1,54$ µmol/l $2,4 \pm 1,03$ µmol/l
KURZ und WILLET, 1991	6 Tage p.n.	8 HF-Kälber	$5,13 \pm 0,51$ µmol/l
EGLI und BLUM, 1998	6 Tage p.n.	19 DFV- Kälber	4 µmol/l
KRAFT und DÜRR, 1999a		Rinder	≤ 5 µmol/l
Klinik		Kälber	$\leq 8,5$ µmol/l

Die direkt nach der Geburt gemessenen Werte und ihr weiterer Verlauf unterscheiden sich deutlich.

Einmal werden unmittelbar nach der Geburt Werte von $6,4 \pm 2,7 \mu\text{mol/l}$ gemessen, die sich nach einer Stunde mit $11,9 \pm 8,8 \mu\text{mol/l}$ nahezu verdoppeln. Höchstwerte werden zwischen vier und sechzehn Stunden p.n. erreicht ($14,7 \pm 8,9 \mu\text{mol/l}$) und fallen danach wieder auf $9,5 \pm 5,2 \mu\text{mol/l}$ (BAUMGARTNER et al., 1980).

In einer Studie von KURZ und WILLET (1991) erhöhen sich die Werte von Geburt ($3,3 \pm 0,5 \mu\text{mol/l}$) bis zwölf Stunden p.n. auf das fünffache ($16,7 \pm 2,8 \mu\text{mol/l}$) und nähern sich nach sechs Tagen p.n. wieder dem Ausgangsniveau ($5,13 \pm 0,51 \mu\text{mol/l}$), was eine kontinuierliche Zunahme der Leberfunktion mit dem Alter zeigt.

Höchstwerte bei Geburt ($5,2 \pm 2,7 \mu\text{mol/l}$), die sich auch drei Stunden p.n. und nach Kolostrumgabe nicht verändern ($5,2 \pm 2,5 \mu\text{mol/l}$) nach einer Woche p.n. bei $2,8 \pm 1,5 \mu\text{mol/l}$ und zwei Wochen p.n. $2,3 \pm 1 \mu\text{mol/l}$ liegen, beschreiben FRERKING et al. (1983). Trotz dieser Abweichungen unterscheiden sich die Referenzbereiche der einzelnen Autoren für die zweite Lebenswoche nur noch wenig.

2.2.2.4 Gesamteiweiß (GE)

Alle im Serum auftretenden Proteine und Proteide werden als Gesamteiweiß bezeichnet. Es handelt sich um zu beliebig langen Ketten verknüpfte Aminosäuren, die durch Anordnung und Länge (Primärstruktur), Struktur im Raum (Sekundärstruktur), räumliche Anordnung der Atome zueinander (Tertiärstruktur) und Aggregation der Aminosäureketten (Quartärstruktur) definiert sind. Sie enthalten zum Großteil einen Kohlenhydrat- und Lipoidanteil und haben Molekulargewichte von über 10000 D, was etwa 100 Aminosäuren entspricht. Eine Einteilung kann zum einen in globuläre und fibrilläre, zum anderen in zusammengesetzte bzw. nicht zusammengesetzte Proteine erfolgen. Zu den globulären Proteinen gehören unter anderem die Proteine des Blutplasmas, die auf etwa 100 geschätzt werden und vor allem zusammengesetzte Proteine beinhalten. Sie verleihen dem Plasma die Eigenschaften einer kolloidalen Lösung (BUDDECKE, 1992; BUDDECKE, 1994).

Gebildet werden die Serumproteine in der Leber, nur die Immunglobuline werden erst auf Anforderung von den lymphatischen Organen (Milz, Knochenmark) hergestellt, was eine Aussage über die Leberfunktion erlaubt (KRAFT und DÜRR, 1999b). Für den Körper erfüllen sie wichtige Funktionen. Sie transportieren wasserunlösliche Verbindungen, halten den kolloidosmotischen Druck aufrecht und wirken als Enzyme und Inhibitoren, Gerinnungs-

und Fibrinolysefaktoren, Komponenten des Komplementsystems, Immunglobuline, Hormone, Puffersubstanzen und Schutzkolloide (KRAFT und DÜRR, 1999b).

Als Hyper- oder Hypoproteinämie bezeichnet man quantitative Veränderungen der Plasma-proteine, die ihre Ursache entweder in einer echten Vermehrung oder Verminderung des Proteingehalts haben (absolute), oder aber durch eine Änderung im Wassergehalt des Gefäßsystems vorgetäuscht werden können (relative). Durch eine Hämatokritbestimmung wird eine Differenzierung möglich (KRAFT und DÜRR, 1999b). So lässt eine Hyperproteinämie bei relativer Erhöhung einen Flüssigkeitsverlust (Dehydratation) vermuten, wie er z.B. bei Durchfall, Erbrechen, generalisierter Peritonitis oder Darmverschluss beobachtet wird, während bei einer absoluten Erhöhung chronische Infektionskrankheiten oder Gammopathien in Betracht gezogen werden müssen. Eine absolute Verminderung deutet hingegen auf eine reduzierte Proteinbiosynthese infolge Unter- oder Fehlernährung, Malassimilationssyndrom oder chronische Hepato- oder Enteropathien hin. Ein absolut zu niedriger Wert kann zudem durch tatsächlichen Proteinverlust zustanden kommen, ausgelöst durch Proteinurien, Blutverluste oder exsudative Enteropathien (KRAFT und DÜRR, 1999b).

Serumproben können bis zu einem Jahr ohne signifikante Veränderungen bei -20°C eingefroren werden und ermöglichen problemlos weitere Untersuchungen ohne Qualitätseinbußen an den einzelnen Fraktionen (SENFTE et al., 1975).

Kälber kommen mit einem Gesamtproteingehalt von $54,0 \pm 2,9$ g/l auf die Welt, der nach der Kolostrumaufnahme deutlich ansteigt ($70,4 \pm 4,9$ g/l). Da sich weder Albumin noch die Alphaglobuline durch Kolostrumgabe verändern, ist die Konzentration des Serumgesamtproteins vor allem geprägt von der starken Erhöhung der Gammaglobuline (von SCHWARTZ, 1980). Auch NAYLOR und KRONFELD (1977) berichten von linearen Beziehungen zwischen Serumprotein und Gammaglobulinen. So ist die Konzentration des Serumproteingehalts ein Maß für die Immunglobulinversorgung des Kalbes (TENNANT et al., 1972) und damit für die passiv erworbene Immunität des Neugeborenen (JENSEN, 1978). AEIKENS (1976) kann erstmals nachweisen, dass männliche Kälber bei Geburt höhere Gesamtproteinkonzentrationen aufweisen als weibliche Kälber. Von SCHWARTZ (1980) beschreibt für Färsenkälber niedrigere Gammaglobulinspiegel als für Kuhkälber (mehr, je mehr Geburten), für schwere Kälber höhere als für leichte und für männliche Kälber höhere als für weibliche. LITTLE et al. (1977) beobachten ebenfalls höhere Gewichtszunahmen und höhere Globulinkonzentrationen bei den schwersten Kälbern, stellen allerdings in Frage, ob Kälber mit hohen Globulinwerten das beste Potential für große Zuwachsraten haben, oder umgekehrt, die schwersten Kälber bei der Geburt mehr Globulin

durch das Kolostrum aufnehmen und schneller wachsen. SCHIESSLER et al. (1977) und SCHULTE-LANGFORTH (1990) können hingegen keine Geschlechtsunterschiede feststellen. Höhere Werte für Schwarzbunte Kälber im Vergleich zu Fleckviehkälbern weist DONNER (1999) nach.

Tabelle 7: Referenzbereiche der Literatur für Gesamteiweiß

Autoren	Alter	Tiere	Referenzbereiche
FISCHER und BUTTE, 1974	Bis 14 Tage p.n.	38 SB-Kälber	53,1 ± 7,4 g/l
CABELLO und MICHEL, 1977	15. Tag p.n.	32 HF-Kälber	57,9 ± 3,8 g/l
NAYLOR und KRONFELD, 1977	1 – 8 Tage p.n.	34 HF-Kälber (w)	56,1 ± 8,4 g/l
Von SCHWARTZ, 1980	7 Tage p.n.	SB-Kälber	62,7 ± 7,07 g/l
FRERKING et al., 1983	7 Tage p.n.	22 SB-Kälber	60,46 ± 5,40 g/l
DONOVAN et al., 1986	14 Tage p.n.		58,97 ± 5 56 g/l
	8 Tage p.n.	2105 HF-Kälber	57 g/l
SCHULTE-LANGFORTH, 1990	1 – 2 Wochen p.n.	Kälber	50 g/l
KURZ und WILLET, 1991	6 Tage p.n.	8 HF-Kälber	57 ± 2 g/l
STEINHARDT et al., 1993b	5 – 23 Tage p.n.	77 Kälber aus Niederungsrassen und Mastanpaarungen	62,8 ± 6,8 g/l
EGLI und BLUM, 1998	7 Tage p.n.	19 DFV-Kälber	57 g/l
DONNER, 1999	14 Tage p.n.		58 g/l
KRAFT und DÜRR, 1999b	5 Tage p.n.	Kälber Rinder	55 g/l 50 – 70 g/l
STEINHARDT und THIELSCHER, 2000b	15 Tage p.n.	38 Milchrindkälber	46,7 ± 7,5 g/l
STEINHARDT und THIELSCHER, 2000a	10 Tage p.n.	52 Saugkälber aus Mutterkuhhaltung	59,1 ± 4,9 g/l
KLINIK		Kälber	40 – 60 g/l

Große Unterschiede lassen sich auch in der Art der Fütterung ausmachen. So haben nach STEINHARDT und THIELSCHER (2000a) Kälber aus Mutterkuhhaltungen im Alter von zehn Tagen deutlich höhere Konzentrationen an Gesamteiweiß (59,1 ± 4,9 g/l) als vergleichbare Tiere mit 15 Tagen, die per Tränkeautomat gefüttert werden (46,7 ± 7,5 g/l) (STEINHARDT und THIELSCHER, 2000b).

Nach dem starken Anstieg aufgrund der Kolostrumaufnahme fallen die Werte für Gesamteiweiß deutlich ab. Zwischen Tag zwei und fünf machen CABELLO und MICHEL (1977) eine verstärkte Proteinurie und eventuell den Katabolismus der Kolostralproteine dafür verantwortlich. Im weiteren Verlauf steigen die Werte wieder, bei Kälbern mit einer Woche können Werte von $60,46 \pm 5,40$ g/l, mit zwei Wochen von $58,97 \pm 5,56$ g/l beobachtet werden (FRERKING et al., 1983).

Von FISHER und DE LA FUENTE (1972) wird schon früh eine negative Korrelation zwischen anfänglicher Serumimmunglobulinkonzentration und gemessener Durchfallmenge beschrieben, und auch AEIKENS (1976) folgert aus sinkenden Gammaglobulinspiegeln bei verstärkten Krankheitserscheinungen die Unabdingbarkeit der frühen und richtigen Kolostralmilchtränkung. Vor allem an Durchfall und Pneumonie erkrankte Kälber zeigen deutlich niedrigere Werte als gesunde Tiere der gleichen Altersgruppe (PETERS, 1981; FRERKING et al., 1983). So finden auch FISCHER und BUTTE (1974) bei Durchfallkälbern niedrige Werte, obwohl sie aufgrund von Hämokonzentration steigende Konzentrationen erwartet hätten. Sie erklären das Phänomen durch einen Mangel an Nahrungsaufnahme bei mehrtägiger Krankheitsdauer (Gewichtsverlust und katabole Stoffwechsellage) und Eiweißverluste über den Darm. Nach STEFFEN et al. (1997) gibt es allerdings in der Absorption und dem Abbau der Gesamtproteine im Serum keinen Unterschied zwischen kranken und gesunden Kälbern. Auch können anhand des Gesamtproteingehalts im Serum keine Vorausagen über die Gesundheitsentwicklung in den ersten vierzehn Lebenstagen getroffen werden. BOYD (1989) hingegen kann feststellen, dass Kälber mit entweder niedrigem Serumalbumin, hoher Serum-CK oder niedriger Serum-GGT vor der Fütterung eine geringere Resorption von Kolostralproteinen aufweisen. Ebenso sinkt bei Azidosen die Kolostrumaufnahme, was sich ebenfalls in niedrigeren Gesamteiweißwerten widerspiegelt.

2.2.2.5 *Albumin (ALB)*

Albumin wird fast ausschließlich in der Leber synthetisiert und ist mit 35 - 50 % des Gesamtproteingehalts die größte einheitliche Proteinfraction (EDER, 1987). Der Abbau vollzieht sich im Extrazellularraum, die Halbwertszeit beim Rind beträgt 16,50 Tage (KANEKO, 1989). Albumin fungiert zum einen als Eiweißreserve, ist zum anderen aufgrund seines relativ niedrigen MG von ungefähr 69000 D und der hohen Konzentration im Plasma hauptverantwortlich für die Aufrechterhaltung des kolloidosmotischen Druckes des Plasmas (BAUER, 2001). Weiterhin ist Albumin ein wichtiges „Carrier-Molekül“, es macht sehr viele Substanzen wasserlöslich und kann durch die Komplexgröße eine Ausscheidung über die

Niere sowie eine Schädigung des glomerulären Filters durch Verstopfung verhindern (KANEKO, 1989; BUDDECKE, 1994).

Kann über längere Zeit keine ausreichende Versorgung mit Protein oder essentiellen Aminosäuren gewährleistet werden, ist die Bildung von Albumin in den Hepatozyten rückläufig. Durch eine Verminderung der Reabsorption von Wassermolekülen im venösen Abschnitt der Kapillaren reichern sich Wassermoleküle im Extrazellularraum an und führen zu einer Ödembildung (KOLB, 1989). Ein niedriger Plasmaalbuminspiegel kann also Folge verminderter Bildung, z.B. bei Malabsorptionssyndrom oder Hepatopathien sein, aber auch Zeichen eines Proteinverlustes, z.B. bei nephrotischem Syndrom, Enteropathien oder gewissen Dermatitiden (KRAFT und DÜRR, 1999b).

Bei der Geburt wird die Proteinkonzentration des Plasmas durch Albumin bestimmt, aber nach der Kolostrumaufnahme steigen Gesamteiweiß und Immunglobuline stark an, während Albumin scheinbar abfällt. Nach einigen Stunden ist dann die Albuminkonzentration bei Kälbern deutlich kleiner als bei Kühen und es wird vermutet, dass die Albuminbildung der Leber möglicherweise mit dem Reifegrad des Fetus (speziell der Leber) in Zusammenhang steht (STEINHARDT et al., 1993a).

Für neugeborene Kälber werden von CABELLO und MICHEL (1977) Normalwerte von $26,1 \pm 0,9$ g/l angegeben, die bis zur dritten Lebenswoche auf $30,5 \pm 2,1$ g/l ansteigen. Da die Konzentration des Albumins so niedrig ist, hat das Kolostrum keinen Anteil an diesem Anstieg. Betätigt werden diese Werte von AGNES et al. (1993).

Bei genaueren Untersuchungen in kürzeren Zeitabständen wird nach der Geburt ($30,0 \pm 1$ g/l) ein Absinken der Albuminkonzentration auffällig (nach 96 Stunden $25,6 \pm 0,5$ g/l), allerdings geschieht der Abfall parallel zu einem Abfall an Hämatokrit und Hämoglobin, was einer Zunahme des Plasmavolumens entspricht. Es handelt sich also nicht um einen Verlust an Albumin, sondern um einen Verdünnungseffekt. Danach steigen die Albuminwerte wieder über die Geburtswerte an (von SCHWARTZ, 1980). Während es für die Albuminkonzentration keine Rasseabhängigkeiten gibt (SCHIESSLER et al., 1977; DONNER, 1999), können deutliche Zusammenhänge zu Futteraufnahme und Gewichtsentwicklung registriert werden, denn Tiere mit dem höchsten Wachstum zeigen ebenfalls höhere Albuminwerte (LITTLE et al., 1977; KATUNGUKA-RWAKISHAYA et al., 1987). Können SCHIESSLER et al. (1977) keine Altersunterschiede feststellen, zeigen die Kälber bei STEINHARDT et al. (1993b) sehr wohl höhere Werte, als bei der ersten Untersuchung (STEINHARDT et al., 1993b), ebenso bei LITTLE et al. (1977).

Tabelle 8: Referenzbereiche der Literatur für Albumin

Autoren	Alter	Tiere	Referenzbereiche
CABELLO und MICHEL, 1977	10 Tage p.n.	32 HF-Kälber	29 g/l
LITTLE et al., 1977	14 Tage p.n.	14 Kälber	22 g/l
SCHIESSLER et al., 1977	8 – 12 Wochen p.n.	Jersey, und SB-Kälber	29,3 g/l
FRERKING et al., 1983	1 Woche p.n. 2 Wochen p.n.	22 SB-Kälber	26,24 ± 2,31 g/l 27,53 ± 2,82 g/l
KURZ und WILLET, 1991	6 Tage p.n.	8 HF-Kälber	32 ± 7 g/l
AGNES et al., 1993	1 Monat p.n.	340 HF-Kälber (w)	31,9 ± 2,98 g/l
STEINHARDT et al., 1993b	5 – 23 Tage p.n.	77 Kälber aus Niederungsrassen und Mastanpaarungen	33,6 ± 3,89g/l
EGLI und BLUM, 1998	7 Tage p.n. 14 Tage p.n.	19 DFV-Kälber	34 g/l 36 g/l
DONNER, 1999	5 Tage p.n.	Kälber	26 g/l
KRAFT und DÜRR, 1999b		Rinder	35 – 42 g/l
STEINHARDT und THIELSCHER, 2000b	15 Tage p.n.	38 Milchrindkälber	27,9 ± 4,0 g/l
STEINHARDT und THIELSCHER, 2000a	10 Tage p.n.	52 Saugkälber aus Mutterkuhhaltung	35,6 ± 1,8 g/l
Klinik		Kälber	30 – 40 g/l

Interessanterweise zeigen Kälber aus Mutterkuhhaltung im Alter von 10 Tagen deutlich höhere Albuminwerte ($35,6 \pm 1,8$ g/l) (STEINHARDT und THIELSCHER, 2000a), als am 15. Lebenstag bei Tränkeautomatenfütterung ($27,9 \pm 4,0$ g/l) (STEINHARDT und THIELSCHER, 2000b).

Kranke Kälber bleiben deutlich unter den oben angeführten Normalwerten. Es scheint sogar möglich, eine kritische Grenze zu definieren. Erkrankten Kälber mit einem Plasmalevel bei Geburt von weniger als 24,2 g/l zu 74 %, sind es bei höheren Werten nur 28,6 % (CABELLO und MICHEL, 1977).

2.2.2.6 D-Laktat

Da in Säugetierorganismen über den Methylglyoxylase-Weg nur geringe Mengen an D-Laktat produziert werden, resultieren erhöhte Werte dieses Laktat-Isomers aus bakterieller Produktion im Gastrointestinaltrakt. Von dort erfolgt eine Absorption ins Blut. Eine D-Laktatazidose tritt vor allem bei Menschen auf, denen ein Teil ihres Dünndarms entfernt wurde

(„short bowel syndrome“). Bei der Verstoffwechslung unverdauter Kohlenhydrate im Dickdarm wird von Bakterien D-Laktat produziert (URIBARRI et al., 1998).

DUNLOP und HAMMOND (1965) berichten als erste bei akuter Pansenazidose über D-Laktatbildung. DEMIGNÉ und RÉMÉSY (1979) geben als Normalwerte bei gesunden Kälbern acht Tage p.n. $1,7 \pm 0,8$ mmol/l an. Bei Durchfallkälbern finden sie deutlich höhere Werte ($6,8 \pm 1,4$ mmol/l). Im Kot gesunder Kälber findet sich nur wenig Laktat. Gegen ihre Erwartung, im Kot vor allem D-Laktat finden zu können, da es ja von Mikroorganismen im Darmtrakt produziert wird, finden sie im Kot vor allem L-Laktat. Das L-Laktat ist zum größten Teil endogenen Ursprungs und entsteht bei der intestinalen Glykolyse vermehrt bei Hypoxie, ionische Störungen sowie durch Toxine. Eine Laktatazidose tritt normalerweise immer zusammen mit einer Hypoglykämie auf. Sinkt die Blutglukose unter 1 - 2 mmol/l sterben die Kälber.

In mehreren Studien werden in den letzten Jahren vor allem der Einfluss der Milchtränkung auf die Pansenazidose (VAN WEEREN-KEVERLING BUISMAN et al., 1990; GENTILE et al., 1998) und die Veränderungen bei Durchfallkälbern (GRUDE et al., 1999; LORENZ, 2002) wissenschaftlich aufbereitet.

Referenzwerte bei gesunden DFV-Kälbern sind bisher allerdings nicht erstellt worden.

2.2.3 Serumenzyme

Enzyme sind Proteine oder Proteide, die als Biokatalysatoren den Ablauf chemischer Reaktionen beschleunigen. Sie bestimmen durch Anzahl und Aktivität die Stoffwechselleistung einer Zelle oder eines Organs (KARLSON, 1994). Bei „gesunden“ Tieren sind die Zellenzyme nur in geringer Aktivität im Serum nachweisbar, z.B. führen regelmäßige Zellmauserung, hormonelle Einflüsse, zirkulatorische Effekte, Stoffwechselfvorgänge, sowie körperliche Aktivität zum Zustandekommen sogenannter „Normalaktivitäten“. Wegen eines direkten Zugangs zum Plasma stammen die Enzyme vorwiegend aus Blut- und Gefäßwandzellen, Hepatozyten und Zellen der Milz. In höherer Konzentration treten zellgebundene Enzyme jedoch erst bei Schädigung eines Organs ins Blutplasma über (BUDDECKE, 1994). Das Ausmaß der Aktivitätssteigerung stellt sich dabei abhängig von Schnelligkeit und Umfang des Enzym Austrittes aus dem geschädigten Gewebe, Schweregrad und Ausmaß der Zellschädigung sowie der Eliminationsrate dar. Entscheidend sind allerdings auch die physikalisch-chemischen Faktoren, wie Konzentrationsgefälle zwischen intra- und extrazellulärem Raum, MG, intrazelluläre Lokalisation des Enzyms und dessen Syntheserate.

Durch Aufnahme der Enzymproteine aus der Zirkulation durch v.a. Leber, Niere und Lunge sinkt der Aktivitätsspiegel im Blutplasma (Enzymelimination).

Bei einer Bestimmung der Aktivität im Serum können nur Aussagen über aktuelle, sich in der Zelle abspielende Prozesse getroffen werden. So werden fortgeschrittene Stadien akuter Prozesse wie Nekrosen, Ödeme, Diapedesen oder Hämorrhagien relativ gut im Enzymmuster abgebildet, während z.B. Organinfiltrationen oder stark fortgeschrittene, aber momentan zum Stillstand gekommene Prozesse häufig keine Aktivitätserhöhungen bewirken.

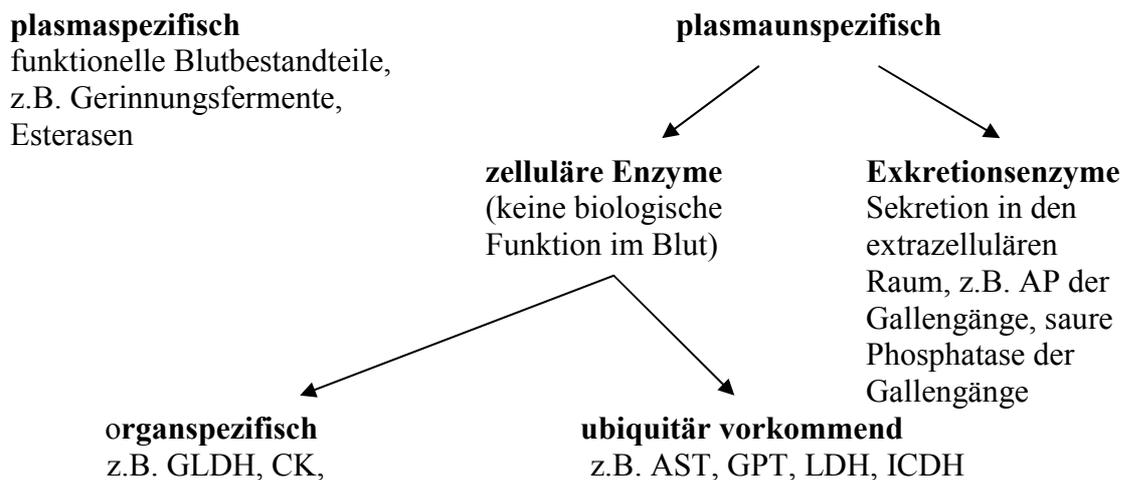


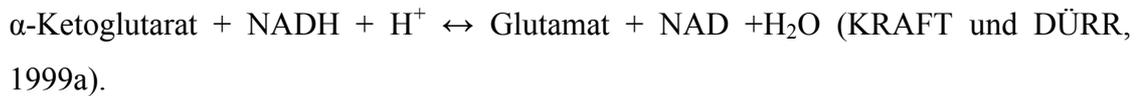
Abbildung 1: Einteilung der Enzyme nach GERBER et al. (1973)

2.2.3.1 Glutamat-Dehydrogenase, (GLDH)

Die GLDH besteht aus acht Untereinheiten und hat ein sehr hohes MG von ca. 220000 D (BUDDECKE, 1992). Das Enzym ist an die Mitochondrienmatrix der Hepatozyten gebunden, ist also monolokulär und leberspezifisch. Innerhalb des Leberläppchens findet sich die höchste Aktivität im zentrilobulären Bereich. Aus diesem Grund zeigt die GLDH sekundäre Hepatopathien (z.B. Gallestauung, kongestive Myokardiopathie und Hypoxämie) sehr sensitiv an. Bei geringeren Schädigungen kommt es mitunter zu isolierten GLDH-Erhöhungen niedrigerer Aktivitäten. Die GLDH reagiert außergewöhnlich empfindlich, wobei vorübergehende Erhöhungen bis 15 IU/l offensichtlich nicht von besonderer pathologischer Wertigkeit sind. Höhere Werte, die das Dreifache des Referenzbereiches überschreiten, deuten jedoch auf eine schwere Leberkrankheit mit Zellnekrose hin, da erst bei schweren Zellschädigungen höhere Konzentrationen im Serum gefunden werden. Gerade bei Wiederkäuern sind nach dem Partus bei GLDH-Aktivitätssteigerungen klinisch relevante Leberverfettungen abzuklären (KRAFT und DÜRR, 1999a).

Folgende Reaktion wird katalysiert:

GLDH



Ein sehr guter Literaturüberblick über die Arbeiten bis 1971 findet sich bei BUITKAMP (1972).

KLOENE (1974) gibt für gesunde Kälber unter 8 Wochen einen Referenzbereich von $3,2 \pm 5,1$ IU/l an, der damit etwa halb so hoch liegt wie bei Kühen ($5,6 \pm 3,3$ IU/l) und belegt, dass bei -18°C eingefrorene Serumproben über Wochen ohne Aktivitätsverlust haltbar sind.

Die Serumaktivitäten bei gesunden Kälbern unter fünf Wochen für GLDH werden bei WEISS (1976) mit $9,26 \pm 6,06$ IU/l angegeben. Er stellt allerdings fest, dass Werte von einzelnen Enzymen zu Fehldiagnosen führen können und es immer zweckmäßig ist, ein Enzymogramm anzufertigen, mit dem genaue Aussagen über mögliche Erkrankungen vorgenommen werden können. Ein erhöhter GLDH-Wert ist bei akuten Parenchymschäden aussagekräftiger als bei chronischen.

PETERS (1981) kann in ihrer Untersuchung vor allem bei an Bronchopneumonie und Durchfall erkrankten Kälbern erhöhte GLDH-Werte feststellen. Sie attestiert der GLDH eine wichtige Rolle als empfindlicher Indikator für Leberbeteiligung auch bei primär anderen Krankheiten.

REINHARDT (1977) beschäftigt sich als erster genauer mit dem Verlauf der Enzymaktivität bei 52 gesunden DFV-Kälbern. Er kann auffällige Aktivitätssteigerungen der GLDH in den ersten Lebensstunden feststellen (Geburt $2,2 \pm 1,8$ IU/l; nach 12 Stunden $6,2 \pm 5,6$ IU/l), die er auf die Aufnahme von Kolostrum zurückführt. Die Aktivität sinkt wieder ab, erreicht nach 96 Stunden einen weiteren Peak ($6,2 \pm 4,8$ IU/l) und nimmt dann kontinuierlich ab (fünf Tage p.n. $3,8 \pm 2,7$ IU/l). Weitere Schwankungen setzen sich bis zur achten Woche fort, bleiben aber immer über den Werten bei der Geburt und erreichen noch nicht die Werte von adulten Rindern. Ebenfalls kann er keinen Einfluss von Geschlecht und leichter Zughilfe bei der Geburt feststellen, sehr wohl aber Erhöhungen bei Asphyxie, Durchfall, Leberdystrophie und Intoxikation. Es treten große individuelle Schwankungen auf.

Auch FRERKING et al. (1983) beobachten bei 22 schwarzbunten Kälbern einen starken Anstieg nach der Kolostrumaufnahme, eine Woche p.n. können $5,11 \pm 2,91$ IU/l, zwei Wochen p.n. sogar $8,70 \pm 5,56$ IU/l gemessen werden. Bis zur achten Lebenswoche steigt die

Konzentration weiter leicht an. Ähnliche Werte beschreibt auch SCHULTE-LANGFORTH (1990) bei 1 - 2 Wochen alten Kälbern (5 - 9 IU/l).

BOSTEDT (1983) ermittelt für 60 Fleckviehkälber im Alter von unter zwei Wochen Referenzwerte von 0,1 - 20 IU/l. KRAFT und DÜRR (1999a) geben einen Referenzbereich bis 30 IU/l an, unterscheiden aber nicht zwischen Kälbern und adulten Rindern. In der Klinik kommt ein Referenzbereich bis 16 IU/l zum Einsatz, gemessen bei 37°C.

2.2.3.2 Aspartat-Amino-Transferase, (AST)

Die Aspartat-Amino-Transferase, oder auch Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), ist kein leberspezifisches Enzym, da sie in vielen Geweben und Organen in unterschiedlichen Aktivitäten angetroffen werden kann. Weil sie als bilokuläres Enzym sowohl im Zytoplasma (MG ca. 90000 D), als auch in den Mitochondrien (MG ca. 80000 D) nachzuweisen ist, ist sie im Blutplasma besonders bei Zellnekrosen und auch bei Membranschädigungen erhöht (BUDDECKE, 1992). Als Suchenzym ist die AST nicht einsetzbar, da hohe Aktivitäten sowohl in Herz- und Skelettmuskel, als auch in der Leber gemessen werden. (KRAFT und DÜRR, 1999a). Erhöhte Serumwerte der AST haben eine direkte Verbindung zum Vorhandensein von Muskelschäden, wobei die Höhe der AST-Aktivität eine direkte Beziehung zum Ausmaß der Muskelläsionen hat, bei Kälbern mit Muskeldystrophie liegt z.B. eine Erhöhung um das 32fache vor (DOTTA und ROBUTTI, 1972).

Folgende Reaktion wird katalysiert:

AST

α -Ketoglutarat + L-Aspartat \leftrightarrow L-Glutamat + Oxalacetat

Der Referenzbereich beim erwachsenen Rind liegt bei einer Aktivität bis 80 IU/l (KRAFT und DÜRR, 1999a).

Einen sehr guten Literaturüberblick über die Arbeiten bis 1971 gibt BUITKAMP (1972).

In einer ersten Verlaufsuntersuchung wird bei 27 Kälbern in der Steiermark nach der Geburt ein Wert von $29,23 \pm 1,92$ IU/l gemessen, zwölf Tage p.n. liegt er bei $27,5 \pm 1,15$ IU/l. Da bei Kühen die Werte deutlich höher liegen, wohl aufgrund einer graviditätsbedingten Fetteinlagerung in der Leber, kann geschlossen werden, dass höhermolekulare Stoffe die Plazentaschranke beim Rind nicht überschreiten (STÖCKL et al., 1965). Ähnlich hohe Werte beschreiben auch KURZ und WILLET (1991). In ihrer Untersuchung an nur acht HF-Kälbern steigen die Werte von 23 ± 2 IU/l bei Geburt nach 24 Stunden bis auf 80 IU/l an und pendeln sich mit sechs Tagen bei 31 ± 3 IU/l ein.

Auch GRÜN und KLÖTZER (1972) können bestätigen, dass die AST-Aktivität bei Kälbern im Serum vor Kolostrumaufnahme nur halb so hoch ist, wie bei Rindern. Allerdings steigt sie auch ohne Kolostrumaufnahme bis 24 Stunden p.n. stetig an (Stoffwechselumstellung – Hormonausschüttung (ACTH, Kortisol, Katecholamine) – Veränderung der Zellpermeabilität → Erhöhung der AST), aber ohne den sich nach Kolostrumaufnahme vollziehenden steilen Anstieg. AST wird also über das Kolostrum vom Körper in aktiver Form aufgenommen. Auch SCHIESSLER et al. (1977) beschreiben einen Wert von 31,6 IU/l.

FISCHER und BUTTE (1974) geben bei 38 SB-Kälbern bis 14 Tagen einen Referenzbereich von $38,02 \pm 50,35$ IU/l an, WEISS (1976) für Kälber unter fünf Wochen $23,09 \pm 4,18$ IU/l.

Niedrigere Werte ermitteln REINHARDT (1977) bei 52 DFV-Kälbern ($16,2 \pm 10,2$ IU/l) und FRERKING et al. (1983) bei 22 SB-Kälbern (einer Woche p.n. $14,84 \pm 5,32$ IU/l; zwei Wochen p.n. $13,71 \pm 4,95$ IU/l).

BOSTEDT (1983) schließlich gibt den höchsten Wert der Aufstellung gemessen an 60 DFV-Kälbern mit 116 ± 6 IU/l neun Tage p.n. an. Er beobachtet außerdem keinerlei Abhängigkeit von Geschlecht, Geburtsmasse, Dauer der Trächtigkeit und der Kalbung. Lediglich bei kräftiger Geburtshilfe kann eine starke Erhöhung der Serum-AST eintreten. Ein weiterer Grund für die Erhöhung ist in einem massiven Zerfall der Erythrozyten in den ersten Lebensstunden zu sehen, deren hoher Gehalt an AST dann freigesetzt wird (BOSTEDT, 1983).

In der Klinik wird mit einem Referenzbereich bis 80 IU/l gearbeitet, gemessen bei 37°C.

2.2.3.3 Creatinkinase, (CK)

Die Creatinkinase hat ein MG von ca. 80000 D und besitzt zwei aktive Zentren mit je einer reaktiven Schwefelwasserstoff-Gruppe. Am Aufbau des dimeren Moleküls können sich die zwei Untereinheiten M und B beteiligen, um die drei möglichen Isoenzyme (CK-MM (Muskeltyp), CK-BB (Gehirntyp) und den hybriden Typ CK-MB) zu bilden. Physiologischerweise besteht die im Serum nachweisbare CK-Aktivität fast ausschließlich aus der des Skelettmuskelisoenzyms CK-MM (BUDDECKE, 1994).

Da die Gehirn-CK nicht in das Blut übertritt, gilt die CK als muskelspezifisches Enzym, obwohl sie auch in zahlreichen anderen Organen nachgewiesen werden kann. Bei Verdacht auf Muskelkrankheiten oder –müderkrankungen in der Folge anderweitiger Grundkrankheiten wird die CK-Gesamtaktivität bestimmt (KRAFT, 1999). Die Creatinkinase gehört zu den zellulären organspezifischen Enzymen und ist zu 90 % im Zytoplasma und zu 10 % in den Mitochondrien lokalisiert. Die Erythrozyten sind praktisch frei von CK, weshalb Testergebnisse durch Hämolyse nicht verfälscht werden können (WEISS, 1976).

Die Creatinkinase ist eine Phosphattransferase und katalysiert unter Anwesenheit von Magnesiumionen folgende Reaktion:

CK



Somit spielt die CK eine wichtige Rolle bei der Bereitstellung von Kontraktionsenergie im Muskel, da die Creatinkinase-Reaktion eine vom Energiestoffwechsel nicht direkt abhängige Möglichkeit der ATP-Bildung darstellt. Adenosintriphosphat ist die eigentliche Aktionssubstanz des Muskels, seine hydrolytische Spaltung liefert die Energie für die Kontraktion. Dabei wird die chemische Energie des ATP in mechanische Arbeit umgewandelt. Das Creatinphosphat stellt dabei eine Energiequelle im Muskel dar, die jederzeit schnell in Anspruch genommen werden kann, um ATP zu regenerieren (KARLSON, 1994).

Beim Rind dient die CK in erster Linie zur Erkennung nutritiv bedingter Myopathien (Selen-, Kupfermangel) und des (postpartalen) Festliegens durch Ausschluss von Muskelzerrungen, -rupturen und -nekrosen. Klinisch bedeutsam sind Aktivitätssteigerungen über 1000 IU/l (KRAFT, 1999).

Im Vergleich zu anderen Serumenzymen gibt es nur wenige Untersuchungen über die CK bei Kälbern, was darin begründet scheint, dass sie das instabilste aller Serumenzyme darstellt. Bei Zimmertemperatur tritt nach sechs Stunden ein Aktivitätsverlust von etwa 55 %, nach 24 Stunden von gar 75 % ein. Bei einer Aufbewahrung bei +4°C verliert sie nach sechs Stunden immer noch 15 % ihrer Aktivität (WEISS, 1976).

DOTTA und ROBUTTI (1972) können erstmals einen deutlichen Anstieg bei Kälbern mit Muskeldystrophie nachweisen, wurde die CK vorher doch nur selten als Diagnostikum eingesetzt, da ihre gesteigerte Serumaktivität bis dahin nur für Equine Myoglobinurie, Magnesiummangeltetanie bei Kälbern, Blue-Tongue bei Schafen und der erblichen Muskeldystrophie bei Hühnern gesichert war.

Eine genauere Verlaufsuntersuchung bei 52 DFV-Kälbern zeigt bei Geburt einen Wert von $53,6 \pm 33,9$ IU/l, der sich nach sechs Stunden mehr als verdoppelt (124 ± 115 IU/l) und hier sein Maximum erreicht. 24 Stunden nach der Geburt wird nach einer steilen Abnahme nahezu der Ausgangswert erreicht ($53,0 \pm 49,3$ IU/l), zehn Tage p.n. liegt der Wert bei $14,4 \pm 11,4$ IU/l. Dieser bleibt bis zur achten Lebenswoche bestehen. Trotz des klaren Anstiegs nach der Geburt kann kein Unterschied zwischen spontan geborenen Kälbern und mit leichtem Zug extrahierten festgestellt werden, es werden aber Unterschiede aufgrund der Geburtsdauer vermutet (REINHARDT, 1977). Zu ähnlichen Ergebnissen kommen auch

BAUMGARTNER et al. (1980) bei Braunviehkälbern. Hier zeigt sich ebenfalls der beschriebene Kurvenverlauf, die Werte liegen aber deutlich niedriger (Geburt $37,4 \pm 30,0$ IU/l, acht Stunden p.n. $81,0 \pm 52,4$ IU/l). Den Grund für die Erhöhung vermuten BAUMGARTNER et al. im Zusammenhang mit vermehrter Muskelarbeit bei ersten Aufstehversuchen und der ersten Tränkeaufnahme. Insgesamt fallen extreme Schwankungen zwischen einzelnen Kälbern ins Auge. Ein Unterschied zwischen den Geschlechtern kann nicht nachgewiesen werden (SCHULTE-LANGFORTH, 1990).

Ein anderer Verlauf findet sich bei EGLI und BLUM (1998). In ihrer Untersuchung an allerdings nur acht HF-Kälbern fällt die CK-Aktivität von $665,89 \pm 119,98$ IU/l bei Geburt bis sieben Tage p.n. auf $59,99 \pm 5,99$ IU/l, ohne den oben beschriebenen Anstieg am ersten Tag. Die Autoren führen die extrem hohen Werte p.n. auf während des Geburtsvorganges erworbene Muskelschäden zurück. Ähnliche Werte in der ersten bis zweiten Lebenswoche werden von SCHULTE-LANGFORTH (1990) mit 50 IU/l angegeben.

Deutlich niedrigere Werte bei Kälbern unter fünf Wochen werden von WEISS (1976) mit $14 \pm 2,37$ IU/l angegeben. Auch Bostedt findet in seiner Studie an 60 DFV-Kälbern neun Tage p.n. einen Referenzbereich von 17 ± 13 IU/l.

Dass die CK nicht nur als Indikator für Muskelschäden von diagnostischer Bedeutung ist, kann schließlich BOYD (1989) nachweisen. Er stellt fest, dass Kälber mit entweder niedrigem Serumalbumin, hoher Serum CK oder niedriger Serum GGT vor der Fütterung eine geringere Resorption von Kolostralproteinen aufweisen.

In der Klinik wird ein Referenzbereich bis 245 IU/l herangezogen, gemessen bei 37°C.

2.2.4 Transketolase (TK)

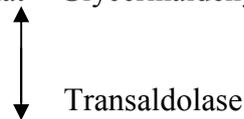
Die Transketolase ist ein Enzym der nichtoxidativen Seite des Pentosephosphatzyklus. Zusammen mit der Transaldolase stellt sie die reversible Verbindung zwischen Phosphatweg und Glykolyse dar. Im ersten, oxidativen Schritt wird Glucose-6-phosphat zu Ribose-5-phosphat irreversibel umgewandelt. Die weiteren Schritte sind reversibel und können so immer an die Erfordernisse des Stoffwechsels angepasst werden.

Hier werden nun 3 Pentosen zu 2 Hexosen und einer Triose umgewandelt, am Ende entstehen aus Ribose-5-phosphat Glycerinaldehyd-3-phosphat und Fructose-6-phosphat.

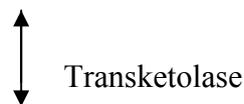
Xylulose-5-phosphat + Ribose-5-phosphat



Seduheptulose-7-phosphat + Glycerinaldehyd-3-phosphat



Erythrose-4-phosphat + Fructose-6-phosphat



Glycerinaldehyd-3-phosphat + Fructose-6-phosphat

Abbildung 2: TK im Pentosephosphatzyklus

Die Transketolase besitzt mit Thiaminpyrophosphat (TPP) eine prosthetische Gruppe, die von weiteren Enzymen ebenfalls benutzt wird (Pyruvat-Decarboxylase, Pyruvat-Dehydrogenase und Oxyglutarat-Dehydrogenase) und im Körper eine wichtige Rolle spielt (STRYER, 1996). Die 3D-Struktur der Transketolase ist mittlerweile für die Hefe komplett entschlüsselt worden, nun soll sie auch bei den Säugetieren geklärt werden. Man hofft, genauere Aussagen über ihre Funktion treffen zu können und in der Zukunft Behandlungsmöglichkeiten bei Vitamin –B1 Mangelkrankheiten entwickeln zu können (SCHENK et al., 1998).

In Säugetiergeweben findet man die Transketolase in Herz, Leber und Erythrozyten. Um den Transfer einer aktivierten Aldehydeinheit auf einen Akzeptor (immer eine Aldose) zu katalysieren, braucht sie als Coenzym TPP und als Cofaktor Magnesium (MASSOD et al., 1970). Bei Thiaminmangel ist die TK-Aktivität in Herz- und Nierengewebe substantiell reduziert, die genauen Auswirkungen auf den Pentosephosphatzyklus sind aber noch unbekannt. Da die TK der limitierende Faktor im Pentosephosphatweg ist, lassen sich bei Aktivitätsabnahme reduzierte Mengen der Hauptprodukte Ribose und NADPH erwarten. Bisher konnte während eines Thiaminmangels kein veränderter Metabolismus in Herz und Niere nachgewiesen werden, es gibt wohl große Reservekapazitäten für die TK, die auch bei starkem Thiaminmangel, also starkem TK-Aktivitätsverlust, die Aufrechterhaltung des Pentosephosphatweges erlauben (MCCANDLESS et al., 1976).

Durch diese Abhängigkeit von Thiamin ist die Transketolase vor allem bei der Diagnose von Thiaminmangelzuständen von Bedeutung, da bei Thiaminunterversorgung in der Nahrung,

damit also auch TPP-Mangel, die Transketolaseaktivität in Erythrozyten deutlich erniedrigt ist und die aus Glukose geformte Pentose in den intakten Erythrozyten akkumuliert. Der erste Versuch, Thiamin über die Transketolasereaktion nachzuweisen, war sehr aufwändig, da zum einen lebende Zellen benötigt wurden, woraus große Probleme bei Verfügbarkeit und Lagerung resultierten, zum anderen auch mit Radioaktivität gearbeitet werden musste (BRIN et al., 1958). Zwei Jahre später glückt der Nachweis auch mit hämolysiertem Blut (BRIN et al., 1960). Die Bestimmung der Transketolaseaktivität in den Erythrozyten als spezifischer Nachweis des Thiaminstatus des Menschen und des Versuchstieres ist erstmals eingeführt.

Tatsächlich werden in diesem Ansatz nicht nur die Transketolase, sondern auch andere beteiligte Enzyme gemessen, nämlich die wichtigen Ribose-Isomerase und -Epimerase, die Ribose-5-phosphat in Ribulose-5-phosphat und Xylose-5-phosphat umsetzen. Eine veränderte Aktivität der beiden Enzyme im Hämolysat hätte somit eine veränderte Substratverfügbarkeit für die TK zur Folge, würde also die Rate des Verschwindens der Pentose beeinflussen. Da aber die Aktivität von Hämolysaten bei vorliegendem Thiaminmangel durch Zugabe von TPP gesteigert werden kann, während bei Kontrollproben nur ein geringer Effekt zu beobachten ist, ist TK der limitierende Faktor der Reaktion. Im Kontrollblut ist nämlich die Apotransketolase mit Cofaktor gesättigt, wohingegen im Mangelblut eine doppelte Kürzung vorliegt, einmal an verfügbarem Holoenzym, zum anderen auch an genügend Coenzym um das vorhandene Holoenzym zu sättigen. So führt die Zugabe von TPP zu einer Steigerung der Enzymaktivität, aber nicht zu Normalwerten. Da auch bei wiederholten Ansätzen Variationen von 10 – 15 % auftraten, ist diese Ursprungsmethode immer wieder modifiziert worden (BRIN et al., 1960).

Im Allgemeinen kann die Abnahme der beiden Pentosephosphate, die Bildung von Seduheptulose-7-phosphat, Glycerinaldehyd-3-phosphat und der Hexosephosphate gemessen werden. Zusätzlich ist es möglich, in einem Parallelansatz, durch Zugabe von TPP in vitro die Aktivität der Transketolase verschieden stark zu verändern. Während die TK-Messung ohne TPP-Zugabe die nominale Enzymaktivität anzeigt und von der Verfügbarkeit des Coenzym, also TPP abhängt, kann bei der Zugabe von TPP die Menge ungebundenen Apoenzyms und die maximale TK-Aktivität gemessen werden (jeder Anstieg der TK-Aktivität durch zugesetztes TPP, ausgedrückt in Prozent wird angegeben als TPP-Effekt) (REHM et al., 1971; BOGIN et al., 1985). Den Beweis, dass TPP eine positive Korrelation mit dem reziproken Wert der Molarmenge von TPP zu einer Untereinheit der TK hat und der TPP-Effekt den Sättigungsstatus der TK mit TPP zeigt, erbringen TAKEUCHI et al. (1990).

Nach BRIN (1970) ist die prozentuale Erhöhung der Enzymaktivität durch den TPP-Zusatz ein brauchbares Maß für die Thiaminversorgung des Organismus. Der TPP-Effekt sollte immer mitbestimmt werden, da er einen sensitiveren Indikator für die Thiaminversorgung darstellt, als die Transketolaseaktivität, steigt doch bei einer Thiaminmangeldiät der TPP-Effekt innerhalb kürzester Zeit rapide, während die Transketolaseaktivität erst sinkt, wenn kaum mehr Thiamin in Herz, Leber und Gehirn zu finden ist. Bei einigen Tieren fallen die Transketolasewerte erst merklich, wenn die Werte von TPP in den Zellen nur noch 20 % ihrer Anfangswerte betragen.

Allerdings sollte man folgendes bedenken, wenn die Thiaminversorgung anhand des TPP-Effekts beurteilt wird:

- A) Schon eine geringe Thiaminaufnahme kann den TPP-Effekt beeinflussen, v.a. bei vorliegendem Thiaminmangel
- B) Wegen der engen Bindung zwischen TPP und der Transketolase kann der TPP-Effekt gerade am Anfang eines Mangels zu wenig sensitiv sein
- C) Ist der Mangel an Apoenzym schwerer als der des Coenzym, kann der TPP-Effekt den Versorgungszustand nicht wiedergeben
- D) Da die Apotransketolase relativ instabil ist und auch bei Anwesenheit von TPP schnell die Fähigkeit verliert, ihre Aktivität zurückzugewinnen, kann der Mangel an Thiamin unterschätzt werden (TAKEUCHI et al., 1990)

DREYFUS (1962) entwickelt aufbauend auf den Ergebnissen von BRIN et al. (1960) eine Mikromethode. Durch eine Reduktion der benötigten Blutmenge (nur noch 10 µl), kann der Test auf Kinder und kleine Labortiere zugeschnitten werden. Er beweist außerdem, dass die TK-Aktivität durch vielerlei metabolische Einflüsse gesenkt werden kann. Neben einem Thiaminmangel können auch Azidosen und Leber- und Nierenerkrankungen diesen Effekt bewirken. Der TPP-Effekt dagegen ist sehr spezifisch.

Eine weitere Mikromethode wird BETHKE et al. (1973) beschrieben. Durch die Makro-Adaptation der Ultramikromethode nach DREYFUS (1962) kann eine gesteigerte Reproduzierbarkeit erreicht werden, indem Erythrozyten-Stroma und Abfall vom Ansatz getrennt werden. (SCHOUTEN et al., 1964; MASSOD et al., 1970).

In den meisten Untersuchungen wird die Methode nach BRIN et al. (1960) modifiziert verwendet, allerdings gibt es einige strittige Punkte, z.B. der Mangel an Beachtung der Transaldolase in den Protokollen. Dieses Enzym katalysiert die Bildung von Fructose-6-phosphat und Erythrose-4-phosphat aus Seduheptulose-7-phosphat und Glycerinaldehyd-3-phosphat.

Durch den Abbau von Seduheptulose-7-phosphat fällt der resultierende Messwert falsch-niedrig aus. Abhilfe kann geschaffen werden, indem man den Ansatz fünf Minuten bei 55°C erwärmt. Die Transaldolase wird inaktiviert, ohne der Transketolase zu schaden. Die jetzt gebildete Menge an Seduheptulose-7-phosphat repräsentiert genauer die TK-Aktivität (TAKEUCHI et al., 1984).

Nicht nur Ribose-5-phosphat dient als Substrat der Reaktion, auch Xylulose-5-phosphat ist in Wahrheit Substrat, da die beiden als Epimere durch zwei Enzyme ineinander umgebaut werden können (Pentosephosphat-Isomerase wandelt Ribose-5-phosphat in Ribulose-5-phosphat, Pentosephosphat-Epimerase dann in Xylulose-5-phosphat um). Diese Enzyme kommen beide unbegrenzt in den Erythrozyten vor und sind sehr aktiv, d.h. es liegen Ribose-5-, Ribulose-5- und Xylulose-5-phosphat in Equilibrium-Mixtur vor. Da beide eine geringere Dichte als Ribose-5-phosphat haben, erfasst man in den ersten fünf Minuten einen starken Abfall der optischen Dichte, während er danach linear in Abhängigkeit von der Zeit erfolgt. Beweisend für diese Enzymbeteiligung ist das völlige Fehlen der Beobachtung bei gekochtem Hämolyolat (WARNOCK, 1970).

Nicht nur Erythrozyten werden für die TK-Messung benutzt, es sind viele andere Methoden entwickelt worden, z.B. die Messung an Leukozyten. Da die Erythrozyten-Transketolase 14 Tage benötigt, bis sie nach erfolgter Beseitigung eines Thiaminmangels wieder zu Normalwerten zurückkehrt (Erythrozyten sind Zellen mit einer langen Lebenszeit und ohne Zellkern, reagieren auf eine Stimulation also nicht mit Proteinproduktion), ist der Nachweis in Leukozyten vorzuziehen, aber wesentlich teurer. Außerdem enthalten Leukozyten mehr Thiamin und weisen höhere TK-Aktivitäten als Erythrozyten auf, geben also schnellere Antwort bei Veränderungen des Thiamingehaltes in der Nahrung. Das Ergebnis ist sensitiv und spezifisch und wird von Veränderungen bei Protein, Kohlenhydraten und Fett in der Nahrung nicht tangiert (CHENG et al., 1976).

Die Messung des Enzyms Transketolase mit einem Flüssigkeitschromatographieansatz ist ebenfalls möglich und birgt mehrere Vorteile. Der Nachweis ist schnell und weist eine hohe Sensivität auf. Allerdings kann dort nur eine quantitative Aussage über die vorhandene Enzymmenge, nicht aber über die tatsächliche TK-Aktivität getroffen werden. Auch fehlt noch der Vergleich mit den bisherigen Methoden (KIMURA und ITOKAWA, 1982).

Vor allem beim Menschen wird die Transketolase intensiv für die Diagnose des Thiaminmangels genutzt. So zum Beispiel bei Wernicke's Enzephalopathie (NIXON et al., 1990) oder Thiaminmangel aufgrund einseitiger reisbezogener Ernährung in Asien (CHONG und HO, 1970). Beim Menschen gelten TPP-Effekte von 0 - 14 % als normal, 15 - 24 % zeigen

Grenzsituationen an, Werte über 35 % gelten als schwerer Thiaminmangel und werden meist von klinischen Befunden begleitet.

Während vor allem die grundlegenden Studien an Menschen und Ratten durchgeführt wurden, befassen sich nun immer mehr Arbeiten mit verschiedenen Tierarten, vor allem, um labor-diagnostische Aussagen über die Cerebrocorticalnekrose (CCN) machen zu können. Bei der CCN zeigt sich neben klinischen Veränderungen (Blindheit, Unkoordiniertheit, Kopfpresen, bei schwer betroffenen Tieren auch Ophisthotonus und Seitenlage) auch ein Thiaminmangel, ausgelöst durch Aktivitätsverlust des thiaminabhängigen Enzyms TK. Ein erniedrigter Gehalt an Laktat und Pyruvat und hohe Ketonkörperkonzentration im Blut treten ebenfalls auf (SAGER et al., 1990).

Es wurden bisher mehrere Untersuchungen bei Ziegen (THOMAS et al., 1987), Lämmern (THORNER et al., 1979; THORNER et al., 1981; SPICER und HORTON, 1981; THOMAS, 1986; OLKOWSKI, 1992) und auch bei Rindern durchgeführt.

Bei Kühen befindet sich annäherungsweise 75 % des Thiamins in den Erythrozyten und 25 % im Plasma, während bei erkrankten Tieren mehr in Plasma und weniger in den Erythrozyten zu finden ist. CCN tritt bei erwachsenen Tieren kaum auf, da sie in einer normalen Ration genügend Raufutter, also Substrat für Thiamin produzierende Pansenflora aufnehmen (LOEW et al., 1975).

Nach BOGIN et al. (1985) kann man Kühe in drei Gruppen einteilen:

Gruppe A: normaler TK-Wert und relativ geringer Anstieg mit $TPP < 30 \%$

Gruppe B: normaler TK-Wert und größerer Anstieg mit $TPP > 30 \%$

Gruppe C: niedriger TK-Wert und drastischer Anstieg mit $TPP > 70 \%$

Interessanterweise findet man bei Hochleistungskühen stärkere TPP-Effekte (mehr Kraftfutter, latente Pansenazidose), ebenso bei CCN verdächtigen. Nach dieser Studie sind Normalwerte bis zu einem Wert von 25 % anzusetzen (BOGIN et al., 1985).

Nachdem der Transketolasetest bei einer großen Anzahl von gesunden Rindern angewandt worden ist (REHM et al., 1971), sind auch umfangreiche Studien in Kälbermastbetrieben vorgenommen worden, in denen CCN zuvor aufgetreten war (POHLENZ, 1975). Von REHM et al. (1971) werden beim Rind TPP-Effekte unter 40 – 45 % als physiologisch angesehen, Tiere mit Werten über 45 % gelten nach dieser Studie als thiaminunterversorgt.

Eine weitere Untersuchung an jeweils 50 gesunden Kälbern und Kühen bestätigt den Einfluss der stabilen Pansenflora. So findet man einen TPP-Effekt bei Kühen von 15,5 % ($\pm 11,7 \%$) und bei Kälbern von 24,4 % ($\pm 11,2 \%$). Die bei unter zwei Jahre alten Tiere im Durchschnitt höheren Aktivierungswerte lassen vermuten, dass sich bei älteren Tieren nach Ausbildung des

Pansens die Mikroflora in einem gewissen Gleichgewicht eingependelt hat und so relativ stabile Verhältnisse in der Vitamin-B1-Versorgung der erwachsenen Wirtstiere eingetreten sind, wohingegen bei Jungtieren diese Ausgeglichenheit fehlt und Schwankungen mit einer Unterversorgung mit Vitamin B1 auftreten (REHM et al., 1971).

Bei einem Quantil von $Q = 0,95$ (d.h. 95 % der gesunden Tiere sollen als normal gelten) beschreibt CLAUSEN (1977) für den TPP-Effekt einen Referenzwert bis 40 %.

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methodik

3.1.1 Material

3.1.1.1 Tiere

In der Zeit vom 13. November 2002 bis zum 12. März 2003 wurden in den Landkreisen Mühldorf und Rosenheim Blutentnahmen an 150 gesunden Kälbern, die noch nie tierärztlich behandelt wurden, durchgeführt. Die Kälber waren zum Zeitpunkt der Untersuchung zwischen fünf und vierzehn Tagen alt. Alle Tiere gehörten der Rasse DFV an und stammten aus 48 landwirtschaftlichen Familienbetrieben, wobei pro Betrieb höchstens fünf Kälber in die Untersuchung einbezogen wurden. Nach Mitteilungen der Landwirte über alle neugeborenen Kälber konnten die Probanden über ein Randomisierungsverfahren ausgewählt werden.

Es wurden nur Kälber zur Probennahme herangezogen, die nach einer klinischen Untersuchung in allen Punkten folgenden Kriterien genügten:

Tabelle 9: Definition gesunder Kälber (ROSENBERGER, 1990)

Haltung	aufrechte Körperhaltung, gerade Rückenlinie, senkrecht unter dem Körper stehende Gliedmaßen, gleichmäßig belastet, Kopf und Hals getragen
Verhalten	Ruhig, oder munter und aufmerksam, oder interessiert
Herzfrequenz	90 bis 110 / min, kräftig, regelmäßig, gleichmäßig, gut abgesetzt
Atmung	30 bis 45 / min, kein Nasenausfluss
Temperatur	38,5 bis 39,5°C
Lage der Bulbi	kein Spalt zwischen Bulbus und drittem Augenlid
Schleimhäute	blassrosa, feucht, glatt, glänzend
Episkleralgefäße	deutlich gezeichnet
Nabel	extraabdominal bis bleistiftstarker Strang, derbelastisch, verschieblich, unten abgetrocknet, intraabdominal unauffällig
Kotbeschaffenheit	mittel – dickbreiig, ohne Beimengungen
Saugreflex	kräftig, ausdauernd
Gelenke	trocken, ohne UV

Zusätzlich wurden Kälber aus Zwillings- Mehrlings- und Schweregeburten nicht berücksichtigt, da bei diesen auffallende Abweichungen für Eisen, Hämatokrit und Kupfer und sehr große für Eisenbindungskapazität und Zink festgestellt (STEINHARDT et al., 1993) und für Serumenzyme vermutet werden (REINHARDT, 1977). Natürlich wurden alle Kälber, die schon vom Besitzer medikamentell behandelt worden waren, von der Probennahme ausgeschlossen.

3.1.1.2 Parameter

Calcium

Magnesium

Anorganisches Phosphat

Harnstoff

Creatinin

Bilirubin

Gesamteiweiß

Albumin

D-Laktat

GLDH

AST

CK

Transketolase

Diese 13 Parameter wurden ausgewählt analog zur routinemäßig in der Klinik für Wiederkäuer der LMU München durchgeführten Diagnostik bei jungen Kälbern.

3.1.1.3 Proben

Die Blutentnahme erfolgte aus der Vena jugularis mit sterilen Einmalkanülen. Nach nur kurzer Stauung wurde vorsichtig aspiriert und 2 ml in ein Lithium-Heparin-Röhrchen und ca. 10 ml in ein Serumröhrchen verbracht. Die Proben wurden aufrecht bei 4 - 8°C gelagert und spätestens nach vier Stunden ins Labor gebracht.

Proben mit sichtbarer Hämolyse wurden verworfen. Die Serumproben wurden im Labor sofort bei 3500 Umdrehungen pro Minute zehn Minuten in einer Hettich Rotixa 50 RS Zentrifuge zentrifugiert, der Überstand erneut in Probengefäße verbracht und im Hitachi 911 E Automatic Analyzer bei 37°C analysiert. Übriges Serum wurde für eventuelle Nachproben bei -25°C eingefroren. Maximal vier Stunden lagen zwischen der ersten Blutentnahme

und dem Analysenbeginn im Labor. Während dieser Zeit wurde 1 ml Lithium-Heparin-Blut in einem Polyröhrchen mit 3 ml Aquadest hämolysiert und bei -25°C für mindestens 24 Stunden eingefroren.

Die Blutentnahmen fanden jeweils am späten Vormittag statt, so dass mögliche Einflüsse der Tränkung minimiert werden konnten.

3.1.2 Methoden

3.1.2.1 Untersuchungen durch den Hitachi 911 E Automatic Analyzer

Alle Serumproben wurden nach den in der Klinik standardmäßig angewandten Methoden untersucht. Die Qualitätskontrollseren Precinorm U und Precipath U wurden routinemäßig jeden Morgen vor der Routinediagnostik analysiert.

Die Sensitivität (analytische Nachweisgrenze) entspricht der niedrigsten messbaren Gesamtkonzentration, die von Null unterschieden werden kann. Sie wird aus drei Standardabweichungen von 21 Proben des niedrigsten Standards berechnet.

Tabelle 10: Methoden und Sensitivitätsgrenzen des Hitachi 911E Automatic Analyzer

Parameter	Methode	Sensitivitätsgrenze
Calcium	Photometrischer Farbtest mit o-Kresolphthalein-Komplexon	0,05 mmol/l
Magnesium	Photometrischer Farbtest mit Xylidblau	0,03 mmol/l
Anorganisches Phosphat	Photometrischer UV-Test mit Ammoniummolybdat	0,1 mmol/l
Harnstoff	Kinetischer UV-Test	0,83 mmol/l
Creatinin	Jaffe'-Methode ohne Enteiweißung	8,8 $\mu\text{mol/l}$
Bilirubin	Bilirubin DPD, Photometrischer Farbtest	1,71 $\mu\text{mol/l}$
Gesamteiweiß	Biuret-Test	2 g/l
Albumin	Albumin BCG-Methode	2 g/l
D-Laktat	Stereospezifischer Photometrischer Farbtest	0,1 mmol/l
GLDH	UV-Test bei 37°C	1 U/l
AST	AST optimiert, UV-Test bei 37°C	4 U/l
CK	CK NAC, photometrischer UV-Test bei 37°C	2 U/l

Tabelle 11: Haltbarkeit der Serumproben laut Hitachi Produktinfo

Parameter	4 – 8°C	-20°C
Calcium	3 Wochen	8 Monate
Magnesium	7 Tage	1 Jahr
Anorg. Phosphat	24 Stunden	1 Jahr
Harnstoff	7 Tage	1 Jahr
Creatinin	7 Tage	langfristig
Bilirubin		
Gesamteiweiß	3 Tage	6 Monate
Albumin	< 3 Tage	6 Monate
D-Laktat		
GLDH	7 Tage	4 Wochen
AST	7 Tage	
GLDH	7 Tage	4 Wochen
CK	7 Tage	4 Wochen

3.1.2.2 Untersuchungen Transketolase

Für die Messung der Transketolase anhand der Arbeitsvorschrift von HOFFMANN et al. (1971), modifiziert nach CLAUSEN (1976) wurden folgende Reagenzien benötigt und wie folgt hergestellt.

Für die Trispuffer-Stammlösung wurden 48,456 g Trispufferreagenz in 1000 ml Aqua dest. aufgelöst und zur Herstellung der Trispuffer-Lösung für die Analyse 250 ml davon mit 400 ml 0,2 N HCl und 350 ml Aqua dest. verdünnt.

Für die Ribose-Lösung wurden 250 mg mit 46,5 ml Trispuffer verdünnt und sofort in Portionen zu 2,4 ml eingefroren. Diese sind so sechs Monate haltbar (REUTER, 1980).

Zur Herstellung verdünnter Salzsäure wurden 64 ml konzentrierte HCl (37 %) mit Aqua dest. auf 100 ml aufgefüllt. Ebenso wurde eine 100 % Trichloressigsäure auf 10 % verdünnt. Für die Eisen(III)chlorid-Lösung wurden 13 mg FeCl₃-Reagenz mit 2 N HCl auf 100 ml aufgefüllt und für die 6 % Orcin-Lösung 6 g Orcinmonohydrat auf 100 ml mit 96 % Alkohol. Die Thiaminpyrophosphat-Lösung (TPP) bestand aus 100 mg Thiaminpyrophosphatreagenz in 100 ml Trispuffer und war bei Kühlschranktemperaturen ebenfalls sechs Monate haltbar.

Für eine Analyse wurden jeweils sechs Hämolysate und Riboseportionen im Wasserbad aufgetaut. Währenddessen wurde jedes Mal der pH des Trispuffers überprüft und gegebenenfalls auf pH 7,4 eingestellt. Mit 4,5 ml des Trispuffers wurde dann 0,5 l TPP-Lösung gemischt und frische verdünnte TPP hergestellt.

Für die Doppelansätze wurden 36 Reaktionsgefäße beschriftet und wie folgt befüllt.

Tabelle 12: Ansatz der TK-Messung (Angaben in ml)

	Probe A	Probe B	Blindwert
Hämolysat	0,2	0,2	0,2
Trispuffer	0,2	0	0,2
TPP (verd.)	0	0,2	0
Ribose	0,2	0,2	0,2

Der Blindwert wurde sofort mit 0,6 ml 10 % Trichloressigsäure versetzt und die Reaktion dadurch gestoppt. Die Probenansätze A und B wurden bei 37°C für 60 Minuten im Blockthermostat TCR 100 von Roth (Karlsruhe) inkubiert. Danach wurden ebenfalls 0,6 ml 10 % Trichloressigsäure zugesetzt und alle Proben zehn Minuten in einer Hettich Mikro 20 Zentrifuge bei 6000 Umdrehungen zentrifugiert.

0,8 ml des Überstandes wurden in hitzebeständige Reaktionsgefäße pipettiert, mit je 0,4 ml verdünnter HCl versetzt und bei 96°C für 60 Minuten im Blockthermostat inkubiert. Nachdem sie im Wasserbad auf Zimmertemperatur abgekühlt waren, wurde jeder Probe 0,2 ml Eisen(III)chlorid-Lösung und 0,1 ml Orcin-Lösung zugesetzt und diese abermals bei 96°C für fünf Minuten inkubiert. Nach abermaligem Abkühlen auf Zimmertemperatur konnte der Inhalt der Reaktionsgefäße vorsichtig in mit 1,2 ml Ethanol gefüllte Polyröhrchen umgekippt werden. Diese wurden mit einem Stopfen verschlossen und bei Zimmertemperatur stehen gelassen.

Frühestens nach vier Stunden erfolgte die Messung in Plastibrand Einmalküvetten 1,5 halb-micro PS (Abmessung 12,5 X 12,5 x 45 mm) im Dr. Lange Photometer LP700 bei 623 nm. Nach folgender Formel konnte der TPP-Effekt errechnet werden:

$$x = \frac{\text{ExtinktionB}}{\text{ExtinktionA}} - 1$$

3.1.3 Auswertung

3.1.3.1 Sammlung und Aufbereitung der Daten

Die Sammlung der Daten erfolgt analog den im Kapitel 2.1 vorgestellten Anforderungen. Die Ergebnisse werden in einer Excel-Tabelle gesammelt, der Größe nach geordnet und mithilfe des SPSS-Programmes weiter analysiert.

3.1.3.2 Graphische Darstellung

Aus den erhaltenen Daten werden mithilfe des statistischen Datenverarbeitungsprogramms SPSS Histogramme erstellt, die einen ersten Überblick über die Verteilung der Werte geben.

Durch die unterlegte Normalverteilung können erste Vermutungen über die Art der Verteilungen angestellt werden. Ebenfalls kann die Schiefe der Verteilung besehen werden. Die Schiefe einer symmetrischen Verteilung ist Null. Positive Werte zeigen an, dass die Verteilung rechtsschief ist, d.h. der Hauptanteil liegt auf der linken Seite konzentriert, man nennt sie linkssteil, während negative Werte eine linksschiefe Verteilung anzeigen. Ein erster Eindruck von möglichen Ausreißern lässt sich ebenfalls gewinnen.

3.1.3.3 Ausreißerelimination

Ausreißer können bei einer Blutanalyse auf verschiedene Arten entstehen. Schon durch fehlerhafte Blutentnahme, zu langen Transport und falsche Lagerung, aber natürlich auch durch Messfehler und wirklich veränderte Blutproben können Extremwerte vorhanden sein. Zur Vorbeugung von Ausreißern aufgrund technischer Fehler wird von jedem Probanden ausreichend Probenmaterial für Wiederholungsanalysen bei den drei höchsten und drei niedrigsten Werten gewonnen. Unterscheidet sich der wiederholte Wert stark vom ersten, werden beide vor der Berechnung ausgeschlossen. Das weitere Verfahren erfolgt analog zum Punkt Ausreißerelimination in Kapitel 2.1.

3.1.3.4 Test auf Normalverteilung

Mithilfe des SPSS-Programmes wird der Kolmogorov-Smirnov-Test mit einer Signifikanzkorrektur nach Lilliefors durchgeführt. Bei einer gewünschten Signifikanz von 0,05 kann für alle Parameter auf Abweichung von einer bestimmten Verteilung geprüft werden. Getestet wird vor allem auf das Vorliegen der Normalverteilung, aber auch Gleich-, Exponential- und Poissonverteilung werden geprüft.

3.1.3.5 Anwendung der passenden Technik

Parametrische Toleranzintervalle

Für annähernd normalverteilte Parameter wird ein Referenzbereich nach der Form $\bar{x} \pm ks$ erstellt.

Nicht parametrische Perzentilschätzungen

Liegt keine Normalverteilung vor, werden untere Grenze L: $x_{\frac{\alpha}{2}(n+1)}$ und obere Grenze U

$x_{(1-\frac{\alpha}{2})(n+1)}$ berechnet. Dazwischen liegen 95 % der Populationswerte.

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Referenzbereichsbestimmung

3.2.1.1 *Sammlung und Aufbereitung der Daten*

Die Daten wurden wie beschrieben gesammelt, also nur von gesunden Kälbern, die allen vorangestellten Bedingungen genügten. Bewusst wurde auf eine Partition der Daten verzichtet, da die Probenanzahl für statistisch richtige Aussagen über Geschlecht- und Altersabhängigkeiten zu gering ausgefallen wäre (SOLBERG, 1983).

3.2.1.2 *Graphische Darstellung der Daten und ihre Verteilung*

Aus den erhaltenen Daten wurden mithilfe des statistischen Datenverarbeitungsprogramms SPSS (BÜHL und ZÖFEL, 2000) Histogramme erstellt, die einen ersten Überblick über die Verteilung der Werte geben konnten. Durch die unterlegte Normalverteilung war eine erste Vermutung über die vorliegende Verteilung möglich. Ebenfalls konnte die Schiefe der Verteilung beurteilt werden. Graphisch ließ sich somit für die Parameter Albumin und anorg. Phosphat eine Linksschiefe vermuten, die übrigen Parameter schienen rechtsschief. Bi- und Polymodalitäten waren nicht sichtbar. Die Histogramme aller untersuchten Parameter sind im Folgenden dargestellt.

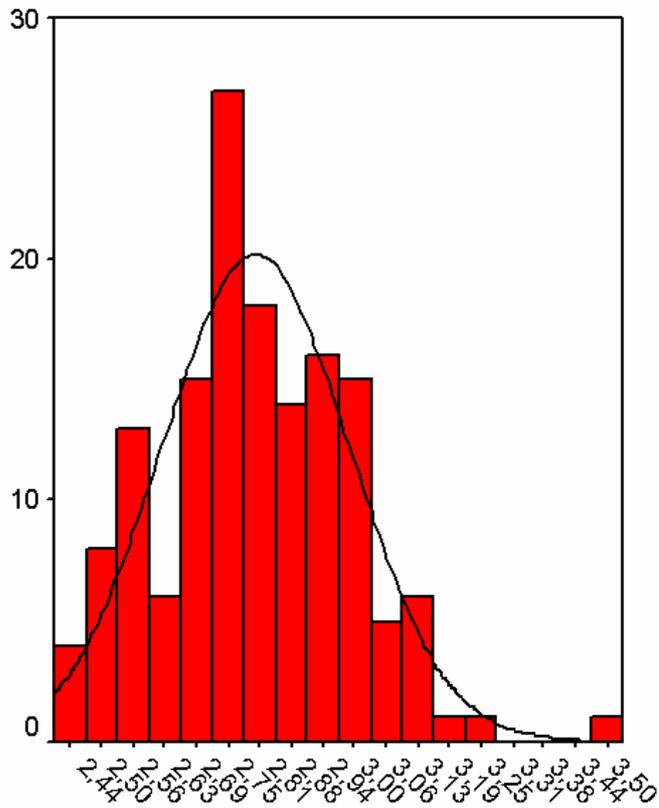


Abbildung 3: Histogramm Calcium

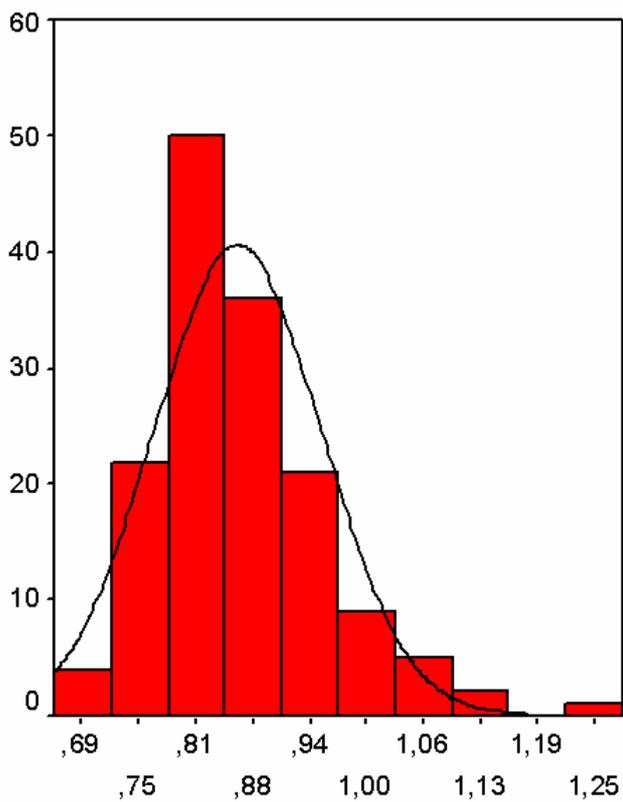


Abbildung 4: Histogramm Magnesium

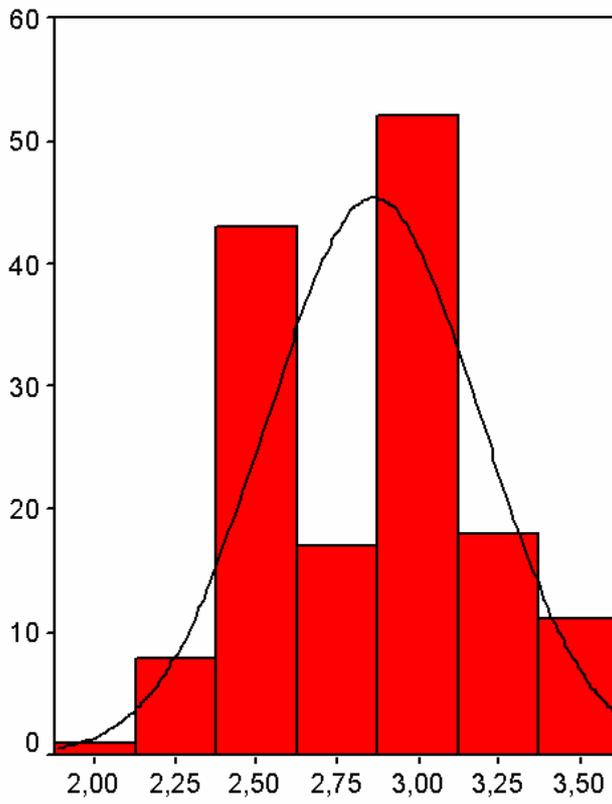


Abbildung 5: Histogramm anorganisches Phosphat

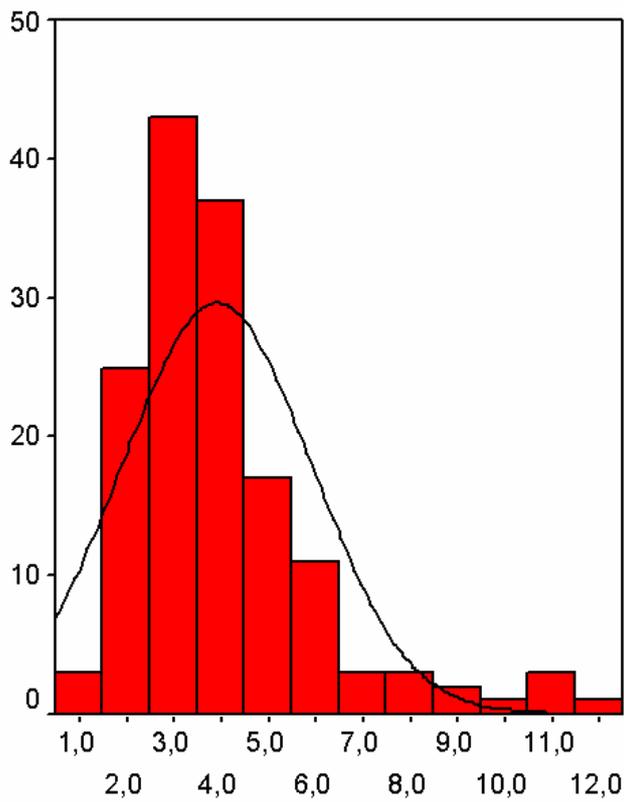


Abbildung 6: Histogramm Harnstoff

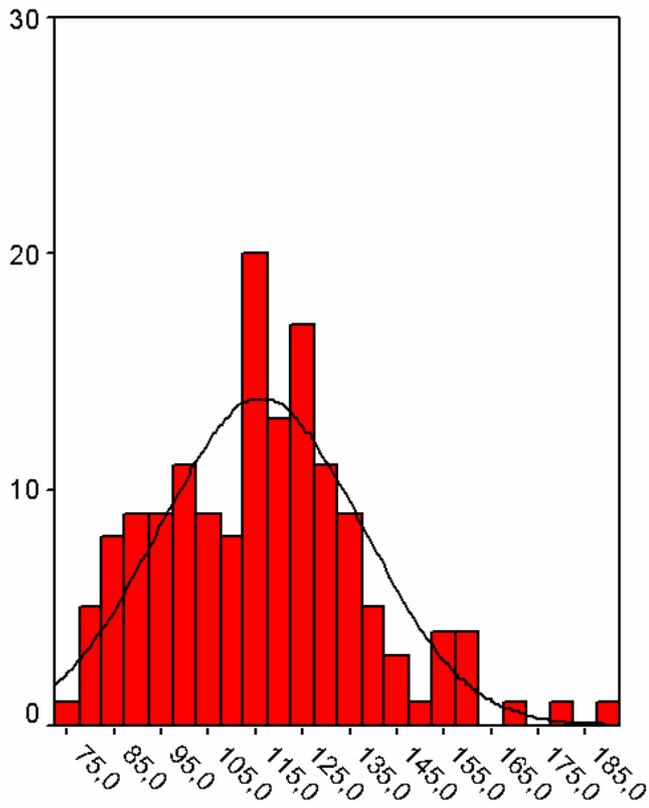


Abbildung 7: Histogramm Creatinin

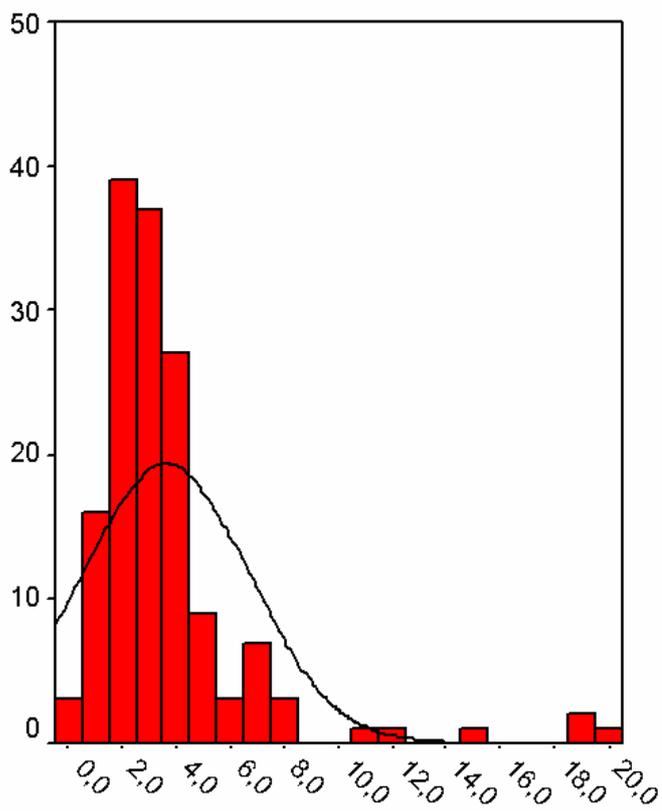


Abbildung 8: Histogramm Bilirubin

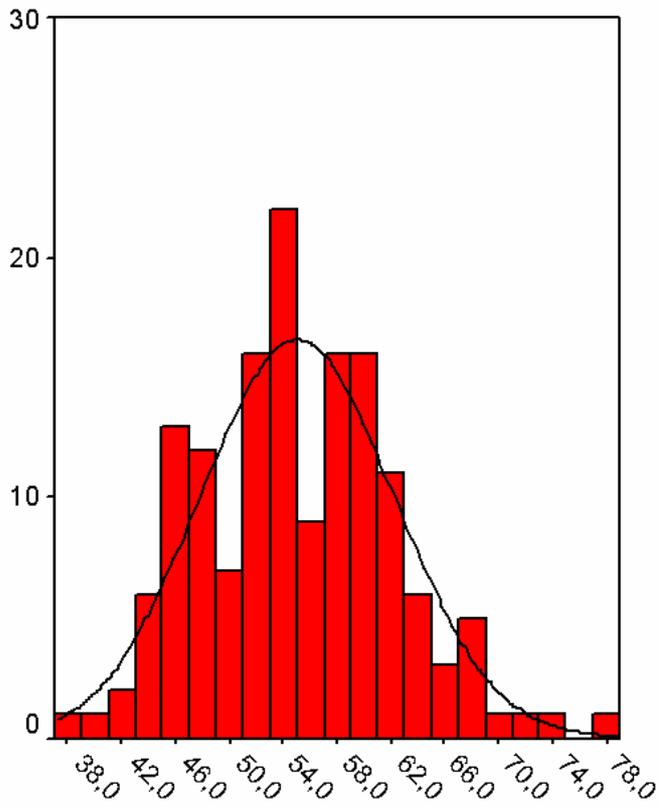


Abbildung 9: Histogramm Gesamteiweiß

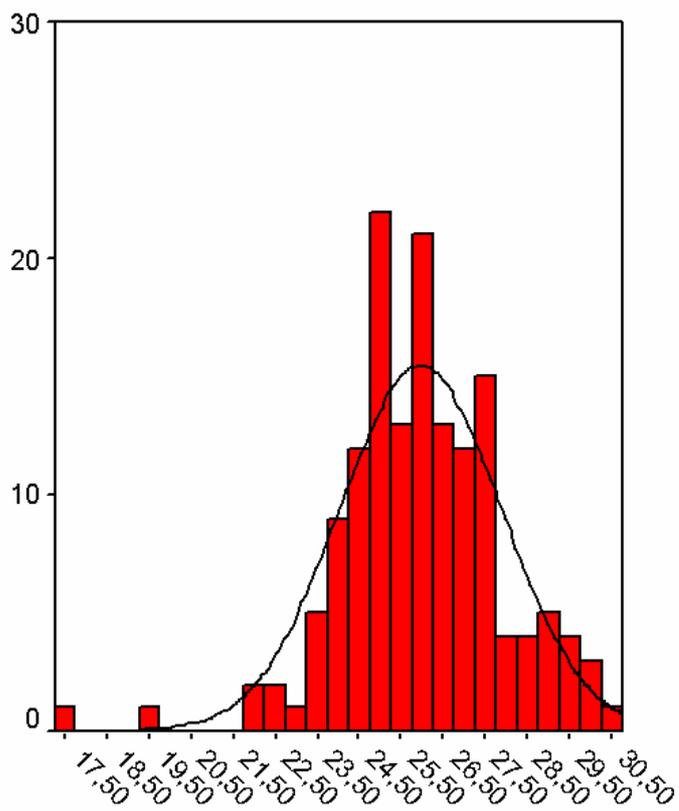


Abbildung 10: Histogramm Albumin

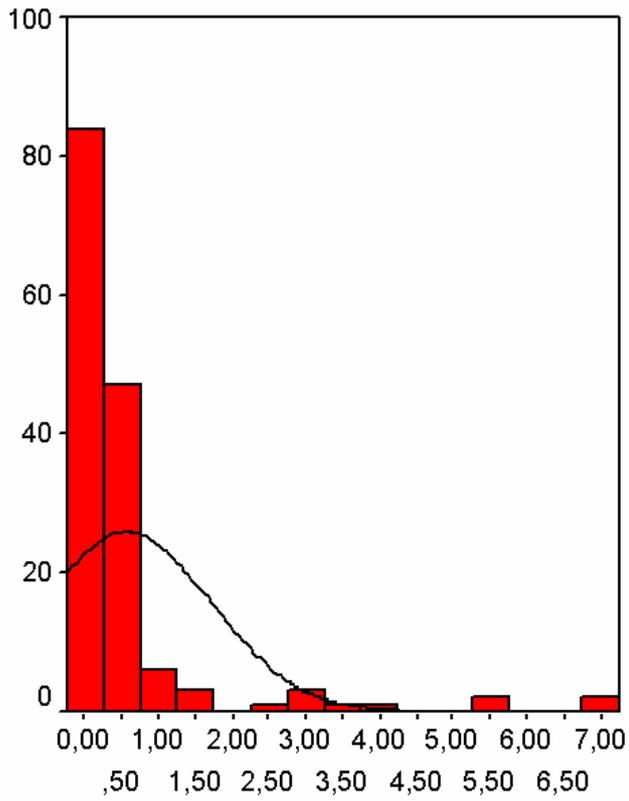


Abbildung 11: Histogramm D-Laktat

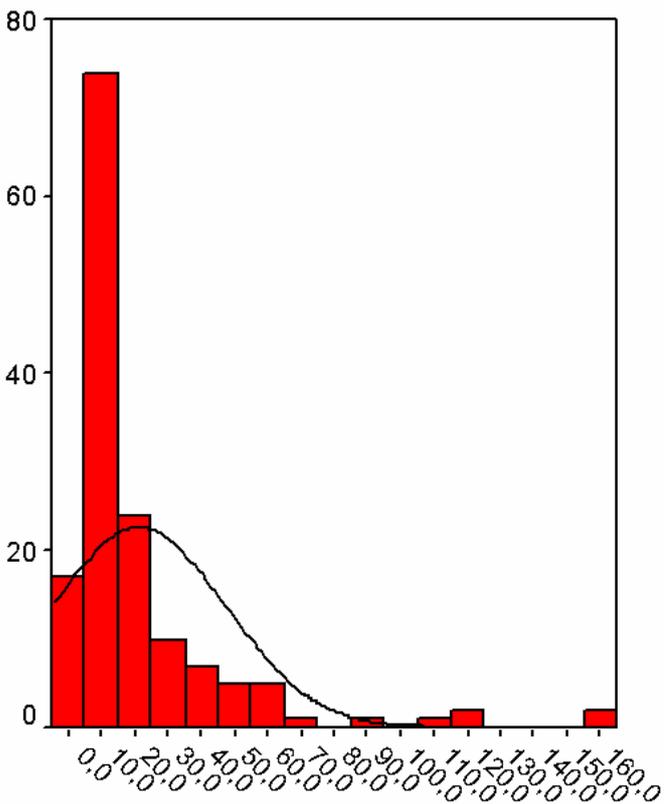


Abbildung 12: Histogramm GLDH

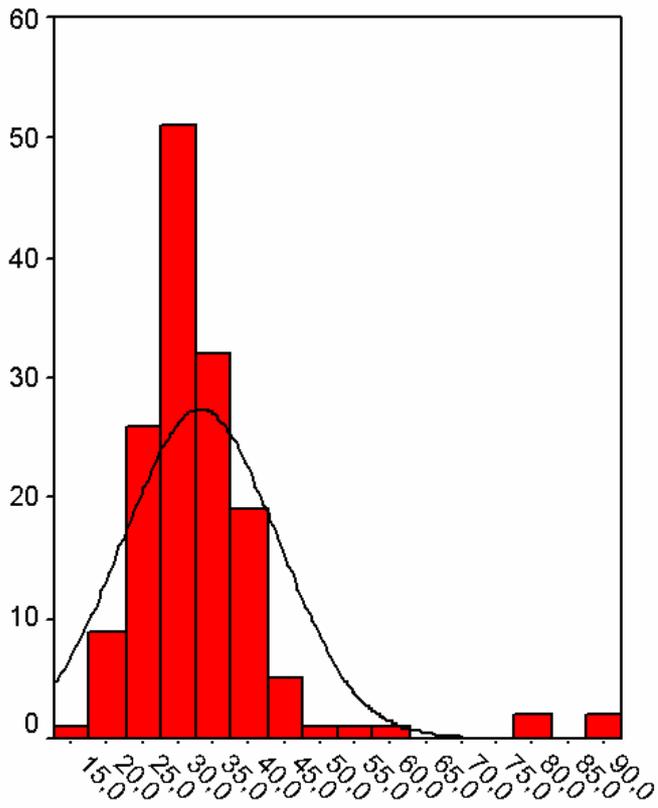


Abbildung 13: Histogramm AST

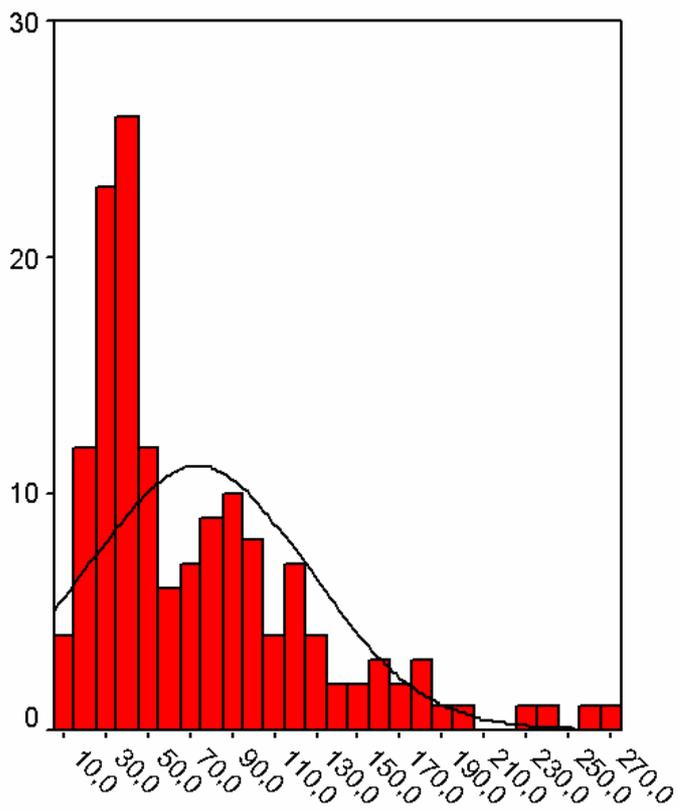


Abbildung 14: Histogramm CK

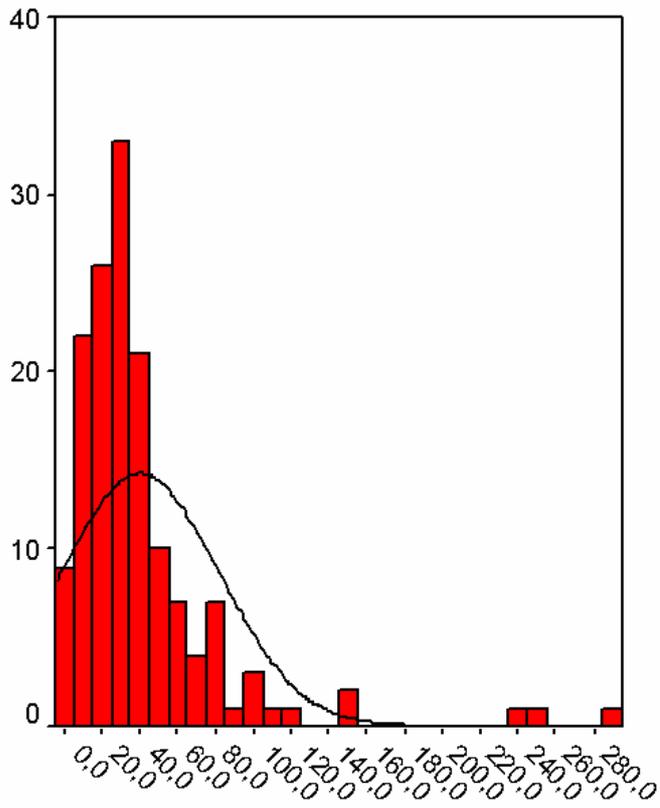


Abbildung 15: Histogramm TPP-Effekt

3.2.1.3 Ausreißerproblem

Nach der graphischen Darstellung wurden alle Parameter nach der Formel von REED et al. (1971) auf vorhandene Ausreißer geprüft.

Tabelle 13: Schiefe und Berechnung der Ausreißer

Parameter	Schiefe	Quotient	Ergebnis
CA	0,26	$(3,48 - 3,26) / (3,48 - 2,43)$	$< \frac{1}{3}$
MG	1,026	$(1,25 - 1,14) / (1,25 - 0,67)$	$< \frac{1}{3}$
PHOS	-0,001	$(2,3 - 2) / (3,5 - 2)$	$< \frac{1}{3}$
HAST	1,805	$(17,8 - 11,8) / (17,8 - 1,1)$	$> \frac{1}{3}$: Wert eliminiert
		$(11,8 - 11,4) / (11,8 - 1,1)$	$< \frac{1}{3}$
CREA	0,542	$(191,24 - 179,45) / (191,24 - 77,25)$	$< \frac{1}{3}$
BILI	3,284	$(19,92 - 19,1) / (19,92 - 0,32)$	$< \frac{1}{3}$
GE	0,294	$(78,6 - 73,6) / (78,6 - 38,7)$	$< \frac{1}{3}$
ALB	-0,547	$(19,5 - 17,4) / (30,6 - 17,4)$	$< \frac{1}{3}$
D-Laktat	4,055	$(7,1 - 7,08) / (7,1 + 0,002)$	$< \frac{1}{3}$
GLDH	3,117	$(303,9 - 158,39) / (303,9 - 1,92)$	$> \frac{1}{3}$: Wert eliminiert
		$(158,39 - 156,64) / (158,39 - 1,92)$	$< \frac{1}{3}$
AST	2,922	$(88,7 - 87,8) / (88,7 - 14,9)$	$< \frac{1}{3}$
CK	1,407	$(274 - 256) / (274 - 12)$	$< \frac{1}{3}$
TK	3,372	$(287,32 - 251,43) / (287,32 - 0)$	$< \frac{1}{3}$

Lediglich bei GLDH und Harnstoff musste jeweils der größte Wert eliminiert werden.

3.2.1.4 Test auf Normalverteilung

Ebenfalls mithilfe des SPSS-Programmes wurde der Kolmogorov-Smirnov-Test mit einer Signifikanzkorrektur nach Lilliefors durchgeführt. Bei einer gewünschten Signifikanz von 0,05 konnte nur für Albumin, Kreatinin, Gesamteiweiß und Calcium eine angenäherte Normalverteilung angenommen werden, die Irrtumswahrscheinlichkeit p der übrigen Parameter lag kleiner als 0,05, sie wichen damit signifikant von der Normalverteilung ab. Die Parameter wurden mithilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests ebenfalls auf das Vorhandensein von Gleich-, Exponential- und Poissonverteilung geprüft. Alle Parameter wichen signifikant von den geprüften Verteilungen ab (BÜHL und ZÖFEL, 2000).

Tabelle 14: Prüfung auf Normalverteilung

	Kolmogorov-Smirnov(a)		
	Statistik	df	Signifikanz
CA	,050	149	,200
MG	,101	149	,001
PHOS	,135	149	,000
HST	,150	149	0,00
CREA	,051	149	,200
BILI	,205	149	,000
GE	,051	149	,200
ALB	,065	149	,200
D-Laktat	,353	149	,000
GLDH	,233	149	,000
AST	,145	149	,000
CK	,168	149	,000
TPP	,190	149	,000

a Signifikanzkorrektur nach Lilliefors

3.2.1.5 Anwendung der passenden Technik

Für Albumin, Kreatinin, Gesamteiweiß und Calcium, die sich als normalverteilt erwiesen, wurde der klassische parametrische Referenzbereich erstellt. Da die Probengröße über 120 lag, konnte für die nicht normalverteilten Parameter mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha = 0,05$ ein 95 % Perzentilbereich geschätzt und für obere und untere Grenze das 0,90 Konfidenzintervall berechnet werden. Für die klinische Anwendung wurden biologisch nicht sinnvolle untere Grenzen für Substrate und Enzyme nicht aufgeführt (KRAFT und DÜRR, 1999).

Tabelle 15: Normalverteilte Parameter

Parameter	$\bar{x} \pm 1.96s$	Standardfehler des Mittelwerts	Klinische. Anwendung
Calcium	2,80 \pm (1,96 x 0,19) mmol/l	0,1450	2,43 – 3,17 mmol/l
Creatinin	116,36 \pm (1,96 x 21,53) μ mol/l	1,69551	\leq 158,56 μ mol/l
Gesamteiweiß	55,01 \pm (1,96 x 7,2) g/l	0,5697	40,9 – 69,12 g/l
Albumin	25,95 \pm (1,96 x 1,93) g/l	0,1557	22,18 – 29,73 g/l

Tabelle 16: Nicht parametrisch verteilte Parameter

Parameter	95 % Perzentil	0,90 Konfidenzintervall	Klinische Anwendung
Magnesium	0,71 – 1,07 mmol/l	0,67 – 0,74 / 1,04 – 1,25	0,71 – 1,07 mmol/l
Anorg. Phosphat	2,3 – 3,5 mmol/l	2 – 2,3 / 4,4 – 3,5	2,3 – 3,5 mmol/l
Harnstoff	1,55 – 10,83 mmol/l	1,1 – 1,8 / 7,9 – 11,8	≤10,83 mmol/l
Bilirubin	0,62 – 15,91 µmol/l	0,32 – 0,91 / 8,17 – 19,32	≤15,91 µmol/l
D-Laktat	0 – 5,47 mmol/l	0 – 0 / 3,2 – 7,1	≤5,47 mmol/l
GLDH	2,3 – 117,05 IU/l	1,92 – 3,27 / 63,92 – 158,39	≤117,05 IU/l
AST	20,09 – 80,08 IU/l	14,9 – 22,1 / 47 – 88,7	≤80,08 IU/L
CK	14 – 236,23 IU/l	12 – 20 / 178 – 274	≤236,23 IU/l
Transketolase	1,83 – 172,65 %	0 – 4,46 / 103,68 – 287,32	≤172,65 %

3.2.2 Qualitätskontrolle

Die Testseren Precinorm U und Precipath U wurden routinemäßig an jedem Morgen analysiert. In keiner Untersuchung konnten Abweichungen oder Beanstandungen festgestellt werden.

4 Diskussion

4.1 Referenzbereichsbestimmung

Alle zufällig ausgewählten Kälber wurden klinisch untersucht und nur bei völliger Übereinstimmung mit den Einschlusskriterien fand eine Blutentnahme statt. Da diese immer im gleichen Zeitraum durchgeführt wurde, konnten tageszeitliche Schwankungen minimiert werden. Die Ablieferung im Labor erfolgte ebenfalls wie geplant nach spätestens vier Stunden. Dort konnten die Proben immer sofort weiterverarbeitet werden. Eine Beeinflussung der resultierenden Werte wurde geringgehalten. Da sowohl die Analyse im Hitachi 911 E Automatic Analyzer, als auch die Durchführung der Transketolase-Analyse immer von den selben Personen unter Anwendung von Qualitätssicherungsmaßnahmen durchgeführt wurden, konnten Fehler bei Präzision und Richtigkeit möglichst vermieden werden (STAMM, 1982).

Die erhaltenen Werte wurden zuerst der Größe nach sortiert. Eine Partition der Werte wurde bewusst nicht durchgeführt, da zum einen die Einschlusskriterien sehr eng definiert wurden (nur eine Rasse, nur bestimmtes Alter), zum anderen die Untergruppen für aussagekräftige statistische Verfahren zu klein geraten wären (SOLBERG, 1983). Mithilfe SPSS wurden die Ergebnisse in Histogrammen graphisch dargestellt. So konnte ein erster Eindruck über Gegebenheiten der Verteilung gewonnen werden. Albumin, Gesamteiweiß, Creatinin und Calcium zeigten dabei auffallende Übereinstimmung mit der unterlegten Normalverteilung, wohingegen Bilirubin und GLDH massiv abwichen. Eine auffällige Linksschiefe zeigten anorganisches Phosphat und Albumin, alle anderen Werte waren rechtsschief. Alle Enzyme zeigten erwartungsgemäß eine Rechtsschiefe. Es wurden vermehrt niedrige Werte gemessen, da die Enzyme im Serum keine Funktion ausüben und nur durch Zellmauserung anfallen (BUDDECKE, 1994).

Eine eindeutige Aussage über Ausreißer konnte nicht getroffen werden, erst im anschließenden Test nach REED et al. (1971) konnten der größte Harnstoff- und GLDH-Wert als Ausreißer identifiziert und eliminiert werden.

Im Kolmogorov-Smirnov-Test mit Signifikanzkorrektur nach Lilliefors konnte für Albumin, Gesamteiweiß, Creatinin und Calcium eine annähernde Normalverteilung nachgewiesen werden. Da BÜHL und ZÖFEL (2000) diesen Test als sehr hart bezeichnen, weil selbst kleine Abweichungen von der Normalverteilung zum Ausschluss der Variablen führen, konnte bei diesen vier Parametern im Folgenden der klassische $x \pm 1,96s$ -Bereich berechnet werden. Bei den übrigen Parametern wäre dessen Anwendung fehlerhaft gewesen und hätte sehr rechtsschiefen Kurven sogar Werte im negativen Bereich geliefert (SACHS, 2002). Auf die

Verwendung von Spannweiten (Ranges) wurde ebenfalls verzichtet, da niemals ideale Patienten von absoluter Gesundheit mit komplett fehlerfreien Messungen beprobt werden können. Die Verwendung von Ranges würde zu viele falsch-negative Ereignisse liefern. Bei den übrigen Parametern konnten nicht parametrische Techniken angewandt werden, da die erforderliche Probenzahl von 120 überschritten wurde (SOLBERG, 1983). Zur Anwendung gelangte die nicht parametrische Perzentilschätzung mit einem Intervall von 95 % und einem Konfidenzintervall über oberer und unterer Grenze von 0,90.

4.2 Referenzbereiche der einzelnen Parameter

Es soll noch einmal darauf hingewiesen werden, dass der Zweck dieser Arbeit nicht war, neue, allgemeingültige Referenzwerte für Kälber zu erstellen, sondern allein für eine bestimmte Altersgruppe (fünf bis vierzehn Tage) einer definierten Rasse (DFV) die momentan in der Routinediagnostik angewandten bestehenden Werte kritisch auf ihre Gültigkeit zu hinterfragen, Werte der Literatur zu beleuchten und gegebenenfalls sich als fehlerhaft herausstellende Werte durch neue, nach klaren Regeln erstellte zu ersetzen. Allein diese definierte Erstellungsweise erwies sich bei den meisten Studien als Problem, denn keine der im Literaturteil aufgeführten Werke konnte sich in allen Punkten an den von SOLBERG (1987) aufgestellten Kriterien messen lassen. Wirkliche Vergleiche mit der vorliegenden Arbeit fielen aus mehreren Gründen schwer. Zum einen wurden in den meisten Studien keine Referenzbereiche erstellt, die genannten Werte wurden immer an bestimmten Tagen einer Verlaufsuntersuchung über einen längeren Zeitpunkt gemessen und deckten sich nur mit dem hier relevanten Zeitraum von fünf bis vierzehn Tagen. Wurden wirklich Normal- oder Referenzwerte erstellt, zeigt allein die Benutzung dieser Begriffe, dass ohne ausreichende statistische Überlegungen meist eine Standardnormalverteilung vorausgesetzt und der Referenzbereich aus arithmetischem Mittel und Standardabweichung berechnet wurde. Dies führte zu zum Teil befremdlichen Resultaten, wie in der Arbeit von TÜRKÖZKAN et al. (1985), die für Magnesium negative Werte erhoben.

Auch Alter und Rasse der Kälber deckten sich in den meisten Fällen nicht mit dem in der Klinik hauptsächlich bedienten Klientel.

Viel schwerer wiegt aus statistischer Sicht allerdings die oft zu geringe Probenzahl, die ein sicheres Errechnen oder Schätzen von Referenzbereichen bei nicht parametrischen Verteilungen verbietet (SOLBERG, 1983). Ebenso liefert gerade auch eine Normalverteilung erst für große Stichproben hinreichend sichere Referenzbereiche (SACHS, 2002).

4.2.1 Elektrolyte

4.2.1.1 Calcium

Der Referenzbereich für Calcium wurde als $x \pm 1,96s$ berechnet und erstreckte sich von 2,43 - 3,17 mmol/l. Er liegt damit über dem bisher an der Klinik benutzten Wert, ebenso wie über dem nicht altersspezifischen von KRAFT (1999). Auch die Werte von BOSTEDT und SCHRAMEL (1982), ebenfalls an DFV-Kälbern erstellt, bleiben deutlich niedriger.

Eine mögliche Erhöhung durch den Transport kann nahezu ausgeschlossen werden, da laut Hitachi Produkt Info Calcium bei 4 - 8°C drei Wochen haltbar ist. Eine Erhöhung durch Calciumaustritt aus den Erythrozyten infolge Hämolyse wurde durch schonenden Transport und Lagerung minimiert. Weitere Gründe für eine Hypercalcämie, wie Neoplasien und Hyperparathyreoidismus können bei so jungen Tieren ausgeschlossen werden, eher kommen kolostrale Tränkung vor kurzer Zeit und eine leichte Azidose in Frage. Eine Azidose stellt sich allerdings als unwahrscheinlich dar, da alle Kälber den Einschlusskriterien genügten, also munter und lebhaft waren und laut Vorbereicht stets gut getrunken haben. Insgesamt ist der Referenzbereich höher als in der ausgewerteten Literatur, was sowohl an Rasseunterschieden, als auch an anderen Analysemethoden liegen kann. Aus diesen Gründen sollte der errechnete Referenzbereich für fünf bis vierzehn Tage alte DFV-Kälber in die Routinediagnostik eingeführt werden.

4.2.1.2 Magnesium

Der gefundene Referenzbereich liegt bei 0,71 - 1,07 mmol/l und wurde als 95 % Perzentil, also anhand einer nichtparametrischen Methode errechnet, mit einem 0,90 Konfidenzintervall über oberer (0,67 - 0,74) und unterer Grenze (1,04 - 1,25). Die untere Grenze deckt sich mit dem bisher in der Klinik verwendeten Referenzbereich, die obere ist stark erniedrigt, deckt sich aber gut mit Werten aus der Literatur, die allerdings meist aus Verlaufsuntersuchungen stammen. Gerade an Werten von TÜRKÖZKAN et al. (1985) kann gut verdeutlicht werden, was für offensichtlich falsche Werte die unkritische Benutzung der Normalverteilung hervorbringt ($0,67 \pm 1,90$ mmol/l). Trotz verwendeter nicht parametrischer Methoden, die durch eine Orientierung an den Randwerten einen Referenzbereich oft breiter erscheinen lassen, ist der Referenzbereich hier deutlich enger als erwartet. Ein Einfluss von Transport und Lagerung kann ausgeschlossen werden, da laut Hitachi Produkt Info Magnesiumproben bei 4 - 8°C sieben Tage ohne Einbußen gelagert werden können. In Zukunft kann die Verwendung des hier ermittelten Bereiches angeregt werden.

4.2.1.3 *anorganisches Phosphat*

PHOS wurde mithilfe eines 95 % Perzentils erstellt. Sein Referenzbereich lag bei 2,3 - 3,5 mmol/l. Das 0,90 Konfidenzintervall lag über der oberen Grenze bei 2 - 2,3 und der unteren bei 4,4 - 3,5 mmol/l. Der Bereich befindet sich damit über dem bisher in der Klinik benutzten (2 - 3 mmol/l), über dessen Erstellung allerdings keine Angaben vorliegen. So sind bei ganz jungen Tieren vielfältige Einflussfaktoren beteiligt. Junge Tiere haben nahezu doppelt so viele Erythrozyten wie Rinder, außerdem wird in den ersten Lebenstagen durch einen physiologischen Erythrozytenzerfall PHOS freigesetzt (STÖCKL et al.; 1965). Durch Kolostrum und Milch wird außerdem so viel PHOS zugeführt (BRAUN et al., 1983), dass trotz guter Nierenkapazität nicht alles PHOS eliminiert werden kann (MCMURRAY et al., 1978). So haben im Wachstum befindliche Jungtiere immer physiologisch höhere Werte für anorganisches Phosphat. Schließlich kann auch eine unsachgemäße Behandlung des Blutes, vor allem längeres Stehen lassen durch Übertritt von PHOS aus den Erythrozyten ins Serum einen zu hohen Wert vorgaukeln (KRAFT, 1999). Da der Transport mit größtmöglicher Sorgfalt erfolgte und die Proben sofort weiterverarbeitet wurden, sollte der bisher eingesetzte Referenzbereich ersetzt werden.

4.2.2 Substrate

4.2.2.1 *Harnstoff*

Harnstoff wurde mithilfe eines 95 % Perzentils mit 0,90 Konfidenzintervall (obere Grenze 7,9 - 11,8 mmol/l) berechnet und lag bei $\leq 10,83$ mmol/l. Der Referenzbereich liegt deutlich höher als der in Klinik benutzte von $\leq 5,5$ mmol/l und der von KRAFT und DÜRR (1999c) (3,3 - 6,7 mmol/l) sowie die in der Literatur angegebenen Bereiche. Eine spezifische Erhöhung (Nephropathie, postrenale Azotämie) kann bei jungen Tieren verneint werden, es kann sich also nur um eine unspezifische handeln. Medikamentelle Behandlung, Dehydratation, Fieber und schwere körperliche Belastungen (KRAFT und DÜRR, 1999c) können ausgeschlossen werden. Da die Niere in diesem Alter voll funktionsfähig ist (KLEE et al., 1985), könnte die Erhöhung nahrungsabhängig sein und auf kurz zurückliegende Tränkung hindeuten. Dagegen spricht der Zeitpunkt der Blutentnahme zwischen 10 und 13 Uhr und die gleichzeitig ebenfalls höheren Werte für Creatinin. Als der wahrscheinlichste Grund sind damit Unterschiede in Analysemethoden, Probandenwahl (SCHULTE-LANGFORTH, 1990)

und Statistik auszumachen. Deswegen sollte der im Rahmen dieser Arbeit ermittelte Referenzbereich für DFV-Kälber im Alter von fünf bis vierzehn Tagen angewendet werden.

4.2.2.2 *Creatinin*

Die Werte für Creatinin folgten der Normalverteilung, deswegen wurde der Referenzbereich bis 158,56 $\mu\text{mol/l}$ nach der Formel $x \pm 1,96s$ berechnet. Creatinin ist nicht nahrungsabhängig und auch medikamentelle Behandlung, Fieber, Dehydratation (KRAFT und DÜRR, 1999c) und eingeschränkte Nierenfunktion (KLEE et al., 1985) scheiden als Grund für eine im Vergleich zu Klinik ($\leq 110 \mu\text{mol/l}$) und Literatur höhere obere Grenze aus. Hämolytische Proben wurden von der Untersuchung ausgeschlossen. Ebenso wie beim Harnstoff ist der Grund für eine höhere Obergrenze in Rasseunterschieden (SCHULTE-LANGFORTH, 1990) und differierenden Analysemethoden zu suchen. So sollte auch der Referenzbereich für Creatinin in der Klinik angepasst werden.

4.2.2.3 *Bilirubin*

Die Werte für Bilirubin folgen nicht der Normalverteilung, also wurde ein 95 % Perzentil mit einem Konfidenzintervall über der oberen Grenze (8,17 - 19,32 $\mu\text{mol/l}$) von 0,90 geschätzt. Die obere Grenze des Referenzbereichs ($\leq 15,91 \mu\text{mol/l}$) liegt fast doppelt so hoch, wie beim bisher in der Klinik eingesetzten Wert und dreimal so hoch wie bei dem von KRAFT und DÜRR (1999a) propagierten. Auch die restlichen Literaturangaben bleiben weit darunter. Bis auf eventuell in der klinischen Untersuchung unentdeckte angeborene Hepatopathien können Leberschäden bei so jungen Tieren vernachlässigt werden. Erhöhungen durch Durchfall oder Fieber sind ebenfalls auszuschließen. Die Erhöhung liegt auch nicht in einer Hämolyse begründet, da hämolytische Blutproben vor der Untersuchung verworfen wurden. Auch hier kommen vor allem statistische und analytische Unterschiede in Betracht. So sollten die höheren Referenzgrenzen in Zukunft für die an der Klinik untersuchten DFV-Kälber zwischen fünf und vierzehn Tagen herangezogen werden.

4.2.2.4 *Gesamteiweiß*

Der Referenzbereich des normalverteilten Gesamteiweiß konnte als $x \pm 1,96s$ -Bereich berechnet werden und lag zwischen 40,9 - 69,12 g/l. Verglichen mit den aus der Literatur bekannten Werten erweist er sich als relativ breit. Bemerkenswert sind vor allem starke interindividuelle Unterschiede bei klinisch gesunden Kälbern, die sich wohl am ehesten über

die verschiedenen Tränkeregime der einzelnen Betriebe erklären lassen. Ähnliches berichten auch STEINHARDT und THIELSCHER im Vergleich von Kälbern aus Mutterkuhhaltung (2000a) zu konventionell getränkten Kälbern (2000b). In Betrieben mit niedrigen GE-Werten sollte verstärkt auf die Vorteile mehrfacher Tränkung hingewiesen werden. Gerade wegen dieser Unterschiede in den heimatlichen Betrieben sollte auch dieser Referenzbereich für die Klinik adaptiert werden.

4.2.2.5 *Albumin*

Nach der Formel $x \pm 1,96s$ wurde beim normalverteilten Albumin ein Referenzbereich von 22,18 - 29,73 g/l errechnet. Dieser liegt komplett unter dem bisher in der Klinik eingesetzten Referenzbereich (30 - 40 g/l), wie auch dem von KRAFT und DÜRR (1999b) (35 - 42 g/l). Bis auf die Werte von DONNER (1999) liegen auch alle Ergebnisse der übrigen Autoren darüber. Die Gründe hierfür sind ebenfalls in der Tränkung zu suchen. So können KURZ und WILLET (1991) feststellen, dass Kälber mit Kolostralmilchaufnahme innerhalb sechs Stunden p.n. während der ersten Lebensstage höhere Albuminwerte aufweisen, als Tiere einer Vergleichsgruppe, die ihr Kolostrum erst fünfzehn Stunden p.n. bekamen. In diesem Fall können aber auch unterschiedliche Analysemethoden und Alter der Probanden einen größeren Einflussfaktor darstellen, Rasseunterschiede liegen laut DONNER (1999) nicht vor. Der in dieser Arbeit erstellte Referenzbereich sollte aufgrund der großen Diskrepanz zu den in der Literatur erwähnten Referenzwerten unbedingt für DFV-Kälber von fünf bis vierzehn Tagen angewendet werden.

4.2.2.6 *D-Laktat*

Für das D-Laktat konnte mithilfe der parametrischen Perzentilschätzung ein Referenzbereich bis 5,47 mmol/l angegeben werden. Die 0,90 Konfidenzgrenzen über dem oberen Limit lagen bei 3,2 - 7,1 mmol/l. Damit wird der bisher benutzte Wert (bis 2,2 mmol/l) deutlich überschritten. Auch der von DEMIGNÉ und RÉMÉSY (1979) für gesunde Kälber festgestellte Bereich liegt deutlich niedriger. Der beschriebene Bereich für Durchfallkälber ($6,8 \pm 1,4$ mmol/l) liegt geringfügig höher. Es scheinen also auch in gesunden Kälbern immer eine gewisse Menge D-Laktat produzierende Bakterien im Magen-Darm-Trakt physiologisch zur Normalflora zu gehören. Der hier ermittelte Referenzbereich sollte für die Routinediagnostik adaptiert werden.

4.2.3 Serumenzyme

4.2.3.1 *GLDH*

Schon aus der graphischen Darstellung konnte eine deutliche Abweichung von der Normalverteilung ersehen werden, deswegen wurde auch hier auf nicht parametrische Methoden zurückgegriffen. Das 95 % Perzentil ergab einen Referenzbereich bis 117,05 IU/l, das 0,90 Konfidenzintervall über der oberen Grenze erstreckte sich von 63,92 - 158,39 IU/l. Der geschätzte Referenzbereich liegt deutlich höher als Angaben aus der Literatur. Diese Diskrepanz kann nicht mit der seit 5.12.2002 nach internationalen Richtlinien für Laborarbeit bei 37°C umgestellten Messung erklärt werden. Dividiert man die beschriebenen Werte durch den angegebenen Faktor 0,62, sind die Resultate immer noch ein Zehntel des hier erhaltenen Bereiches. Der ebenfalls deutlich niedrigere Referenzbereich der Klinik wurde hingegen auch bei 37°C erstellt. Die Gründe für diese massive Abweichung sind vor allem in der Annahme einer Normalverteilung bei allen Vergleichsstudien und in abweichenden Analysemethoden zu sehen. Aus diesem Grund sollte der bestehende Referenzwert ebenfalls ersetzt werden.

4.2.3.2 *AST*

Die AST erwies sich als deutlich nicht normalverteilt, ihr Referenzintervall (95 % Perzentil) reichte bis 80,08 IU/l. Das 0,90 Konfidenzintervall über der oberen Grenze erstreckte sich von 47 - 88,7 IU/l. Der errechnete Referenzbereich deckt sich absolut mit dem in der Klinik benutzten und dem von KRAFT und DÜRR (1999a) beschriebenen, die beide bis 80 IU/l angeben. Teilt man die Werte der Literatur durch 0,49 und bezieht damit die Messumstellung des Hitachi Automatic Analyzer 911 (ab 5.12.2002 nicht mehr bei 25°C, sondern bei 37°C gemessen) mit ein, so liegen alle Studien außer der von BOSTEDT (1983), der ebenfalls an DFV-Kälbern mit bis 116 IU/l deutlich höhere Werte beschreibt, weit darunter. Die Studie von FISCHER und BUTTE (1974) an 38 SB-Kälbern bis 14 Tagen liefert auf den ersten Blick vergleichbare Werte, hat allerdings deutliche statistische Fehler (Referenzbereich $38,02 \pm 50,35$ IU/l).

4.2.3.3 *CK*

Für die CK wurde ein Referenzbereich bis 236,23 IU/l als 95 % Perzentil geschätzt. Das 0,90 Konfidenzintervall über der oberen Grenze lag bei 178 - 274 IU/l. Seit 5.12.2002 erfolgt die Messung nach internationalen Richtlinien für Laborarbeit bei 37°C, alte Werte müssen zum Vergleich durch den Faktor 0,41 dividiert werden. Trotzdem ist der erhaltene Bereich sieben-

mal höher als die Literaturwerte. Diese Abweichung kann über differierende Analysemethoden, ebenso wie über die mangelnde Stabilität des Enzyms erklärt werden, das nach DOTTA und ROBUTTI (1972) schon nach 24 Stunden 40 % seiner Aktivität verliert. Nach Angaben in der Hitachi-Anleitung ist es allerdings bei Temperaturen zwischen 2 und 8°C sieben Tage haltbar. Da der bisher eingesetzte Referenzbereich bis 245 IU/l kaum von dem hier bestimmten abweicht, kann von einer Änderung abgesehen werden.

4.2.4 Transketolase

Bei der Transketolase erstreckte sich der nicht parametrisch ermittelte Referenzbereich für den TPP-Effekt bis 172,83 % (0,90 Konfidenzintervall für die obere Grenze: 103,68 - 287,32 %). Damit liegt er 400 % höher als bei REHM et al. (1971), CLAUSEN (1977) und TANWAR (1994), die aber alle erst Tiere über 3 Monaten untersucht haben und dem in der Klinik benutzten Wert von 50 %. Im Vergleich zu BOGIN et al. (1985) ist er sogar fast 600 % höher. Allerdings sind dessen Versuche an Jungrindern in Südafrika durchgeführt worden und mit hiesigen Verhältnissen nicht zu vergleichen. Eine deutliche Abgrenzung zu durchfallkranken Kälbern, wie erhofft, kann nicht gezeigt werden, vielmehr sind hohe TPP-Effekte und damit eine niedrigere Thiaminversorgung bei Kälbern weiter verbreitet als bisher angenommen. Es sollte geklärt werden, ob es sich hierbei wirklich um einen Mangel handelt, oder Werte für Tiere in den ersten Lebenswochen physiologischerweise deutlich von denen erwachsener abweichen, ohne von Mangelerscheinungen begleitet zu sein.

Für die Zukunft könnte eine automatisierte und schnellere Analysemethode die routinemäßige Transketolase-Bestimmung deutlich vereinfachen und bei geringerem Aufwand die Präzision und Richtigkeit erhöhen. Selbstverständlich müsste auch für dieses Verfahren ein neuer Referenzbereich berechnet werden.

5 Zusammenfassung

Pöoler, Nicole (2004): **Referenzbereiche für die klinische Chemie und das Enzym Transketolase bei fünf bis vierzehn Tage alten Fleckviehkälbern.**

In einem Zeitraum von vier Monaten wurden DFV-Kälber aus 48 landwirtschaftlichen Familienbetrieben in Oberbayern klinisch untersucht und von 150 Tieren Blut genommen. Die beprobten Tiere waren noch nie medikamentell behandelt worden (weder vom Tierarzt noch vom Besitzer), erfüllten genau festgelegte Anforderungen für die Definition gesund, waren zum Zeitpunkt der Probenahme zwischen fünf und vierzehn Tagen alt und wurden zufällig ausgewählt. Nach einer möglichst schonenden Blutentnahme wurde das Blut bei 4 - 8°C gelagert und nach spätestens vier Stunden im Labor analysiert. Die Serumwerte wurden im Hitachi 911 Automatic Analyzer, die Transketolase nach einer Arbeitsvorschrift von HOFFMANN et al. (1971), modifiziert nach CLAUSEN (1976) untersucht. Für weitere Analysen wurden überschüssige Proben bei -25°C eingefroren. Eine Qualitätskontrolle wurde routinemäßig durchgeführt. Mithilfe des SPSS-Programmes wurden die Werte erst der Größe nach geordnet, graphisch dargestellt und auf Ausreißer überprüft. Echte Ausreißer wurden eliminiert, die drei höchsten und niedrigsten Werte erneut untersucht. Mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test mit Signifikanzkorrektur nach Lilliefors wurde auf das Vorliegen einer Normalverteilung geprüft, dabei erwiesen sich Calcium, Creatinin, Gesamteiweiß und Creatinin als normalverteilt. Für diese Parameter wurde ein $\bar{x} \pm 1,96s$ -Referenzbereich erstellt. Die Referenzbereiche der anderen Parameter wurden als 95 % Perzentil mit einem 0,90 Konfidenzintervall geschätzt. Die ermittelten Referenzbereiche decken sich für AST ($\leq 80,08$ IU/l) und CK (≤ 236 IU/l) komplett mit Werten aus der Literatur. Bei Harnstoff ($\leq 10,83$ mmol/l), Creatinin ($\leq 158,56$ μ mol/l), Bilirubin ($\leq 15,91$ μ mol/l), GLDH ($\leq 117,05$ IU/l), D-Laktat ($\leq 5,47$ mmol/l), TPP-Effekt ($\leq 172,65$ %) liegen die Referenzbereiche deutlich über den in der Klinik verwendeten, wie auch den aus der Literatur bekannten. Die Ursache liegt vor allem in neueren Analysemethoden, Rasseunterschieden und der Verwendung nicht parametrischer Methoden begründet. Der Referenzbereich für Gesamteiweiß (40,9 - 69,12 g/l) ist deutlich breiter, der von Albumin (22,18 - 29,73 g/l) deutlich kleiner als in der Literatur angegeben. Bei beiden Parametern fallen große interindividuelle Schwankungen ins Auge, die sich durch unterschiedliche Tränkeregime erklären. Magnesium (0,71 - 1,07 mmol/l) zeigt ebenfalls einen engeren Referenzbereich. Die neu erstellten Referenzbereiche für anorganisches Phosphat (2,3 - 3,5 mmol/l) und Calcium

(2,43 - 3,17 mmol/l) überschneiden sich mit den in der Klinik verwendeten Werten und den Literaturangaben.

Da bisher noch keine statistisch aussagekräftigen Referenzintervalle für DFV-Kälber zwischen fünf und vierzehn Tagen für die speziellen Analysemethoden der Klinik für Wiederkäuer der LMU München existieren, sollten die hier erstellten in Zukunft für die Routinediagnostik eingesetzt werden.

6 Summary

Pöhler, Nicole (2004): **Reference intervals for the Clinical Chemistry and the Enzyme Transketolase for five to fourteen days old Simmental Calves.**

Within the period of four months 150 Simmental calves from 48 dairy farms were examined clinically and blood samples were taken. The tested animals had never been treated, neither by a veterinarian nor by their owners. They met the chosen definition of health, were five to fourteen days old and were selected in a randomised way. Blood samples were immediately stored at four to eight degrees centigrade and were analysed in the laboratory within four hours. Serum values were analysed using a Hitachi 911 Automatic Analyzer, transketolase activity (and TPP-effect) with a modified method by HOFFMANN et al. (1971) modified by CLAUSEN (1976). For further analysis excess samples were frozen at -25 degrees centigrade.

Using the SPSS-program the values were ranked, displayed graphically, and checked for outliers. True outliers were eliminated, the three highest and lowest values were tested again. Using the Kolmogorov-Smirnov-test with a significance correction by Lilliefors a Gaussian distribution was found for calcium, creatinine, total proteine and albumin. For these parameters reference intervals were calculated as mean \pm 1.96 standard deviations. The other reference intervals were calculated as 95 percentils (nonparametric percentile estimation) with a 0,90 confidence interval on both sides.

The reference interval found for AST (≤ 80.08 IU/L) and CK (≤ 236 IU/L) are similar to those found in the literature. For urea (≤ 10.83 mmol/l), creatinine (≤ 158.56 μ mol/l), bilirubine (≤ 15.91 μ mol/l), GLDH (≤ 117.05 IU/l), D-lactate (≤ 5.47 mmol/l) and the TPP-effect ($\leq 172.65\%$) the upper limits of the reference intervals are much higher than those used in the Clinic for Ruminants of the University of Munich.

This could be due to new analysing methods, breed differences and the use of nonparametric methods in this study. The reference interval for total protein (40.9 – 69.12 g/l) is wider, and for albumin (22.18 – 29.73) narrower than given in the literature. Both parameters show great interindividual differences, possibly caused by differences in feeding regimes. Magnesium (0.71 – 1.07 mmol/l) shows a very narrow reference interval, as well. The here calculated reference intervals for inorganic phosphorus (2.3 – 3.5 mmol/l) and calcium (2.43 – 3.17 mmol/l) overlap those used in the clinic and those reported in the literature.

Conclusion: The reference intervals calculated in this study should be used for routine diagnostics in Simmental calves aged from five to fourteen days in the future.

7 Literaturverzeichnis

Aeikens, T. (1976): Untersuchungen über den Gammaglobulingehalt im Blutserum neugeborener Kälber in den ersten drei Lebenstagen während der Monate Dezember bis April. Diss. Med. Vet., Hannover.

Agnes, F., P. Sartorelli, M.C. Bisso, S. Dominoni (1993): Ionized Calcium in Calf Serum: Relation to Total Serum Calcium, Albumin, Total Protein and pH. J. Vet. Med. A 40, 605 - 608.

Bauer, C. (2001): Blut: Ein flüssiges Organsystem; in Klinke, R., S. Silbernagel (Hrsg.), Lehrbuch der Physiologie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart und New York.

Baumgartner, W., G. Schlerka, W. Petschenig (1980): Untersuchungen über die Blutgase, den Säure-Basen-Haushalt, Elektrolytgehalt, einige Enzyme und Inhaltsstoffe im Blut neugeborener Kälber (II. Mitteilung: Elektrolytgehalte, Enzymaktivitäten und Gehalt an Gesamtbilirubin). Dtsch. Tierärztl. Wschr. 87, 18 - 20.

Benson, E.S. (1972): The concept of the normal range. Hum. Pathol. 3, 152 - 155.

Bethke, G., S. Changbumrung, W. Feldheim (1973): Eine Mikromethode zur Bestimmung der erythrozytären Transketolase-Aktivität. Internat. Z. Vit. Ern. Forsch. 48, 426 - 437.

Birgel, E.H. (1972): Hämatologische Untersuchungen bei Kälbern der Rasse „Deutsches Schwarzbuntes Rind“ in den ersten 14 Lebenstagen. Diss. Med. Vet., Hannover.

Boehncke, E., A. Langner, F. Weissmann (1981): Zum Phosphat- und Natriumstoffwechsel bei Aufzuchtkälbern. Zbl. Vet. Med. A. 28, 357 - 365.

Bogin, E., S. Soback, A. Immelman (1985): Transketolase Activity in the Blood of Cattle and Sheep in Relation to Thiamine Deficiency. Zbl. Vet. Med. A. 32, 135 - 139.

Bostedt, H. (1983): Vergleichende Untersuchung über die Entwicklung des Enzymprofils im Blut von Kälbern und Lämmern in der neonatalen Adaptationsperiode. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 96, 432 - 438.

Bostedt, H., P. Schramel (1982): Zur Dynamik der Blutserumkonzentration von Kalzium und Magnesium sowie der Spurenelemente Eisen, Kupfer und Zink in den ersten Lebenswochen des Kalbes. Tierärztl. Umsch. 7, 471 - 476.

Boyd, J.W. (1989): Relationships between acid-base balance, serum composition and colostrum absorption in newborn calves. Br. Vet. J. 145, 249 - 256.

Braun, J.-P., D. Tainturier, P. Bezille, A.G. Rico, J.P. Thouvenot (1983): Blood Biochemistry in Newborn Calf, Foal and Goat During the First Two Weeks of Life. Clin. Chem. 29 (6), 1210.

Brin, M. (1970): Red cell transketolase as an indicator of nutritional deficiency. Am. J. Clin. Nutr. 33, 169 - 171.

Brin, M., M.Tai, A.S. Ostashever, H. Kalinsky (1960): The Effect of Thiamine Deficiency on the Activity of Erythrocyte Hemolysate Transketolase. J. Nutr. 71, 273 - 281.

Brin, M., S.S. Sohet, C.S. Davidson (1958): Effect of thiamine deficiency on the glucose oxidative pathway of rat erythrocytes. Ibid., 230: 319.

Buddecke, E. (1992): Pathophysiologie, Pathobiochemie, klinische Chemie, Verlag Walter De Gruyter, Berlin, New York.

Buddecke, E. (1994): Grundriss der Biochemie, Verlag Walter De Gruyter, Berlin, New York.

Bühl, A., P Zöfel (2000): SPSS Version 10. Einführung in die moderne Datenanalyse unter Windows. Addison Wesley Verlag, München.

Buitkamp, J. (1972): Übersicht über die 10 derzeit wichtigsten Serumenzyme des Rindes – Auswertung des Schrifttums bis Ende 1971. Diss. Med. Vet., Hannover.

Cabello, G., M.C. Michel (1977): Composition of blood plasma (Calcium, Phosphorus, Magnesium, Proteins) during the neonatal period in the calf. Influence of the state of health. Ann. Rech. Vét. 8, 203 - 211.

Cheng, C.H., M. Koch, R.E. Shank (1976): Leukozyte Transketolase Activity as an Indicator of Thiamin Nutrition in Rats. *J. Nutr.* 106, 1678 - 1685.

Chong, Y.H., G.S. Ho (1970): Erythrocyte Transketolase Activity. *Am. J. Clin. Nutr.* 23, 261 - 266.

Clausen, H.H. (1977): Der Transketolasetest: Ein Mittel zur Erkennung subklinischer und klinischer Thiamin-Mangelzustände beim Rind. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 84, 462 - 465.

Dalton, R.G. (1967): Variations in calf plasma composition with age. *Br. Vet. J.* 123, 48 - 52.

Dalton, R.G. (1968): Renal function in neonatal calves: Urea clearance. *Br. Vet. J.* 124, 451 - 459.

Demigné, C., C. Révész (1979): Evolution of the postnatal metabolism in the healthy or diarrhoeic calf. *Ann. Rech. Vét.* 10 (1), 23 - 31.

Dixon, W.J. (1953): Processing data for outliers. *Biometrics* 9, 74 - 76.

Donner, H. (1999): Referenzwerte der Serumproteine gesunder Kälber im Alter zwischen 5 Tagen und 6 Monaten. *Diss. Med. Vet., München.*

Donovan, G.A., L. Badinga, R.J. Collier, C.J. Wilcox, R.K. Braun (1986): Factors Influencing Passive Transfer in Dairy Calves. *J. Dairy Sci.* 69, 754 - 759.

Dotta, U., B. Robutti (1972): A study on the serum levels of glutamic-oxaloacetic and glutamic-pyruvic transaminases, of aldolase and creatinin-phosphokinase in normal and muscular dystrophic calves. *Folia vet. Lat.* 2, 310 - 325.

Dreyfus, P.M. (1962): Clinical application of blood transketolase determinations. *New Eng. J. Med.* 267, 596 - 598.

Dürr, U.M., Kraft, W. (1999): Qualitätskontrolle und Fehlermöglichkeiten. In: Kraft, W. und U.M. Dürr (Hrsg.): *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. 5. Auflage, Schattauer-Verlag Stuttgart; New York, 26 - 33.

- Dunlop R.H., P.B. Hammond (1965): D-lactic acidosis of ruminants. Ann. NY Acad. Sci. 119, 1061 - 1065.
- Dybkaer, R. (1972): Concepts and nomenclature in theory of reference values. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 29 (Suppl. 126).
- Eder, H. (1987): Blut und Lymphe. In: Scheunert, A., Trautmann, A. Lehrbuch der Veterinärphysiologie, 7. Auflage, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 160 - 208.
- Egli, C.P., J.W. Blum (1998): Clinical, Haematological, Metabolic and Endocrine Traits During the First Three Months of Life of suckling Simmentaler Calves Held in a Cow-Calf Operation. J.Vet. Med. A 45, 99 - 118.
- Finco, D.R. (1989): Kidney function. In: Kaneko, J.J. (Hrsg.): Clinical biochemistry of domestic animals, 4. Aufl. Academic Press, New York, San Diego, 496 - 542.
- Fischer, W., R. Butte (1974): Vergleichende Untersuchung des Elektrolyt- und Blutstatus bei gesunden und an Enteritis erkrankten Kälbern. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 81, 567 - 570.
- Fisher, E.W., G.H. de la Fuente (1972): Water and Electrolyte Studies in Newborn Calves with Particular Reference to the Effects of Diarrhoea. Res. Vet. Sci. 13, 315 - 322.
- Frerking, H., E. Blesenkemper, A. Peters-Borg (1983): Enzymuntersuchungen bei bis zu drei Monate alten Kälbern sowie Ergebnisse der Faktorenanalyse. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 90, 8 - 12.
- Fromm, K., K. Hierholzer (2000): Niere. In: Engelhardt, W.v., G. Breves (Hrsg.): Physiologie der Haustiere. Enke im Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart, 254 - 287.
- Gentile, A., G. Rademacher, G. Seeman, W. Klee (1998): Systemische Auswirkungen der Pansenazidose im Gefolge von Pansentrinken beim Milchkalb – Retrospektive Analyse von 293 Fällen. Tierärztl. Praxis 26, 205 - 209.
- Gerber, H., J. Martig, R. Straub (1973): Enzymuntersuchungen im Serum von Großtieren im Hinblick auf Diagnose und Prognose. Tierärztl. Praxis 1, 5 - 18.

Gräsbeck, R., N.E. Saris (1969): Establishment and Use of Normal Values. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 24, Suppl. 110, 62.

Grubbs, F.E. (1969): Procedures for detecting outlying observations in samples. *Technometrics* 11, 1 - 21.

Grude, T., I. Lorenz, G. Rademacher, W. Klee (1999): Levels of D- and L-lactate in rumen liquid, blood, and urine in calves with and without evidence of ruminal drinking. *Proc. 32nd Ann. Conf. Am. As. Bov. Pract.* 213 - 214.

Grün, E., M. Klötzer (1973): Serumenzyme bei neugeborenen Tieren. 1. Mitt.: Verhalten bei neugeborenen Kälbern. *Mhefte. Vet. Med* 28, 651 - 656.

Grys, S., A. Malinowska (1974): Minerals and Colibacteriosis in Calves. *Acta microbiol. Pol.* B 6, 185 - 190.

Hartmann, H., L. Schmietendorf, S. Devaux, L. Finsterbusch, H. Meyer, Ch. Rudolph (1987): Beziehungen zwischen Durchfallerkrankung und Nierenfunktion beim Kalb. *Arch. Exper. Vet. Med.* 41, 129 - 139.

Hierholzer, K., M. Fromm (1987): Wasser- und Elektrolythaushalt; Physiologie der Niere. In: Engelhardt, W.v., G. Breves (Hrsg.): *Physiologie der Haustiere*. Enke im Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart, 360 - 436.

Hoffmann, Knapp, Rietz, Miller (1971): Die Bestimmung der Transketolase-Aktivität im Blut. *Clin. Chim. Acta* 33, 415 - 421.

Jekel, E. (1986): Über Konzentrationsänderungen von Elektrolyten und Spurenelementen im Blutplasma von Kälbern in den ersten Lebensstunden und -tagen. *Diss. Med. Vet., Gießen*.

Kaneko, J.J. (1989): Serum Proteins and the Dysproteinemias. In: Kaneko, J.J. (Hrsg.): *Clinical biochemistry of domestic animals*, 4. Auflage, Academic Press, San Diego, California, 142 - 164.

Karlson, P. (1994): *Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler*, 14. Auflage. Georg Thieme Verlag Stuttgart.

Katunguka-Rwakishaya, E, H. Larkin, W.R. Kelly (1987): Blood values of neonatal calves, and blood values and liveweight gains of calves fed on different levels of milk replacer. Br. Vet. J. 143, 184 - 190.

Kaune, R. (2000): Knochenstoffwechsel. In: Engelhardt, W.v., G. Breves (Hrsg.): Physiologie der Haustiere. Enke im Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart, 621 - 624.

Kimura, M., Y. Itokawa (1982): Determination of blood transketolase by high-performance liquid chromatography (a preliminary note). J. Chrom. 239, 707 - 710.

Klaus, H. (1958): Untersuchungen über den Bilirubinstoffwechsel bei Pferden, Schafen, Kälbern und Kaninchen. 725 - 731.

Klee, W. (1985): Untersuchungen über die Nierenfunktion bei gesunden und bei an akutem Durchfall erkrankten Kälbern. München, Univ., Tierärztl. Fak., Habil.-Schr.

Klee, W., A. Seitz, D. Elmer-Englhard (1985): Untersuchungen über den Kreatinin- und Harnstoff-Blutspiegel gesunder neugeborener Kälber im Hinblick auf deren Nierenfunktion. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 92, 405 - 407.

Klee, W., D. Schillinger, G. Dirksen (1979): Blutharnstoff und Hämatokrit bei der Kälberdiarrhoe – diagnostische und prognostische Bedeutung. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 86, 465 - 470.

Kloene, A. (1974): Untersuchungen über die Glutamat-Dehydrogenase im Serum gesunder und kranker Rinder. Diss. Med. Vet., Hannover.

Kolb, E. (1989): Lehrbuch der Physiologie der Haustiere. 5. Auflage, Verlag G. Fischer, Stuttgart, New York.

Kraft, W. und U.M. Dürr, unter Mitarbeit von H. Bostedt, K. Heinritzi, M. Fürll (1999a): Leber. In: Kraft W. und U.M. Dürr (Hrsg.): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 5. Auflage, Schattauer-Verlag Stuttgart; New York, 112 - 133.

Kraft, W. und U.M. Dürr, unter Mitarbeit von M. Fürll, H. Bostedt, K. Heinritzi (1999b): Serum-Protein. In: Kraft, W. und U.M. Dürr (Hrsg.): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 5. Auflage, Schattauer-Verlag Stuttgart; New York, 148 - 158.

Kraft, W. und U.M. Dürr, unter Mitarbeit von M. Fürll, H. Bostedt, K. Heinritzi (1999c): Harnapparat. In: Kraft, W. und U.M. Dürr (Hrsg.): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 5. Auflage, Schattauer-Verlag Stuttgart; New York, 169 - 200.

Kraft, W. (1999): Skelettmuskulatur, Knochen, Kalzium-, Phosphor-, Magnesiumstoffwechsel. In: Kraft, W. und U.M. Dürr (Hrsg.): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 5. Auflage, Schattauer-Verlag Stuttgart; New York, 251 - 258.

Kuhlmann, K., D. Walb (1987): Nephrologie. Verlag Georg Thieme, Stuttgart, New York.

Kurz, M.M., L.B. Willet (1991): Carbohydrate, Enzyme, and Hematology Dynamics in Newborn Calves. J. Dairy Sci. 74 (7), 2109 - 2118.

Little, W., R.M. Kay, R. Manston, G.J. Rowlands, A.J. Stark (1977): The effects of age, live-weight gain and feed intake on the blood composition of young calves. J. agric. Sci. 89, 291 - 296.

Loew, F.M., J.M. Bettany, C.E. Halifax (1975): Apparent Thiamine Status of Cattle and its Relationship to Polioencephalomalacia. Can. J. comp. Med. 39, 291 - 295.

Lorenz, I. (2002): Untersuchungen zur Bedeutung der D-Laktatazidose bei Kälbern mit Neugeborenenenddurchfall. Abstracts 11. Jahrestagung der Fachgruppe Innere Medizin und Klinische Laboratoriumsdiagnostik.

Lumsden, J.H. (1998): „Normal“ or Reference Values: Questions and Comments. Vet. Clin. Path. 27 (4), 102 - 106.

Lumsden, J.H., K. Mullen (1978): On Establishing Reference Values. Can. J. Comp. Med. 42, 293 - 301.

Manner, K., K. Bronsch (2000): Mineralstoffe. In: Engelhardt, W.v., G. Breves (2000): Physiologie der Haustiere. Enke im Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart, 93 - 119.

Massip, A. (1979): Haematocrit, biochemical and plasma cortisol changes associated with diarrhoea in the calf. *Br. Vet. J.* 135, 600 - 605.

Massod, M.F., S.L. McGuire, K.R. Werner (1970): Analysis of Blood Transketolase Activity. *Am. J. Clin. Path.* 55, 465 - 470.

McCandless, D.W., A.D. Curley, C.E. Cassidy (1976): Cardiac and Renal Pentose Phosphate Pathway Activity in Thiamine Deficiency. *Int. J. Vit. Nutr. Res.* 46, 297 - 302.

McMurray, C.H., E.F. Logan, P.J. McParland, F.J. McRory, D.G. O'Neill (1978): Sequential changes in some blood components in the normal neonatal calf. *Br. Vet. Journal* 134, 590 - 597.

Mulej, C.M., R.C.W. Daniel (1989): Changes in Concentrations of Certain Plasma and Erythrocyte Minerals Associated with Hypomagnesaemia in Young Calves. *J. Vet. Med. A* 36, 783 - 788.

Murphy, E.A. (1965 – 66): A scientific viewpoint on normalcy. *Perspect. Biol. Med.* 9, 333 - 340.

Naylor, J.M., D.S. Kronfeld (1977): Refractometry as a Measure of the Immunglobulin Status of the Newborn Dairy Calf: Comparison with the Zinc Sulfate Turbidity Test and Single Radial Immunodiffusion. *Am. J. Vet. Res.* 38, 1331 - 1333.

Nixon, P.F., J. Price, M. Norman-Hick, G.M. Williams, R.A. Kerr (1990): The relationship between erythrocyte transketolase activity and the "TPP-Effect" in Wernicke's encephalopathy and other thiamine deficiency states. *Clin. Chim. Acta* 192, 89 - 98.

Olkowski, A.A. (1992): Role of thiamine status in sulphur induced polioencephalomalazia in sheep. *Res. Vet. Sci.* 52, 78 - 85.

Peters, A. (1981): Untersuchungen über den Gesamtprotein- und Gesamtbilirubingehalt sowie über die Aktivitäten verschiedener Enzyme im Serum bis zu 12 Wochen alter kranker Kälber. *Diss. Med. Vet., Hannover.*

Pfeffer, E., G. Flachowsky (2000): Mineralstoffe. In: Engelhardt, W.v., G. Breves (2000): Physiologie der Haustiere. Enke im Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart, 606 - 620.

Pfeffer, E. (1987): Verdauung. In: Engelhardt, W.v., G. Breves (2000): Physiologie der Haustiere. Enke im Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart, 29 - 57.

Pohlenz, J.F.L. (1975): Experimentelle Untersuchungen zur Vitamin-B1-Hypovitaminose bei Wiederkäuern. Habilitationsschrift, Universität Zürich.

Reed, A.H., R.J. Henry, W.B. Mason (1971): Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. Clin. Chem. 17, 275 - 284.

Rehm, W.F., K. Zerobin, S. Christeller, G. Kunovits, H. Weiser (1971): Untersuchungen zur Diagnostik von klinischen Vitamin-B1-Mangelsymptomen bei Rindern. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 4, 64 - 67.

Reinhardt, H. (1977): Normwerte diagnostisch bedeutsamer Serumenzyme bei Kälbern und Ferkeln in den ersten Lebensstunden und -tagen. Diss. Med. Vet., München.

Rosenberger, G. (1990): Die klinische Untersuchung des Rindes. 3. Auflage. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.

Rothe, J. (1994): Untersuchungen über die prognostische Bedeutung von Harnstoff-Blutspiegel, Kreatinin-Blutspiegel und Hämatokrit bei an neonataler Diarrhoe erkrankten Kälbern. Diss. Med. Vet., Hannover.

Sachs, L. (2002): Angewandte Statistik. 10., überarbeitete Auflage, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.

Sager, R.L., D.W. Hamar, D.H. Gould (1990): Clinical and biochemical alterations in calves with nutritionally induced polioencephalomalazia. Am. J. Vet. Res. 51 (12), 1969 - 1974.

Sansom, B.F. (1981): Hypomagnesaemia in calves: treatment and control. Vet. Ann. 21, 74 - 79.

Sato, H., T. Imamura (1980): Plasma Calcium, Magnesium and Inorganic Phosphorus Levels in Holstein-Friesian Calves during Early Stage after Birth. *Jpn. J. Vet. Sci.* 42, 463 - 464.

Schenk, G., R.G. Duggleby, P.F. Nixon (1998): Properties and functions of the thiamine diphosphate dependent enzyme transketolase. *Int. J. Biochem. & Cell Biology* 30, 1297 - 1318.

Schiessler, A., H.-J. Jaster, C. Grosse-Siestrup, V. Unger, E.S. Bücherl (1977): Normalwerte beim Kalb. Biochemische, hämatologische und gerinnungsphysiologische Werte und Bestimmungen der Flüssigkeitskompartimente. *Zbl. Vet. Med. A*, 24, 298 - 310.

Schmidl, M., D. v. Forstner (1985): Veterinärmedizinische Laboruntersuchungen für die Diagnose und Verlaufskontrolle. 3. Aufl. Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim.

Schouten, H., L.W. Statius van Eps, A.M. Struyker Boudier (1964): Transketolase in blood. *Clin. Chim. Acta* 10, 474 - 476.

Schulte-Langforth, M. (1990): Die Entwicklung von Kälbern innerhalb des ersten Lebensjahres unter besonderer Berücksichtigung der (Un-) Ähnlichkeit von monozygoten Zwillingen aus der Mikrochirurgie. *Diss. Med. Vet.*, München.

Schürmann, H.D. (1992): GGT-Kreatinin-Quotient und Kreatininausscheidung im Harn neugeborener Kälber. *Diss. Med. Vet.*, Hannover.

Schwartz, E. v. (1980): Vergleichende Untersuchungen zum Immunstatus junger Kälber in den ersten acht Lebenswochen unter Praxisbedingungen (Refraktometrie, Elektrophorese, Biuretreaktion). *Diss. Med. Vet.*, Hannover.

Senft, B., U. v. Manteufel, F. Meyer (1975): Der Einfluss einer 2jährigen Lagerung von Kälberblutseren bei -20°C auf den Gehalt an Gesamtprotein und Proteinfractionen. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 88, 5 - 6.

Shepherd, H.G., (1970): What Are Normal Values in Clinical Chemistry? *Lab. Med.* 1, 24 - 28.

Solberg (1983): The Theory of Reference Values; Part 5. Statistical Treatment of Collected Reference Values Determination of Reference Limits. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 21 (11), 749 - 760.

Solberg (1987): Approved Recommendation (1986) on the Theory of Reference Values; Part 1. The Concept of Reference Values. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 25 (5), 337 - 342.

Spicer, E.M., B.J. Horton (1981): Biochemistry of natural and amprolium-induced polioencephalomalazia in sheep. *Austr. Vet. J.* 57. 230 - 235.

Stamm, D. (1982): A New Concept for Quality Control of Clinical Laboratory Investigations in the Light of Clinical Requirements and Based on Reference Method Values. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 20, 817 - 824.

Steffen, S., G. Tietz, E. Grunert (1997): Untersuchungen des Gesamteiweißgehalts und der γ -Glutamyltransferase (γ -GT) bei Kälbern in den ersten 14 Lebenstagen und ihre Bedeutung für die Voraussage des Gesundheitszustandes in den ersten 2 Wochen post natum. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 104, 272 - 276.

Steinhardt, M., H.-H. Thielscher (2000a): Physiologische Variablen und Wachstumsleistung bei Saugkälbern der Mutterkuhhaltung in den ersten beiden Lebensmonaten. *Tierärztl. Umschau* 55, 380 - 389.

Steinhardt, M., H.-H. Thielscher (2000b): Tiergerechte Haltung und physiologische Funktionen von Tieren, Entwicklungsqualität von Milchrindkälbern nach der Geburt und frühe postnatale Adaptation der Tiere in Gruppenhaltung mit Tränkeautomatenfütterung. *Tierärztl. Umschau* 55, 189 - 198.

Steinhardt, M., I. Gollast, M. Langanke, U. Bünger, J. Kutschke (1993a): Klinisch-chemische Blutwerte bei neugeborenen Kälbern. 1. Einflüsse einiger innerer und äußerer Bedingungen. *Tierärztl. Prax.* 21, 295 - 301.

Steinhardt, M., I. Gollast, M. Langanke, U. Bünger, J. Kutschke (1993b): Klinisch-chemische Blutwerte bei neugeborenen Kälbern. 2. Wiederholte Untersuchungen an den gleichen Tieren. *Tierärztl. Prax.* 21, 405 - 411.

Stöckl, W., M.K. Zacherl, M. Weiser (1965): Vergleichende Serumuntersuchungen bei Kühen vor und nach der Geburt und bei deren Kälbern. 400 - 403.

Stryer, L. (1996): Biochemie. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin, Oxford, 4. Auflage.

Sunderman, F.W. Jr. (1975): Current Concepts of „Normal Values,“ „Reference Values,“ and „Discrimination Values“ in Clinical Chemistry. Clin. Chem. 21 (13), 1873 - 1877.

Takeuchi, T., E.H. Jung, K. Nishino, Y. Itokawa (1990): The Relationship between the Thiamine Pyrophosphate Effect and the Saturation Status of the Transketolase with its Coenzyme in Human Erythrocytes. Int. J. Vit. Nutr. Res. 60, 112 - 120.

Takeuchi, T., K. Nishino, Y. Itokawa (1984): Improved Determination of Transketolase Activity in Erythrocytes. Clin. Chem. 30, 658 - 661.

Tanwar, R.K., K.S. Malik, A.K. Gahlot (1994): Polioencephalomalazia Induced with Amprolium in Buffalo Calves – Clinicopathologic Findings. Zbl. Vet. Med. A. 41, 396 - 404.

Tennant, B., D. Harrold, M. Reina-Guerra (1972): Physiologic and Metabolic Factors in the Pathogenesis of Neonatal Enteric Infections in Calves. J. Am. Vet. Med. Ass. 161 (9), 993 - 1007.

Tennant, B., D. Harrold, M. Reina-Guerra (1975): Hematology of the neonatal calf. II- Response associated with acute enteric infections, gram-negative septicemia, and experimental endotoxemia. Cornell Veterinarian 65, 457 - 475.

Thomas, K.W. (1986): The effect of thiaminase-induced subclinical thiamine deficiency on growth of weaner sheep. Vet. Res. Com. 10, 125 - 141.

Thomas, K.W., D.L. Turner, E.M. Spicer (1987): Thiamine, thiaminase and transketolase levels in goats with and without polioencephalomalacia. Austr. Vet. J. 64, 126 - 127.

Thornber, E.J., R.H. Dunlop, J.M. Gawthorne, C.R. Huxtable (1979): Polioencephalomalazia (cerebrocortical necrosis) induced by experimental thiamine deficiency in lambs. Res. Vet. Sci. 26, 378 - 380.

- Thornber, E.J., R.H. Dunlop, J.M. Gawthorne, C.R. Huxtable (1981): Induced thiamine deficiency in lambs. *Austr. Vet. J.* 57, 21 - 26.
- Traub-Dargatz, J.L., D.A. Dargatz (1995): Clinical Epidemiology: Application to Laboratory Data. *Vet. Clinics of North America: Equine Practice* 11, 515 - 524.
- Trautwein, G. (1991): Harnorgane. In: L.-C. Schulz (Hrsg.): *Pathologie der Haustiere. Teil I.* Verlag Gustav Fischer, Jena, 517 - 575.
- Türközkan, N., A. Aricioglu, E. Dalkilic (1985): Vergleichende Untersuchungen der Spurenelemente bei gesunden und an "Septicaemia neonatorum" erkrankten Kälbern. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 92, 473 - 474.
- Ullrich, J. (1974): Thiamin pyrophosphate. *Methods in Enzymatic Analysis*, Bergmeyer, H.U., 2186 – 2193.
- Uribarri, J., M.S. Oh, H.J. Carrol (1998): D-lactic acidosis – a review of clinical presentation, biochemical features, and pathophysiologic mechanisms. *Medicine* 77, 73 - 82.
- Vagher, J.P., B. Pearson, S. Blatt, M. Kaye, (1973): Biochemical and Haematologic Values in Male Holstein-Friesian Calves. *Am. J. Vet. Res.* 34, 273 - 277.
- Van Weeren-Keverling Buisman, A., T Wensing, T. van den Ingh (1990): Intraruminal administration of milk in the calf as a model for ruminal drinking: Clinical aspects and biochemical and morphological changes in the rumen. *J. Anim. Phys. Anim. Nutr.* 63, 255 - 266.
- Walser, K. (1973): Entstehung und Verhütung von Kälberkrankheiten. *Tierärztl. Prax* 1, 25 - 32.
- Warnock, L.G. (1970): A New Approach to Erythrocyte Transketolase Measurement. *J. Nutr.* 100, 1057 - 1062.
- Weiss, K.-H. (1976): Serumenzymbestimmungen zur Diagnostik bestimmter Kälberkrankheiten und ihre Anwendbarkeit in der tierärztlichen Praxis. *Diss. Med. Vet.*, München.

Wiest, D., W. Klee (1998): Retrospektive Auswertung von Harnstoff- und Kreatininblutspiegeln bei an Durchfall erkrankten Kälbern. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 105 (9), 335 - 339.

Wörth, W.; (1999): Elektrolyte und Säure-Basen-Haushalt. In: Kraft, W. und Dürr, U.M. (Hrsg.): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin, 5. Auflage, Schattauer-Verlag Stuttgart, New York, 159 - 168.

Youssef, R.R. (1980): Untersuchungen zum Säure-Basen und Elektrolythaushalt bei gesunden und an Durchfall erkrankten neugeborenen Kälbern. Diss. Med. Vet., München.

8 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1: Einteilung der Enzyme nach GERBER et al. (1973).....	39
Abbildung 2: TK im Pentosephosphatzyklus.....	45
Abbildung 3: Histogramm Calcium.....	58
Abbildung 4: Histogramm Magnesium.....	58
Abbildung 5: Histogramm anorganisches Phosphat.....	59
Abbildung 6: Histogramm Harnstoff.....	59
Abbildung 7: Histogramm Creatinin.....	60
Abbildung 8: Histogramm Bilirubin.....	60
Abbildung 9: Histogramm Gesamteiweiß.....	61
Abbildung 10: Histogramm Albumin.....	61
Abbildung 11: Histogramm D-Laktat.....	62
Abbildung 12: Histogramm GLDH.....	62
Abbildung 13: Histogramm AST.....	63
Abbildung 14: Histogramm CK.....	63
Abbildung 15: Histogramm TPP-Effekt.....	64
Tabelle 1: Referenzbereiche in der Literatur zu Calcium.....	19
Tabelle 2: Referenzbereiche in der Literatur zu Magnesium.....	21
Tabelle 3: Referenzbereiche der Literatur für anorganische Phosphat.....	23
Tabelle 4: Referenzbereiche der Literatur für Harnstoff.....	26
Tabelle 5: Referenzbereiche der Literatur für Creatinin.....	29
Tabelle 6: Referenzbereiche der Literatur für Bilirubin.....	31
Tabelle 7: Referenzbereiche der Literatur für Gesamteiweiß.....	34
Tabelle 8: Referenzbereiche der Literatur für Albumin.....	37
Tabelle 9: Definition gesunder Kälber (ROSENBERGER, 1990).....	51
Tabelle 10: Methoden und Sensitivitätsgrenzen des Hitachi 911E Automatic Analyzer.....	53
Tabelle 11: Haltbarkeit der Serumproben laut Hitachi Produktinfo.....	54
Tabelle 12: Ansatz der TK-Messung (Angaben in ml).....	55
Tabelle 13: Schiefe und Berechnung der Ausreißer.....	65
Tabelle 14: Prüfung auf Normalverteilung.....	66
Tabelle 15: Normalverteilte Parameter.....	66
Tabelle 16: Nicht parametrisch verteilte Parameter.....	67

9 Originalwerte

TK	HST	CREA	GE	BILI	AST	GLDH	CK	PHOS	MG	ALB	CA	D-Laktat
287,315	17,8	191,24	78,6	19,92	88,7	303,9	274	3,5	1,25	30,6	3,48	7,1
251,43	11,8	179,45	73,6	19,1	87,8	158,39	256	3,5	1,14	30,1	3,26	7,08
242,29	11,4	167,83	71,5	19,05	82,4	156,64	243,9	3,5	1,11	29,8	3,18	5,71
152,43	11,2	160,81	69,4	15	79,4	121,34	234	3,5	1,06	29,8	3,14	5,39
149,71	10,7	160,17	68,6	11,61	58,36	115,62	197,6	3,5	1,04	29,7	3,12	3,96
122,81	9,7	160,17	68,4	10,78	54,3	113,29	189	3,5	1,04	29,4	3,12	3,38
106,94	9,4	159,52	68,4	8,22	50	86,92	182	3,4	1,04	29,4	3,11	3,19
103,68	8,8	155,11	67,6	8,17	47	65,89	178,05	3,4	1,04	29,3	3,11	3,15
102,2	7,9	155,02	67,4	7,64	45,8	63,92	176	3,4	1,03	29,1	3,11	2,84
99,265	7,8	153,85	66,5	7,34	44,08	60,59	173	3,4	1,02	29,1	3,08	2,51
86,265	7,7	153,21	65,8	7,26	43	60,3	166	3,4	1,01	28,8	3,07	1,63
84,375	7	152,05	65,3	7,15	42,7	58,13	163	3,3	1,01	28,8	3,06	1,36
81,595	6,7	147,2	64,9	7,07	42,3	55,37	157	3,3	1	28,8	3,06	1,35
79,915	6,7	145,61	63,9	6,86	41,84	53,3	157	3,3	0,99	28,6	3,04	1,24
79,39	6,1	143,72	63,9	6,69	41,84	53,05	150	3,3	0,98	28,6	3,03	1,11
78,645	6,1	139,58	63,5	6,52	41,8	48,44	147	3,3	0,97	28,5	3,03	1
76,36	6,1	138,55	63,5	6,29	41,8	45,46	143,9	3,3	0,97	28,3	3,03	0,9
75,99	6	138,21	63,3	5,93	41,7	45,41	139	3,3	0,96	28,2	3,02	0,84
71,8625	6	138,18	62,3	5,62	40,4	41,71	134,15	3,3	0,96	28	3	0,83
71,11	5,9	137,76	62,3	5,29	40	41,42	131	3,3	0,95	27,9	3	0,72
70,115	5,6	137,09	62,1	5,29	40	40,98	130	3,3	0,95	27,9	3	0,71
70,01	5,6	136,59	62	5,11	39,5	38,97	128	3,2	0,95	27,7	3	0,68
63,26	5,5	136,26	62	5,01	39,3	38,01	124,39	3,2	0,95	27,7	2,98	0,61
62,74	5,5	135,98	62	4,97	38,9	36,24	124	3,2	0,94	27,7	2,98	0,57
58,645	5,5	135,71	61,7	4,92	38,6	35,87	123	3,2	0,94	27,6	2,98	0,51
57,14	5,4	134,97	61,5	4,91	38,6	32,77	122	3,2	0,94	27,6	2,98	0,49
56,785	5,1	134,36	61,4	4,67	38,5	32,13	119,51	3,2	0,94	27,6	2,98	0,46
56,325	5,1	134,31	61,3	4,57	38,5	31,97	117	3,2	0,93	27,5	2,97	0,46
55,4	5,1	134,25	61,3	4,43	38	31,42	115	3,2	0,93	27,5	2,97	0,44
52,325	5	132,02	60,8	4,33	37,7	30,14	114	3,1	0,93	27,5	2,96	0,43
51,45	5	130,62	60,7	4,28	37,6	29,88	112,2	3,1	0,92	27,4	2,96	0,43
50,53	4,9	130,5	60,6	4,22	37,14	29,43	107	3,1	0,92	27,4	2,96	0,42
49,96	4,9	130,25	60,2	4,11	36,9	28,75	106	3,1	0,92	27,4	2,96	0,42
49,56	4,8	130,18	60,2	4,11	36,6	28,65	104,88	3,1	0,92	27,3	2,95	0,42
48,16	4,8	129,76	60,2	4,07	36,4	27,33	104	3,1	0,92	27,3	2,94	0,41
47,04	4,7	129,68	60,2	4,01	36	24,55	103	3,1	0,91	27,3	2,94	0,41
45,87	4,7	129,3	60,1	3,93	35,9	24,46	102,44	3,1	0,91	27,1	2,93	0,41
45,74	4,6	129,29	59,9	3,91	35,9	24,16	102,44	3,1	0,91	27,1	2,93	0,39
45,04	4,6	128,55	59,9	3,9	35,8	23,95	99	3,1	0,9	27,1	2,93	0,39
44,915	4,5	127,73	59,8	3,89	35,7	23,42	96	3,1	0,9	27,1	2,92	0,38
43,435	4,5	127,42	59,8	3,88	35,6	23,07	95,12	3,1	0,9	27,1	2,91	0,37
42,18	4,5	127,12	59,6	3,83	35,4	22,3	94	3,1	0,9	27	2,91	0,36
41,86	4,4	127,1	59,5	3,79	35,1	22,02	94	3,1	0,9	27	2,91	0,34
41,83	4,4	125,64	59,4	3,76	35,1	21,8	92,7	3,1	0,9	27	2,91	0,34
41,68	4,3	125,57	59,2	3,76	35,1	21,5	92	3,1	0,89	26,9	2,91	0,34

TK	HST	CREA	GE	BILI	AST	GLDH	CK	PHOS	MG	ALB	CA	D-Laktat
40,795	4,2	124,23	58,8	3,76	34,9	20,84	92	3	0,89	26,8	2,9	0,34
40,57	4,2	123,99	58,5	3,7	34,5	20,7	89	3	0,88	26,8	2,9	0,33
40,54	4,2	123,98	58,5	3,68	34,49	19,11	88	3	0,88	26,8	2,9	0,33
39,79	4,2	123,81	58,3	3,63	34,3	18,81	88	3	0,88	26,7	2,9	0,32
37,7	4,2	123,72	58,1	3,63	34,3	18,18	88	3	0,88	26,7	2,89	0,32
37,61	4,1	123,48	58,1	3,63	34,2	17,59	85,37	3	0,88	26,7	2,89	0,32
36,79	4,1	123,44	58	3,6	34	17,17	83	3	0,88	26,6	2,88	0,32
36,705	4,1	123,36	57,9	3,57	33,8	16,5	82	3	0,88	26,6	2,88	0,31
36,46	4	123,07	57,7	3,56	33,7	16,4	80,5	3	0,87	26,6	2,88	0,31
36,165	4	122,88	57,7	3,51	33,6	16,4	80	3	0,87	26,5	2,87	0,3
36,045	4	122,8	57,7	3,33	33,4	16,28	79	3	0,87	26,5	2,86	0,3
36,02	4	122,71	57,6	3,21	33,2	16,18	79	3	0,87	26,5	2,86	0,29
35,55	4	122,45	57,5	3,19	33,1	16,02	77	3	0,87	26,4	2,85	0,29
35,29	4	122,16	57,1	3,17	33,1	15,93	77	3	0,87	26,4	2,85	0,29
35,09	4	121,76	57	3,16	32,9	14,9	77	3	0,87	26,4	2,84	0,29
34,96	3,9	121,48	57	3,11	32,86	14,64	74	3	0,87	26,4	2,84	0,28
34,255	3,9	121,05	56,6	3,1	32,86	14,48	73,17	3	0,86	26,2	2,84	0,28
34,165	3,8	120,88	56,6	3,09	32,6	13,84	71	3	0,86	26,2	2,84	0,26
34,15	3,8	119,84	56,6	3,09	32,45	13,78	70,73	3	0,86	26,1	2,83	0,26
34,025	3,8	119,09	56,6	3,08	32,4	13,68	67	3	0,86	26,1	2,83	0,26
33,77	3,8	119,07	55,7	3,08	32,2	13,61	65,85	3	0,86	26,1	2,83	0,25
33,51	3,8	118,97	55,5	3,01	32,1	13,61	65	2,9	0,86	26,1	2,83	0,24
33,23	3,7	118,66	55,5	2,99	31,9	13,42	61	2,9	0,86	26,1	2,83	0,24
32,845	3,7	118,43	55,3	2,98	31,84	13,07	61	2,9	0,85	26,1	2,83	0,24
32,3975	3,7	118,1	55	2,98	31,63	13,05	60	2,9	0,85	26,1	2,82	0,23
31,84	3,6	116,95	54,9	2,97	31,5	12,73	58,54	2,9	0,85	26	2,82	0,23
30,965	3,6	116,95	54,9	2,95	31,5	12,71	57	2,9	0,85	26	2,82	0,23
30,29	3,6	116,8	54,8	2,95	31,43	12,6	55	2,9	0,85	26	2,81	0,22
30,15	3,5	116,26	54,7	2,93	31,22	12,54	53,66	2,9	0,85	26	2,81	0,22
29,915	3,5	116,25	54,7	2,91	31,2	12,44	52	2,9	0,84	25,9	2,8	0,22
29,805	3,5	116,23	54,5	2,9	31,2	12,43	52	2,9	0,84	25,9	2,8	0,21
29,745	3,5	115,96	54,3	2,87	31,02	12,23	51	2,9	0,84	25,9	2,79	0,21
29,69	3,5	115,52	54,2	2,85	31	12,22	48,78	2,9	0,84	25,9	2,78	0,21
29,05	3,5	115,02	54,1	2,83	31	11,65	48	2,9	0,84	25,8	2,78	0,21
28,89	3,4	114,67	54	2,83	30,8	11,53	46,34	2,9	0,83	25,8	2,78	0,2
28,66	3,4	114,66	53,9	2,81	30,8	10,82	46,34	2,9	0,83	25,8	2,78	0,2
28,58	3,4	113,96	53,7	2,8	30,6	10,57	46	2,8	0,83	25,8	2,78	0,2
27,975	3,3	113,47	53,7	2,76	30,6	10,49	46	2,8	0,83	25,7	2,78	0,2
27,95	3,2	113,46	53,7	2,73	30,5	10,46	46	2,8	0,83	25,6	2,77	0,19
27,855	3,2	113,19	53,6	2,71	30,5	10,25	45	2,8	0,82	25,6	2,77	0,19
27,065	3,2	113,18	53,5	2,7	30,41	10,24	44	2,8	0,82	25,6	2,77	0,19
26,9675	3,1	112,8	53,3	2,67	30,4	9,98	44	2,8	0,82	25,5	2,77	0,18
26,95	3,1	112,79	53,2	2,63	30,4	9,8	44	2,8	0,82	25,5	2,77	0,18
26,695	3,1	112,6	53,2	2,57	30,4	9,64	42	2,8	0,82	25,4	2,77	0,18
26,405	3,1	112,55	53,2	2,5	30,3	9,55	41,46	2,8	0,82	25,4	2,77	0,18
26,395	3,1	112,36	53,2	2,5	30,2	9,41	41,46	2,8	0,82	25,4	2,76	0,18
25,675	3	112,08	53	2,5	30,2	9,24	41	2,8	0,82	25,4	2,75	0,17

TK	HST	CREA	GE	BILI	AST	GLDH	CK	PHOS	MG	ALB	CA	D-Laktat
25,575	3	111,93	52,9	2,47	30,1	9,11	41	2,8	0,82	25,4	2,75	0,17
24,5	3	111,86	52,7	2,47	30	9,06	40	2,7	0,82	25,3	2,75	0,17
24,44	3	111,66	52,6	2,45	29,5	8,97	40	2,7	0,82	25,3	2,75	0,17
24,135	2,9	108,99	52,5	2,43	29,4	8,81	39	2,7	0,81	25,2	2,74	0,17
23,965	2,9	108,27	52,4	2,42	29	8,58	39	2,7	0,81	25,2	2,74	0,17
23,2	2,9	107,59	52,2	2,4	29	8,34	39	2,7	0,81	25,2	2,73	0,16
22,44	2,8	106,81	52,2	2,37	28,9	8,18	39	2,6	0,81	25,2	2,73	0,16
22,39	2,8	105,8	52,1	2,35	28,8	8,04	39	2,6	0,81	25,2	2,73	0,16
21,22	2,8	105,73	52,1	2,33	28,6	7,71	38	2,6	0,81	25,1	2,72	0,16
21,17	2,8	105,56	51,7	2,33	28,57	7,55	38	2,6	0,8	25,1	2,72	0,16
20,625	2,8	105,35	51,3	2,32	28,4	7,46	37	2,6	0,8	25,1	2,72	0,15
20,3225	2,8	104,28	51,3	2,29	28,37	7,44	37	2,6	0,8	25,1	2,72	0,15
19,85	2,7	103,17	51,3	2,2	28,3	7,24	37	2,6	0,8	25	2,71	0,15
19,61	2,7	102,96	51,2	2,16	28	7,22	37	2,6	0,8	25	2,7	0,14
19,375	2,7	102,84	51,2	2,16	27,9	7,1	36,6	2,6	0,8	24,9	2,7	0,14
18,935	2,7	102	51	2,14	27,9	7,07	36	2,6	0,8	24,9	2,7	0,14
18,82	2,7	101,38	50,9	2,12	27,8	7,07	35	2,6	0,8	24,9	2,7	0,14
18,535	2,7	100,81	50,9	2,09	27,8	7,02	35	2,6	0,8	24,9	2,69	0,14
17,9075	2,6	100,55	50,5	2,06	27,8	6,87	35	2,6	0,8	24,9	2,69	0,13
17,49	2,6	99,81	50,2	2,03	27,76	6,81	34	2,6	0,79	24,9	2,69	0,13
16,525	2,6	99,61	50,1	2,01	27,7	6,65	33	2,6	0,79	24,8	2,68	0,12
16,41	2,6	99,15	49,8	2	27,5	6,59	33	2,6	0,79	24,8	2,68	0,12
16,39	2,5	99,09	49,4	1,99	27,35	6,53	33	2,6	0,79	24,8	2,67	0,12
16,17	2,5	98,95	48,9	1,95	27,3	6,44	32	2,6	0,79	24,8	2,67	0,12
16,15	2,5	98,78	48,4	1,92	26,9	6,44	32	2,6	0,79	24,8	2,67	0,11
16,03	2,5	98,17	48,3	1,89	26,8	6,37	32	2,6	0,79	24,7	2,67	0,11
15,36	2,5	96,54	48,3	1,88	26,8	6,35	31,71	2,6	0,79	24,7	2,66	0,11
14,4	2,5	96,45	48,3	1,86	26,7	6,34	31	2,6	0,79	24,6	2,65	0,11
13,985	2,5	96,38	48,2	1,82	26,6	6,09	31	2,5	0,79	24,6	2,65	0,1
12,66	2,5	95,94	48,2	1,79	26,6	6,08	30	2,5	0,79	24,6	2,64	0,1
11,745	2,4	95,3	48	1,78	26,1	5,91	30	2,5	0,79	24,5	2,64	0,09
11,585	2,4	94,91	47,9	1,76	25,8	5,8	30	2,5	0,79	24,5	2,63	0,09
11,465	2,4	94,26	47,6	1,72	25,8	5,79	30	2,5	0,78	24,4	2,62	0,09
11,33	2,4	93,79	47,6	1,72	25,6	5,77	29	2,5	0,78	24,4	2,59	0,09
11,29	2,4	92,75	47	1,72	25,51	5,61	28	2,5	0,78	24,4	2,59	0,08
11,1	2,2	92,42	46,9	1,65	25,5	5,6	27	2,5	0,78	24,4	2,59	0,08
10,53	2,2	91,52	46,5	1,63	25,3	5,56	27	2,5	0,78	24,3	2,58	0,08
10,465	2,2	91,49	46,5	1,57	24,5	5,45	27	2,5	0,78	24,1	2,58	0,07
10,265	2,2	91,02	46,3	1,52	23,88	5,2	26,83	2,5	0,77	24,1	2,58	0,07
10	2,2	90,66	46	1,39	23,7	5,13	26,83	2,5	0,77	24	2,58	0,06
9,935	2,2	90,57	45,9	1,38	23,7	5,12	26	2,5	0,77	24	2,57	0,06
9,18	2,1	90,41	45,9	1,35	23,5	4,93	26	2,5	0,77	23,9	2,56	0,06
9,095	2,1	90,12	45,8	1,33	23,47	4,9	24	2,5	0,76	23,8	2,56	0,06
8,445	2,1	89,73	45,7	1,32	23,3	4,86	23	2,5	0,76	23,8	2,55	0,06
7,82	2	86,92	45,7	1,27	23,3	4,69	23	2,4	0,76	23,8	2,55	0,05
6,43	2	86,54	45,6	1,15	23,27	4,55	23	2,4	0,76	23,8	2,54	0,05
6,355	2	86,34	45,3	1,14	22,9	4,09	23	2,4	0,75	23,7	2,52	0,05

TK	HST	CREA	GE	BILI	AST	GLDH	CK	PHOS	MG	ALB	CA	D-Laktat
6,255	2	85,35	45,3	1,13	22,5	3,69	22	2,4	0,75	23,6	2,52	0,04
5,125	1,9	85,06	44,9	1,09	22,25	3,66	21,95	2,4	0,74	23,5	2,51	0,04
4,51	1,9	83,85	44,7	0,97	22,2	3,47	20	2,3	0,74	23,3	2,51	0,03
4,46	1,8	83,51	43,9	0,91	22,1	3,27	19,51	2,3	0,74	23,3	2,5	0,03
3,67	1,7	83,18	43,6	0,84	21,7	3,04	19,5	2,3	0,73	23,2	2,49	0,02
3,08	1,7	82,49	43,5	0,84	21,4	2,69	17	2,3	0,73	22,5	2,47	0,01
2,29	1,6	81,54	43,1	0,83	21,3	2,48	15	2,3	0,72	22,3	2,47	0,01
2,08	1,6	80,19	41,9	0,67	20,2	2,31	14	2,3	0,71	22	2,46	0
0,975	1,4	78,94	41,4	0,43	19,7	2,27	14	2,3	0,69	21,8	2,45	0
0,38	1,1	78,35	39,6	0,4	18,5	2,1	12,2	2,3	0,68	19,5	2,44	0
0	1,1	77,25	38,7	0,32	14,9	1,92	12	2	0,67	17,4	2,43	-0,02

10 Danksagung

Vielen Dank an Professor W. Klee für Überlassung des Themas und Dr. I. Lorenz für die Betreuung der Dissertation.

Lieben Dank an Frau I. Hartmann und C. Beyer für viel Geduld und Unterstützung bei den Laborarbeiten, Dr. A. Adam und den Landwirten für die nette Mithilfe bei der Datengewinnung und meiner Familie und meinen Freunden für Auf- und ermunterung während der Durchführung.

11 Lebenslauf

Name:	Pöhler
Vorname:	Nicole
Geburtstag:	21.07.1977
Geburtsort:	Immenstadt im Allgäu
Eltern:	Helmut Pöhler, Abteilungsleiter im Ruhestand Traute Pöhler, geb. Voigt, Hausfrau
Schulbildung:	
1983 – 1987	Grundschule Burgberg
1987 – 1996	Gymnasium Immenstadt
28.6.1996	Abitur
Studium:	
1996 – 2002	Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians- Universität München
4.3.2002	Staatsexamen
24.4.2002	Approbation als Tierärztin
Berufstätigkeit:	
April 2002 – Februar 2004	Assistentin in der Tierarztpraxis Dr. Albrecht Adam in Gars am Inn
Seit März 2004	Assistentin in der Gemeinschaftspraxis Drs. Höcketstaller und Schneider in Gars-Bahnhof