

Aus der Medizinischen Tierklinik
(Lehrstuhl für Innere Medizin und Chirurgie der Wiederkäuer: Prof. Dr. W. Klee)
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Untersuchungen zur Bildung von D-Laktat im Intestinum des Kalbes

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Martina Gisela König
aus München

München 2006

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. E. P. Märtlbauer
Referent: Univ.-Prof. Dr. W. Klee
Korreferent: Prof. Dr. M. Goldberg

Tag der Promotion: 28. Juli 2006

INHALT

1 EINLEITUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT	2
2.1 Allgemeines zum Laktatstoffwechsel von Säugetieren	2
2.2 Laktatazidose des Menschen	3
2.2.1 Symptomatik	3
2.2.2 Fallbeispiele	3
2.2.3 Bildung von Laktat im Gastrointestinaltrakt	4
2.2.4 Entstehung einer D-Laktatazidose	5
2.2.5 Wirkung des D-Laktats auf den Organismus	7
2.2.6 Therapie der D-Laktatazidose des Menschen	8
2.3 D-Laktatazidose des Rindes	9
2.4 D-Laktatazidose bei anderen Tierarten	10
3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN	11
3.1 Material und Methodik	11
3.2 Ergebnisse	14
3.2.1 Überblick	14
3.2.2 pH-Werte des Verdauungsapparates	18
3.2.3 Bakterienstämme bei Kälbern mit und ohne Durchfall	20
3.2.4 D-Laktatkonzentrationen in den einzelnen Abschnitten des Verdauungsapparates bei Kälbern mit und ohne Durchfall	30
3.2.5 Korrelationen	37
3.2.6 D-Laktatkonzentrationen in den einzelnen Abschnitten des Verdauungsapparates und deren Bakterienpopulation unabhängig von Durchfall	41
3.2.7 Kälber mit hohem D-Laktat (>3 mmol/l) im Serum und parenteraler Antibiose	53

4 DISKUSSION	54
5 ZUSAMMENFASSUNG	59
6 SUMMARY	60
7 LITERATURVERZEICHNIS	61
8 DANKSAGUNG	68
9 LEBENSLAUF	69

Abkürzungsverzeichnis

+Hefen = grampositive Hefen

+Kokk = grampositive Kokken

+l.Stäb = grampositive lange Stäbe

+pl. Stäb = grampositive plumpe Stäbe

-col.Stäb = gramnegative coliforme Stäbe

- Kokk = gramnegative Kokken

-l.St = gramnegative lange Stäbe

-z.Stäb = gramnegative zarte Stäbe

ATP = Adenosintri-phosphat

Bd = Blinddarm

C1 = orale Hälfte des Colons

C2 = aborale Hälfte des Colons

Dd = Duodenum

EAEC = enteroadhäsive Escherichia coli

EPEC = enteropathogene Escherichia coli

Hrn = Harnblase

JJ1 = orales Drittel des Jejunums

JJ2 = mittleres Drittel des Jejunums

JJ3 = aborales Drittel des Jejunums

KBE = koloniebildende Einheit

Lm = Labmagen

mEq = Milliäquivalent

NAD = Nicotinamid-Adenindinukleotid

NAG = not agglutinable germs

Pa = Pansen

Rek = Rektum

SBS = Short Bowel Syndrom

spp.= Spezies

1 EINLEITUNG

Kälber mit Neugeborenenenddurchfall sind oft apathisch und liegen fest. Dies ist entweder auf den hohen Exsikkosegrad zurückzuführen oder auf eine Blutazidose. Nach dem Ausgleichen dieser Abweichungen durch eine Infusion kommt es bei manchen Kälbern zu keiner wesentlichen Verbesserung der Symptomatik. Diese Kälber weisen oft eine erhöhte D-Laktatkonzentration im Blut auf. Dies kann zu Ataxie, reduzierten Reflexen und Festliegen führen. D-Laktat wird vom Säugetierorganismus nur in sehr geringen Mengen gebildet und abgebaut, während es von bestimmten Bakterienarten regelmäßig als Stoffwechselprodukt gebildet wird. Die vorliegende Arbeit soll dazu dienen Herkunft, Entstehung und Verteilung des D-Laktats im Körper von Kälbern mit Neugeborenenenddurchfall näher zu untersuchen.

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Allgemeines zum Laktatstoffwechsel von Säugetieren

Laktat, das Salz der Milchsäure, kann in zwei Isomeren auftreten. Diese unterscheiden sich durch ein asymmetrisches C₂-Atom und rotieren linear polarisiertes Licht im Uhrzeigersinn bzw. dagegen. L(+)-Milchsäure dreht polarisiertes Licht nach rechts. Das Enantiomer (D(-)-Form) bricht das Licht nach links. In den Muskelzellen der Säugetiere wird durch Glykolyse hauptsächlich L-Laktat gebildet. Die D-Form entsteht, wenn Bakterien Glukose fermentieren. Beide Formen unterscheiden sich nicht in ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften, nur ihre Interaktion mit Enzymen ist eine andere (RÖMPP et al., 1996.) Unter aeroben Bedingungen wird Pyruvat vollständig über den Citratzyklus abgebaut, während bei anaeroben Bedingungen, mit Hilfe der L-Laktatdehydrogenase und NADH +H⁺, Pyruvat zu Laktat und NAD⁺ reduziert wird. Diese Reaktion ist reversibel und steht im chemischen Gleichgewicht. L-Laktat kann aber auch aus Muskelzellen zur Leber transportiert und dort über die Glukoneogenese verstoffwechselt werden (BECK-SICKINGER und HAHN, 2002).

Hauptsächlich Bakterien und niedere Organismen bilden D-Laktat, aber auch in der Säugetierzelle kann D-Laktat entstehen. Über das Glyoxalasesystem wird Methylglyoxal über S-D-Laktoylglutathion, mit Hilfe von zwei Enzymen, Glyoxalase I und II, zu D-Laktat umgewandelt. Man findet dieses System im Zytosol von Zellen und Mitochondrien in fast jeder Lebensform. Allerdings ist die Bedeutung dieses Systems unklar und die produzierten Mengen an D-Laktat sind beim Säugetier vernachlässigbar gering (THORNALLEY, 1990). D-Laktat wird physiologischerweise im menschlichen Körper nicht in größeren Mengen gebildet, deshalb fehlt auch das spezifische Enzym D-Laktatdehydrogenase (EC: 1.1.1.28). Beim Menschen initiiert die D- α -Hydroxysäuredehydrogenase den Abbau von D-Laktat. Der Umsatz von D-Laktat durch dieses Enzym beträgt allerdings nur ein Fünftel dessen von L-Laktat. Bei einem 70 kg schweren Mann mit einer Serumkonzentration von 5-6 mEq/l sind dies ca. 2,5 mol pro Tag (OH et al., 1985). Ratten wurde in den Magen eine durchschnittliche Dosis von 12,4 mmol/kg KM^{0,75} mit ¹⁴C markiertem D-Laktat injiziert. Davon wurden 45 % zu CO₂ oxidiert und nur 0,9 % als D-Laktat und 2,4 %

als Metabolit über die Niere ausgeschieden. Im Durchschnitt wurden acht Stunden nach der Injektion 54 % des D-Laktats nicht mehr aufgefunden (GIESECKE und WALLENBERG, 1985). Neueste Erkenntnisse sprechen dafür, dass es doch ein spezifisches Enzym gibt. Beim Mensch und bei der Maus wurde cDNS festgestellt, die sehr ähnliche Proteine kodieren, wie man sie bei der D-Laktat-dehydrogenase der niederen Organismen findet (FLICK und KONIECZNY, 2002).

2.2 Laktatazidose des Menschen

2.2.1 Symptomatik

Die D-Laktatazidose äußert sich beim Menschen durch neurologische Symptome wie Ataxie, Benommenheit und Lethargie, erstmals beschrieben von OH et al. (1979). Sie tritt gehäuft bei Patienten mit einem durch eine Operation verkürzten Dünndarm auf. Dieses wird auch Short Bowel Syndrom (SBS) genannt. Es wird vermutet, dass sich durch den erhöhten Gehalt an Kohlenhydraten im Dickdarm die Darmflora ändert und diese dann vermehrt D-Laktat bildet (HOVE und MORTENSEN, 1995).

2.2.2 Fallbeispiele

In zwei von SATOH et al. (1982) beschriebenen Fälle von D-Laktatazidose bei Short Bowel Syndrom wies der Stuhl des einen Patienten eine erhöhte Konzentration (9,3 KBE/ml Faeces) an *Lactobacillus buchneri* auf. Dieser Keim produzierte nach sieben Tagen Inkubation $2,09 \cdot 10^{-10}$ mmol pro Zelle D-Laktat. Beim zweiten Fall war *Lactobacillus fermenti* IVa mit 8,9 KBE/g Faeces vermehrt. Bei diesem Keim wurde nach sieben Tagen Inkubation $3,42 \cdot 10^{-10}$ mmol D-Laktat pro Zelle gemessen. In einer weiteren Untersuchung wurde in zwei Fällen 10 bzw. 12 Stämme hauptsächlich grampositive Anaerobier, Laktobazillen, Eubakterien und Bifidobakterien in Konzentrationen von über 10^8 /g Trockenmasse aus dem Stuhl isoliert. Bei den Kontrollen konnten von diesen Spezies nur zwei bis vier Stämme über 10^8 /g trockenem Stuhl isoliert werden. Außerdem wurde bei diesen Patienten der sonst am häufigsten im Stuhl anzutreffende Keim, *Bacteroides*, nicht in Einheiten über 10^8 /g trockenem Stuhl isoliert (STOLBERG et al., 1982). In einer Langzeitstudie wurden über vier Jahre lang Stuhlproben von azidotischen und nicht azidotischen SBS-Patienten und gesunden Kontrollpersonen gesammelt und auf ihren Bakteriengehalt geprüft. Die Darmflora der SBS-Patienten bestand hauptsächlich aus Laktobazillen

(10^{10} - 10^{12} KBE/g nassen Stuhls) und *Escherichia coli* (10^8 - 10^{10} KBE/g nassen Stuhls). Es wurden auch andere Bakterien, wie *Citrobacter freundii*, Bifidobakterien, Eubakterien, Enterokokken und *Prevotella ruminicola* mit über 10^{10} KBE/g nassen Stuhls isoliert. In der Kontrollgruppe war die Anzahl an *E. coli* etwa gleich, aber die Laktobazillen mit nur 10^8 - 10^{10} KBE/g nassen Stuhls vertreten (BONGAERTS et al., 1997). Eine weitere Untersuchung zeigt, dass bei einer Stuhlprobe zwei Tage vor einem Azidoseschub die allgemeine Darmflora und die Anzahl an Anaerobiern wie Bakteroidaceae reduziert, während die Population an D-Laktat produzierenden Laktobazillen mit 40,4 % vom Gesamtkeimgehalt sehr hoch war. Außerdem wurde *Lactobacillus delbrueckii* spp. *lactis* identifiziert. Der Anteil an Bifidobakterien war mit 50,9 % auch erhöht, diese produzieren aber nur L-Laktat. Einige Zeit danach, während Beschwerdefreiheit, war die Konzentration an Laktobazillen zum Gesamtkeimgehalt der Faeces auf 14,3 % gesunken. Der Anteil an Bifidobakterien war unvermindert hoch bei 61,9 % des Gesamtkeimgehaltes. Erstaunlicherweise enthielt das Serum zwei Tage vor der azidotischen Krise nur sehr geringe Mengen an D-Laktat (0,2 mmol/l). Allerdings war in den Faeces ein Gehalt an D-Laktat von 3,91 mmol/kg festgestellt worden. Nach der akuten Azidose waren die Werte im Blut mit 0,17 mmol/l und in den Faeces mit weniger als 0,02 mmol/kg sehr gering (KANEKO et al., 1997). Eine weitere Langzeitstudie über zehn Jahre bestätigt, dass sich bei nicht unter Antibiose stehenden SBS-Patienten, die feste Nahrung zu sich nehmen, fast 60 % ihrer Darmflora aus grampositiven Stäbchen - hauptsächlich Laktobazillen - besteht (BONGAERTS et al., 2000). HUDSON et al. (1990) berichten über zwei Patienten mit D-Laktatazidose, aus deren Dünndarmaspirat jeweils die Glukose vergärende Hefe *Torulopsis glabrata* und in einem Fall auch noch *E. coli* isoliert wurden. Es wurde allerdings nicht untersucht, ob diese Keime auch D-Laktat produzieren.

2.2.3 Bildung von Laktat im Gastrointestinaltrakt

Im Dünndarm des Menschen werden von Bakterien organische Säuren wie Laktat, Propionat, Pyruvat, α -Ketoglutarat und α -Hydroxybutyrat gebildet. Diese werden durch natriumabhängige Transportmechanismen und durch nichtionische Diffusion von den Enterozyten aufgenommen, dort metabolisiert oder bei Überschuss ins Blut

abgegeben (DEETJEN und SPECKMANN, 1999). Bei gesunden Menschen übersteigt die Masse an produzierter Säure nie die Metabolisierungsrate. Es kommt so physiologischerweise nicht zur Akkumulation organischer Säuren im Blut. Die Masse an Säure, die von Bakterien produziert wird, hängt letztendlich ab von deren Anzahl, der Masse an Kohlenhydraten die ihnen zur Verfügung steht, und ob das passende Milieu lange genug besteht. Auch toxische Stoffe wie Aldehyde, Alkohole und Mercaptane können entstehen. Es werden hauptsächlich kurzkettige Fettsäuren und kaum D-Laktat gebildet (HALPERIN und KAMEL, 1996). Unter physiologischen Bedingungen gerät keine große Masse an Zucker und Stärke in das Colon des Menschen, da im Dünndarm die meisten Kohlenhydrate resorbiert werden. Gelangen aber, zum Beispiel durch eine Verkürzung des Dünndarms, vermehrt Kohlenhydrate in den Dickdarm, kann es zu einer Vermehrung von D- und L-Laktat-bildenden Bakterien kommen. So kann eine D-Laktatazidose entstehen (HOVE und MORTENSEN, 1995). Fast alle pathogenen Darmbakterien können Glucose vergären. Bei den auf die Vergärung von Glucose getesteten Erregern handelt es sich u. a. um: Shigella sonnei, EPEC, EAEC, NAG-Vibrionen, Vibrio cholerae, Aeromonas, Salmonella und Lactobacillus. Dabei sinkt der pH-Wert auf 1,3-2,61 und es entsteht immer D-Laktat. Sobald nicht Glukose, sondern Stärke als Substrat dient, wird von den Bakterien signifikant weniger Laktat und signifikant mehr Acetat gebildet (KRISHNAN et al., 1998). Auch E. coli produzieren in vitro D-Laktat. Dabei sinkt der pH-Wert des Mediums in Proportion zur Bildung von D-Laktat (MCCABE et al., 1998).

2.2.4 Entstehung einer D-Laktatazidose

In den voraus gegangenen Fallbeispielen wurde bei an D-Laktatazidose Erkrankten eine Veränderung der Darmflora festgestellt. Aber nicht alle SBS Patienten entwickeln eine D-Laktatazidose, obwohl der Gehalt an D- und L-Laktat im Stuhl erhöht sein kann (HOVE et al., 1994).

Es gibt Hinweise darauf, dass eine orale Antibiotikatherapie zu einer Vermehrung resistenter D-Laktat-produzierender Bakterien, wie Lactobacillus acidophilus, führen kann. Ein 50-jähriger Mann, der 1975 einen jejuniolealen Bypass wegen Fettleibigkeit erhalten hatte, wurde 1993 mit Ataxie, Schwäche und Sprachstörungen in eine Klinik eingeliefert. Er hatte eine vierzehntägige orale Doxycyclintherapie aufgrund einer

bakteriellen Bronchitis hinter sich. Die Untersuchung arteriellen Blutes ergab eine partiell kompensierte metabolische Azidose. Die Symptome wurden spontan besser und er wurde am nächsten Tag entlassen. Zwei Monate später traten die Symptome erneut auf. Diesmal war wieder eine antibakterielle Therapie mit Trimethoprim-Sulfamethoxazol vorgenommen worden. Die Therapie wurde abgesetzt und die Symptome verschwanden am nächsten Tag. Stuhlproben, die während dieser Zeit genommen wurden, enthielten keine coliformen Keime. Es wurde nur *Lactobacillus acidophilus* festgestellt. Dieser war gegenüber Trimethoprim-Sulfamethoxazol resistent und produzierte nach 24 Stunden Inkubation 58,3 mmol/l D-Laktat aus Glukose in einer Bakterienkultur bei einer Anzahl von 10^{11} KBE/l (CORONADO et al., 1995). Auch ein vermehrter Kohlenhydratkonsum wird als Auslöser diskutiert, da in einigen Fällen eine kohlenhydratreiche Mahlzeit einem akuten Azidoseschub vorausgegangen war (HUDSON et al., 1990). Eine erhöhte D-Laktatkonzentration in Plasma und Urin wurde bei einem Patienten festgestellt, der in einer Untersuchung drei Tage lang eine kohlenhydratreiche Diät verordnet bekam. Es traten allerdings keine klinischen Symptome auf (HOVE und MORTENSEN, 1995). Es gibt sogar Hinweise, dass Bildung und Ausscheidung von D-Laktat in einem Rhythmus geschehen, der vom Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme abhängt. So war der D-Laktatgehalt im Urin in den frühen Abendstunden am höchsten und in den Morgenstunden am niedrigsten (BONGAERTS et al., 1995). Auch der intrainestinale pH-Wert hat einen Einfluss auf die Bildung von D-Laktat. Untersucht wurde die Stuhlflora eines zehn Jahre alten Jungen mit SBS. Biochemische Analysen ergaben eine metabolische Azidose mit hohem Plasma D-Laktatgehalt (6,1 mmol/l) und normalen L-Laktat (1,02 mmol/l). Frische Stuhlproben wurden gesammelt und sofort die anaeroben und aeroben Kolonien gezählt. Diese wurden weiter gezüchtet und deren D-Laktatproduktion bei verschiedenen pH-Werten beobachtet. Der Hauptanteil an organischen Säuren im Stuhl machen D- und L-Laktat aus. Bei der Langzeitbeobachtung der Kulturen, bei verschiedenen pH-Werten, wurde beobachtet, dass bei Erhöhung des pH-Wertes von 5,0 auf 6,5 sich der Anteil kurzkettiger Fettsäuren erhöht und ab einem pH-Wert von 6,5 kein D-Laktat mehr gebildet wurde. Bei der darauf folgenden Senkung des pH-Werts auf 5, wurde wieder vermehrt D-Laktat gemessen. Auch die Zusammensetzung der Kulturen ändert sich mit dem pH-Wert. Mit zunehmenden pH-Wert sank die Anzahl der Laktobazillen (CALDARINI et al., 1996).

HUDSON et al. (1990) berichten, dass Thiaminmangel mit dazu beigetragen haben könnte, bei einem SBS-Patienten eine D-Laktatazidose auszulösen. Der Patient wurde mit länger anhaltender Übelkeit, Erbrechen und Blähungen vorgestellt. Die Untersuchung des Serums ergab einen erhöhten D-Laktatwert von 2,7 mmol/l. Nach zweiwöchiger oraler Behandlung mit Neomycin verschwanden die Symptome. Bei diesem Patienten kam es jedoch zu drei Rückfällen, bei denen jeweils keine erhöhte D-Laktatkonzentration festzustellen war. Schließlich entdeckte man eine verringerte Transketolaseaktivität, die auf Thiaminmangel schließen lässt. Nach oraler Supplementierung von Thiamin traten 15 Monate lang keine Symptome mehr auf.

2.2.5 Wirkung des D-Laktats auf den Organismus

Es ist noch nicht geklärt, weshalb es bei einer D-Laktatazidose zu neurologischen Störungen kommt. Es wird von einer Patientin berichtet, die neurologische Störungen aufwies, ohne dass man eine Azidose nachweisen konnte. Laut Vorbericht hatte sie im Alter von eineinhalb Tagen einen Volvulus, der es erforderlich machte, fast den gesamten Dünndarm zu resezieren. Im Alter von zwei Jahren und neun Monaten traten zum ersten Mal Symptome wie schwankenden Gang und Verwirrtheit auf. Zu diesem Zeitpunkt litt sie an einer Azidose, die mit einer Natriumhydrogenkarbonat-Infusion behandelt wurde. D-Laktat im Serum wurde nicht gemessen. Sechs Monate später traten erneut Symptome auf, eine Azidose lag nicht vor. Am Tag der Einlieferung waren der D-Laktatspiegel im Serum bei 11,4 mmol/l und die Anionenlücke bei 28,8 mmol/l. Die klinische Untersuchung ergab Hypotonie und Kussmaulatmung (32/min). Die Laborwerte waren wie folgt: venöser Blut pH-Wert 7,21, HCO_3^- 9 mmol/l, Plasma-L-Laktat 1,32 mmol/l, Serum-Natrium 140 mmol/l, Serum-Kalium 4,8 mmol/l, Serum-Chlorid 107 mmol/l, Serum-Kalzium 2,57 mmol/l, Plasma-Glucose 5,5 mol/l, Serum-Creatinin 35 $\mu\text{mol/l}$ und Serum-Harnstoff 4,3 mmol/l. Die Autoren vermuten, dass eine toxische Wirkung des D-Laktats im Vordergrund steht, da es auch ohne Azidose zu neurologischen Ausfällen kommen kann (GODEY et al., 2000). Einen weiteren Hinweis auf die Toxizität des D-Laktats liefert die Erkenntnis, dass die Korrektur der Azidose nicht zwangsläufig zu einer Verbesserung der neurologischen Symptome führt (HINGORANI et al., 1993). Des Weiteren scheint es eine Ähnlichkeit mit Patienten zu geben, die eine erworbene oder angeborene Störung des Pyruvathaushalts haben. Zu den erworbenen

Störungen zählen unter anderem Thiaminmangel, Ischämie und Hypoxie. Das Gehirn ist auf Glucose als Hauptenergieträger angewiesen. Ist die Pyruvatdecarboxylierung vermindert, zum Beispiel durch die Anwesenheit von D-Laktat, kommt es zu einer geringeren Produktion von Acetyl-CoA, weniger ATP steht zur Verfügung und L-Laktat sammelt sich an. Diese partielle Beeinträchtigung könnte den Anteil an Transmittersubstanzen verändern und somit die Funktion der Synapsen behindern. Wenn dem so wäre, müsste die Ausprägung der Symptome von dem Ernährungsstatus und der Anwesenheit ausreichender Kofaktoren wie Thiamin, Magnesium und Riboflavin abhängen. Ähnlich den Symptomen der gering ausgeprägten Erbkrankheit, die nur unter Stress und bei erhöhtem Bedarf an Pyruvat auftritt. Es wird auch vermutet, dass eine D-Laktatazidose eine Veränderung des Redoxsystems in der Zelle verursacht und dadurch den Pyruvat-Dehydrogenase-Komplex beeinträchtigt (CROSS und CALLAWAY, 1984).

2.2.6 Therapie der D-Laktatazidose des Menschen

In den meisten Fällen wurde eine orale Antibiose mit Vancomycin, Metronidazol oder Kanamycin erfolgreich durchgeführt (SATOH et al., 1982; STOLBERG et al., 1982; HUDSON et al., 1990). Orale Antibiose kann aber auch zu einer Verschiebung der Darmflora führen. Resistente Keime produzieren weiterhin D-Laktat und die Symptome bestehen weiter (BONGAERTS et al., 1997). In zwei Fällen wurde zusätzlich eine Reduktion der Kohlenhydratzufuhr vorgeschlagen (HUDSON et al., 1990 und GAVAZZI et al., 2001). Während einer oralen Neomycin-Therapie traten Unverträglichkeitserscheinungen auf und die Therapie musste abgebrochen werden. Der Patient war symptomfrei, aber der Plasma D-Laktatgehalt lag bei 6,9 mmol/l und die Stuhluntersuchung ergab eine hohe Anzahl an *Lactobacillus delbruekii* ($17 \cdot 10^8$ KBE/g). Dieser Keim produziert nur D-Laktat. Die Therapie wurde mit täglich zweimaliger Gabe von $6 \cdot 10^9$ KBE des nur L-Laktat produzierenden Keimes *Lactobacillus casei* subspezies *rhamnosus* erfolgreich fortgesetzt. Bei einer Nachkontrolle wurden nur 0,18 mmol/l D-Laktat im Blut gemessen (GAVAZZI et al., 2001). Eine andere erfolgreiche Therapie scheint die Haemodialyse zu sein. Mit einer vierstündigen Dialyse war es möglich, die Azidose auszugleichen, den Plasma D-Laktatgehalt zu halbieren und eine Verbesserung der neurologischen Symptome herbeizuführen (HINGORANI et al., 1993).

2.3 D-Laktatazidose des Rindes

Beim Rind ist die D-Laktatazidose vor allem im Zusammenhang mit einer akuten Pansenazidose beschrieben. Wenn ruminierende Rinder zuviel leicht fermentierbare Kohlenhydrate aufnehmen, verändert sich die Pansenflora. Der pH-Wert sinkt und die Anzahl an Protozoen und gramnegativen Bakterien wird geringer. Laktobazillen, die den pH-Wert weiter absenken, vermehren sich und lassen die Protozoen verschwinden. Durch die veränderte Pansenflora werden Kohlenhydrate hauptsächlich zu L-Laktat und D-Laktat fermentiert. Dieses wird ins Blut aufgenommen und führt zu einer D-Laktatazidose (DUNLOP und HAMMOND, 1965). Die D-Laktatkonzentration im Serum gesunder Kälber im Alter von zwei bis einundzwanzig Tagen liegt zwischen 0,04 mmol/l und 0,59 mmol/l (MARCILLAUD et al., 1999).

Neuere Untersuchungen ergaben, dass auch bei Saugkälbern eine Pansenazidose in Folge experimenteller Zwangstränkung zu einer D-Laktatazidose mit klinischer Symptomatik führen kann (GENTILE et al., 2004). In einer ähnlichen Arbeit über „Pansentrinker“ wurde festgestellt, dass einige Kälber mit sauerem Panseninhalt erhöhte D-Laktatwerte im Blut aufwiesen. Aber auch einige Kälber, die keine Pansenazidose hatten, an Neugeborenenenddurchfall litten und eine Blutazidose hatten, zeigten erhöhte D-Laktatwerte im Serum (>3 mmol/l) (GRUDE, 2003). Auch bei Durchfallkälbern kann es zu einer signifikant höheren Konzentration an DL-, L- und D-Laktat im Serum im Vergleich zu Gesunden kommen. Die Werte bei Durchfallkälbern lagen bei DL-Laktat $8,9 \pm 5,1$ mmol/l, D-Laktat $5,2 (\pm 5,7)$ mmol/l und L-laktat $4,1 (\pm 3,4)$ mmol/l gegenüber gesunden Kälbern mit DL-Laktat bei $1,7 (\pm 1,2)$ mmol/l. D-Laktat war nicht quantifizierbar und die L-Laktatkonzentration lag bei $2,0 (\pm 1,1)$ mmol/l. Auch im Kot wurde eine signifikante Erhöhung an D-Laktat und L-Laktat gegenüber Gesunden festgestellt (OMOLE et al., 2001). Allerdings konnte auch eine genauere Untersuchung die Herkunft des D-Laktats (aus dem Pansen oder aus dem Darmtrakt) nicht eindeutig klären (EWASCHUK et al., 2004 a).

Pathologische klinische Befunde von Haltung und Verhalten bei Kälbern mit Neugeborenenenddurchfall, die bisher der metabolischen Azidose zugeschrieben wurden, sind nicht durch das Basendefizit an sich, sondern durch erhöhte D-Laktat-Konzentrationen im Blut der Kälber zu erklären. Mit dem Absinken der D-Laktatwerte im Blut verschwinden auch die klinischen Symptome. Hohe D-Laktat-

Konzentrationen im Blut haben auch keinen Einfluss auf die Prognose (LORENZ und GENTILE, 2003).

Kälber mit einer D-Laktatämie (>6 mmol/l) zeigen Somnolenz und Ataxie, verharren in unphysiologischer Körperhaltung, stehen regungslos oder leicht schwankend mit gesenktem Kopf. Der Lidreflex ist verzögert zum Teil sogar aufgehoben. Der Saugreflex ist jedoch nicht negativ beeinflusst. Diese Symptomatik konnte durch intravenöse Verabreichung von Natrium-D-Laktat reproduziert werden (LORENZ, 2003). Ausfälle des Saugreflexes sind nach LORENZ (2004) stärker mit dem Basenexzess und Dehydratation als mit der D-Laktatkonzentration im Serum korreliert. Dagegen werden Störungen des Lidreflexes fast ausschließlich durch eine Erhöhung der D-Laktatwerte hervorgerufen. Die höchste D-Laktatkonzentration, bei der noch physiologische Haltung, Verhalten und Lidreflex vorhanden war, lag bei 7,2 mmol/l.

2.4 D-Laktatazidose bei anderen Tierarten

Den Verdacht, dass organische Säuren auch bei mit caninem Parvovirus infizierten Welpen mit Durchfall eine Rolle bei deren Azidose spielen, wurde von NAPPERT et al. (2002) nicht bestätigt. Welpen mit Enteritis hatten im Vergleich mit einer Kontrollgruppe eine signifikant größere Anionenlücke und eine niedrigere Konzentration an Natrium, Kalium und Chlorid im Serum. Der Gehalt an L-Laktat im Serum von erkrankten Welpen war leicht erhöht und die D-Laktatkonzentration tendenziell sogar verringert.

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Material und Methode

Patienten

In der Zeit vom 01.06.2004 bis zum 30.4.2005 wurden in der Klinik für Wiederkäuer der LMU 37 Kälbern, die euthanasiert werden mussten, in die Untersuchung mit einbezogen. Die Kälber waren zwischen 1 und 23 Tage alt. Sie wurden in zwei Gruppen aufgeteilt, eine Gruppe mit Neugeborenenenddurchfall (n = 26) und eine Kontrollgruppe ohne Durchfall (n = 11). Durchfall wurde definiert als dünnbreiiger Kot (Kot der auf der Hand durch die Finger fließt) oder Kot von noch dünnerer Konsistenz.

Probenentnahme

Die Kälber wurden vor der Euthanasie und Probenentnahme in der rechten Flanke und am Spatium lumbosakrale geschoren.

Unmittelbar vor der Euthanasie erfolgte eine Blutentnahme (Vollblut und Lithiumheparinat) aus der Vena jugularis.

Nach dem durch Auskultation festgestelltem Herzstillstand erfolgte die Liquorentnahme am in Seitenlage liegenden Kalb im Spatium lumbosakrale. Das Kalb wurde in der rechten Flanke eröffnet, die inneren Organe vorgelagert und aus den einzelnen Abschnitten, sofern es die Menge des Organinhalts erlaubte, mit einer 20 ml Spritze und einer Kanüle der Stärke 2,1×60mm Probenmaterial aspiriert. Folgende Organe wurden beprobt: Pansen (Pa), Labmagen (Lm) und Duodenum (Dd), drei Proben aus dem Jejunum: der orale Anteil (J1), der mittlere (J2) und in der Nähe der halbinselförmigen Stelle (J3). Des Weiteren aus dem Blinddarm (Bd), der ersten und zweiten Hälfte des Colon (C1, C2), aus dem Rektum (Rek) und aus der Harnblase (Hrn).

Probenbearbeitung

Aus dem mit Lithiumheparinat stabilisierten Blut wurde eine Blutgasanalyse erstellt (Bloodgas System 855 Corning; Ciba Corning Diagnostics Corp., Medfield, MA, USA). Aus den Aspiraten wurden umgehend Ausstriche angefertigt. Diese wurden

luftgetrocknet, hitzefixiert und nach Gram gefärbt. Die Proben wurden zentrifugiert und aus den Überständen die D- und L-Laktatkonzentration mit Hilfe des Automatik Analyser Hitachi 705, Hitachi, Tokio, Japan bestimmt. L-Laktat wurde mit dem spezifischen Enzym Laktatoxidase zu Pyruvat oxidiert (Diagnostikset: Laktat, 1822837, Roche-Diagnostics). D-Laktat wurde mit Hilfe der D-Laktatdehydrogenase, welche NAD reduziert, spektrometrisch (340 nm) bestimmt (LORENZ et al., 2003). Die Probennahme dauerte ca. 7 min. Nach ca. weiteren 15 min wurden die Werte bestimmt.

Zum Schluss wurde aus dem Probenrest der pH-Wert mit einem elektronischen pH-Meter gemessen (testo 230-pH-Meter, Testo GmbH & Co., Lenzkirchen). Wenn zu wenig Material vorhanden war, wurde der pH-Wert mit Teststreifen gemessen (Genauigkeit 0,1).

Mikroskopische Beurteilung der Ausstriche

Die Ausstriche wurden mit Öl unter 1000-facher Vergrößerung mikroskopisch untersucht. Dabei wurden mehrere Gesichtsfelder beurteilt.

Es wurde die Morphologie und die Anfärbbarkeit der Bakterien bestimmt und wie folgt unterschieden:

grampositive Hefen, Kokken, lange Stäbe, plumpe Stäbe

gramnegative coliforme Stäbe, Kokken, lange Stäbe, zarte Stäbe

Die Anzahl in den jeweiligen Gruppen wurde semiquantitativ beurteilt.

Die Einteilung erfolgte in Grade von 0 bis 4:

0= keine Bakterien

1= vereinzelt Bakterien

2= häufig Bakterien

3= sehr häufig Bakterien

4= massenhaft Bakterien

Bei der semiquantitativen Beurteilung der Ausstriche wurden alle Befunde über 1 (vereinzelte Bakterien) als bemerkenswert gewertet, da eine geringe Besiedelung des Verdauungsapparates erwartet werden kann.

Fragestellungen

Ziel dieser Arbeit war es zu klären, woher das D-Laktat stammt, das man bei Kälbern mit Neugeborenenendurchfall häufig im Blut findet. Außerdem sollte geklärt werden ob eine einzelne Bakterienart alleine dafür verantwortlich sein kann.

Statistik

Für die statistische Auswertung wurde das Computerprogramm SPSS (SPSS Incorporation, V12.0.1, deutsch) benutzt. Zur Anwendung kamen der Chi-Quadrat-Test (exakter Test nach Fischer) und der Whitney-Mann-U-Test. Es wurde ein Signifikanzniveau von $\alpha = 5 \%$ gewählt. Die Korrelationen wurden nach Pearson berechnet.

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Überblick

Von den 26 Kälbern mit Neugeborenendurchfall hatten sieben Kälber mehr als 3 mmol/l D-Laktat im Serum, während von den elf Kälbern ohne Durchfall nur ein einziges Kalb einen D-Laktatspiegel im Serum über 3 mmol/l aufwies, wie aus Tabelle 1 ersichtlich.

Tab. 1: Anzahl an Kälbern mit erhöhter D-Laktatkonzentration im Serum, bezogen auf Neugeborenendurchfall

	Kälber mit Durchfall	Kälber ohne Durchfall
D-Laktatkonzentration > 3 mmol/l im Serum	7	1
D-Laktatkonzentration ≤ 3 mmol/l im Serum	19	10

Dieses eine Kalb hatte eine Kochsalzvergiftung und musste deshalb euthanasiert werden. Es wurden weder eine Vermehrung der Bakterienpopulation noch eine erhöhte (> 3 mmol/l) D-Laktatkonzentration in den einzelnen Abschnitten des Verdauungsapparates festgestellt. Allein im Harn konnte eine D-Laktatkonzentration von 28,95 mmol/l und im Serum von 7,68 mmol/l gemessen werden.

Von den sieben Kälbern mit einer D-Laktatkonzentration über 3 mmol/l im Serum wurde, soweit Proben gewonnen werden konnten, auch in fast allen Abschnitten des Verdauungsapparates über 3 mmol/l D-Laktat gemessen. Diese waren auch (mit Ausnahme des Duodenums) von Bakterien überwuchert. Dabei handelte es sich hauptsächlich, wie in Tabelle 2 zu sehen, um plumpe, grampositive Stäbe und lange, grampositive Stäbe (wie z.B. Clostridien und Laktobazillen). Auch Hefen traten gehäuft auf.

Tab. 2: Ergebnisse von sieben Kälbern mit Durchfall und mehr als 3 mmol/l D-Laktat im Serum. Spalte 2 zeigt den Teil an Kälbern davon mit mehr als 3 mmol/l D-Laktat in dem jeweiligen Abschnitt des Verdauungsapparates. Spalte 3 zeigt die Anzahl an Kälbern bei denen häufiger als „vereinzelt“ die jeweiligen Bakterien auftreten.

	Anzahl an Kälbern mit > 3 mmol/l D-Laktat im jeweiligen Abschnitt	Anzahl an Kälbern bei denen häufiger als nur „vereinzelt“ die jeweilige Bakterienart gefunden wurde						
		+Kokk	+pl.Stäb	+l.Stäb	+Hefen	-z.Stäb	-Kokk	-col.Stäb
Pa	5 von 6 (1 fehlt)		1	4		2	1	
Lm	6 von 6 (1 fehlt)	1	1	5	1			
Dd	4 von 4 (3 fehl.)			2			1	
JJ1	6 von 6 (1 fehlt)		2	4	1	1	1	
JJ2	5 von 6 (1 fehlt)		3	3	1			
JJ3	5 von 6 (1 fehlt)	1	4	3	1			
Bd	6 von 7		3	5			1	
C1	6 von 6 (1 fehlt)		2	5				1
C2	5 von 6 (1 fehlt)		2	5				1
Rek	5 von 5 (2 fehl.)		2	3	1			2

Im Gegensatz dazu stehen die elf Kälber ohne Durchfall von denen zehn bis zu 3 mmol/l D-Laktat im Blut aufwiesen. Aus Tabelle 3 geht hervor, dass die Proben, die aus deren Verdauungsapparat genommen werden konnten, kaum D-Laktat aufwiesen. In dieser Gruppe traten auch deutlich weniger Kälber auf, deren Verdauungsapparat eine große Anzahl an Bakterienpopulationen beherbergte, mit Ausnahme des Blinddarms.

Tab. 3: Ergebnisse von zehn Kälbern ohne Durchfall und bis zu 3 mmol/l D-Laktat im Serum. Spalte 2 zeigt den Teil an Kälbern mit D-Laktat bis zu 3 mmol/l in dem jeweiligen Abschnitt des Verdauungsapparates. Spalte 3 zeigt die Anzahl an Kälbern bei denen häufiger als „vereinzelt“ die jeweiligen Bakterien auftreten.

	Anzahl an Kälbern mit ≤ 3 mmol/l D-Laktat im jeweiligen Abschnitt	Anzahl an Kälbern bei denen häufiger als nur „vereinzelt“ die jeweilige Bakterienart gefunden wurde						
		+Kokk	+pl.Stäb	+l.Stäb	+Hefen	-z.Stäb	-Kokk	-col.Stäb
Pa	8 von 9 (1 fehl.)	1	2				3	1
Lm	8 von 9 (1 fehl.)							
Dd	5 von 7 (3 fehl.)	2						
JJ1	7 von 8 (2 fehl.)		2					
JJ2	8 von 8 (2 fehl.)							
JJ3	6 von 6 (4 fehl.)	1	2	1				
Bd	5 von 6 (4 fehl.)	4	5	3				
C1	2 von 3 (7 fehl.)		1					1
C2	2 von 2 (8 fehl.)	1	1					
Rek	1 von 2 (8 fehl.)		1					

Von den 19 Durchfallkälbern mit einer D-Laktatkonzentration im Serum ≤ 3 mmol/l wiesen jeweils ca. die Hälfte der Kälber, im Pansen und Labmagen, eine D-Laktatkonzentration von über 3 mmol/l auf. Dort hatte auch eine größere Anzahl an Kälbern vermehrt plumpe, grampositive Stäbe und lange, grampositive Stäbe. Einige Kälber wiesen auch im Blinddarm vermehrt Bakterienpopulationen auf. Allerdings war die Anzahl derer, die D-Laktatwerte im Blinddarm über 3 mmol/l hatten, wie aus Tabelle 4 ersichtlich unter einem Drittel.

Tab. 4: Ergebnisse von 19 Kälbern mit Durchfall und bis zu 3 mmol/l D-Laktat im Serum. Spalte 2 zeigt den Teil an Kälbern davon mit mehr als 3 mmol/l D-Laktat in dem jeweiligen Abschnitt des Verdauungsapparates. Spalte 3 zeigt die Anzahl an Kälbern bei denen häufiger als „vereinzelt“ die jeweiligen Bakterien auftreten.

	Anzahl an Kälbern mit > 3 mmol/l D-Laktat im jeweiligen Abschnitt	Anzahl an Kälbern bei denen häufiger als nur „vereinzelt“ die jeweilige Bakterienart gefunden wurde						
		+Kokk	+pl.Stäb	+l.Stäb	+Hefen	-z.Stäb	-Kokk	-col.Stäb
Pa	6 von 13 (6 fehl.)	1	4		1			2
Lm	10 von 18 (1 fehl.)		3	3		1	1	
Dd	5 von 14 (5 fehl.)	1		1				
JJ1	6 von 16 (3 fehl.)			1				
JJ2	3 von 19			1	1			
JJ3	1 von 15 (4 fehl.)							
Bd	5 von 17 (2 fehl.)		3	2				2
C1	3 von 15 (4 fehl.)	1	1	2			1	
C2	3 von 15 (4 fehl.)	1	1	1				1
Rek	1 von 7 (12 fehl.)							

3.2.2 pH-Werte des Verdauungsapparates

In den einzelnen Darmabschnitten wurde der pH-Wert gemessen. Die Mittelwerte der pH-Werte der einzelnen Gruppen weisen einen geringen Unterschied auf. In Tabelle 5, 6 und 7 sind die pH-Werte der einzelnen Gruppen zusammengefasst.

Tab. 5: pH-Werte der einzelnen Abschnitte des Verdauungsapparates bei sieben Kälbern mit Durchfall und Serum-D-Laktat > 3 mmol/l.

Abschnitt	Min.	Mittel*	Max.
Pa	4,3	4,9	5,8
Lm	3,0	3,9	5,2
Dd	5,1	5,3	5,7
JJ1	5,5	5,9	6,7
JJ2	6,3	6,7	7,3
JJ3	5,3	5,9	7,6
Bd	5,9	6,2	7,4
C1	5,7	6,3	7,5
C2	5,9	6,2	7,1
Rek	5,9	6,5	7,4

* Negativer dekadischer Logarithmus des arithmetischen Mittels der molaren Protonenkonzentration.

Tab. 6: pH-Werte der einzelnen Abschnitte des Verdauungsapparates bei zehn Kälbern ohne Durchfall und Serum-D-Laktat ≤ 3 mmol/l.

Abschnitt	Min.	Mittel*	Max.
Pa	4,1	4,8	7,3
Lm	2,7	3,5	5,2
Dd	4,9	5,3	8,3
JJ1	4,9	5,6	8,3
JJ2	6,4	7,0	7,5
JJ3	6,1	6,6	7,9
Bd	5,2	5,4	7,5
C1	6,9	7,4	8,1
C2	6,9	5,6	7,4
Rek	nur ein Wert : 7,0		

* Negativer dekadischer Logarithmus des arithmetischen Mittels der molaren Protonenkonzentration.

Tab. 7: pH-Werte der einzelnen Abschnitte des Verdauungsapparates bei 19 Kälbern mit Durchfall und Serum-D-Laktat ≤ 3 mmol/l

Abschnitt	Min.	Mittel*	Max.
Pa	4,3	4,9	5,8
Lm	3,1	2,4	5,2
Dd	5,1	4,8	5,7
JJ1	5,5	5,1	6,7
JJ2	6,3	6,1	7,3
JJ3	5,3	6,9	7,6
Bd	5,9	6,5	7,4
C1	5,7	6,5	7,5
C2	5,9	6,4	7,1
Rek	5,9	7,0	7,4

* Negativer dekadischer Logarithmus des arithmetischen Mittels der molaren Protonenkonzentration.

3.2.3 Bakterienstämme bei Kälbern mit und ohne Durchfall

Die Auswertung der Bakterienbestimmung zeigt, dass nur wenige signifikante Unterschiede der Bakterienstämme zwischen Kälbern mit und ohne Durchfall festzustellen sind. (Tabb. 8-17).

Tab. 8: Signifikanzniveau (p) des Unterschieds von erhöhten und nicht erhöhten Bakterienpopulationen zwischen Durchfallkälbern und Kälbern der Kontrollgruppe im **Pansen**

Pansen		Bakterien ≤ 1	Bakterien > 1	p
+Kokk	Durchfall	18	3	0,358
	kein Durchfall	7	3	
+pl.Stäb	Durchfall	10	11	0,280
	kein Durchfall	7	3	
+l.Stäb	Durchfall	21	0	0,097
	kein Durchfall	8	2	
+Hefen	Durchfall	17	4	0,277
	kein Durchfall	10	0	
-col.Stäb	Durchfall	17	4	1,000
	kein Durchfall	9	1	
-Kokk	Durchfall	20	1	0,087
	kein Durchfall	7	3	
-z.Stäb	Durchfall	20	1	1,000
	kein Durchfall	9	1	
-l.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			

Wie in Tabelle 9 zu sehen besteht ein signifikanter Unterschied zwischen Kälbern mit und ohne Durchfall bei der Anzahl an grampositiven, langen Stäben im Labmagen. In der Kontrollgruppe hatte kein Kalb mehr Bakterien als „gelegentlich“ (1) im Labmagen, während bei den Durchfallkälbern über ein Drittel eine erhöhte (>1) Bakterienpopulation von grampositiven langen Stäben aufwies.

Tab. 9: Signifikanzniveau (p) des Unterschieds von erhöhten und nicht erhöhten Bakterienpopulationen zwischen Durchfallkälbern und Kälbern der Kontrollgruppe im **Labmagen**

Labmagen		Bakterien ≤1	Bakterien >1	p
+Kokk	Durchfall	23	3	0,538
	kein Durchfall	13	0	
+pl.Stäb	Durchfall	19	7	0,073
	kein Durchfall	13	0	
+l.Stäb	Durchfall	18	8	0,035*#
	kein Durchfall	13	0	
+Hefen	Durchfall	24	2	0,544
	kein Durchfall	13	0	
-col.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			
-Kokk	Durchfall	25	1	1,000
	kein Durchfall	13	0	
-z.Stäb	Durchfall	25	1	1,000
	kein Durchfall	12	0	
-l.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			

*statistisch signifikant

Nach Bonferoni Korrektur 0,00875 immer noch signifikant

Tab. 10: Signifikanzniveau (p) des Unterschieds von erhöhten und nicht erhöhten Bakterienpopulationen zwischen Durchfallkälbern und Kälbern der Kontrollgruppe im **Duodenum**

Duodenum		Bakterien ≤ 1	Bakterien > 1	p
+Kokk	Durchfall	19	2	0,112
	kein Durchfall	5	3	
+pl.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			
+l.Stäb	Durchfall	18	3	0,540
	kein Durchfall	8	0	
+Hefen	Durchfall	0		
	kein Durchfall			
-col.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			
-Kokk	Durchfall	20	1	1,000
	kein Durchfall	8	0	
-z.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			
-l.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			

Im Duodenum und Jejunum 1-3 sind die Unterschiede nicht signifikant, aber bis auf ein Kalb hatten nur Durchfallkälber vermehrt grampositive, lange Stäbe in diesen Abschnitten (Tabb. 10-13).

Tab. 11: Signifikanzniveau (p) des Unterschieds von erhöhten und nicht erhöhten Bakterienpopulationen zwischen Durchfallkälbern und Kälbern der Kontrollgruppe im **Jejunum 1**

Jejunum 1		Bakterien ≤ 1	Bakterien > 1	p
+Kokk	Durchfall	0		
	kein Durchfall			
+pl.Stäb	Durchfall	20	2	0,238
	kein Durchfall	5	2	
+l.Stäb	Durchfall	16	6	0,289
	kein Durchfall	7	0	
+Hefen	Durchfall	21	2	1,000
	kein Durchfall	7	0	
-col.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			
-Kokk	Durchfall	21	1	1,000
	kein Durchfall	7	0	
-z.Stäb	Durchfall	21	1	1,000
	kein Durchfall	7	0	
-l.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			

Tab. 12: Signifikanzniveau (p) des Unterschieds von erhöhten und nicht erhöhten Bakterienpopulationen zwischen Durchfallkälbern und Kälbern der Kontrollgruppe im **Jejunum 2**

Jejunum 2		Bakterien ≤ 1	Bakterien > 1	p
+Kokk	Durchfall	25	1	1,000
	kein Durchfall	10	0	
+pl.Stäb	Durchfall	21	5	0,293
	kein Durchfall	10	0	
+l.Stäb	Durchfall	21	5	0,293
	kein Durchfall	10	0	
+Hefen	Durchfall	25	1	1,000
	kein Durchfall	10	0	
-col.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			
-Kokk	Durchfall	24	1	1,000
	kein Durchfall	10	0	
-z.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			
-l.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			

Tab. 13: Signifikanzniveau (p) des Unterschieds von erhöhten und nicht erhöhten Bakterienpopulationen zwischen Durchfallkälbern und Kälbern der Kontrollgruppe im **Jejunum 3**

Jejunum 3		Bakterien ≤ 1	Bakterien > 1	p
+Kokk	Durchfall	20	2	1,000
	kein Durchfall	9	1	
+pl.Stäb	Durchfall	16	6	1,000
	kein Durchfall	8	2	
+l.Stäb	Durchfall	18	4	1,000
	kein Durchfall	9	1	
+Hefen	Durchfall	20	2	1,000
	kein Durchfall	10	0	
-col.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			
-Kokk	Durchfall	0		
	kein Durchfall			
-z.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			
-l.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			

Im Blinddarm dagegen, haben signifikant mehr Kälber mit Durchfall eine geringere Zahl grampositiver Kokken (Tab. 14).

Tab. 14: Signifikanzniveau (p) des Unterschieds von erhöhten und nicht erhöhten Bakterienpopulationen zwischen Durchfallkälbern und Kälbern der Kontrollgruppe im **Blinddarm**

Blinddarm		Bakterien ≤1	Bakterien >1	p
+Kokk	Durchfall	22	4	0,045*
	kein Durchfall	6	6	
+pl.Stäb	Durchfall	15	11	0,295
	kein Durchfall	4	8	
+l.Stäb	Durchfall	19	7	0,460
	kein Durchfall	7	5	
+Hefen	Durchfall	0		
	kein Durchfall			
-col.Stäb	Durchfall	21	5	0,158
	kein Durchfall	12	0	
-Kokk	Durchfall	20	6	1,000
	kein Durchfall	8	3	
-z.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			
-l.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			

* statistisch signifikant

Tab. 15: Signifikanzniveau (p) des Unterschieds von erhöhten und nicht erhöhten Bakterienpopulationen zwischen Durchfallkälbern und Kälbern der Kontrollgruppe im **Colon 1**

Colon 1		Bakterien ≤ 1	Bakterien > 1	p
+Kokk	Durchfall	19	4	1,000
	kein Durchfall	5	1	
+pl.Stäb	Durchfall	19	4	0,575
	kein Durchfall	4	2	
+l.Stäb	Durchfall	15	6	0,633
	kein Durchfall	4	0	
+Hefen	Durchfall	0		
	kein Durchfall			
-col.Stäb	Durchfall	17	5	0,553
	kein Durchfall	6	0	
-Kokk	Durchfall	20	3	1,000
	kein Durchfall	6	0	
-z.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			
-l.Stäb	Durchfall	23	0	0,207
	kein Durchfall	5	1	

Tab. 16: Signifikanzniveau (p) des Unterschieds von erhöhten und nicht erhöhten Bakterienpopulationen zwischen Durchfallkälbern und Kälbern der Kontrollgruppe im **Colon 2**

Colon 2		Bakterien ≤ 1	Bakterien > 1	p
+Kokk	Durchfall	16	4	0,059
	kein Durchfall	1	3	
+pl.Stäb	Durchfall	15	5	1,000
	kein Durchfall	3	1	
+l.Stäb	Durchfall	15	6	0,540
	kein Durchfall	4	0	
+Hefen	Durchfall	19	1	1,000
	kein Durchfall	4	0	
-col.Stäb	Durchfall	13	7	0,283
	kein Durchfall	4	0	
-Kokk	Durchfall	17	3	1,000
	kein Durchfall	4	0	
-z.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			
-l.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			

Ab dem Blinddarm zeigt sich eine Mischung aus allen Bakterienpopulationen, wobei Durchfallkälber dazu neigen, mehr grampositive, lange und plumpe, Stäbe zu beherbergen als die Kontrollgruppe. Dies ist allerdings statistisch nicht signifikant (Tabb. 14-17).

Tab. 17: Signifikanzniveau (p) des Unterschieds von erhöhten und nicht erhöhten Bakterienpopulationen zwischen Durchfallkälbern und Kälbern der Kontrollgruppe im **Rektum**

Rektum		Bakterien ≤ 1	Bakterien > 1	p
+Kokk	Durchfall	15	3	0,597
	kein Durchfall	5	2	
+pl.Stäb	Durchfall	11	7	1,000
	kein Durchfall	5	2	
+l.Stäb	Durchfall	13	5	0,274
	kein Durchfall	7	0	
+Hefen	Durchfall	17	1	1,000
	kein Durchfall	7	0	
-col.Stäb	Durchfall	13	5	1,000
	kein Durchfall	5	2	
-Kokk	Durchfall	15	4	0,546
	kein Durchfall	7	0	
-z.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			
-l.Stäb	Durchfall	0		
	kein Durchfall			

3.2.4 D-Laktatkonzentrationen in den einzelnen Abschnitten des Verdauungsapparates bei Kälbern mit und ohne Durchfall

Bei der Auswertung der D-Laktatkonzentrationen in den einzelnen Abschnitten konnte keine Signifikanz des Unterschieds zwischen Kälbern mit und ohne Durchfall festgestellt werden, wie in den folgenden Tabellen 18-30 ersichtlich ist. Allerdings sind bei allen D-Laktatwerten in den einzelnen Abschnitten des Verdauungsapparates die Höchstwerte immer bei den Durchfallkälbern zu finden.

Bei einem Durchfallkalb wurde im Pansen der höchste Wert mit 68,5 mmol/l D-Laktat gemessen, wobei bei diesem Kalb nur eine Serumkonzentration von 2,37 mmol/l D-Laktat festgestellt wurde. Es befanden sich im Pansen jedoch „sehr häufig“ (3) grampositive, plumpe Stäbe.

Tab. 18: Durchschnittliche D-Laktatkonzentrationen (mmol/l) im **Pansen** und das Signifikanzniveau (p) des Unterschiedes bei Kälbern mit und ohne Durchfall

Pansen	n	Median	Minimum	Maximum	p
kein Durchfall	10	0,8	0	19,0	0,218
Durchfall	20	7,1	0	68,5	

Tab. 19: Durchschnittliche D-Laktatkonzentrationen (mmol/l) im **Labmagen** und das Signifikanzniveau (p) des Unterschiedes bei Kälbern mit und ohne Durchfall

Labmagen	n	Median	Minimum	Maximum	p
kein Durchfall	12	1,2	0,1	22,4	0,069
Durchfall	25	5,2	0	30,3	

Bei einem Kalb ohne Durchfall mit 22,4 mmol/l D-Laktat im Labmagen wurde eine „häufige“ (2) Bakterienpopulation von langen, grampositiven Stäben festgestellt. Bei einem Durchfallkalb mit 30,3 mmol D-Laktat im Labmagen kamen diese Bakterien sogar „sehr häufig“ (3) vor. Im Duodenum und Jejunum 1 sind die maximalen D-Laktatwerte bei Kälbern mit und ohne Durchfall geringer als in den proximal gelegenen Abschnitten (siehe Tab. 20 und 21).

Tab. 20: Durchschnittliche D-Laktatkonzentrationen (mmol/l) im **Duodenum** und das Signifikanzniveau (p) des Unterschiedes bei Kälbern mit und ohne Durchfall

Duodenum	n	Median	Minimum	Maximum	p
kein Durchfall	8	1,7	0,2	5,8	0,288
Durchfall	19	2,4	0,1	14,1	

Tab. 21: Durchschnittliche D-Laktatkonzentrationen (mmol/l) im **Jejunum 1** und das Signifikanzniveau (p) des Unterschiedes bei Kälbern mit und ohne Durchfall

Jejunum 1	n	Median	Minimum	Maximum	p
kein Durchfall	10	0,9	0	4,0	0,084
Durchfall	22	3,1	0	13,0	

Ab dem Jejunum 2 werden die Maximalwerte wieder größer. Allerdings ist auch dort der Unterschied zwischen Kälbern mit und ohne Durchfall nicht signifikant.

Tab. 22: Durchschnittliche D-Laktatkonzentrationen (mmol/l) im **Jejunum 2** und das Signifikanzniveau (p) des Unterschiedes bei Kälbern mit und ohne Durchfall

Jejunum 2	n	Median	Minimum	Maximum	p
kein Durchfall	11	0,2	0	19,0	0,068
Durchfall	26	1,2	0	35,6	

Tab. 23: Durchschnittliche D-Laktatkonzentrationen (mmol/l) im **Jejunum 3** und das Signifikanzniveau (p) des Unterschiedes bei Kälbern mit und ohne Durchfall

Jejunum 3	n	Median	Minimum	Maximum	p
kein Durchfall	8	0,77	0	15,0	0,396
Durchfall	22	1,1	0	39,0	

Tab. 24: Durchschnittliche D-Laktatkonzentrationen (mmol/l) im **Blinddarm** und das Signifikanzniveau (p) des Unterschiedes bei Kälbern mit und ohne Durchfall

Blinddarm	n	Median	Minimum	Maximum	p
kein Durchfall	8	0,9	0	33,8	0,644
Durchfall	25	1,9	0	43,7	

Tab. 25: Durchschnittliche D-Laktatkonzentrationen (mmol/l) im **Colon 1** und das Signifikanzniveau (p) des Unterschiedes bei Kälbern mit und ohne Durchfall

Colon 1	n	Median	Minimum	Maximum	p
kein Durchfall	4	4,8	0,6	33,1	0,767
Durchfall	21	2,1	0	42,5	

Tab. 26: Durchschnittliche D-Laktatkonzentrationen (mmol/l) im **Colon 2** und das Signifikanzniveau (p) des Unterschiedes bei Kälbern mit und ohne Durchfall

Colon 2	n	Median	Minimum	Maximum	p
kein Durchfall	3	0,6	0,1	9,8	0,759
Durchfall	21	2,0	0	40,6	

Tab. 27: Durchschnittliche D-Laktatkonzentrationen (mmol/l) im **Rektum** und das Signifikanzniveau (p) des Unterschiedes bei Kälbern mit und ohne Durchfall

Rektum	n	Median	Minimum	Maximum	p
kein Durchfall	3	6,6	0	7,5	0,788
Durchfall	13	3,7	0	45,5	

Die maximalen D-Laktatkonzentrationen im Harn (Tab. 28) sind bei Kälbern mit und ohne Durchfall sehr hoch, wobei ein Kalb ohne Durchfall den höchsten Wert (29 mmol/l) aufweist, ein Kalb mit Durchfall nur 23,8 mmol/l.

Tab. 28: Durchschnittliche D-Laktatkonzentrationen (mmol/l) im **Harn** und das Signifikanzniveau (p) des Unterschiedes bei Kälbern mit und ohne Durchfall

Harn	n	Median	Minimum	Maximum	p
kein Durchfall	11	0,2	0	29,0	0,606
Durchfall	26	0,9	0	23,8	

Tab. 29: Durchschnittliche D-Laktatkonzentrationen (mmol/l) im **Liquor** und das Signifikanzniveau (p) des Unterschiedes bei Kälbern mit und ohne Durchfall

Liquor	n	Median	Minimum	Maximum	p
kein Durchfall	12	0,1	0	6,7	0,718
Durchfall	26	0,3	0	10,0	

Die D-Laktatkonzentrationen in Serum und Liquor zeigen ein niedrigeres Niveau als im Verdauungsapparat. Hierbei ist der Unterschied zwischen Kälbern mit und ohne Durchfall sehr gering (Tabb. 29 und 30).

Tab. 30: Durchschnittliche D-Laktatkonzentrationen (mmol/l) im **Serum** und das Signifikanzniveau (p) des Unterschiedes bei Kälbern mit und ohne Durchfall

Serum	n	Median	Minimum	Maximum	p
kein Durchfall	11	0,5	0,1	7,7	0,572
Durchfall	26	0,6	0,1	10,6	

Die folgenden Abbildungen verdeutlichen die D-Laktatkonzentrationen der einzelnen Darmabschnitte.

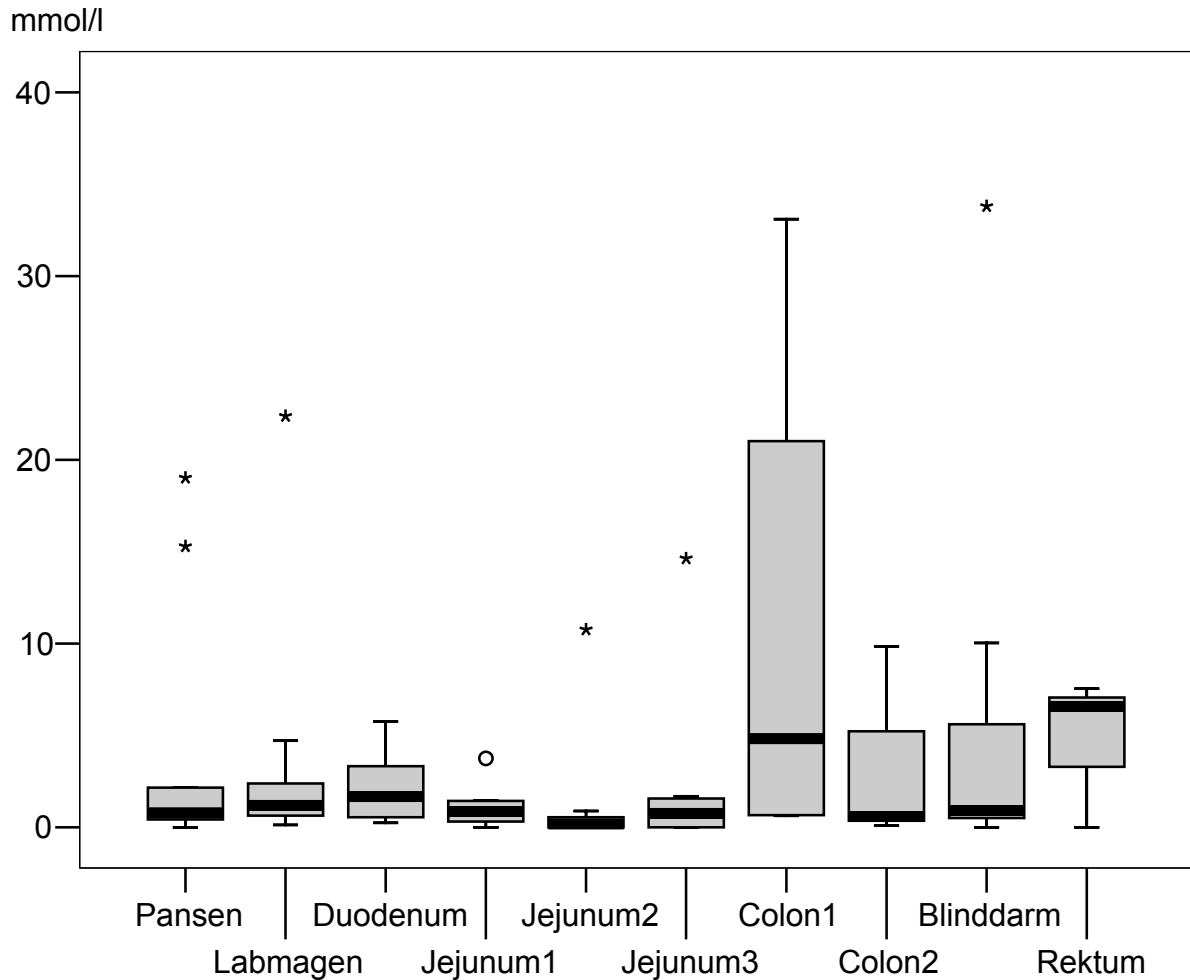


Abb. 1: D-Laktatkonzentrationen in den einzelnen Abschnitten des Magen-Darm-Traktes bei Kälbern ohne Durchfall (Median, Quartile* und Extremwerte**).

*Die Box enthält 50 % der Werte.

**Werte außerhalb von 1,5 Interquartilbereichen ab der Oberkante wurden mit Symbolen dargestellt.

Der sehr hohe Wert im oralen Abschnitt des Colons, kommt durch ein Kalb zustande, welches noch keinen klinischen Durchfall am Tag der Euthanasie zeigte, aber im Colon bereits Durchfallkot enthielt.

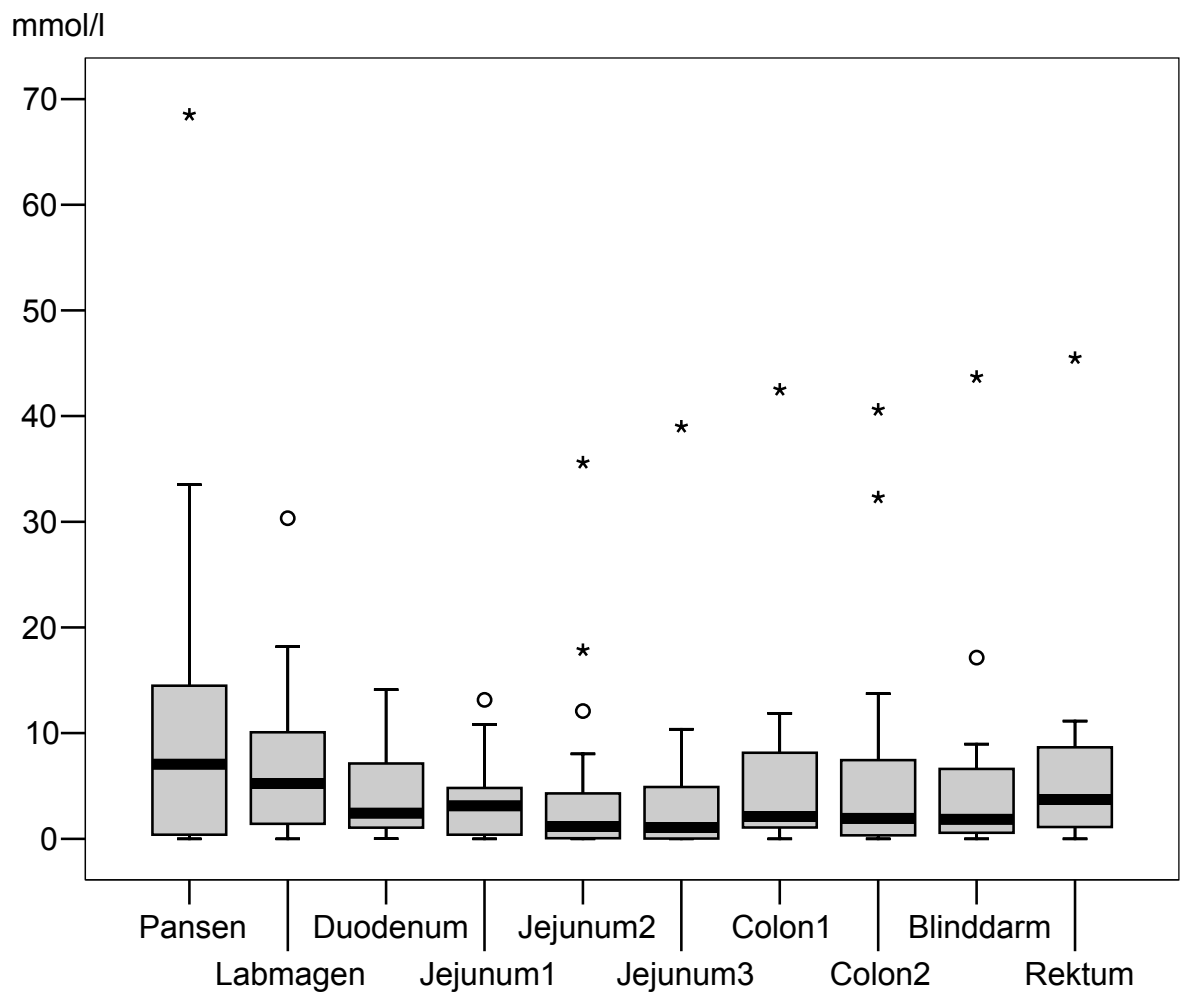


Abb. 2: D-Laktatkonzentrationen in den einzelnen Abschnitten des Magen-Darm-Traktes bei Kälbern mit Durchfall (Median, Quartile* und Extremwerte**).

*Die Box enthält 50 % der Werte.

**Werte außerhalb von 1,5 Interquartilbereichen ab der Oberkante wurden mit Symbolen dargestellt.

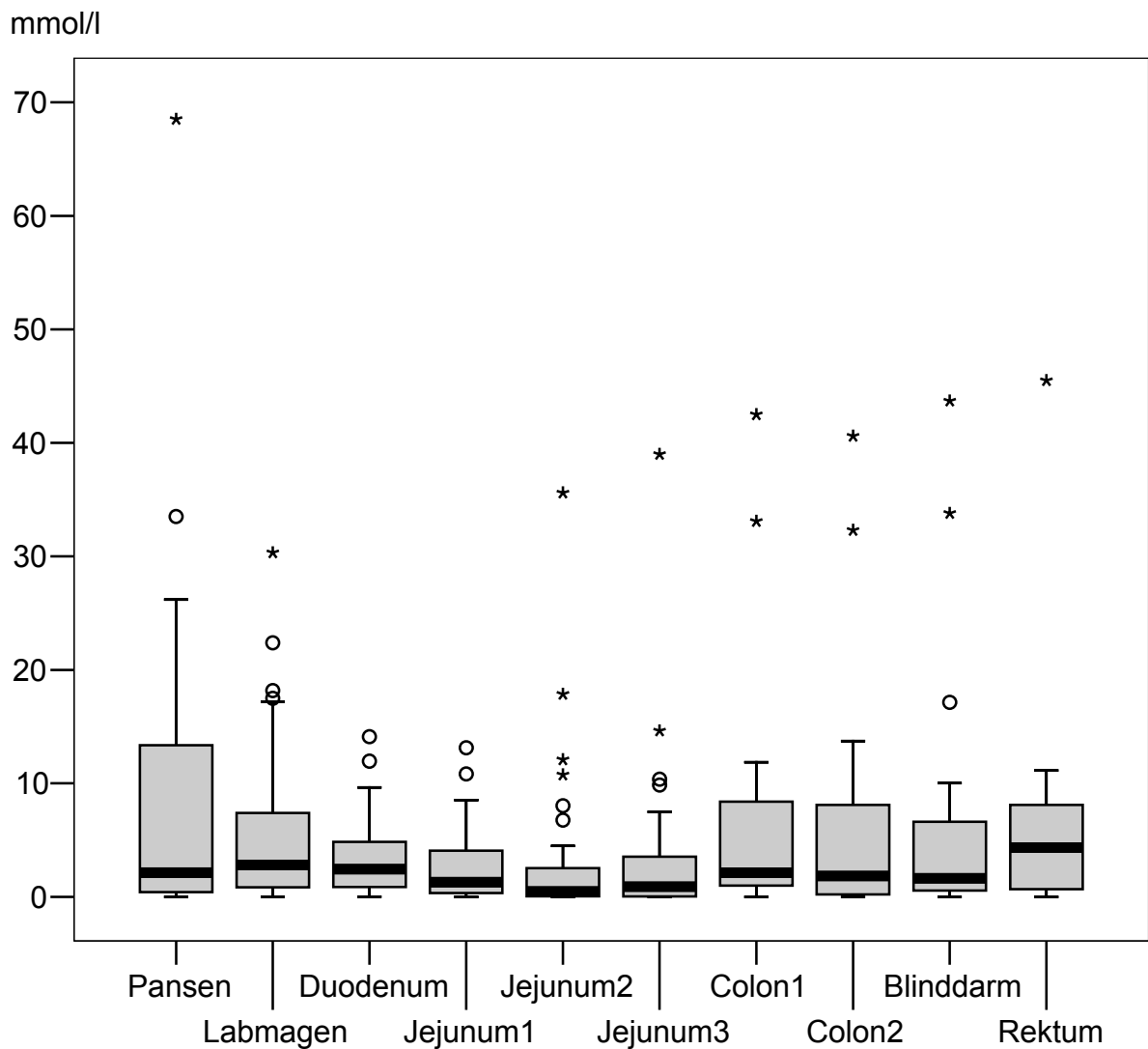


Abb. 3: D-Laktatkonzentrationen in den einzelnen Abschnitten des Magen-Darm-Traktes unabhängig davon, ob eine Durchfallerkrankung vorlag (Median, Quartile* und Extremwerte**).

* Die Box enthält 50 % der Werte

** Werte außerhalb von 1,5 Interquartilbereichen ab der Oberkante wurden mit Symbolen dargestellt

3.2.5 Korrelationen

Tab. 31: Korrelationen von D-Laktatkonzentrationen im Serum, Harn, Liquor und den D-Laktatkonzentrationen in den einzelnen Abschnitten des Verdauungsapparates unabhängig von Durchfall

Konzentration von D-Laktat (mmol/l) in:	Konzentration von D-Laktat (mmol/l) in:		
	Serum	Harn	Liquor
Pansen Korrelation Signifikanz n	0,539** 0,003 28	0,318 0,100 28	0,363 0,053 29
Labmagen Korrelation Signifikanz n	0,274 0,117 34	0,136 0,442 34	0,149 0,391 35
Duodenum Korrelation Signifikanz n	0,441* 0,028 25	0,204 0,329 25	0,428* 0,033 25
Jejunum 1 Korrelation Signifikanz n	0,482** 0,005 31	0,202 0,285 30	0,422* 0,018 31
Jejunum 2 Korrelation Signifikanz n	0,526** 0,001 34	0,079 0,653 35	0,490** 0,003 35
Jejunum 3 Korrelation Signifikanz n	0,544** 0,003 28	0,056 0,780 27	0,489** 0,007 29
Colon 1 Korrelation Signifikanz n	0,402 0,051 24	-0,031 0,892 22	0,400* 0,048 25
Colon 2 Korrelation Signifikanz N	0,591** 0,003 23	0,370 0,099 21	0,561** 0,004 24
Blinddarm Korrelation Signifikanz n	0,374* 0,038 31	0,058 0,762 30	0,354* 0,047 32
Rektum Korrelation Signifikanz n	0,586* 0,028 14	0,262 0,386 13	0,556* 0,031 15

*Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant

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

Tab. 32: Korrelation von D-Laktatkonzentrationen im Serum, Harn, Liquor und den D-Laktatkonzentrationen in den einzelnen Abschnitten des Verdauungsapparates bei Kälbern mit Durchfall.

Konzentration von D-Laktat (mmol/l) in:	Konzentration von D-Laktat (mmol/l) in:		
	Serum	Harn	Liquor
Pansen Korrelation Signifikanz n	0,467* 0,044 19	0,241 0,307 20	0,303 0,207 19
Labmagen Korrelation Signifikanz n	0,318 0,130 24	0,307 0,145 24	0,216 0,311 24
Duodenum Korrelation Signifikanz n	0,408 0,093 18	0,123 0,627 18	0,409 0,092 18
Jejunum 1 Korrelation Signifikanz n	0,544** 0,009 22	0,240 0,295 21	0,460* 0,031 22
Jejunum 2 Korrelation Signifikanz n	0,596** 0,002 25	0,159 0,447 25	0,589** 0,002 25
Jejunum 3 Korrelation Signifikanz n	0,613** 0,003 21	0,123 0,597 21	0,606** 0,004 21
Colon 1 Korrelation Signifikanz n	0,573** 0,007 21	0,048 0,841 20	0,548* 0,010 21
Colon 2 Korrelation Signifikanz n	0,579** 0,006 21	0,358 0,121 20	0,559** 0,008 21
Blinddarm Korrelation Signifikanz n	0,587** 0,003 24	0,204 0,340 24	0,543** 0,006 24
Rektum Korrelation Signifikanz n	0,582* 0,047 12	0,234 0,464 12	0,551 0,063 12

*Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant

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

Tab. 33: Korrelation von D-Laktatkonzentrationen im Serum, Harn, Liquor und den D-Laktatkonzentrationen in den einzelnen Abschnitten des Verdauungsapparates bei Kälbern ohne Durchfall.

Konzentration von D-Laktat (mmol/l) in:	Konzentration von D-Laktat (mmol/l) in:		
	Serum	Harn	Liquor
Pansen Korrelation Signifikanz n	0,967** 0,000 9	0,993** 0,000 8	0,629 0,052 10
Labmagen Korrelation Signifikanz n	-0,368 0,296 10	-0,295 0,408 10	-0,165 0,628 11
Duodenum Korrelation Signifikanz n	0,049 0,917 7	0,341 0,454 7	-0,346 0,447 7
Jejunum 1 Korrelation Signifikanz n	0,132 0,734 9	0,133 0,734 9	0,111 0,777 9
Jejunum 2 Korrelation Signifikanz n	0,570 0,109 9	0,230 0,522 10	-0,071 0,847 10
Jejunum 3 Korrelation Signifikanz n	0,470 0,287 7	0,937** 0,006 6	-0,094 0,824 8
Colon 1 Korrelation Signifikanz n	-0,931# 0,239 3	-1,000**# 2	-0,534# 0,466 4
Colon 2 Korrelation Signifikanz n	-1,000**# 2	 1	0,979# 0,131 3
Blinddarm Korrelation Signifikanz n	-0,197# 0,671 7	-0,194# 0,713 6	-0,182# 0,666 8
Rektum Korrelation Signifikanz n	-1,000**# 2	 1	0,611# 0,581 3

*Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant

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

#Aufgrund der geringen Anzahl an Proben keine Aussagekraft

Es fällt auf, dass bei der Auswertung der Kälber ohne Durchfall die Korrelation zwischen den D-Laktatkonzentrationen im Pansen, bzw. im letzten Drittel des Jejunums und im Harn, sehr gut und auch signifikant ist. In der Gruppe der Durchfallkälber sind Korrelationen von D-Laktatkonzentrationen in den jeweiligen Anteilen des Verdauungsapparates mit denen in Serum und Liquor häufig signifikant. Der Wert der Korrelation ist aber eher mittelmäßig.

3.2.6 D-Laktatkonzentrationen in den einzelnen Abschnitten des Verdauungsapparates und deren Bakterienpopulation unabhängig von Durchfall

Die D-Laktatkonzentrationen der einzelnen Abschnitte des Verdauungsapparates wurden mit den dort gefundenen Bakterienstämmen verglichen, unabhängig davon, ob das Kalb an Neugeborenenendurchfall litt oder nicht.

Im Pansen (Tabb. 34-39) ist kein signifikanter Zusammenhang festzustellen. Neun von 13 Kälbern mit erhöhtem D-Laktat im Pansen hatten mehr als „vereinzelt“ grampositive plumpe Stäbe (Tab. 34), dies ist aber nicht signifikant.

Tab. 34: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven Kokken und der D-Laktatkonzentration im Pansen.

Pansen	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+Kokk ≤ 1	13	11	0,672
+Kokk > 1	4	2	

Tab. 35: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven plumpen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Pansen.

Pansen	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+pl.Stäb ≤ 1	12	4	0,063
+pl.Stäb > 1	5	9	

Tab. 36: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven langen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Pansen.

Pansen	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+l.Stäb ≤ 1	17	11	0,179
+l.Stäb > 1	0	2	

Tab. 37: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven Hefen und der D-Laktatkonzentration im Pansen.

Pansen	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat >3	p
+Hefen ≤ 1	16	10	0,290
+Hefen >1	1	3	

Tab. 38: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an gramnegativen coliformen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Pansen.

Pansen	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat >3	p
-col.Stäb ≤ 1	14	11	1,000
-col.Stäb >1	3	2	

Tab. 39: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an gramnegativen zarten Stäben und der D-Laktatkonzentration im Pansen.

Pansen	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat >3	p
-z.Stäb ≤ 1	16	12	1,000
-z.Stäb >1	1	1	

Im Labmagen (Tabb. 40-45) ist der Zusammenhang zwischen grampositiven langen Stäben und einer erhöhten D-Laktatkonzentration signifikant (Tab. 42). Auch hier ist die Anzahl an Kälbern mit grampositiven, plumpen Stäben bei hohen D-Laktatwerten vermehrt (4 von 18) aber der Unterschied ist nicht signifikant (Tab. 41). Es haben auch zwei Kälber vermehrt grampositive, plumpe Stäbe im Labmagen ohne, dass die D-Laktatkonzentration dort erhöht wäre.

Tab. 40: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven Kokken und der D-Laktatkonzentration im Labmagen.

Labmagen	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat >3	p
+Kokk ≤ 1	18	17	1,000
+Kokk >1	1	1	

Tab. 41: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven plumpen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Labmagen.

Labmagen	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat >3	p
+pl.Stäb ≤ 1	17	14	0,405
+pl.Stäb >1	2	4	

Tab. 42: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven langen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Labmagen.

Labmagen	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat >3	p
+l.Stäb ≤ 1	19	10	0,001*
+l.Stäb >1	0	8	

*statistisch signifikant

Tab. 43: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven Hefen und der D-Laktatkonzentration im Labmagen.

Labmagen	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat >3	p
+Hefen ≤ 1	18	17	1,000
+Hefen >1	1	1	

Tab. 44: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an gramnegativen zarten Stäben und der D-Laktatkonzentration im Labmagen.

Labmagen	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat >3	p
-z.Stäb ≤ 1	18	17	1,000
-z.Stäb >1	0	1	

Tab. 45: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an gramnegativen Kokken und der D-Laktatkonzentration im Labmagen.

Labmagen	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat >3	p
-Kokk ≤ 1	19	17	0,486
-Kokk >1	0	1	

Im Duodenum (Tabb. 46-48) ist auch keine Signifikanz des Zusammenhangs zwischen Bakterien und D-Laktatkonzentrationen festzustellen, aber drei von 11 Kälbern mit hohen D-Laktatwerten haben vermehrt grampositive, lange Stäbe (Tab. 47).

Tab. 46: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven Kokken und der D-Laktatkonzentration im Duodenum.

Duodenum	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+Kokk ≤ 1	13	9	1,000
+Kokk > 1	3	2	

Tab. 47: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven langen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Duodenum.

Duodenum	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+l.Stäb ≤ 1	16	8	0,056
+l.Stäb > 1	0	3	

Tab. 48: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an gramnegativen Kokken und der D-Laktatkonzentration im Duodenum.

Duodenum	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
-Kokk ≤ 1	16	10	0,407
-Kokk > 1	0	1	

Im Jejunum 1 (Tabellen 49-52) haben fünf von 13 Kälbern vermehrt grampositive, lange Stäbe und hohe (> 3 mmol/l) D-Laktatwerte (siehe Tab. 50).

Tab. 49: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven plumpen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Jejunum 1.

Jejunum 1	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+pl.Stäb ≤ 1	14	11	1,000
+pl.Stäb > 1	2	2	

Tab. 50: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven langen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Jejunum 1.

Jejunum 1	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+l.Stäb ≤ 1	15	8	0,064
+l.Stäb > 1	1	5	

Tab. 51: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven Hefen und der D-Laktatkonzentration im Jejunum 1.

Jejunum 1	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+Hefen ≤ 1	15	12	1,000
+Hefen > 1	1	1	

Tab. 52: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an gramnegativen zarten Stäben und der D-Laktatkonzentration im Jejunum 1.

Jejunum 1	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
-z.Stäb ≤ 1	16	12	0,448
-z.Stäb > 1	0	1	

Im Jejunum 2 (Tabb. 53-57) ist der Zusammenhang zwischen grampositiven, langen Stäben und hohen D-Laktatwerten wieder signifikant (Tab. 56). Auch die grampositiven, plumpen Stäbe scheinen eine Rolle zu spielen aber nur drei von neun Kälbern haben diese vermehrt, dies ist nicht signifikant (Tab. 54).

Tab. 53: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven Kokken und der D-Laktatkonzentration im Jejunum 2.

Jejunum 2	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+Kokk ≤ 1	26	9	1,000
+Kokk > 1	1	0	

Tab. 54: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven, plumpen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Jejunum 2.

Jejunum 2	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+pl.Stäb ≤ 1	25	6	0,088
+pl.Stäb > 1	2	3	

Tab. 55: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven Hefen und der D-Laktatkonzentration im Jejunum 2.

Jejunum 2	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+Hefen ≤ 1	26	8	0,257
+Hefen > 1	0	1	

Tab. 56: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven, langen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Jejunum 2.

Jejunum 2	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+l.Stäb ≤ 1	26	5	0,009*
+l.Stäb > 1	1	4	

*statistisch signifikant

Tab. 57: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an gramnegativen Kokken und der D-Laktatkonzentration im Jejunum 2.

Jejunum 2	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
-Kokk ≤ 1	25	9	1,000
-Kokk > 1	1	0	

Im letzten drittel des Jejunums (Tabb. 58-61) ist bei keiner Bakterienart der Zusammenhang signifikant. Allerdings sind grampositive plumpe und grampositive, lange Stäbe häufig vermehrt. (Tabb. 59 und 60).

Tab. 58: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven Kokken und der D-Laktatkonzentration im Jejunum 3.

Jejunum 3	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+Kokk ≤ 1	18	8	1,000
+Kokk > 1	2	1	

Tab. 59: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven, plumpen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Jejunum 3.

Jejunum 3	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+pl.Stäb ≤ 1	16	5	0,209
+pl.Stäb > 1	4	4	

Tab. 60: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven, langen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Jejunum 3.

Jejunum 3	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+l.Stäb ≤ 1	18	6	0,287
+l.Stäb > 1	2	3	

Tab. 61: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven Hefen und der D-Laktatkonzentration im Jejunum 3.

Jejunum 3	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+Hefen ≤ 1	19	8	0,532
+Hefen > 1	1	1	

Im Blinddarm (Tabb. 62-66) ist die Anzahl an Kälbern die mehr als nur „vereinzelt“ eine bestimmte Bakterienart aufweisen unabhängig von der D-Laktatkonzentration vermehrt.

Tab. 62: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven Kokken und der D-Laktatkonzentration im Blinddarm.

Blinddarm	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+Kokk ≤ 1	12	12	0,101
+Kokk > 1	7	1	

Tab. 63: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven plumpen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Blinddarm.

Blinddarm	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+pl.Stäb ≤ 1	10	6	1,000
+pl.Stäb > 1	9	7	

Tab. 64: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven langen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Blinddarm.

Blinddarm	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+l.Stäb ≤ 1	16	4	0,004*
+l.Stäb > 1	3	9	

*statistisch signifikant

Tab. 65: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an gramnegativen coliformen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Blinddarm.

Blinddarm	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
-col.Stäb ≤ 1	16	11	1,000
-col.Stäb > 1	3	2	

Tab. 66: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an gramnegativen Kokken und der D-Laktatkonzentration im Blinddarm.

Blinddarm	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
-Kokk ≤ 1	14	11	0,671
-Kokk > 1	5	5	

Im oralen Abschnitt des Colons (Tabb. 67-71) sind grampositive, lange Stäbe bei Kälbern die dort auch erhöhte D-Laktatwerte aufweisen signifikant vermehrt (Tab. 69).

Tab. 67: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven Kokken und der D-Laktatkonzentration im Colon1.

Colon 1	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+Kokk ≤ 1	12	9	1,000
+Kokk > 1	2	2	

Tab. 68: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven plumpen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Colon1.

Colon 1	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+pl.Stäb ≤ 1	12	7	0,350
+pl.Stäb > 1	2	4	

Tab. 69: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven langen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Colon1.

Colon 1	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+l.Stäb ≤ 1	14	3	< 0,001*
+l.Stäb > 1	0	8	

*statistisch signifikant

Tab. 70: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an gramnegativen coliformen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Colon1.

Colon 1	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
-col.Stäb ≤ 1	12	9	1,000
-col.Stäb > 1	2	2	

Tab. 71: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an gramnegativen Kokken und der D-Laktatkonzentration im Colon1.

Colon 1	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
-Kokk ≤ 1	11	11	0,230
-Kokk > 1	3	0	

Im aboralen Abschnitt des Colons (Tabb. 72-76) sind es grampositive lange Stäbe die bei Tieren mit hohen D-Laktatkonzentrationen signifikant vermehrt auftreten (Tab. 74).

Tab. 72: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven Kokken und der D-Laktatkonzentration im Colon 2.

Colon 2	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+Kokk ≤ 1	9	7	0,619
+Kokk > 1	3	1	

Tab. 73: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven plumpen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Colon 2.

Colon 2	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+pl.Stäb ≤ 1	9	5	0,642
+pl.Stäb > 1	3	3	

Tab. 74: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven langen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Colon 2.

Colon 2	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+l.Stäb ≤ 1	13	3	0,003*
+l.Stäb > 1	0	5	

*statistisch signifikant

Tab. 75: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven Hefen und der D-Laktatkonzentration im Colon 2.

Colon 2	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+Hefen ≤ 1	12	7	0,400
+Hefen > 1	0	1	

Tab. 76: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an gramnegativen Kokken und der D-Laktatkonzentration im Colon 2.

Colon 2	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
-Kokk ≤ 1	9	8	0,242
-Kokk > 1	3	0	

Im Rektum (Tabb. 77-82) gibt es keine signifikanten Werte.

Tab. 77: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven Kokken und der D-Laktatkonzentration im Rektum.

Rektum	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+Kokk ≤ 1	6	7	1,000
+Kokk > 1	1	2	

Tab. 78: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven plumpen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Rektum.

Rektum	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+pl.Stäb ≤ 1	5	5	0,633
+pl.Stäb > 1	2	4	

Tab. 79: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven langen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Rektum.

Rektum	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+l.Stäb ≤ 1	7	5	0,088
+l.Stäb > 1	0	4	

Tab. 80: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an grampositiven Hefen und der D-Laktatkonzentration im Rektum.

Rektum	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
+pl.Stäb ≤ 1	7	8	1,000
+pl.Stäb > 1	0	1	

Tab. 81: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an gramnegativen coliformen Stäben und der D-Laktatkonzentration im Rektum.

Rektum	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
-col.Stäb ≤ 1	5	7	1,000
-col.Stäb > 1	2	2	

Tab. 82: Der Zusammenhang zwischen der Häufigkeit an gramnegativen Kokken und der D-Laktatkonzentration im Rektum.

Rektum	n: D-Laktat ≤ 3	n: D-Laktat > 3	p
-Kokk ≤ 1	4	8	0,262
-Kokk > 1	3	1	

3.2.6 Kälber mit hohem D-Laktat (>3 mmol/l) im Serum und parenteraler Antibiose

Acht Kälber wiesen einen D-Laktatspiegel im Serum von über 3 mmol/l auf. Davon hatten sieben Kälber Durchfall. Bis auf ein Kalb hatten alle Kälber während ihres Klinikaufenthaltes parenteral ein Antibiotikum in angemessener Dauer und Konzentration erhalten oder die Therapie war zum Zeitpunkt der Euthanasie noch nicht abgeschlossen.

Von 29 Kälbern mit niedrigen D-Laktatwerten im Blut wurden nur sieben Kälber während des Klinikaufenthaltes nicht mit einem Antibiotikum behandelt.

4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit sollte geklärt werden, wo im Verdauungsapparat des Kalbes D-Laktat gebildet wird, und ob bestimmte Bakterien dafür verantwortlich sind. Diese Fragen konnten nicht endgültig geklärt werden, aber es gibt dennoch interessante Ergebnisse:

Von 26 Kälbern mit Neugeborenenendurchfall hatten sieben Kälber mehr als 3 mmol/l D-Laktat im Serum. Von elf Kälbern ohne Durchfall hatte nur ein einziges eine erhöhte D-Laktatkonzentration im Serum. Dieses eine Kalb wurde aufgrund einer Kochsalzvergiftung euthanasiert. Es hatte vorher Durchfall gehabt, allerdings nicht mehr am Tag der Euthanasie. Dies spricht entweder für die D-Laktatbildung während der Durchfallphase und zeigt, dass der Körper eine gewisse Zeit braucht, um das D-Laktat zu eliminieren. Oder das D-Laktat wurde im Pansen gebildet, da man dort auch bei Kälbern ohne Durchfall einen erhöhten D-Laktatwert finden kann. Die Laktose der fälschlicherweise in den Pansen gelangten Milch könnte von Laktobazillen zu D-Laktat vergoren werden (GRUDE, 2003; GENTILE et al., 2004).

Bei der Untersuchung des Inhalts des Magen-Darm-Traktes auf Bakterien wurden bewusst nur mikroskopische Ausstriche angefertigt und nach Gram gefärbt. Die Ermittlung der exakten Darmflora in den einzelnen Darmabschnitten wäre zu zeit- und kostenintensiv gewesen. Mit der Technik des einfachen Ausstriches ist es möglich, einen semiquantitativen Überblick über die Darmflora zu gewinnen und Bakteriengruppen einzugrenzen.

Im Pansen zum Beispiel sind häufig grampositive, plumpe und lange Stäbe anzutreffen. Diese Bakterienmorphologie spricht für Laktobazillen. Clostridien haben eine ähnliche Morphologie und könnten dort auch beteiligt sein (MYLREA, 1969). Wahrscheinlicher sind aber Laktobazillen, da diese auch sehr häufig bei Menschen mit dem Short Bowel Syndrom isoliert worden sind und deren Fähigkeit zur D-Laktatbildung nachgewiesen wurde (SATO et al., 1982; KANEKO et al., 1997; BONGAERTS et al., 2000). Bei der Suche nach einer bestimmten Bakterienpopulation sind im Labmagen bei Kälbern mit Neugeborenenendiarrhöe signifikant mehr grampositive lange Stäbe festgestellt worden als bei Kälbern ohne Durchfall. Auch im oralen und aboralen Abschnitt des Jejunums sind grampositive lange Stäbe nur bei Kälbern mit Durchfall vermehrt, der Unterschied ist allerdings nicht signifikant, was an der geringen Anzahl der Fälle liegen könnte. Die

Morphologie der Keime spricht auch hier wieder für Laktobazillen, wobei Clostridien nicht auszuschließen sind.

Bemerkenswert ist auch, dass bei den D-Laktatkonzentrationen in den einzelnen Darmabschnitten bei Kälbern mit und ohne Durchfall kein signifikanter Unterschied festgestellt werden konnte. Die Maximalwerte waren zwar bei Kälbern mit Durchfall immer größer, aber der Unterschied war nie signifikant. Es ist allerdings zu bedenken, dass im gesamten Darm ständig Wasser resorbiert und auch sezerniert wird. Deshalb können punktuell gemessene Konzentrationsunterschiede allein auf dem unterschiedlichen Wassergehalt beruhen. Die Ergebnisse von EWASCHUK et al., (2004 a) zeigen ein anderes Ergebnis. Dort war der Unterschied der D-Laktatwerte in den Faeces von Durchfallkälbern gegenüber gesunden Kälbern signifikant. Allerdings wurde der Kot aus dem Rektum gewonnen und nicht, wie in der vorliegenden Arbeit, aus den einzelnen Darmabschnitten, was zu den Unterschieden in den Ergebnissen geführt haben könnte. Außerdem ist zu bedenken, dass in die vorliegende Arbeit nur kranke Kälber einbezogen wurden. Die Kälber in der Kontrollgruppe ohne Durchfall hatten andere schwerwiegende Krankheiten, die zu ihrer Euthanasie führten. Aus Gründen des Tierschutzes wurden keine vollkommen gesunden Kälber für diese Arbeit euthanasiert. Das heißt, dass die Werte in der Gruppe ohne Durchfall durchaus durch andere unbekannte Faktoren beeinflusst worden sein könnten.

Ein interessanter Fall ist noch erwähnenswert: In der Gruppe der Kälber ohne Durchfall (klinische Untersuchung am Tag der Euthanasie) befindet sich ein Kalb, welches im Blinddarm und im oralen Abschnitt des Colon sehr dünnen Kot enthielt. Dieser Kot enthielt 33,8 mmol/l beziehungsweise 33,1 mmol/l D-Laktat. Aus dem aboralen Teil des Colons konnte keine Probe gewonnen werden und aus dem Kot im Rektum konnte kein D-Laktat gemessen werden, da dieser physiologisch geformt war und kein Überstand durch zentrifugieren zu gewinnen war. Die Bakterienpopulation bestand aus „massenhaft“ positiven langen und „sehr häufige“ plumpen Stäben. Der D-Laktatwert im Serum war noch nicht erhöht! Dies ist ein eindeutiges Indiz für die Beteiligung von Bakterien bei der D-Laktatbildung, und wirft weiterhin die Frage auf, wann und wieso es in manchen Fällen zu einer klinisch ausgeprägten D-Laktatazidose mit Erhöhung des Serumspiegels kommt und wann nicht. Diese Frage konnte nicht geklärt werden. Es gibt Kälber, die haben sehr hohe D-Laktatwerte in bestimmten Abschnitten des Magendarmtraktes, aber man sieht

keine Erhöhung im Blutspiegel. Auch dieses Kalb hatte sehr hohe Werte im Colon und die D-Laktatkonzentration im Serum war nicht verändert. Es ist vorstellbar, dass es einige Zeit dauert bis D-Laktat resorbiert wird. Der Mechanismus ist noch nicht sehr genau untersucht.

Bei der Auswertung der D-Laktatkonzentration und Bakterienpopulation (unabhängig von Durchfall) in den einzelnen Abschnitten des Verdauungsapparates waren die Ergebnisse in den vier folgenden Darmabschnitten signifikant: Im Labmagen, im oralen Abschnitt des Jejunums und im oralen und aboralen Abschnitt des Colons waren grampositive, lange Stäbe bei gleichzeitig erhöhten D-Laktatkonzentrationen signifikant vermehrt. Dies legt die Vermutung nahe, dass diese grampositiven Keime in der Bildung von D-Laktat eine große Rolle spielen könnten. Sehr wahrscheinlich handelt es sich um Laktobazillen, was aber durch die angewandte Untersuchungstechnik nicht bewiesen werden kann (SATO et al., 1982; KANEKO et al., 1997; BONGAERTS et al., 2000). Eventuell könnte nicht nur eine vermehrte Bildung von D-Laktat zu einer klinisch ausgeprägten D-Laktatazidose führen, sondern auch eine verminderte Eliminierung aus dem Körper, zu einer andauernden D-Laktatazidose und somit zu einer problematischeren Situation für das Kalb führen. In dieser Arbeit fällt auf, dass es bei der Gruppe der Durchfallkälber keine Korrelationen der D-Laktatkonzentration zwischen Serum und Harn gibt. Dies lässt die Frage aufkommen, ob Durchfallkälber, vermindert D-Laktat über den Harn ausscheiden. Bei den Kälbern ohne Durchfall, die hohe D-Laktatkonzentrationen im Pansen aufwiesen, war eine signifikante Korrelation der D-Laktatkonzentration im Harn gegeben. Anscheinend schieden diese Kälber D-Laktat über den Harn aus. Ob dieser Sachverhalt von Bedeutung ist, müssen weitere Untersuchungen klären.

Ein weiterer interessanter Aspekt ist die Tatsache, dass bei Kälbern mit Durchfall eine mäßige Korrelation der D-Laktatkonzentrationen von Serum und Liquor besteht. Es ist bekannt, dass unter bestimmten Voraussetzungen, wie zum Beispiel extremen Hungerzuständen, das Gehirn von Glukose auf Ketonkörper als Hauptenergiequelle umschalten kann (OWENS et al., 1967). Neugeborene können auch Pyruvat und Laktat im Gehirn energetisch nutzen (VANUCCI et al., 1976). LAMANNA et al. (1993) bewiesen, dass D-Laktat unter anderem durch simple Diffusion und durch unspezifische Anionen-Austausch Mechanismen in das Gehirn aufgenommen werden kann. Dies geschah in dieser Studie mit 0,033 ml/g Gehirngewebe/min. Außerdem wird die Existenz spezifischer Transportmechanismen vermutet, die den

Transport kurzkettiger Karbonsäuren über die Blut-Hirn-Schranke ermöglichen (KIDO et al., 2000). Es besteht also kein Zweifel, dass D-Laktat die Blut-Hirn-Schranke überwinden kann. Interessant wäre es zu wissen, ob D-Laktat vom Gehirn verstoffwechselt wird, oder ob es dort wichtige Stoffwechselwege blockiert. Eventuell hat D-Laktat im Gehirn eine Wirkung, die erklärt, warum es bei einer D-Laktatazidose zu neurologischen Ausfällen kommt. Auch auf diesem Gebiet sind weitere Untersuchungen nötig.

Bis auf ein Kalb hatten alle Kälber mit hohen D-Laktatwerten im Serum eine parenterale Antibiotikatherapie hinter sich. Von den 29 Kälbern mit niedrigen D-Laktatkonzentrationen im Serum wurden auch 22 Kälber parenteral in ausreichender Dosierung und Dauer (laut Packungsbeilage) antibiotisch versorgt. Es zeigt sich, dass durch parenterale Antibiose, die Bildung von D-Laktat in den einzelnen Darmabschnitten nicht verhindert werden kann. Bei einem Mann mit verkürztem Darm hatte eine orale Antibiotikatherapie bei einer bakteriellen Bronchitis eine Vermehrung von laktatbildenden Bakterien ausgelöst und eine D-Laktatazidose entstand (CORONADO et al., 1995). Es scheint als ob weder parenterale noch orale Antibiose eine D-Laktatazidose verhindern, sofern noch andere begünstigende Faktoren, wie erhöhte Kohlenhydratzufuhr im Dickdarm, vorhanden sind. Bei einem alternativen Therapieversuch wurde beim Menschen eine erfolgreich Behandlung mit *Lactobazillus casei* subspezies *rhamnosus* durchgeführt (GAVAZZI et al., 2001). Ob eine solche Probiotikatherapie auch beim Kalb eingesetzt werden könnte, wurde von EWASCHUK et al., (2004 b) untersucht. Der Bakterienstamm scheint im Darmtrakt der Kälber zu überleben, ob er aber wirklich an den Zellwänden haftet wurde nicht untersucht. Außerdem waren alle Probanden gesund. In einer weiteren Untersuchung von EWASCHUK et al., (2004 c) wurden 48 Kälber mit Neugeborenenenddurchfall untersucht. Eine Gruppe wurde mit *Lactobacillus GG* oral behandelt, die andere nicht. 37 von 48 Kälbern hatten zu Beginn der Studie erhöhte (> 3 mmol/l) D-Laktatwerte im Serum. Es konnte kein Unterschied der D-Laktatkonzentrationen zwischen den Gruppen im Verlauf festgestellt werden. Nach 48 Stunden war bei allen Kälbern bis auf eines die D-Laktat Konzentration im Serum auf physiologische Werte gesunken. Bei nur 13 Kälbern, denen *Lactobacillus GG* verabreicht wurde, konnte der Keim in den Faeces nachgewiesen werden. In einer Studie mit gesunden Kälbern wurde hingegen bei allen das Bakterium im Kot nachgewiesen (Ewaschuk et al. 2004 b). Es scheint, dass die Darmflora

beeinträchtigt sein kann, wenn die Kälber erkrankt sind. Dennoch zeigt eine weitere humanmedizinische Studie, dass es durchaus auch Erfolge beim Einsatz von Probiotika gibt. In dieser Studie zur Effektivität der Behandlung von akuten Durchfallerkrankungen bei Kindern mit verschiedenen Stämmen des *Lactobacillus rhamnosus* GG wurde in einem Doppelblindversuch ein signifikanter Unterschied der Dauer des Durchfalls bei Kindern mit einer Rotavirusinfektion festgestellt. Die Krankheitsdauer war in der Placebogruppe höher (SZYMANSKI et al., 2006). Da Rotaviren auch bei Kälbern mit Neugeborenenendurchfall eine große Rolle spielen, könnten weitere Versuche mit diesem Ansatz interessante Ergebnisse bringen.

5 Zusammenfassung

(M. König, 2006)

In dieser Arbeit sollte geklärt werden, in welchem Darmabschnitt D-Laktat gebildet wird und ob ein bestimmter Erreger dafür verantwortlich gemacht werden kann. Im Zeitraum vom 1.6.2004 bis zum 30.4. 2005 wurden aus 37 Kälbern, die euthanasiert werden mussten, Proben aus verschiedenen Anteilen des Verdauungsapparates, Blut, Liquor und Harn gewonnen und auf den D-Laktatgehalt untersucht. Aus den Proben des Verdauungsapparates wurden außerdem noch Ausstriche angefertigt, nach Gram gefärbt und deren Bakterienpopulation bestimmt. Es wurden zwei Gruppen gebildet. Kälber mit Neugeborenenendurchfall und Kälber ohne. Dabei stellte sich heraus, dass zwischen Durchfallkälbern und Kälbern ohne Durchfall kein signifikanter Unterschied im D-Laktatgehalt der Anteile des Verdauungsapparates besteht. Die Werte waren bei Durchfallkälbern immer etwas höher, aber der Unterschied war nie signifikant. Beim Vergleich der Bakterienpopulation war nur im Labmagen von Durchfallkälbern bei den grampositiven langen Stäben ein signifikanter Unterschied zu sehen. Beim Vergleich vom D-Laktatgehalt und der Bakterienpopulation der einzelnen Abschnitte des Verdauungsapparates unabhängig von Durchfall, war der Unterschied im Labmagen, im aboralen Teil des Jejunums, im Blinddarm und im gesamten Colon bei der Anzahl an grampositiven langen Stäben signifikant. In diesen Abschnitten lagen mehr grampositive lange Stäbe vor und der D-Laktatgehalt war erhöht (>3 mmol/l). Dies legt die Vermutung nahe, dass in allen Darmabschnitten D-Laktat gebildet werden kann und dass grampositive lange Stäbe (wie zum Beispiel Laktobazillen) eine große Rolle spielen.

6 Summary

(M. König, 2006)

Investigations into the origin of D-lactate inside the digestive system of calves

The objective of this study was to determine whether D-lactate is produced in only one specific region of the digestive system or if the location is irrelevant. Further we tried to detect if there is one species of bacteria which is responsible for the production of D-lactate. During June, 2004, through April, 2005, 37 calves up to three weeks of age, which had to be euthanized, were autopsied and samples were taken from each part of the digestive tract, as well as cerebrospinal fluid, urine, and blood. These samples were tested to see if D-lactate was present. Of the samples of the digestive tract smears were taken and stained to determine gram-negative and positive bacteria. The 37 calves were divided into two groups. One group classified as clinically sick with diarrhea and the other without. There was no statistically significant difference of D-lactate concentration in the digestive tract between calves with clinical diarrhea and without. The absolute values were always higher in calves with diarrhea but the difference was never statistically significant. The population of bacteria in the abomasum of calves with diarrhea consisted mainly (statistically significant) of gram-positive long rods. When bacteria population and D-lactate concentration were compared without considering the two groups (with diarrhea and without), there were some interesting results. The abomasum, the aboral part of the jejunum, the caecum and the whole colon contained significantly more gram-positive rods than parts without high concentrations of D-lactate present. We conclude that D-lactate could be produced in every part of the digestive system and gram-positive rods (for example lactobacilli) play an important role.

7 Literaturverzeichnis

Beck-Sickinger, A.G., U. Hahn (2002)

Lehrbuch der Biochemie, 1. Auflage
Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim

Bongaerts, G., J. Tolboom, T. Naber, J. Bakkeren, R. Severijnen, H. Willems (1995)

D-lactic acidemia and aciduria in pediatric and adult patients with short bowel syndrome
Clin. Chem. 41, 1 107-110

Bongaerts, G.P.A., J.J.M. Tolboom, A.H.J. Naber, W.J.K. Sperl, R.S.V.M. Severijnen, J.A.J.M. Bakkeren, J.L. Willems (1997)

Role of bacteria in the pathogenesis of short bowel syndrome-associated D-lactic acidemia
Microbiol. Path. 22, 285-293

Bongaerts, G., J. Bakkeren, R. Severijnen, W. Sperl, H. Willems, T. Naber, R. Wevers, A.v. Meurs, J. Tolboom (2000)

Lactobacilli and acidosis in children with short small bowel
J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 30, 3, 288-293

Caldarini, M.I., S. Pons, D. D'Agostino, J.A. Depaula, G. Greco, G. Negri, A. Ascione, D. Bustos (1996)

Abnormal fecal flora in a patient with short bowel syndrome
Dig. Dis. Sci. 41, 8, 1649-1652

Coronado, B.E., S.M. Opal, D.C. Yoburn (1995)

Antibiotic-induced D-lactic acidosis
Ann. Intern. Med. 22, 839-842

Cross, S.A., C.W. Callaway (1984)

D-Lactic acidosis and selected cerebellar ataxias

Mayo. Clin. Proc. 59, 202-205

Deetjen, P., E.J. Speckmann (1999)

Physiologie, 3. Auflage

Urban und Fischer, München und Jena

Dunlop, R.H., P.B. Hammond (1965)

D-lactic acidosis of ruminants

Ann. New York Academy of Science 119, 1109-1132

Ewaschuk, J., J.M. Naylor, R. Palmer, S.J. Whiting, G.A. Zello (2004 a)

D-lactate production and excretion in diarrheic calves

J. Vet. Intern. Med. 18, 744-747

Ewaschuk, J., J.M. Naylor, M. Chirino-Trejo, G.A. Zello (2004 b)

Lactobacillus rhamnosus strain GG is a potential probiotic for calves

Can. J. Vet. Res., 68 (4) 249-53

Ewaschuk, J., J.M. Naylor, G.A. Zello (2004 c)

Lactobacillus GG reduces fecal water but not fecal or serum D-lactate in diarrheic calves

FASEB-Journal 18 (4-5)

Flick, M.J., S.F. Konieczny (2002)

Identification of putative mammalian D-lactate dehydrogenase enzymes

Biochem. Biophys. Res. Communications 295, 910-916

Gavazzi, C., S. Stacchiotti, R. Cavaletti, R. Lodi (2001)

Confusion after antibiotics

Lancet 357, 1410

Gentile, A., S. Sconza, I. Lorenz, G. Otranto, G. Rademacher, P. Famigli-Bergamini, W. Klee (2004)

D-lactic acidosis in calves as a consequence of experimentally induced ruminal acidosis

J. Vet. Med. Series A 51, 2, 64-70

Giesecke D., P.v. Wallenberg (1985)

Metabolism of D(-)lactic acid in rats given high intragastral doses

Comp. Biochem. Physiol. 82B, 2, 255-258

Godey, F., A. Bouasria, M. Ropert, M. Diakite, A. Le Treut, M. Balencon (2000)

Don't forget to test for D-lactic acid in short bowel syndrome

Am. J. Gastroenterol. 95, 12, 3675-3677

Grude, T.(2003)

Konzentration von L- und D-Laktat in Blut, Harn und Pansensaft von Kälbern, insbesondere "Pansentrinkern"

Tierärztl. Praxis 31, 72-77

Halperin, M.L., K.S. Kamel (1996)

D-lactic acidosis: Turning sugar into acids in the gastrointestinal tract

Kidney International 49, 1-8

Hingorani, A.D., I.C. Macdougall, M. Brown, R.W.H. Walker, C.R.V. Tompson (1993)

Successful treatment of acute D-lactate encephalopathy by haemodialysis

Nephrol. Dial. Transplant. 8, 1283-1285

Hove, H., I. Nordgaard-Andersen, P.B. Mortensen (1994)

Faecal DL-lactate concentration in 100 gastrointestinal patients

Scan. J. Gastroenterol. 29, 255-259

Hove, H., P.B. Mortensen (1995)

Colonic lactate metabolism and D-lactic acidosis

Dig. Dis. Sci. 40, No. 2, 320-330

Hudson M., R. Pocknee, N.A.G. Mowat (1990)

D-lactic acidosis in short bowel syndrome - an examination of possible mechanisms

Quart. J. Med., New Series 74, 274, 157-163

Kaneko, T., Y. Bando, H. Kurihara, K. Satomi, K. Nonoyama, N. Matsuura (1997)

Fecal microflora in a patient with short bowel syndrome and identification of dominant lactobacilli

J. Clin. Microbiol. 35, 12, 3181-3185

Kido, Y., I. Tamai, M. Okamoto, F. Suzuki, A. Tsuji (2000)

Functional clarification of MCT1-mediated transport of monocarboxylic acids at the blood-brain barrier using in vitro cultured cells and in vivo BUI studies

Pharmaceutical Research 17, 1, 55-62

Krishnan, S., D.P. Rajan, B.S. Ramakrishna (1998)

The ability of enteric diarrhoeal pathogens to ferment starch to short chain fatty acids in vitro

Scand. J. Gastroenterol. 33, 242-246

LaManna, J.C., J.F. Harrington, L.M. Vandell, K. Abi-Saleh, W.D. Lust, S.I. Harik (1993)

Regional blood-brain lactate influx

Brain Research 614, 164-170

Lorenz, I. (2003)

Klinische Erscheinungen der D-Laktatämie beim Kalb

Proceedings 12. Jahrestagung der Fachgruppe

„Innere Medizin und Klinische Laboratoriumsdiagnostik“, 5-6

Lorenz, I., I. Hartmann, A. Gentile (2003)

Determination of D-lactate in calf serum samples – an automated enzymatic assay
Comp. Clin. Path. 12, 169-171

Lorenz, I., A. Gentile (2003)

Metabolic acidosis due to D-lactate in newborn calves with diarrhoea – clinical signs, treatment and prognosis
Société Française de Buiatrie: From Research to Clinic, Paris, 20-23

Lorenz, I. (2004)

Investigations on the influence of serum D-lactate levels on clinical signs in calves with metabolic acidosis
Vet. J. 168, 323-327

Marcillaud, S., F. Schelcher, J.P. Braun (1999)

Dosage des D-lactates plasmatiques, intervalle de valeurs usuelles chez le veau
Rev. Med. Vet. 150, 2, 155-158

McCabe, K., M.D. Mann, M.D. Bowie (1998)

D-lactate production and (¹⁴C) succinic acid uptake by adherent and nonadherent Escherichia coli
Infect. and Immun. 66, 2, 907-911

Mylrea, P.J. (1969)

The Bacterial Content of the Small Intestine of Young Calves
Res. Vet. Sci. 10, 394-395

Nappert, G., E. Dunphy, D. Ruben, F.A. Mann (2002)

Determination of serum organic acids in puppies with naturally acquired parvoviral enteritis
Can. J. Vet. Res. 66, No.1, 15-18

Oh, M.S., K.R. Phelps, M. Traube, J.L. Barbosa-Salvidar, C. Boxhill, H.J. Carroll (1979)

D-lactic acidosis in a man with short bowel syndrome
N. Engl. J. Med. 301, 249-252

Oh, M.S., J. Uribarri, D. Alveranga, I. Lazar, N. Bazilinski, H.J. Carroll (1985)

Metabolic utilization and renal handling of D-lactate in men
Metabolism 34, 7, 621-5

Omole, O.O., G. Nappert, J.M. Naylor, G.A. Zello (2001)

Both L- and D-lactate contribute to metabolic acidosis in diarrheic calves
J. Nutr. 131, 8, 2128-2131

Owens, O.E., A.P. Morgan, H.G. Kamp, J.M. Sullivan, M.G. Herrera, G.F. Cahill Jr. (1967)

Brain metabolism during fasting
J. Clin. Invest. 46, 1589-1595

Römpp, H., J. Falbe, M. Regitz (1996)

Chemie Lexikon, 10. Auflage
Thieme Verlag, Stuttgart

Satoh, T., K.Narisawa, T. Konno, T. Katoh, J. Fujiyama, A. Tomeo, K. Metoki, K. Hayasaka, K. Tada, M. Ishibashi, N. Yamane, T. Mitsuoka, Y. Benno (1982)

D-lactic acidosis in two patients with short bowel syndrome: Bacteriological analyses of fecal flora
Eur. J. Pediatr. 138, 324-326

Stolberg, L., R. Rolfe, N. Gitlin, J. Meritt, L. Mann, J. Linder, S. Finegold (1982)

D-lactic acidosis due to abnormal gut flora: diagnosis and treatment of two cases
N. Engl. J. Med. 306, No.22, 1344-1348

Szymanski, H., J. Pejcz, M. Jawien, A. Chmielarczyk, M. Strus, P.B. Heczko (2006)

Treatment of acute infectious diarrhoea in infants and children with a mixture of three *Lactobacillus rhamnosus* strains - a randomized, double-blind, placebo-controlled trial
Aliment Pharm. Ther. 23 (2), 247-253

Thornalley, P.J. (1990)

The glyoxalase system: new developments towards functional characterization of a metabolic pathway fundamental to biological life
Biochem. J. 269, 1-11

Vanucci, R.C., T.E. Duffy (1976)

Carbohydrate metabolism in fetal and neonatal rat brain during anoxia and recovery
Am. J. Physiol. 230, 1269-1275

8 Danksagung

Danken möchte ich Herrn Professor Dr. Klee für die Überlassung des Themas und für die freundliche Unterstützung bei der Erstellung der vorliegenden Arbeit.

Herzlicher Dank gilt auch Herrn Dr. Wolf und seinen Mitarbeiterinnen aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin, ebenso Frau Beyer und Frau Hartmann für die Unterstützung im Labor. Besonders danken möchte ich auch Frau Dr. Lorenz und Herrn Dr. Blank, ohne deren Unterstützung ich diese Arbeit nicht hätte erstellen können.

9 Lebenslauf

Name: König

Vornamen: Martina Gisela

Geburtstag: 6.1.1976

Geburtsort: München

Eltern: Alfons und Eva König

Schulbildung:

1982-1986 Grundschule in München und Mainz

1986-1989 Maria Ward Gymnasium in Mainz

1989-1992 Arlington High School in Poughkeepsie, N.Y.

1992-1995 Gymnasium in Wasserburg am Inn

1995-1996 Freiwilliges Soziales Jahr in einem ASZ in München

1996-1997 Mitarbeit in einer Tierarztpraxis

Studium:

1997-2003 Studium der Tiermedizin an der Ludwig – Maximilians – Universität München

24.2.2003 Staatsexamen

April 2003 Approbation als Tierärztin

seit 2003 Anfertigung einer Dissertation an der Klinik für Wiederkäuer der Ludwig – Maximilians – Universität München

Berufstätigkeit: Während der Anfertigung der Dissertation Mitarbeit in Klinik für Wiederkäuer der Ludwig – Maximilians – Universität München und Assistenz in einer Großtierpraxis