

Laparoskopisch kontrollierte Biopsie der Blinddarm- und Dünndarmlymphknoten zur Paratuberkulose-Frühdiagnostik bei Kälbern

Petrit Berisha

INAUGURAL-DISSERTATION zur Erlangung des Grades eines **Dr. med. vet.**
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2013

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2013

© 2013 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

**Aus dem Klinikum Veterinärmedizin
Klinik für Wiederkäuer und Schweine
(Innere Medizin und Chirurgie)
der Justus-Liebig-Universität Gießen**

Betreuer : Prof. Dr. K. Doll

**Laparoskopisch kontrollierte Biopsie der Blinddarm- und
Dünndarmlymphknoten zur Paratuberkulose-
Frühdiagnostik bei Kälbern**

**INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen**

eingereicht von

Petrit Berisha

Tierarzt aus Peja, Kosovo

Gießen 2012

**Mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen**

Dekan: Prof. Dr. Dr. h. c. M. Kramer

**Gutachter: Prof. Dr. K. Doll
PD Dr. R. Hospes**

Tag der Disputation: 22.05.2012

**Diese Untersuchungen wurden dankenswerterweise durch eine
Forschungsspende der H. WILHELM SCHAUMANN STIFTUNG gefördert**

Für meine Eltern und Arbnesha

Inhaltsverzeichnis:**Seiten:**

Abkürzungsverzeichnis	1
Abbildungsverzeichnis	3
Tabellenverzeichnis	4
1. Einleitung	5
2. Schrifttum	7
2.1 Paratuberkulose	7
2.1.1 Übersicht	7
2.1.2 Erregercharakterisierung	8
2.1.3 Wesen, Vorkommen und Bedeutung	8
2.1.4 Wirtschaftliche Bedeutung	8
2.2 Diagnostik	9
2.2.1 Diagnostische Möglichkeiten	9
2.2.1.1 Direkter Nachweis des Erregers	9
2.2.1.2 Indirekter Nachweis des Erregers	10
2.2.1.3 Laparoskopie	10
2.3 Indikationen der Laparoskopie beim Rind	11
2.3.1 Vorbereitung der Tiere	12
2.3.1.1 Futterentzug	12
2.3.1.2 Fixierung während der laparoskopischen Untersuchung	12
2.3.1.3 Vorbereitung des Operationsfeldes	13
2.3.1.4 Anästhesie	13
2.3.1.5 Pneumoperitoneum	13
2.3.2 Zugangsstellen	15
2.3.2.1 Laparoskopische Anatomie beim adulten Rind bei Zugang über die Fossa paralumbalis sinistra	16
2.3.2.2 Laparoskopische Anatomie beim adulten Rind bei Zugang über die Fossa paralumbalis dextra	18
2.3.2.3 Laparoskopische Anatomie beim Zugang über den Fornix vaginae	19

2.3.2.4 Laparoskopie über die ventrale Bauchwand	20
2.4 Laparoskopische Anatomie bei Kälbern	20
2.4.1 Anatomische Grundlagen	20
2.4.2 Laparoskopie bei Kälbern	21
2.5 Laparoskopisch unterstützte Biopsien	21
2.5.1 Bisher beschriebene Verfahren	21
2.5.2 Lymphknoten–Biopsie	22
2.5.3 Fehlermöglichkeiten bei der Biopsie	24
2.5.4 Komplikationsmöglichkeiten bei der Laparoskopie	24
2.5.5 Nachbehandlung	24
3. Eigene Untersuchungen	25
3.1 Material und Methode	25
3.1.1 Vorstudie	25
3.1.2 Auswahl der Probanden für die Hauptstudie	25
3.1.3 Ablauf der Hauptstudie	26
3.1.3 Aufstallung und Fütterung der Probanden	26
3.1.3.2 Untersuchung und Behandlung der Probanden	26
3.1.3.3 Vorbereitungen der Tiere zur Operation	27
3.1.3.4 Vorgehensweise bei der laparoskopischen Operation	28
3.1.3.5 Verbleib der Tiere nach der Operation	33
3.1.3.6 Molekularbiologische Untersuchung der Biopate	33
3.1.3.7 Sektion der Tiere	33
3.1.3.8 Datenauswertung	34
3.2. Hauptzielkriterien der Studie	34
3.2.1 Nebenzielkriterien der Studie	34
3.2.1.1 Klinische Befunde	34
3.2.1 2 Labordiagnostische Parameter	35
3.2.1.3 Datenerfassung	35
3.2.1.4 Statistische Auswertung	36
4. Ergebnisse	37
4.1 Erfolgsrate der Operation	37

4.1.2 Durchführbarkeit der Operation	37
4.1.3 Postoperative Komplikationen	39
4.2 Ergebnisse bezüglich der Nebenzielkriterien der Studie	40
4.2.1 Klinische Befunde bei den Versuchstieren im Versuchszeitraum	40
4.2.2 Entwicklung der Herzfrequenz	40
4.2.3 Entwicklung der Atemfrequenz	41
4.2.4 Entwicklung der vormittags gemessenen Körpertemperatur	42
4.2.5 Entwicklung der nachmittags gemessenen Körpertemperatur	43
4.2.6 Entwicklung der Tränkeaufnahme	44
4.2.7 Entwicklung der Bauchdeckenspannung	45
4.2.8 Entwicklung der Operationswunden	46
4.3 Laborbefunde bei den Versuchstieren im Versuchszeitraum	47
4.3.1 Erythrozytengehalt	47
4.3.2 Hämoglobingehalt	48
4.3.3 Hämatokritwert	49
4.3.4 Leukozytengehalt	50
4.3.5 Plasmaglukosegehalt	51
4.3.6 Fibrinogengehalt	52
4.3.7 Basenabweichung	53
4.3.8 Harnstoffgehalt	54
5. Diskussion	55
5.1 Erfolgsrate der Operation	55
5.2. Durchführbarkeit der Operation	56
5.3 Intra- und postoperative Komplikationen	57
5.4 Bewertung der Operationsmethode	58
5.5 Nebenzielkriterien	59
5.5.1 Klinische Parameter	59
5.5.2 Laborparameter	60
5.5.3 Sektionsbefunde	61
5.6 Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen	62
5.7 Abschließende Bewertung des Verfahrens	62

6. Zusammenfassung	63
7. Summary	65
8. Literatur	67
9. Anhang	81

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
BDS	Bauchdeckenspannung
BE	Base Excess
Diff.	Differenz
durchschn.	Durchschnittlich
FA	Futteraufnahme
ggr.	geringgradig
hgr.	hochgradig
Hg.	Hungergrube
HL	hinten links
HR	hinten rechts
i. m.	intramuskulär
i. v.	intravenös
KM	Körpermasse
Ln. ileoc.	Lymphonodus ileocaecalis
Ln. jejun.	Lymphonodus jejunalis
MAP	Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis
mgr.	mittelgradig
mmol	Millimol
Nm	nachmittags
Pat.	Patienten
Plica ileoc.	Plica ileocaecalis
p. op.	post operationem
S	Standardabweichung
ssp.	Subspezies
s. c.	subkutan
µg	Mikrogramm

μmol

Mikromol

Vm

vormittags

WHS

Wundheilungsstörung

WI

Wundinfektion

WE

Wundemphysem

\bar{x}

arithmetischer Mittelwert

Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Grafische Darstellung des Versuchsablaufs</i>	<i>26</i>
<i>Abbildung 2: Schematische Darstellung der Anordnung von Endoskop und Instrumentarium am Patienten</i>	<i>29</i>
<i>Abbildung 3: Schematische Darstellung der Biopsie des Lymphonodus ileocaecalis</i>	<i>31</i>
<i>Abbildung 4: Schematische Darstellung der Biopsie eines Lymphonodus jejunalis</i>	<i>32</i>
<i>Abbildung 5: Entwicklung der Herzfrequenz</i>	<i>40</i>
<i>Abbildung 6: Entwicklung der Atemfrequenz</i>	<i>41</i>
<i>Abbildung 7: Entwicklung der vormittags gemessenen Körpertemperatur</i>	<i>42</i>
<i>Abbildung 8: Entwicklung der nachmittags gemessenen Körpertemperatur</i>	<i>43</i>
<i>Abbildung 9: Entwicklung der Tränkeaufnahme</i>	<i>44</i>
<i>Abbildung 10: Entwicklung der Bauchdeckenspannung</i>	<i>45</i>
<i>Abbildung 11: Entwicklung der Operationswunde</i>	<i>46</i>
<i>Abbildung 12: Erythrozytengehalt im Blut</i>	<i>47</i>
<i>Abbildung 13: Hämoglobingehalt im Blut</i>	<i>48</i>
<i>Abbildung 14: Hämatokritwert</i>	<i>49</i>
<i>Abbildung 15: Leukozytengehalt im Blut</i>	<i>50</i>
<i>Abbildung 16: Glukosegehalt im Plasma</i>	<i>51</i>
<i>Abbildung 17: Fibrinogengehalt im Plasma</i>	<i>52</i>
<i>Abbildung 18: Basenabweichung im Blut</i>	<i>53</i>
<i>Abbildung 19: Harnstoffgehalt im Blut</i>	<i>54</i>

Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Gesamtdauer des operativen Eingriffs bei den einzelnen Versuchstieren</i>	<i>38</i>
<i>Tabelle 2: Übersicht über die laparoskopische Auffindbarkeit der Lymphknoten</i>	<i>38</i>
<i>Tabelle 3a: Klinische Befunde I</i>	<i>81</i>
<i>Tabelle 3b: Klinische Befunde II</i>	<i>88</i>
<i>Tabelle 4: Operationsbefunde und Komplikationen während der Operation</i>	<i>95</i>
<i>Tabelle 5: Sektionsbefunde</i>	<i>96</i>
<i>Tabelle 6: Protokollblatt zur Erfassung der Laborparameter</i>	<i>97</i>
<i>Tabelle 7: Protokollblatt zur Erfassung der Besitzerdaten, der Bestandsdaten, des Signalements und der Anamnese</i>	<i>101</i>
<i>Tabelle 8: Protokollblätter zur Erfassung der Befunde bei der Aufnahmeuntersuchung</i>	<i>102</i>
<i>Tabelle 9: Protokollblatt zur Erfassung der Operationsdaten</i>	<i>104</i>
<i>Tabelle 10: Protokollblatt zur Erfassung der Befundschlüssel</i>	<i>105</i>
<i>Tabelle 11: Protokollblatt zur Erfassung der quantitativen klinischen Befunde</i>	<i>106</i>
<i>Tabelle 12: Protokollblatt zur Erfassung der Sektionsbefunde</i>	<i>113</i>
<i>Tabelle 13: Protokollblatt zur Erfassung der Probenergebnisse</i>	<i>114</i>

1. Einleitung

Die Paratuberkulose der Wiederkäuer (Johne'sche Krankheit) ist eine seit Ende des 19. Jahrhunderts bekannte Erkrankung. Sie wird verursacht durch eine Infektion mit *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* (MAP).

Neben der wirtschaftlichen Bedeutung dieser Erkrankung wird auch über eine mögliche Bedeutung dieses Bakteriums als Zoonoseerreger diskutiert. Bis heute kann eine ätiologische Rolle bei der Morbus Crohn-Erkrankung des Menschen nicht ausgeschlossen werden. Insbesondere die Tatsache, dass dieser Erreger auch in der Milch infizierter Rinder nachgewiesen werden kann und bei den üblichen Pasteurisierungsverfahren keine vollständige Abtötung erreicht wird, stellt ein Problem im Sinne des Verbraucherschutzes dar (KLEE, 2002; GEUE et al., 2004; STRATMANN, 2006).

Aus diesen Gründen wurde in den letzten Jahren vermehrt über eine gezielte Bekämpfung dieser Erkrankung auch auf Bestandsebene diskutiert. Ziel dieser Maßnahmen ist die Schaffung Paratuberkulose-freier Bestände und Regionen. (KÖHLER et al., 2004). Grundlage solcher Bekämpfungsstrategien sind stets ausreichend valide diagnostische Verfahren. Diese dienen nicht nur zur Erfassung der infizierten Individuen. Sie sind auch essentiell zur Kontrolle des Erfolgs durchgeführter Bekämpfungsmaßnahmen. Aufgrund verschiedener Umstände (lange Inkubationszeit, intermittierende Erregerausscheidung u. a.) ist eine sichere und einfache Diagnostik bei der Paratuberkulose der Wiederkäuer bis heute nur sehr bedingt möglich. Am lebenden Tier ist neben dem direkten Erregernachweis im Kot auch der indirekte Nachweis der Infektion über die Serologie möglich. Selbst eine Kombination beider Methoden führt aber im Rahmen einer Bestandsdiagnostik ebenso wie bei Einzeltieren zu Problemen bei der Interpretation der Ergebnisse (HACKER et al., 2004; KÖHLER et al., 2004).

Goldstandard in der Paratuberkulose-Diagnostik ist nach wie vor die Untersuchung des Ileocaecallymphknotens, welcher jedoch am lebenden Tier nur schwer zugänglich ist (GONZALEZ et al. 2005).

Eine Biopsie dieses Lymphknotens kann zwar in Einzelfällen im Rahmen einer Laparotomie durchgeführt werden (BENEDICTUS u. HAAGSMA, 1986; MERKAL et al., 1987; FLBBE, 2002; HUDA et al., 2003; AMEMORI et al., 2004). Im Hinblick auf eine Bestandsdiagnostik ist ein solcher Eingriff jedoch zu aufwendig. Aufgrund der Fortschritte in der Gerätetechnik ist es in der Human- und Tiermedizin jedoch mittlerweile möglich, eine Vielzahl diagnostischer und therapeutischer Eingriffe unter

laparoskopischer Kontrolle durchzuführen („minimal-invasive Chirurgie“). Deshalb war es das Ziel dieser Studie, eine laparoskopische Methode zur Biopsie des Ileocaecallymphknotens und der Dünndarmlymphknoten bei Kälbern zu entwickeln, um die Materialentnahme aus diesem Lymphknoten für kulturelle und molekularbiologische Untersuchungen zu erleichtern. Denn wie verschiedene Untersuchungen gezeigt haben (WINTERHOF et al., 2002; MERKAL et al., 1987), lässt sich MAP bereits dann schon in diesen Lymphknoten nachweisen, wenn dieser Erreger noch nicht regelmäßig mit dem Kot ausgeschieden wird (McDONALD et al., 1999; STABEL et al., 2003; SWEENEY et al., 2006).

Entsprechend der schnellen und komplikationsarmen laparoskopischen Diagnostik im Rahmen anderer Fragestellungen könnte eine standardisierte Methode zur laparoskopisch unterstützten Biopsie des Ileocaecallymphknotens bei der Bekämpfung der Paratuberkulose eine wertvolle Hilfe darstellen (SWEENEY et al., 1992; HUDA u. JENSEN 2003 und AMEMORI et al., 2004) und insbesondere die frühzeitige Erkennung von MAP- infizierten Rindern wesentlich erleichtern.

2. Schrifttum

2.1 Paratuberkulose

2.1.1 Übersicht

Die Paratuberkulose, auch als Johne'sche Krankheit bezeichnet, unterliegt in Deutschland der Meldepflicht. Bei dem Erreger, dem *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* (MAP), handelt es sich um ein säurefestes Kurzstäbchen. Die Infektion kommt weltweit vor, insbesondere in Gegenden mit intensiver Rinderhaltung. Das Wirtsspektrum umfasst neben großen und kleinen Wiederkäuern u. a. auch Kameliden, Schweine, Affen und Kaninchen. Ebenso wurden Keime bei Menschen mit verschiedenen intestinalen Erkrankungen isoliert (REHM, 1999; KLEE, 2002; STABEL et al., 2003).

Mycobacterium avium ssp. *paratuberculosis* wird bereits in der subklinischen Phase der Erkrankung intermittierend mit dem Kot und in der Milch ausgeschieden. Das klinische Bild der Erkrankung zeigt sich jedoch meist erst nach einer sehr langen Inkubationszeit von zwei bis zu fünf Jahren. Bis heute ist kein diagnostischer Test verfügbar, der eine ausreichende sensitive und spezifische Diagnostik solcher Infektionen bei Rindern aller Altersklassen ermöglicht (SOFRENOVIC, 2000; STRATMANN, 2006).

Das auffallendste klinische Symptom der Paratuberkulose ist die Abmagerung. Sie wird hervorgerufen durch Malabsorption und intestinale Proteinverluste aufgrund einer chronischen progressiven granulomatösen Enterokolitis (SOFRENOVIC, 2000; DOLL, 2006). Zusätzlich besteht oft Durchfall, der zunächst wechselhaft, später jedoch kontinuierlich auftritt (BAUMGARTNER et al., 1999).

Die klinisch manifeste Phase der Erkrankung beginnt oft im Anschluss an eine Kalbung, somit in einer Situation mit erhöhter Belastung für das Tier, selten jedoch bereits bei Rindern, welche noch nicht gekalbt haben (COLLINS, 1994; BAUMGARTNER et al., 1999).

Als Ausdruck der Eiweißverluste treten hypoproteinämische Ödeme auf, und außerdem entwickelt sich eine fortschreitende Dehydratation. Die Krankheit führt in der Regel nach Wochen bis Monaten zum Tode (BAUMGARTNER et al., 1999). Anhand der pathologisch-morphologischen Befunde ist ersichtlich, dass die Veränderungen im Bereich des Ileums am stärksten ausgeprägt sind und dort begonnen haben. Die zugehörigen Lymphknoten sind ebenfalls vergrößert. Histologisch erweisen sich die Veränderungen als granulomatöse Endzündung mit umfangreicher Infiltration von epitheloiden Zellen und Makrophagen, in denen Keime

nachgewiesen werden können (SOFRENOVIC, 2000; STAMATOVIC, 2001; KLAWONN et al., 2004).

Mycobacterium avium ssp. *paratuberculosis* wird über Kot, Milch und Sperma ausgeschieden. Dabei kann die Ausscheidung durch verschiedene Stressfaktoren, wie Geburt oder hohe Milchleistung, ausgelöst oder verstärkt werden (STRATMANN, 2006).

2.1.2 Erregercharakterisierung

Mycobacterium avium ssp. *paratuberculosis* gehört zur Gattung *Myobacterium* der Familie *Myobacteriaceae*. Es handelt sich um unbewegliche, sporenlose und säure- wie auch alkoholfeste Stäbchen mit einer Länge von 1,0-2,0 µm und einer Breite von 0,3-0,5 µm. Die äußere Schicht der Zellwand wird von Mycolsäuren gebildet, welche wiederum eine Bindung an das Peptidoglycan der Murein-Basalstruktur aufweisen. Hier findet sich auch die Begründung für das lipophile wie auch hydrophobe Verhalten des Erregers, der eine hohe Tenazität in der Umwelt und eine Resistenz gegenüber intrazellulären und lytischen Enzymen zeigt (BAUMGARTNER et al., 1999; SOFRENOVIC, 2000).

2.1.3 Wesen, Vorkommen und Bedeutung

Bei der Paratuberkulose handelt es sich um eine chronische granulomatöse Enteritis, die durch *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* ausgelöst wird und an der sowohl Haus- als auch Wildwiederkäuer erkranken. Die Infektion ist weltweit verbreitet und führt zu großen finanziellen Verlusten in der Landwirtschaft. (STRATMANN, 2006; DÜNSER u. SCHWEIGHARDT, 2006).

2.1.4 Wirtschaftliche Bedeutung

Von fast allen Autoren wird auf die erheblichen wirtschaftlichen Schäden hingewiesen. Einerseits werden die ökonomischen Schäden durch die eigentlichen Tierverluste selbst verursacht, andererseits schlagen vor allem die verminderte Milchleistung, höhere Krankheitsanfälligkeit der betroffenen Tiere und die damit verbundenen hohen Tierarztkosten zu Buche (KLEE, 2002; WINTERHOFF et al., 2002; GEUE et al., 2004; BULANDER, 2006). Schon in der dem klinischen Stadium vorangehenden Laktation soll die Milchproduktion um 70-700 kg pro Jahr verringert sein (STAMATOVIC, 2001; KLEE, 2002; STABEL et al., 2003; STRATMANN, 2006; BULANDER, 2006).

2.2 Diagnostik

2.2.1 Diagnostische Möglichkeiten

Die Paratuberkulose ist eine Infektionskrankheit mit längerer Inkubationszeit. Unter natürlichen Bedingungen beträgt die Inkubationszeit meist mindestens 2 Jahre. Sie soll bis zu 10 Jahre dauern können, weshalb die rechtzeitige Diagnose von besonderer Wichtigkeit ist. Kälber infizieren sich meist schon in der ersten Lebenswoche oder werden intrauterin infiziert (SWEENEY et al., 1992; KLEE, 2002; HOMUTH, 2002). Aufgrund der hohen Tenazität von MAP in der Umwelt und der Schwierigkeiten bei der Diagnostik ist die Sanierung Paratuberkulose-infizierter Bestände langwierig und mit großem Aufwand verbunden. Die Bekämpfungsmaßnahmen zielen darauf ab, die Weiterverbreitung der Infekten von Bestand zu Bestand und ihre Ausbreitung innerhalb der Bestände zu verhindern (GEUE et al., 2004). KLAWONN, et al. (2004) untersuchten mögliche Impfmaßnahmen gegen die Paratuberkulose.

Wie bei vielen Infektionskrankheiten sind drei Gruppen von diagnostischen Tests möglich:

- 1.) Direkter Erregernachweis (kulturelle Untersuchung von Kot und/oder Lymphknoten, insbesondere Ileocaecallymphknoten, Kotmikroskopie oder PCR)
- 2.) Nachweis zellgebundener Immunreaktionen (z. B. Johnin-Hauttest, γ -Interferon-Test, Durchflusszytometrie)
- 3.) Nachweis humoraler Antikörper (KBR, verschiedene ELISA).

Die sensitivste Methode der intra vitam Paratuberkulose-Diagnostik ist nach wie vor der Erregernachweis in Kotproben mit Hilfe der kulturellen Anzucht (SWEENEY et al., 1992; HOMUTH, 2002; SCHÖNENBRÜCHER et al., 2008).

2.2.1.1 Direkter Nachweis des Erregers

Bei der kulturellen Untersuchung wird der Erreger aus Kot, Milch, Darmschleimhaut oder Lymphknoten auf Spezialnährböden angezüchtet. Die Spezifität des kulturellen Nachweises liegt bei 100 %. Die Sensivität liegt aufgrund der intermittierenden Erregerausscheidung jedoch nur bei 50 %. Ein weiterer Nachteil ist der lange Zeitraum bis zur Diagnosestellung (COLLINS, 1994; PAVLIK et al., 2000; WELLS et al., 2003).

2.2.1.2 Indirekter Nachweis des Erregers

Die serologische Diagnostik der Paratuberkulose des Rindes erfolgt durch Nachweis von Antikörpern gegen MAP in Blutserum oder Milch mit Hilfe verschiedener ELISA-Testsysteme (FLEBBE, 2002; HACKER et al., 2004; STABEL, 2003). Durch die enge genetische und phänotypische Verwandtschaft von MAP mit anderen Mykobakterienspezies muss beim Antikörpernachweis allerdings mit Kreuzreaktionen gerechnet werden (KÖHLER et al., 2004). Eine Serokonversion erfolgt erst relativ spät im Verlauf der Erkrankung (im Alter von 2-3 Jahren) und nicht bei allen Tieren (KÖHLER et al., 2004).

WINTERHOFF et al (2002) beschreiben die Etablierung und Evaluation eines ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen MAP in Milch. Zur Adaptation an der Milch wurde der kommerziell erhältliche Svanovir[®]-ELISA (Fa. Svanova, Schweden) ausgewählt, welcher eine gute Sensivität aufweist.

2.2.1.3 Laparoskopie

Unter der Endoskopie im weitesten Sinne versteht man ein physikalisches Untersuchungsverfahren, welches die Betrachtung von Organhöhlräumen und Körperhöhlen mit Hilfe eines röhrenförmigen, starren oder flexiblen Endoskops ermöglicht. Das Endoskop stellt ein optisches System dar, bestehend aus Objektiv, Okular, einer Beleuchtungsquelle und Arbeitskanälen. Das Prinzip besteht darin, die zu untersuchende Körperhöhle anzuleuchten und sie somit für den Untersuchenden einsehbar zu machen (LIESS, 1936; FISCHER et al., 1989; JANOWITZ, 1998; SIEGL et al., 1994; FISCHER et al., 1995; FUHRMANN, 1999; FRANZ et al., 2000; KLEIN et al., 2002; LOHO, 2004; STÜRTZBECHER, 2005).

Mittels Laparoskopie lässt sich die direkte Untersuchung der Bauchhöhle durchführen. Hierbei wird nach Anlegen eines Pneumoperitoneums durch einen 0,3 -2 cm langen Hautschnitt ein Trokar in die Bauchhöhle eingebracht, über dessen Hülse eine Optik eingeführt werden kann. Alle weiteren Instrumente können dann unter direkter Sichtkontrolle gesetzt werden, so dass in Kombination mit einem Laparoskop, welches mit Videokamera und Lichtquelle verbunden sein kann, die Einsicht in die Bauchhöhle möglich wird. Für weitere operative Eingriffe werden über weitere Zugänge die notwendigen Operationsinstrumente eingebracht (FUHRMANN, 1999; LEBER et al., 2004).

Die Laparoskopie stellt heute auch beim Rind eine gute Ergänzung zur klinischen und labordiagnostischen Untersuchung dar. In der Tiermedizin hat die Laparoskopie

in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen (FRANZ et al., 2000).

Die Vorteile der Laparoskopie im Vergleich zur Laparotomie sind wie folgt zu benennen:

Die Laparoskopie beinhaltet ein geringeres Gewebstrauma; dadurch ergibt sich eine kürzere Rekonvaleszenz, eine weniger intensive Nachbehandlung, geringerer postoperativer Schmerz, geringere Kontamination des Operationsgebietes, geringere Gefahr von Wundinfektionen oder Nahtdehiszenzen und die mögliche Kontrolle einer eventuell einsetzenden Nachblutung (LIESS, 1936; JANOWITZ, 1998; FRANZ et al., 1999; van LEEUWEN et al., 2002; LEBER et al., 2004).

Die Nachteile einer Laparoskopie sind:

Nicht alle Regionen sind endoskopisch darstellbar, es ist ein hoher instrumenteller Aufwand erforderlich und die Geräte sind relativ teuer.

2.3 Indikationen der Laparoskopie beim Rind

Die Laparoskopie wurde von GÖTZE (1926) zur Diagnostik der Fremdkörpererkrankung des Rindes genutzt. Eine mögliche Indikation der Laparoskopie beim Rind ist beispielsweise ein Peritonitisverdacht oder der Verdacht auf eine andere abdominale Erkrankung. Auch wenn dabei nicht immer eine ätiologische Klärung erfolgen kann, ist eine genauere Aussage hinsichtlich des momentanen Zustandes und der Prognose möglich. Dieses hat beim Rind aus wirtschaftlichen Gründen große Bedeutung (FRANZ et al., 2000, SEEGER, 2004). Auch WILSON und FERGUSON (1984) diagnostizierten mit Hilfe der Laparoskopie über die linke Hungergrube in mehreren Fällen eine Reticuloperitonitis traumatica.

Die Einsatzgebiete der Laparoskopie beim Rind beschränkten sich lange Zeit hauptsächlich auf die Gynäkologie. Dabei stand die Untersuchung der inneren Genitalorgane - vor allem der Ovarien - im Vordergrund (SEEGER, 1973; ROMMEL et al., 1990).

Eine weitere Anwendungsmöglichkeit der Laparoskopie besteht in der Entnahme von Organbiopsaten unter laparoskopischer Kontrolle (FRANZ et al., 2002). In der Literatur wird über eine Methode zur Labmagenoperation unter endoskopischer Kontrolle berichtet (JANOWITZ, 1998; CHRISTIANSEN, 2000; SEEGER, 2004).

Die Laparoskopie stellt nicht nur eine sinnvolle Ergänzung zur Diagnostik von Bauchhöhlenerkrankungen dar, sondern sie ermöglicht auch die chirurgische Korrektur bestimmter Erkrankungen. Gegenüber der Laparotomie ist sie wesentlich weniger invasiv und kann jederzeit wiederholt werden (van LEEUWEN et al., 2000).

Die Laparoskopie zur Behandlung der Labmagenverlagerung wurde bei Kühen als eine erfolgreiche Operationsmethode beschrieben (JANOWITZ, 1998, SEEGER, 2004; SEEGER et al., 2007). Die gynäkologische Laparoskopie ist eine wichtige Grundlage für die korrekte Ovarialdiagnostik bei Tieren (KAULFUSS et al., 1995; ROMMEL et al., 1990; McKELVEY et al., 1985).

Die laparoskopische transmural-intrauterine Insemination bei Schafen im Rahmen des Embryotransfers wird als eine schonende Methode zur Erhöhung der Befruchtungsrate empfohlen (MEINECKE u. MEINECKE-TILLMANN, 1986; HUMANN et al., 1999).

2.3.1 Vorbereitung der Tiere

2.3.1.1 Futterentzug

Laut LIESS (1936) kann die dorsolaterale Laparoskopie jederzeit vorgenommen werden. Die Patienten sollten jedoch durch eintägigen Futterentzug auf die Untersuchung vorbereitet werden (KAULFUSS et al., 1995). FRANZ et al. (2000) schlagen bei Schafen einen Futterentzug für 12 Stunden vor. Das Risiko, beim Trokarieren ein Organ zu verletzen, werde so verringert.

Wasser sollte jedoch stets ab libitum zur Verfügung gestellt werden. SCHILLER u. STAUFENBIEL (1999) sind ebenfalls der Meinung, dass für eine laparoskopische Untersuchung ein Futterentzug notwendig ist. KÜHHOLZER et al. (1996) schlugen vor, den Tieren 24 Stunden vor der laparoskopischen intrauterinen Besamung Futter und Wasser zu entziehen.

KÖNIG et al. (2000) und LEBER et al. (2004) sind hingegen der Meinung, dass ein Futterentzug nicht notwendig ist, weil die Tiere mit abdominalen Erkrankungen oftmals eine ohnehin verminderte Fresslust haben.

2.3.1.2 Fixierung während der laparoskopischen Untersuchung

LIESS (1936) stellte die zu laparoskopierenden Tiere einfach unter sicherer Befestigung des Halfters mit der Längsseite an eine feste Wand. Heutzutage werden die Rinder für den laparoskopischen Eingriff, der meist am stehenden Tier erfolgt, üblicherweise in einem Behandlungsstand fixiert (JANOWITZ, 1998; CHRISTIANSEN, 2000; SEEGER, 2004).

2.3.1.3 Vorbereitung des Operationsfeldes

Beim Zugang über die Flanke werden zunächst die Haare in der Region der Hungergrube mit einem Rasierapparat entfernt. Das Operationsgebiet wird gewaschen, mit Alkohol entfettet und daraufhin desinfiziert (LIESS, 1936; JANOWITZ, 1998; BAUMGARTNER et al., 1999; CHRISTIANSEN, 2000; SEEGER 2004).

2.3.1.4 Anästhesie

LIESS (1936) verzichtete auf eine Sedation und nahm eine Anästhesie der Eingangsstelle mit 2% iger Tutocain-Lösung vor.

ANDERSON et al. (1993) verwendeten Acepromazin zur Prämedikation für die Laparoskopie am stehenden Tier. SEEGER (1973) und PEMBRITON (1979) führen bei Rindern eine paravertebrale Anästhesie durch.

NAOI et al. (1985) benutzten 10 ml Lidocain 2 % zur Lokalanästhesie, welche sie subkutan und intramuskulär im Zentrum der Hungergrube durchführten.

KÜHHOLZER et al. (1996) verwendeten für den endoskopischen Embryotransfer bei Schafen Xylazin zur Sedation der Tiere.

JANOWITZ (1998) und SEEGER (2004) benutzten 20 ml Lidocain 2 % zur Lokalanästhesie.

2.3.1.5 Pneumoperitoneum

Das Anlegen eines Pneumoperitoneums (Insufflation von Luft in die Bauchhöhle) wird vor dem Einstechen des ersten Trokars über eine Veress-Nadel durchgeführt. Dadurch lässt sich eine gefahrlose Trokarierung der Bauchhöhle durchführen, und zugleich wird eine größere Bewegungsfreiheit für das Laparoskop geschaffen (JANOWITZ, 2000; CHRISTIANSEN, 2000; SEEGER, 2004). Vor jedem laparoskopischen Eingriff wird ein Pneumoperitoneum mit Hilfe der Veress-Nadel angelegt (JANOWITZ, 1998). Diese Nadel hat einen Schutzmechanismus an der Kanülenspitze, der sich beim Durchstechen der Bauchwandschichten zurückschiebt und dann wieder vorschnappt. So werden Verletzungen intraabdominaler Organe vermieden (KAULFUSS et al., 1995a; GALUPPO et al., 1996; KÜHHOLZER et al., 1996; RIßE et al., 1999).

FRANZ et al. (1999), GÖICKE (2002) sowie LEBER et al. (2004) haben hingegen das Kapnoperitoneum (Insufflation von CO₂ in die Bauchhöhle) erst nach der Trokarierung angelegt, wobei das CO₂ über das Trokarventil in die Bauchhöhle

insuffliert wurde. Sie berichten, dass für eine laparoskopische Untersuchung ein optimales Sichtfeld von großer Wichtigkeit ist. Das Kapnoperitoneum ist wichtig, weil dadurch die Gefahr der Verletzung von abdominalen Organen bei der Trokarierung vermindert wird.

Die Insufflationsgeschwindigkeit ist abhängig von dem verwendeten Gerät. Um ausreichende Sichtverhältnisse zu erhalten, ist ein intrabdominaler Druck von bis zu 15 mm Hg notwendig. Für eine Exploration des Abdomens bei Kühen in kranialer, kaudaler, dorsaler und ventraler Richtung wurden von van LEEUWEN et al. (2000) gute intra-abdominale Sichtverhältnisse bei einem Gasdruck von 5-15 mm Hg erreicht.

Bei Schafen wurde die laparoskopische Untersuchung erst nach Anlegen eines Kapnoperitoneum mit CO₂ unter Verwendung der Veressnadel bei einem Gesamtvolumen von 4-6 l begonnen. Die Einstichstelle für die Kanüle liegt auf Höhe des Nabels, 2 cm paramedian (KAULFUSS et al., 1995a).

Erst sollte man überprüfen ob sich die Veressnadel in der korrekten Position befindet. Es gibt verschiedene Möglichkeiten, die korrekte Lage der Nadel zu überprüfen. SCHNEIDER u. OTTO (1974) sowie STEINER u. ZULAUF (1999) beschreiben dies wie folgt:

1. Den korrekten Sitz der Nadel erkennt man an dem Einströmen von Luft in die Bauchhöhle und an der Anzeige eines negativen Druckes am angeschlossenen Insufflator.
2. Eine zweite Möglichkeit zur Überprüfung bestehe darin, in den Nadelkonus einen Tropfen physiologischer Kochsalzlösung zu applizieren, welcher beim korrekten Nadelsitz sofort in die Bauchhöhle abfließt.
3. Die Kanülenspitze muss frei beweglich sein. Ein nachträglicher Kontakt mit den sich verschiebenden inneren Organen muss vermieden werden.
4. An der gegenüberliegenden Hungergrube muss durch Palpation und Perkussion eine deutliche Umfangsvermehrung festzustellen sein. Der unter der Bauchwand spürbare Gasraum ist regelmäßig ab 10-15 Liter insufflierten Gases palpierbar.
5. Abwehrbewegungen des Tieres sind ein Hinweis für eine fehlerhafte Insufflation.

Für die Laparoskopie können laut Literatur folgende Gase verwendet werden:

- Sauerstoff (O₂)
- Kohlendioxid (CO₂)
- Lachgas (N₂O).

Kohlendioxid hat die Vorteile, dass es gewebeverträglich, gut blutlöslich und schnell

resorbierbar ist (LEBER et al., 2004).

RÜDIGER et al. (1983) berichteten über den Einfluss des Pneumoperitoneums auf den Zustand der Tiere nach der Operation. Die Studie wurde an 69 Kühen durchgeführt. Bei 33 Kühen wurde das Pneumoperitoneum am Ende der operativen Behandlung abgesaugt, bei 36 hingegen belassen. Dabei zeigten die Tiere mit evakuierter Bauchhöhle bezüglich Fresslust und Pansenmotorik schon ab zwei Tage post operationem einen signifikant besseren Heilungsverlauf als die Kontrolltiere. Außerdem wiesen die Harnproben der Versuchstiere 3 Tage nach der chirurgischen Behandlung einen signifikant niedrigeren Ketonkörpergehalt auf als diejenigen der Kontrolltiere.

Das Anlegen eines Pneumoperitoneums kann Komplikationen verschiedener Art mit sich bringen. Davon berichten viele Autoren, u. a. RÜDIGER et al. (1983) sowie MONCADA-ANDEL et al. (1983).

- 1.) Das Anstechen von Gefäßen mit Entstehung einer Gasembolie,
- 2.) Unverträglichkeitserscheinungen bei Auswahl eines ungeeigneten Gases,
- 3.) Insufflierung des Gases mit großer Geschwindigkeit und unter zu hohem Druck (Gewebezerreibungen, Schock),
- 4.) Drosselung der Blutzirkulation durch Kompression von größeren Blutgefäßen bei zu hohem Peritonealbinnendruck,
- 5.) Behinderung der Atmung (Druck auf das Diaphragma).
- 6.) Während der Laparoskopie tritt häufig ein Gasverlust auf, der bedingt ist durch Resorption des Gases und Ausströmen an undichten Stellen (z. B. Instrumentenkanal) oder beim Wechsel von Instrumenten.
- 7.) Zu hoher intraabdominaler Druck, falsch platzierte Veress-Nadel oder zu lange Inzision als Zugang für die Trokare sind mögliche Ursachen für ein subkutanes Emphysem und können dann über die vergrößerte Resorptionsfläche zur Hyperkapnie führen.

2.3.2 Zugangsstellen

Nach LIESS (1936), FRANZ et al. (2002) sowie LEBER et al. (2004) müssen die Zugangsstellen zur Bauchhöhle so gewählt werden, dass ein optimaler Überblick über die zu untersuchenden Organe ermöglicht wird und gleichzeitig ein minimales Verletzungsrisiko besteht. Ein Zugang für das Laparoskop kann an unterschiedlicher Stelle geschaffen werden. Für die Wahl des Zugangs ist es sehr wichtig, topographisch-anatomische Kenntnisse zu haben und die jeweiligen Indikationen zu

berücksichtigen.

Für die Laparoskopie kann man vier Zugangsstellen benutzen:

- 1.) Fossa paralumbalis sinistra
- 2.) Fossa paralumbalis dextra
- 3.) Vaginale Laparoskopie, durch den Fornix vaginae
- 4.) Ventrale Laparoskopie (am liegenden Tier)

Die günstigste Eingangsstelle zur Laparoskopie beim Rind sah LIESS (1936) in der Hungergrube. Er bezeichnet diese Vorgehensweise als „dorsolaterale Laparoskopie“. Diese ermöglichte einen guten Überblick über die Organe der Bauch- und Beckenhöhle.

Zur Untersuchung wurden die Rinder in einem Behandlungsstand fixiert. Die Zugangsstelle lag im Zentrum der Hungergrube, etwa handbreit kaudal der letzten Rippe und eine Handbreite unterhalb der Lendenwirbelsäule.

2.3.2.1 Laparoskopische Anatomie beim adulten Rind bei Zugang über die Fossa paralumbalis sinistra

Beim Eingehen über die Hungergrube wird zunächst mittels eines Skalpells an der anästhesierten Stelle eine kleine, ca. 1 - 2,5 cm lange Hautinzision gesetzt. Dann wird der Trokar eingeführt. (LIESS, 1936; SCHNEIDER u. OTTO, 1974; ANDERSON et al., 1993; THIELE et al., 1996; FUHRMANN, 1999; KOCH, 1999; JANOWITZ, 1998; CHRISTIANSEN, 2000; KLEIN et al., 2002; SEEGER, 2004; STEINER u. ZULAUF, 2006).

Die diagnostische Laparoskopie von links bei Rindern wurde von ANDERSON et al. (1993) durchgeführt. In dieser Studie wurden 6 erwachsene Rinder laparoskopisch untersucht und die anatomischen Verhältnisse beschrieben.

Die Muskulatur und das Peritoneum werden mit dem Trokar in einem kurzen festen Stoß durchstoßen, um ein Abheben des Bauchfells zu verhindern. In der Literatur werden die anatomischen Befunde beschrieben, ausgehend von rechts am stehenden Tier (SCHNEIDER u. OTTO, 1974; KÖNIG et al., 1999; FUHRMANN, 1999; FRANZ et al., 1999; KLEIN et al., 2002).

Die Stichrichtung beim Eingehen über die linke Flanke sollte medio-kaudo-dorsal sein, um das Risiko zu minimieren, den dorsalen Pansensack zu punktieren (LIESS, 1936). Nach Einführung des Endoskops durch die Fossa paralumbalis sinistra in die Bauchhöhle richtet man das Endoskop etwa horizontal mit der Spitze kranialwärts. Jetzt fällt der Blick auf die Oberfläche des dorsalen Pansensackes.

Wenn man das Endoskop in die medio-dorsale Richtung hält, sieht man ein Organ mit charakteristischer muskulöser Streifung von grau-gelber Farbe. Hierbei handelt es sich um das Zwerchfell (LIESS, 1936).

Bei weiterem Zurückziehen des Instrumentes kann man auch die Bauchwand mit dem Rippen erkennen. Durch Palpation kann man feststellen, welchen Interkostalraum man gerade im Gesichtsfeld hat. Die Rippen selbst erscheinen in fast weißer Farbe (LIESS, 1936; STEINER u. ZULAUF, 1999; FUHRMANN, 1999).

Wenn man das Endoskop direkt nach ventral richtet, dann kann man das Netz erkennen. Das Netz hat eine orange Farbe, wenn die Tiere mäßig ernährt sind; in diesen Falle kann man die Blutgefäße gut erkennen. In dieser Blickrichtung sieht man auch die Fläche des ventralen Pansensackes und die Bauchwand mit Peritoneum. Das Peritoneum ist von weiß-bläulicher Farbe, glatt und glänzend. Der feine Gefäßverlauf ist gut erkennbar (LIESS, 1936; KÖNIG et al., 1999; FUHRMANN, 1999).

Wenn man das Endoskop nach kaudal richtet, kann man in der Beckenhöhle bei weiblichen Tieren das Ligamentum latum uteri erkennen. In gleicher Richtung findet man bei weiblichen Tieren den Uterus. Dieser hat eine rötlich-orange Farbe. Ebenso lassen sich die Ovarien darstellen. Ob man die Harnblase identifizieren kann, hängt vom Füllungszustand des Organes ab. Bei männlichen Tieren kann man den Samenstrang erkennen (LIESS, 1936; KÖNIG et al., 1999, FUHRMANN, 1999).

Ebenfalls bei kaudaler Blickrichtung kann man peristaltische Wellen der Dünndarmschlingen erkennen. Die Untersuchung der Bauchhöhle in kaudaler Richtung ist effektiver, wenn man die Organe durch rektale Manipulation in das Sichtfeld bewegt (GÖTZE, 1926; KÖNIG et al., 1999; FUHRMANN, 1999; STEINER u. ZULAUF, 1999; SCHILLER u. STAUFENBIEL, 1999).

Wenn man das Endoskop nach kaudomedial richtet, kann man das Rektum und den dorsalen Pansensack erkennen. Ebenso sind ein Teil des großen Netzes und der kaudale Netzrand sichtbar. Nach Verschieben des Laparoskopes über den freien Anteil des dorsalen Pansenblindsackes in medialer Richtung in den Netzbeutel hinein können regelmäßig Teile der Kolonscheibe, des Blinddarmes, des Dünndarmkonvoluts sowie kaudomediale Anteile des großen Netzes und der kaudale Netzrand dargestellt werden (LIESS, 1936; FUHRMANN, 1999; STEINER u. ZULAUF, 1999).

Der Zugang über die linke Hungergrube wurde auch zur laparoskopischen Operation der linken Labmagenverlagerung benutzt (van LEEUWEN et al., 2000;

CHRISTIANSEN, 2000 JANOWITZ, 2001; SEEGER, 2004).

Angaben zur diagnostischen Laparoskopie von links bei Schafen finden sich bei THIELE et al. (1996). In dieser Studie wurden Schafe laparoskopisch untersucht und die anatomischen Verhältnisse beschrieben.

2.3.2.2 Laparoskopische Anatomie beim Zugang über die Fossa paralumbalis dextra

Wenn man die Beckenhöhle oder die kranial davon liegenden Bauchhöhlenabschnitte besichtigen und die Ileocaecallymphknoten biopsieren will, dann ist die günstigste Eingangsstelle die Fossa paralumbalis dextra. Beim Eingehen über die rechte Hungergrube wird zunächst mittels eines Skalpells an der anästhesierten Stelle eine kleine, ca. 1 - 2,5 lange Hautinzision gesetzt, dann wird der Trokar eingeführt. Die diagnostische Laparoskopie von rechts bei Rindern wurde von LIESS (1936), ANDERSON et al. (1993), SCHNEIDER u. OTTO (1974), KÖNIG et al. (1999), FUHRMANN (1999) und STEINER u. ZULAUF (1999) beschrieben.

Die Muskulatur und das Peritoneum werden mit dem Trokar schlagartig durchstochen, um ein Abheben des Bauchfells zu verhindern.

Der Zugang durch die rechte Hungergrube bildet eine gute Möglichkeit für die laparoskopische Untersuchung. Bei kranio-dorsaler Blickrichtung sieht man die Leber. Sie ist leicht zu finden, da sie eine außerordentlich charakteristische Färbung hat. Die Leber ist dunkel weinrot-violett, hat aber bei älteren Tieren eine ins Rotbraunviolett spielende Tönung. In diese Richtung kann man auch den lateralen Teil des Diaphragmas erkennen. Von der Befestigung der Leber mit der Zwerchfell ist stets das Ligamentum triangulare dextra zu sehen, das durch seine dreieckige Form, grau-weiße Farbe und streifige Faserzeichnung gekennzeichnet ist. Häufig ist auch ein Band zu sehen, das straff gespannt vom Processus caudatus medianwärts zur Nierengegend und zum Gekröse des Duodenums zieht (Lig. hepatorenale). Noch weiter in kranialer Blickrichtung erkennt man den Labmagen und Anteile des Darmes (LIESS, 1936; SCHILLER u. STAUFENBIEL, 1999; FUHRMANN, 1999; STEINER u. ZULAUF, 1999). LIESS (1936) konnte in kranialer Blickrichtung die rechte Niere mit einzelnen Renculi erkennen, die von rötlichblauer Farbe sind. Zwischen ihnen befinden sich gelbliche Reste der Nierenfettkapsel.

LIESS (1936), KÖNIG et al. (1999), SCHILLER u. STAUFENBIEL, (1999), STEINER u. ZULAUF (1999) sowie FUHRMANN (1999) haben die rechte Hungergrube als Zugangsstelle zur Bauchhöhle gewählt. Sie erklären, dass die Fossa paralumbalis

dextra einen guten Überblick über die Organe der Bauch- und Beckenhöhle bietet. Nach dem Einführen des Endoskops in das Abdomen können in medialer Richtung bei allen Tieren das große Netz und die rechte Niere im Nierenfett dargestellt werden. Die rechte Niere findet man etwas kaudal und etwas dorsal vom Processus caudatus der Leber. In größerem Umfang kann man sie nur bei mageren Tieren durch das Bauchfell durchschimmern sehen. Man erkennt einzelne Renculi, die von rötlich-blauer Farbe sind; zwischen ihnen befinden sich gelbliche Reste der Nierenfettkapsel. Bei besser genährten Tieren ist meist nur die Kuppe von ein oder zwei Renculi wahrzunehmen. Bei Tieren mit großem Fettansatz lässt sich die Niere selbst nicht erkennen. Die linke Niere ist zunächst mit dem Endoskop nicht zu sehen (LIESS, 1936; KÖNIG et al., 1999; SCHILLER u. STAUFENBIEL, 1999; FUHRMANN, 1999; STEINER u. ZULAUF, 1999).

Wenn man das Endoskop in kaudale Blickrichtung richtet, kann man bei weiblichen Tieren das rechte Ligamentum latum uteri mit den darin verlaufenden Gefäßen des rechten Eierstocks erkennen. In gleicher Richtung kann man zwischen dem Omentum majus und der Bauchwand die Beckenhöhle identifizieren. Dabei kann der Verlauf des Duodenums im Netz verfolgt werden. In dieser Blickrichtung sieht man auch das Rektum und das Mesorektum. (LIESS, 1936; FUHRMANN, 1999; STEINER u. ZULAUF, 1999).

Bei trächtigen Tieren ist die laparoskopische Untersuchung erschwert. Bei hochträchtigen Tieren schiebt sich der Uterus soweit nach kranial vor, dass es nicht mehr möglich ist, die Organe des kranialen Bauchhöhlenabschnittes, wie Pankreas, Teile der Leber und das Duodenum descendens zu betrachten (FRANZ et al., 2000; KAULFUSS et al., 1995b).

In Abhängigkeit vom Füllungszustand des Darmkonvoluts kann man im Raum zwischen dem kaudalen Rand des Netzbeutels und dem Gekröse des rechten Eierstocks Teile des Blinddarms und die Harnblase erkennen (LIESS, 1936; ANDERSON et al., 1993, KÖNIG et al., 1999; FUHRMANN, 1999; STEINER u. ZULAUF, 1999).

2.3.2.3 Laparoskopische Anatomie beim Zugang über den Fornix vaginae

Die vaginale Laparoskopie sollte hauptsächlich dann angewendet werden, wenn man die Organe in der Beckenhöhle oder diejenigen in dem kranial von ihr liegenden Bauchhöhlenabschnitt besichtigen will (LIESS, 1936).

LIESS (1936) bemerkte, dass das Rektum mit seinem Gekröse ein erhebliches

Hindernis darstellt, weil es sich tuchartig über das Endoskop legt und häufig das Objektiv bedeckt. Er wollte diesen Nachteil beheben, indem er manuell in das Rektum einging und dieses vom Endoskop wegzuziehen versuchte, was ihm aber nicht immer gelang.

2.3.2.4 Laparoskopie über die ventrale Bauchwand

Nach LIESS (1936) wird die ventrale Laparoskopie am liegenden Tier durchgeführt, um die Beckenhöhle oder kranial von ihr liegende Bauchhöhlenabschnitte besichtigen. GÖTZE (1926) schlug als Eingangsstelle die Regio xiphoidea vor, weil die anatomische Beschaffenheit der Bauchwand an dieser Stelle außerordentlich günstig sei. Die ventrale Laparoskopie bietet einen guten Blick auf die abdominalen Organe. Wenn man das Endoskop durch die ventrale Bauchwand in die Bauchhöhle einführt, dann erfolgt der Zugang über eine ca. 2 cm lange Inzision in der Linea alba, etwa 10 cm kaudal des Processus xiphoideus des Brustbeins. Diese Technik verschafft eine gute Sicht über den kranioventralen Bereich der Bauchhöhle und die folgenden Organe und Strukturen: Zwerchfell, Haube, Labmagen, Milz, Leber, ventrale Bauchwand und großes Netz (LIESS, 1936; ANDERSON et al., 1993; STEINER u. ZULAUF, 1999; FUHRMANN, 1999; MULON et al., 2006). Die Laparoskopie von ventral wurde bei 18 Kühen als eine erfolgreiche Operationsmethode zur Behandlung der Labmagenverlagerung beschrieben (MULON et al., 2006).

LIESS (1936) kam zu dem Ergebnis, dass die Laparoskopie von ventral schneller durchführbar ist als bei Zugang über die linke Hungergrube und eine sichere Untersuchung beider Ovarien ermöglicht. Die Methodik der ventralen Laparoskopie beim Kalb und kleinen Wiederkäuern wird auch von FRANZ et al. (2002) beschrieben.

2.4 Laparoskopische Anatomie bei Kälbern

2.4.1 Anatomische Grundlagen

Die Bauchhöhle hat die Form eines Eis, dessen runder Pol kranial durch die Zwerchfellkuppel gebildet wird und welches sich in den Brustkorb vorwölbt; der spitze kaudale Pol dringt durch den Beckeneingang weit in die Beckenhöhle ein (BUDRAS 2002). Die gesamte Bauchhöhle ist von Peritoneum ausgekleidet. Die Bauchhöhle beherbergt vor allem Anteile des Verdauungskanals (Mägen, Dünndarm und Dickdarm), die dem Dünndarm angegliederten Drüsen Leber und Pankreas, die

Milz sowie die Organe des Harn- und Geschlechtsapparates (FUHRMAN, 1999).

2.4.2 Laparoskopie bei Kälbern

Über die Anwendung der Laparoskopie beim Kalb konnten in der Literatur nur wenige Angaben gefunden werden. Naoi et al. (1985) führten eine Reihenbiopsie der Niere an 10 Kälbern sowie an einem Jungrind durch. Die Biopsie erfolgte am stehenden Tier über die rechte sowie die linke Hungergrube. Eine darüber hinausgehende Untersuchung der Bauchhöhle von links war nicht zufriedenstellend möglich, da der Pansen das Blickfeld stark einschränkte.

2.5 Laparoskopisch unterstützte Biopsien

2.5.1 Bisher beschriebene Verfahren

Die laparoskopisch durchgeführte Biopstatentnahme im Rahmen der Diagnostik spielt beim Rind bislang eine noch untergeordnete Rolle. Aber auch hier kann sie die diagnostischen Möglichkeiten erweitern. Sie ist besonders wichtig zur Abklärung von tumorösen Prozessen oder Veränderungen der parenchymatösen Organe. Die Laparoskopie sowie die unter Sicht getätigte Biopstatentnahme werden als wertvolle Ergänzung der klinischen Untersuchung zur Diagnose- und Prognosestellung genutzt (NAOI et al., 1985; SEEGER et al., 1973; SEGER, 1995; THIELE et al., 1996; HUMANN et al., 1999; FRANZ et al., 2002; KLEIN et al., 2002; RAWLINGS et al., 2002).

THIELE et al. (1996) berichten über die Entnahme von Leberbiopstaten beim Schaf unter laparoskopischer Kontrolle; sie benutzten als Zugangsstelle die linke Hungergrube. Eine solche Biopstatentnahme unter laparoskopischer Kontrolle wurde auch beim Hund durchgeführt (RAWLINGS et al., 2002).

Die Biopsie unter laparoskopischer Kontrolle ist mit deutlich höherem materiellem, personellem und zeitlichem Aufwand verbunden. Die Entnahme kann gezielt erfolgen; zudem können die Organe optisch beurteilt werden. Die Wiederholbarkeit des Eingriffes ist beschränkt, da postoperative fibrinöse Verwachsungen zwischen den Organen der Bauchhöhle das Operationsrisiko erhöhen (HUMANN, 1999; FRANZ et al., 2000).

Über Dünndarm-Biotatentnahmen unter laparoskopischer Kontrolle bei Kälbern und Schafen berichten KLEIN et al. (2002). In dieser Studie wurde diese minimal-invasive Methode an 14 anästhesierten Patienten durchgeführt. Bei 10 dieser 14 Tiere konnte ein Biopstat erfolgreich entnommen werden.

FRANZ et al. (2002) benutzten die Laparoskopie und die Biopsie als Möglichkeit zur Diagnose der lymphatischen Leukose bei einem Kalb. Um eine eindeutige Diagnose zu stellen, wurde vom kaudalen Milzrand unter Sichtkontrolle ein Biopat entnommen. Zum Einsatz kam dabei eine 55 cm lange starre Optik mit einem Durchmesser von 3 mm.

Ein Vorteil der unter Sicht durchgeführten Biopsie ist vor allem die mögliche Kontrolle einer eventuell einsetzenden Nachblutung in Bereich der Biopsiestelle (FRANZ et al., 2000).

Berichte über die laparoskopische Biopsie von Lymphknoten bei Rindern gibt es bisher nicht. Die endoskopische Biopsie anderer Organe wurde vielfach bei Hunden, Katzen, Rindern und Pferden beschrieben. In diesen Studien wurden die Leber, die Milz, der Darm und der Magen biopsiert und die entnommenen Gewebe danach entsprechend untersucht (SIMPSON u. ELSE, 1987; RAWLINGS et al., 2002).

Biopatentnahmen unter laparoskopischer Kontrolle werden auch in der Humanmedizin schon seit längerer Zeit routinemäßig durchgeführt (ISHIDA et al., 1981; ISHIDA et al., 1984;). Bei den biopsierten Organen handelt es sich u. a. um Leber, Niere und Pankreas.

2.5.2 Lymphknoten-Biopsie

Die kulturelle Untersuchung des Ileocaecallymphknotens gilt nach wie vor als Goldstandard in der Paratuberkulose-Diagnostik. Man findet diesen Lymphknoten in der Plica ileocaecalis. Es handelt sich um 1-3 je 5-20 mm große Knoten. Von vielen Autoren wurde berichtet, dass sich MAP in diesen Lymphknoten auch schon bei Kälbern nachweisen lässt, selbst wenn diese während der Infektionsversuche den Erreger über den Kot noch nicht ausgeschieden haben (McDONALD et al., 1999; SWEENEY et al., 2006).

Ein weiterer MAP-Nachweis kann in der Regel auch aus den kaudalen Mesenteriallymphknoten (HUDA u. JENSEN, 2003) geführt werden. Bei Paratuberkulose zeigen die Lymphknoten des Ileums eine deutliche Hyperplasie und Ödematisierung (KLEE et al., 2002). Bislang war dieser Lymphknoten nur im Rahmen einer Laparatomie zugänglich (BENEDICTUS u. HAAGSMA, 1986). Unter großem Aufwand war eine laparotomische Biopsie der Lymphknoten bei Schafen möglich (McCONNEL et al., 2004). Aus technischen Gründen und aufgrund verschiedener anderer Schwierigkeiten versagte eine solche Biopsie bei Rindern (AMEMORI et al., 2004).

Das *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* ist hauptsächlich im Verdauungstrakt nachzuweisen (AMEMORI et al., 2004). Deswegen wurde von vielen Autoren versucht, Biopate aus dem Darm und insbesondere aus den Lnn. Ileoceales zu entnehmen (THIELE et al., 1996; HUMANN et al., 1999; AMEMORI et al., 2004).

Eine Biopatentnahme aus Lymphknoten wurde schon vor längerer Zeit von manchen Autoren durchgeführt (PEMBERON, 1979; MERKAL et al., 1987; BENEDICTUS u. HAAGSMA 1986; McCONNEL et al., 2004; AMEMORI et al., 2004; GONZALES et al., 2005).

BENEDICTUS u. HAAGSMA (1986) haben von 223 Tieren Biopate aus dem Ln. mesenteriales entnommen. Sie wurden histologisch und bakteriologisch untersucht. In einer Studie von PEMBERTON (1979) wurde bei 29 Tieren MAP in dem entnommenen Mesenterial-Lymphknoten nachgewiesen. In dieser Studie wurde als Zugangsstelle die rechte Hungergrube benutzt. Die Entnahme erfolgte im Rahmen einer Laparotomie von der rechten Hungergrube aus. MERKAL et al. (1987) fanden MAP in den Ileoocaecallymphknoten bei 119 von 7.540 Kühen.

McCONNEL et al. (2004) führten eine Studie an 77 Schafen im Alter von 10 Monaten durch. Bei diesen Tieren wurden Mesenterial-Lymphknoten per Laparotomie entnommen. Diese Schafe wurden von 5 Tierärzten operiert. Die Operation wurde in der Hungergrube durchgeführt. Die ca. 6 cm lange Inzisionsstelle befand sich zwischen der letzten Rippe und dem Tuber coxae. Diese Operation dauerte zwischen 30 bis 87 Minuten, im Mittel etwa 46 Minuten.

GONZALEZ et al. (2005) haben bei 63 Rindern im Alter von 24 Monaten Biopate aus verschiedenen Organen entnommen. Es handelte sich um zehn verschiedene Gewebsbiopate, und zwar aus den proximalen und distalen Teil des Duodenums, aus proximalen, medialen und distalen Anteilen des Jejunums, aus dem proximalen und distalen Ileum, aus dem Caecum und aus dem Rectum.

Bei 59 dieser Tiere wurde eine Laparotomie durchgeführt. Die anderen vier Tiere wurden laparoskopisch operiert. Bei den 59 Tieren war die Operation erfolgreich und die gewünschten Biopate konnten entnommen werden. Bei den vier Tieren, die laparoskopisch operiert worden sind, war die Entnahme der Biopate nicht möglich.

2.5.3 Fehlermöglichkeiten bei der Biopsie

Fehler bei der Entnahme eines Biopates können negativen Einfluss auf die Qualität der Diagnostik haben. So kann die Entnahme aus einem nicht repräsentativen Ort oder Gewebsanteil zu einer falschen Diagnose führen. Weiterhin können Fehler bei der Probenverarbeitung eine sichere Beurteilung des Biopates erschweren oder sogar unmöglich machen (BURKHARDT, 2001).

2.5.4 Komplikationsmöglichkeiten bei der Laparoskopie

Eine technische Komplikation, welche hauptsächlich bei einem unerfahrenen Operateur auftritt, ist die Ablösung des Peritoneums von der Bauchwand (SCHILLER u. STAUFENBIEL 1999).

Eine andere Möglichkeit, die Ablösung des Peritoneum zu verhindern, besteht darin, anfänglich mit einer scharfen dünnen Kanüle Gas in die Bauchhöhle zu insufflieren und somit ein Pneumoperitoneum zu erzeugen (SEEGER, 1973; STEINER, 1999).

Eine weitere Komplikation beim Einstich in die Bauchhöhle stellt die Punktion innerer Organe da. Der Zugang über die linke Hungergrube beinhaltet die Gefahr einer Pansenpunktion. Beim Zugang über die rechte Hungergrube können das Caecum, das große Netz sowie dahinter liegende Darmabschnitte verletzt werden (KÖNIG et al. 1999).

2.5.5 Nachbehandlung

Nach Abschluss der laparoskopischen Untersuchung wird das restliche Gas über die Trokarhülle aus der Bauchhöhle entfernt, indem die Bauchwand per Hand komprimiert wird (JANOWITZ, 1999; SEEGER, 2004).

Antibiotika können zur Infektionsprophylaxe über die Trokarhülle intraperitoneal appliziert werden. Danach wird die Trokarhülle aus der Bauchhöhle entnommen und die Hautwunde mit einfachen Nähten verschlossen (ANDERSON et al., 1993; CHRISTIANSEN, 2000).

JANOWITZ (1998) und SEEGER (2004) trugen hingegen lediglich ein antiseptisches Spray auf die Hautwunden auf.

3. Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methoden

Im Rahmen dieser Untersuchungen sollte ein laparoskopisches Verfahren entwickelt und validiert werden, welches es erlaubt, Blinddarm- und Dünndarmlymphknoten bei jungen Kälbern für weiterführende Untersuchungen im Rahmen der Paratuberkulose-Diagnostik in toto oder Biopate daraus zu entnehmen.

3.1.1 Vorstudie

Im Rahmen der Arbeit wurde eine Vorstudie an 20 toten Kälbern durchgeführt. Anschließend wurde das Verfahren zunächst an 5 lebenden Kälbern im Rahmen einer Pilotstudie überprüft und anhand der gewonnenen Erfahrungen nochmals modifiziert.

3.1.2 Auswahl der Probanden für die Hauptstudie

In die Studie wurden 15 klinisch gesunde männliche Kälber der Rasse Deutsche Holsteins einbezogen. Das Durchschnittsalter (\bar{x}) der Tiere bei Aufnahme in der Studie lag bei 16,5 Tagen, Das jüngste Tier war 14 Tage, das älteste 30 Tage alt. Die durchschnittliche Körpermasse betrug $51,2 \text{ kg} \pm 1,51 \text{ kg}$ ($\bar{x} \pm s$). Insgesamt bewegte sich die Körpermasse zwischen 49 kg und 54 kg.

Alle Kälber wurden aus zwei Paratuberkulose-positiven Milchviehbeständen angekauft.

Anhand einer Aufnahmeuntersuchung wurde sichergestellt, dass nur gesunde Kälber in die Studie aufgenommen wurden. Die erhobenen Daten wurden in dem entsprechenden Protokollblatt dokumentiert.

Diese Versuchsvorhaben gem. § 8 Absatz 2 Tierschutzgesetz wurde vom Regierungspräsidium Gießen genehmigt (Gz: V 54-19 c 20-15 (1) GI 18/15 Nr. 21/2006).

3.1.3 Ablauf der Hauptstudie

3.1.3.1 Aufstallung und Fütterung der Probanden

Die Tiere waren während des Untersuchungszeitrum im Isolierstall der Klinik für Wiederkäuer in stroheingestreuten Einzelboxen untergebracht. Sie erhielten dreimal täglich Milchaustauschertränke¹ (3 x 2 l), Krafftutter² (2 X 300 g/Tag) sowie Heu guter Qualität, welches ad libitum angeboten wurde. Wasser stand stets zur freien Aufnahme zur Verfügung

3.1.3.2 Untersuchung und Behandlung der Probanden

Nach der Einstellung wurden die Kälber gemäß nachfolgendem Schema untersucht und beprobt. Der detaillierte Ablauf der Studie ist in Abb. 1 dargestellt

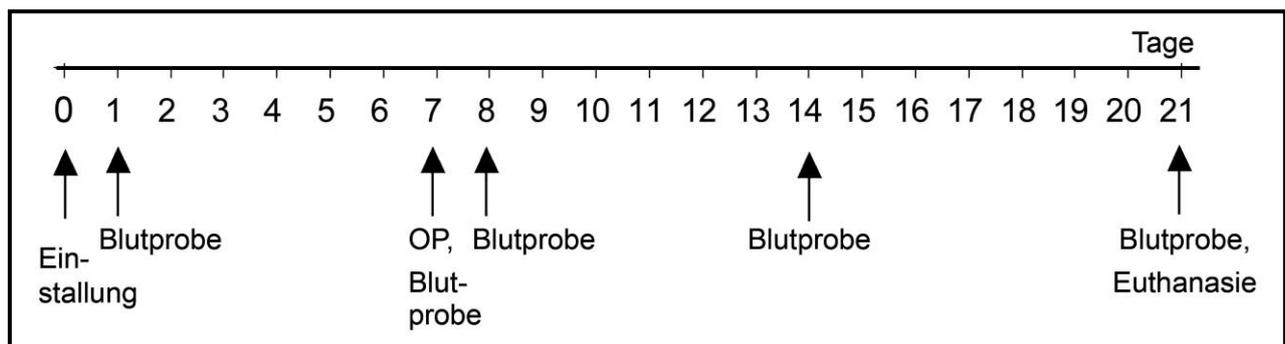


Abb. 1: Graphische Darstellung des Versuchsablaufs

¹ COMBIMILK® Sart Milchaustauschfutter (MAT); Agravis Raiffeisen AG, Münster

² RWZ-KALB M Press, Ergänzungsfutter für Aufzuchtkälber, Raiffeisen Waren-Zentrale Rhein-Main, Köln

3.1.3.3 Vorbereitung der Tiere zur Operation

Ablauf:

1. 12 h vor der Operation (Tag 6 der Studie) wurde den Tieren das feste Futter entzogen. Sie erhalten jedoch weiter Milchaustauschertränke und Wasser.
2. Am Tag des Eingriffes (Tag 7 der Studie) wurde das zu operierende Tier morgens klinisch untersucht und anschließend eine Blutuntersuchung durchgeführt.
3. Eine Stunde vor Beginn des Eingriffs wurde ein Antibiotikum (Procain-Benzylpenicilin¹, 30.000 I.E. / kg s. c.) zur Infektionsprophylaxe verabreicht.
4. Direkt vor der Eingriff wurde den Probanden einmalig ein Analgetikum (Metamizol[®], 20 mg / kg i. v.) verabreicht
5. Die Probanden wurden unmittelbar vor der Operation mittels einer geeichten Viehwaage gewogen.
6. Die Sedation und Analgesie erfolgte durch Injektion von 0,05 mg / kg Detomidin³ i. m., gefolgt von 6 mg / kg Ketamin⁴ i. v.
7. Die Probanden wurden nach Eintritt der Sedation in rechter Seitenlage auf einem Operationstisch fixiert, so dass die linke Flanke gut zugänglich war.
8. Das Operationsfeld war ca. 10 cm x 10 cm groß und befand sich eine handbreit ventral der Wirbelsäule, und zwar ca. 2 cm kaudal der letzten Rippe in der linken Hungergrube.
9. Das Operationsfeld wurde zunächst mit Wasser und Seife gewaschen, anschließend rasiert und desinfiziert. Danach wurde der Bauchwand mit einem Abdecktuch² abgedeckt.

¹ Procain-Benzylpenicilin, Fa. Intervet GmbH, Unterschleißheim

² Abdecktuch (60x90 cm BUSTER-STERIL[®]) Braun GmbH, Tuttlingen

³ Domosedan[®], Wirkstoff Detomidinhydrochlorid 10 mg/ml, Fa. Pfizer GmbH, Karlsruhe

⁴ Ursotamin[®], Wirkstoff Ketaminhydrochlorid, Fa. Pfizer GmbH, Karlsruhe

3.1.3.4 Vorgehensweise bei der laparoskopischen Operation

1. Im Bereich des Operationsfeldes wurden mit einem Skalpell drei Stichinzisionen durch die Haut durchgeführt. Die erste Zugangsstelle befand sich ca. 5 cm ventral der Wirbelsäule und ca. 2 cm kaudal der letzten Rippe in der linken Hungergrube, die zweite Zugangsstelle ca. 7 cm kaudal der letzten Rippe und ca. 12 cm ventral der Wirbelsäule, die dritte Zugangsstelle ca. 10 cm ventral der Wirbelsäule und ca. 8 cm der letzten Rippe.
2. Das Abdomen wurde in Position 1 mit einer Veressnadel¹ (Länge 120 mm, Durchmesser 2 mm) punktiert. Der Einschlich erfolgte dabei in kranio-medio-dorsaler Richtung, um eine ungewollte Punktion von Organen zu vermeiden. Der richtige Sitz der Nadel konnte anhand der freien Beweglichkeit kontrolliert werden.
3. Mit einem in die Kaltlichtquelle integrierten Luftinsufflator, der über einen Silikonschlauch mit der Veressnadel¹ verbunden war, wurde ein Pneumoperitoneum angelegt.
4. Anschließend wurde die Veressnadel¹ wieder aus der Bauchhöhle entfernt.
5. In Position 1 wurde nun ein Magnetventiltrokar² (Nutzlänge 120 mm, Innendurchmesser 8 mm) mit Dorn und Hahn zur Insufflation in kaudo-medio-ventral Richtung in der Bauchhöhle eingestochen.
6. Nach Entfernung des Dorns wurde über die Trokarhülse ein starres Endoskop³ (Arbeitslänge 420 mm, Durchmesser 8 mm, Optik 0°) in die Bauchhöhle eingeführt, welches über ein Fiberglaslichtkabel⁴ (Länge 300 cm, Durchmesser 4,8 mm) mit einer Xenonlichtquelle verbunden war. An dieses Endoskop wurde eine Mini-Video-Kamera⁵ angeschlossen und mit einem Monitor verbunden. Damit konnte man über diesen Monitor die anatomische Lage der Organe in der Bauchhöhle beurteilen, anhand der peristaltischen Wellen die Dünndarmschlingen erkennen und insbesondere den Blinddarm laparoskopisch identifizieren.

¹ Veressnadel[®] 120 mm/2 mm, Fa. Dr. Fritz Endoskope, Tuttlingen

² Magnetventiltrokar, 8 mm, Fa. Dr. Fritz Endoskope, Tuttlingen

³ Laparoskop (starr, 0°-Optik), Dr. Fritz Endoskope, Tuttlingen

⁴ Fiberglaslichtkabel, Dr. Fritz Endoskope, Tuttlingen

⁵ Mini-Video-Kamera, Dr. Fritz Endoskope, Tuttlingen

7. In kaudaler Blickrichtung wurde der Eingang zur Beckenhöhle beurteilt. Dabei war insbesondere auf die Darstellbarkeit von Anteilen des Dünndarmes und des Blinddarmes zu achten. Anschließend wurden das Rektum, der kaudale Rand des Netzes und sichtbare Anteile des Dünndarmes und des Blinddarmes in ihrer Lage und ihrem Aussehen erfasst.
8. Die oben erwähnten Inzisionsstellen wurden so gewählt, dass problemlos Biopiate entnommen werden konnten. Dabei standen die Enden des Endoskops und der Instrumente in der Bauchhöhle in einer gedachten Pyramide zueinander. Das Endoskop und die Instrumente bildete somit eine trigonale Anordnung. Der Untersuchungsort lag in der Mitte dieser gedachten Pyramide (Abb. 2).

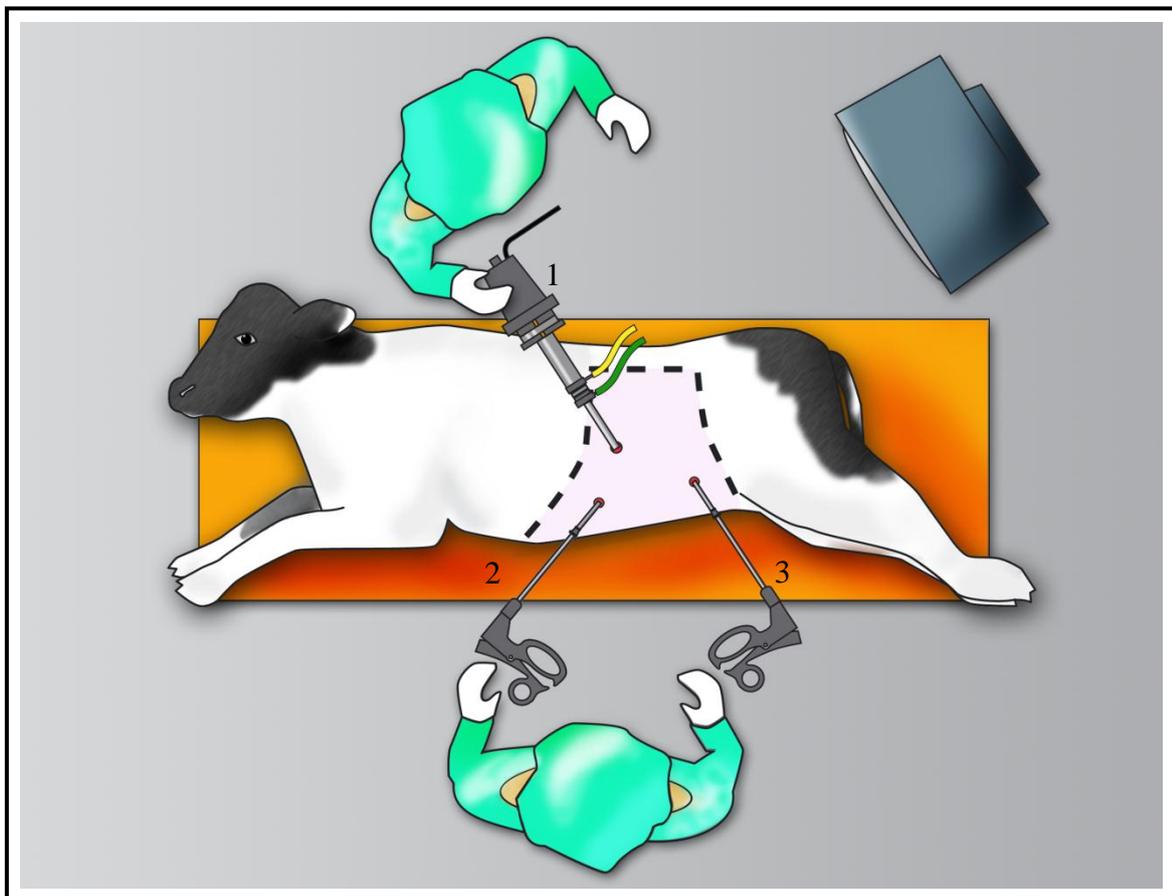


Abb. 2: Schematische Darstellung der Anordnung von Endoskop und Instrumenten am Patienten. 1. Laparoskop mit Kamera, 2. Faszange, 3. Biopsiezange.

¹ Magnetventiltrokar 10 mm, Fa. Dr. Fritz, Tuttlingen

² Trokarhülse, Fa. Dr. Fritz Endoskope, Tuttlingen

³ Faszange, Fa. Dr. Fritz Endoskope, Tuttlingen

9. Durch die zweite Zugangsstelle (ca. 7 cm kaudal der letzten Rippe und ca 12 cm ventral der Wirbelsäule in der linken Hungergrube) wurde der zweite Magnetventiltrokar¹ 10 mm unter Sichtkontrolle in kaudo-medio-dorsaler Richtung in die Bauchhöhle eingeführt. Nach Entfernung des Trokardorns wurde die endoskopische Darm-Fasszange² in die Bauchhöhle eingeführt. Mit dieser Fasszange wurde der Blinddarm in eine Position gebracht, in der die Plica ileocaecalis gut sichtbar war.
10. Die letzte Hautinzision (ca. 10 cm ventral der Wirbelsäule und ca. 8 cm der letzten Rippe) diente als Zugangsstelle für den dritten Magnetventiltrokar¹. Nach Entfernung des Dorns wurde über diesen Trokar eine zweite endoskopische Fasszange² in die Bauchhöhle eingeführt und mit dieser die Plica ileocaecalis möglichst direkt neben dem Ln. ileocaecalis fixiert.
11. Dann wurde die Darmfasszange (Zugangsstelle 2) wieder aus der Bauchhöhle entfernt, und es wurde stattdessen über die Trokarhülse eine Reduzierhülse³ eingebracht, welche das Lumen von 10 mm auf 5 mm verringerte.
12. Durch diese Reduzierhülse konnte eine Biopsiezange⁴ eingebracht werden, mit der ein Biopat aus dem Ln. ileocaecalis entnommen wurde (Abb. 3). Dabei musste darauf geachtet werden, dass bei der Biopsie keine benachbarten Strukturen oder Blutgefäße verletzt wurden.

¹ Magnetventiltrokar 10 mm, Fa. Dr. Fritz Tuttlingen

² Endoskopische Fasszangen modifiziert nach Babock, Fa. Dr. Fritz Tuttlingen.

³ Reduzierhülse 5 mm, Fa. Dr. Fritz Tuttlingen

⁴ Biopsiezange 5 mm, Fa. Dr. Fritz Tuttlingen

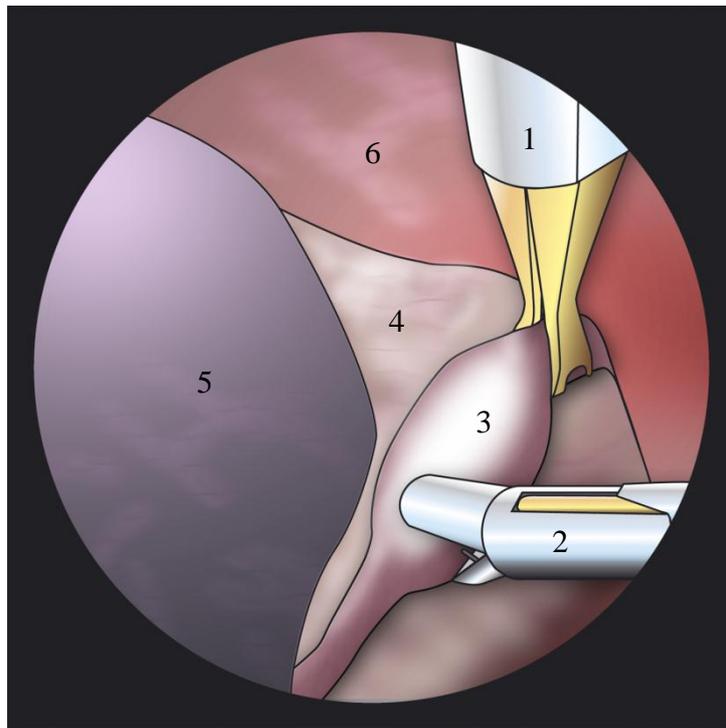


Abb. 3: Schematische Darstellung der Biopsie des Lymphonodus ileocaecalis.

1. Endoskopische Faszange, 2. Biopsiezange, 3. Blinddarmlymphknoten, 4. Plica ileocaecalis,
5. Blinddarm, 6. Bauchwand

13. Abschließend erfolge die laparoskopische Kontrolle eventuell auftretender Blutungen.
14. Das Aufsuchen der Dünndarmlymphknoten erfolgte in entsprechender Art und Weise. Die Dünndarmschlingen stellten sich hierbei besonders im ventralen Bereich der Bauchhöhle deutlich dar.
15. Nach Fixation eines Lymphknotens im Gekröse des Jejunums konnte dieser Lymphknoten wie oben beschrieben biopsiert werden (Abb. 4).

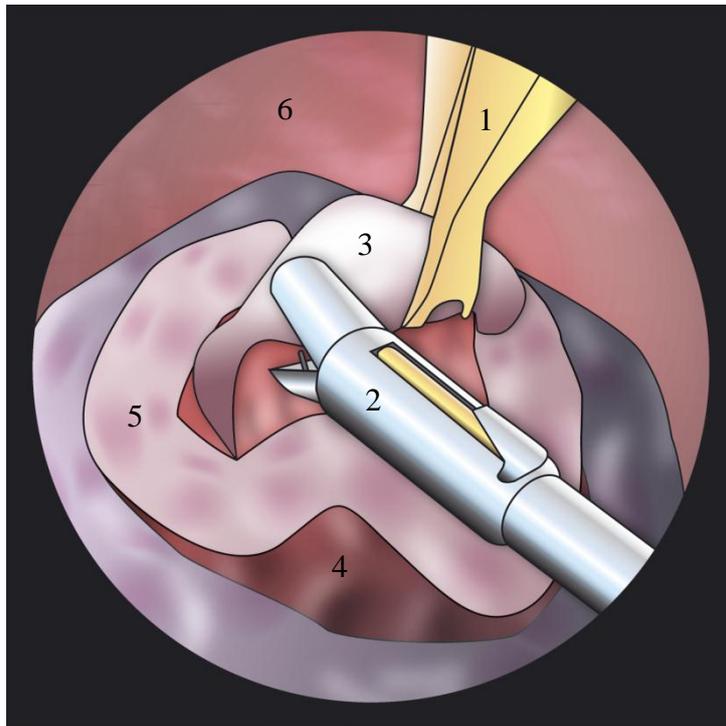


Abb. 4: Schematische Darstellung der Biopsie eines Lymphknotens jejunalis.

1. Endoskopische Fasszange, 2. Biopsiezange, 3. Dünndarmlymphknoten, 4. Mesenterium,
5. Dünndarm, 6. Bauchwand

16. Nach Ende des Eingriffs wurden die Trokarhülsen entfernt, und zwar zuerst die zweit- und drittplatzierte Trokarhülle. Über die verbleibende Trokarhülle wurde das zuvor angelegte Pneumoperitoneum durch manuellen Druck auf die Bauchwand wieder entfernt. Zuletzt wurde diese erstplatzierte Trokarhülle, welche als Zugang für das Endoskop gedient hatte, aus der Bauchwand gezogen.
17. Die entnommenen Proben wurden mit Hilfe einer sterilen Pinzette aus der Biopsiezange entfernt und in ein steriles Probengefäß (Sarstedt-Röhrchen mit physiologischer Kochsalzlösung) überführt.
18. Anschließend wurden die Inzisionsstellen mit Sultan'schen Diagonalheften unter Verwendung von resorbierbarem Nahtmaterial¹ verschlossen und anschließend mit einem handelsüblichen Wundspray² abgedeckt.

¹Serafit®; Fa. Vömel, Kronberg

²Alu-Spray®, Sprühverband für Tiere, Fa. Selectavet, Weyarn-Holzolling

3.1.3.5. Verbleib der Tiere nach der Operation

Die Tiere verblieben bis zum Tag 21 nach Einstellung, also bis zum 14. Tag nach der Operation, in der Klinik. Sie wurden in dieser Zeit täglich zweimal klinisch untersucht. An den Tagen 7, 8, 14 und 21 nach Einlieferung wurde jeweils eine Blutprobe aus der Vena jugularis entnommen, um anhand der hämatologischen Befunde und der Fibrinogenwerte die Auswirkungen des Eingriffes auf das Blutbild bzw. hinsichtlich des Auftretens entzündlicher Reaktionen beurteilen zu können. Die klinischen Befunde und die Ergebnisse der Laboruntersuchung wurden in ein Protokollblatt eingetragen.

3.1.3.6 Molekularbiologische Untersuchung der Bioptate

Die Lymphknotenbioptate wurden direkt im Anschluß an die Operation im Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde der Justus-Liebig-Universität Gießen mittels Real Time-PCR auf das Vorkommen von MAP-Genom untersucht. Dabei wurde das dort etablierte TaqMan Real-time PCR-Verfahren unter Verwendung der MAP-spezifischen Genabschnitte ISMav2 und F57 verwendet.

3.1.3.7 Sektion der Tiere

An Tag 21 der Studie (14 Tage nach der Operation) wurden die Probanden mit Rompun¹ 2% (0,1 mg / kg Körpermasse i. m.) sediert. Etwa 5 Minuten später erfolgte die Euthanasie mit T61^{®2} (0,1 ml / kg KM i. v.). Anschließend wurden die Kälber im Institut für Veterinär-Pathologie der Justus-Liebig-Universität Gießen sezirt. Dabei wurde insbesondere auf mögliche durch die Laparoskopie verursachte Veränderungen an den Inzisionsstellen und an den Biopsiestellen geachtet. Außerdem wurden die Größe, das Aussehen und die Lageverhältnisse von Caecum, Ileum, Plica ileocaecalis und der Ileocaecallymphknoten beurteilt.

¹Rompun[®] (Xylazin, Fa. Bayer)

²T 61 (Fa. Intervet, GmbH)

3.1.3.8 Datenauswertungen

Ziel dieser Studie war die Validierung des neuen minimal-invasiven Verfahrens zur Biopsie des Blinddarmlymphknotens und eines Dünndarmlymphknotens bei Kälbern. Hierzu wurden nachfolgend genannte in Haupt- und Nebenzielkriterien erfasst.

3.2 Hauptzielkriterien der Studie

Entscheidend für die Bewertung des neuen minimal-invasiven Verfahrens waren folgende Hauptzielkriterien:

- Erfolgsrate
- Durchführbarkeit der Operation
- Komplikationsrate

3.2.1 Nebenzielkriterien der Studie

Um diese Operationsmethode noch detaillierter beurteilen zu können, wurden zusätzlich zu den Hauptzielkriterien verschiedene Nebenzielkriterien erfasst. Diese lassen sie in drei Gruppen unterteilen:

- Klinische Befunde
- Labordiagnostische Parameter
- Sektionsbefunde

3.2.1.1 Klinische Befunde

Hierzu wurden folgenden Parameter erfasst:

- Herzfrequenz pro Minute
- Atemfrequenz pro Minute
- Temperatur: Rektal gemessene Körperinnentemperatur um 8 Uhr
- Temperatur: Rektal gemessene Körperinnentemperatur um 15 Uhr
- Tränkeaufnahme: Prozentualer Anteil an der gesamten Tagesration an Milchaustauschgetränke in Prozent der angebotenen Menge an MAT pro Tag
- Bauchdeckenspannung: anhand von Score-Werten
- Wundinfektionen: anhand von Score-Werten

3.2.1.2 Labordiagnostische Parameter

Zusätzlich zur klinischen Untersuchung wurden von jedem Tier präoperativ und postoperativ Blutproben (Tag 1, 7, 8, 14 und 21 der Studie) aus der Vena jugularis entnommen und auf folgende Parameter untersucht:

- Erythrozytenzahl, Hämoglobingehalt, Hämatokritwert, Leukozytenzahl im EDTA- Blut
- Fibrinogen im EDTA-Blut
- Base-Excess im EDTA-Blut
- Glukose im EDTA-Blut
- Harnstoff im EDTA-Blut

Die Untersuchung der Blutproben erfolgte im Labor der Klinik für Wiederkäuer. Die bei den einzelnen Parametern eingesetzten Labormethoden sind detailliert im Anhang aufgeführt.

Diese Blutuntersuchungen dienten insbesondere zur Beurteilung der postoperativen Entwicklung der Probanden hinsichtlich Flüssigkeit-, Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushaltes sowie hinsichtlich des Auftretens entzündlicher Reaktionen.

3.2.1.3 Datenerfassung

Zur statistischen Auswertung des Datenmaterials wurden einige der Befunde anhand der Befundschlüssel in Scorewerte überführt und als solche in die Protokollblätter eingetragen:

1. Protokollblatt zur Erfassung des Signalelements und der Anamnese (Anhang 9)
2. Protokollblätter zur Erfassung der Befunde der Aufnahmeuntersuchung (Anhang 9)
3. Protokollblatt zur Erfassung der Operationsdaten (Anhang 9)
4. Befundschlüssel (Anhang 9)
5. Protokollblatt zur Erfassung der klinischen Befunde während der Studie (Anhang 9)
6. Protokollblatt zur Erfassung der Laborparameter (Anhang 9)
7. Protokollblatt zur Erfassung der Sektionsbefunde (Anhang 9)
8. Protokollblatt zur Erfassung der Probenergebnisse (Anhang 9)

3.2.1.4 Statistische Auswertungen

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung (Dr. K. Failing) des Fachbereichs Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen unter Verwendung des Statistikprogramms BMDP (Version 8.1). Bei den normalverteilten Parametern wurden der arithmetische Mittelwert (\bar{x}) und die Standardabweichung (s) errechnet und die Daten mittels einfaktorieller Varianzanalyse untersucht. Danach wurden die Testergebnisse folgendermaßen bewertet:

$p < 0,01$: hoch signifikant

$p < 0,05$: signifikant

$p > 0,05$: nicht signifikant

4. Ergebnisse

4.1 Erfolgsrate der Operation

Bei allen 15 Versuchstieren konnte jeweils ein Jejunallymphknoten bioptiert werden. Die Erfolgsrate bezogen auf die Biopsie dieser Lymphknoten betrug demnach 100 %. (Tab. 2)

Das Auffinden des Ln. ileocaecalis war in 14 Fällen erfolgreich. Bei einem Tier war dies nicht möglich. In diesem Fall war der Ln. ileocaecalis aufgrund übermäßiger Fetteinlagerung in der Plica ileocaecalis laparoskopisch nicht zu identifizieren (Tab. 2). Die Erfolgsrate der Operation bezogen auf den Ileocaecallymphknoten lag somit bei 95 % (Tab. 2).

4.1.2 Durchführbarkeit der Operation

Die Durchführbarkeit der Operationen erwies sich sowohl in Hinblick auf die Vorbereitung der Tiere, die Neuroleptanalgesie als auch hinsichtlich Anlegen eines Pneumoperitoneums als erfolgreich und problemlos in der Durchführung. Allerdings dauerte bei drei Tieren die Operation über 30 Minuten, so dass bei diesen Probanden einmalig eine geringe Menge Domosedan (jeweils 0,1 ml i. v) nachinjiziert werden musste.

Die Operationsdauer wurde als die Zeit vom ersten Hautschnitt bis zum Setzen des letzten Hautheftes definiert. Die Dauer der Operationsvorbereitung wurde hierbei nicht berücksichtigt, da diese derjenigen bei einer Laparatomie vergleichbar war. Die durchschnittliche Operationsdauer lag bei $26,2 \pm 5,0$ Minuten ($\bar{x} \pm s$). Insgesamt bewegt sich die Operationsdauer zwischen 18 und 37 Minuten (Tab. 1).

Das Auffinden und die Fixation eines Ln. jejunalis war nur bei einem Kalb problematisch. Bei den anderen 14 Tieren war dies leicht bis mittelschwer durchführbar. Das Auffinden sowie die Fixation des Ileocaecallymphknotens erwiesen sich bei einem Tier als schwierig. Bei einem weiteren Tier konnte dieser Lymphknoten aufgrund massiver Fetteinlagerungen in der Plica ileocaecalis laparoskopisch nicht identifiziert und somit auch nicht bioptiert werden. Bei den anderen 13 Kälbern wurden das Auffinden sowie die Fixation des Ileocaecallymphknotens als leicht oder mittelschwer beurteilt (Tab. 2).

Tab. 1: Gesamtdauer des operativen Eingriffs bei den einzelnen Versuchstieren

Kalb Nr.	Dauer des operativen Eingriffes / min
1	26
2	27
3	25
4	30
5	23
6	32
7	37
8	24
9	29
10	28
11	30
12	18
13	23
14	20
15	21

Tab. 2: Übersicht über die laparoskopische Auffindbarkeit der Lymphknoten

OP-Befunde	leicht	mittelschwer	schwer	nicht möglich
Auffinden des Caecums	11	4		
Auffinden der Plica ileocecalis	9	6		
Fixation Plica ileocecalis	10	5		
Fixation Ln. ileocecalis	10	3	1	1
Auffinden Ln. ileocecalis	10	3	1	1
Fixation Ln. mesenterialis	9	5	1	
Auffinden Ln. mesenterialis	10	5		

4.1.3 Postoperative Komplikationen

Bei keinem der Versuchstiere wurden postoperative Komplikationen festgestellt, welche mit einer Störung des Allgemeinbefindens einhergingen und somit eine Therapie erfordert hätten. Bei zehn Kälbern (66 %) konnte in den ersten Tagen eine geringgradige ödematöse Schwellung an den Inzisionsstellen festgestellt werden, welche sich ohne Behandlung wieder zurückbildete. Bei 3 Tieren (20 %) konnte postoperativ ein Unterhautemphysem an den Inzisionsstellen festgestellt werden. Auch dieses bildete sich ohne Therapiemaßnahmen innerhalb weniger Tage wieder zurück. Ebenso gab es bei keinem Tier Hinweise auf eine Peritonitis.

4.2 Ergebnisse bezüglich der Nebenzielkriterien der Studie

4.2.1 Klinische Befunde bei den Versuchstieren im Versuchszeitraum

4.2.2 Entwicklung der Herzfrequenz

Die Herzfrequenz wurde während des Versuchszeitraumes täglich morgens um 8 Uhr gemessen. Die durchschnittliche Herzfrequenz bewegte sich prä- und postoperativ bei allen Versuchstieren im Referenzbereich (Abb. 5 und Tabelle 11a im Anhang 9). Die Entwicklung der durchschnittlichen Herzfrequenz über den Versuchszeitraum zeigte keine statistisch signifikanten Veränderungen ($p = 0,1105$; einfaktorielle Varianzanalyse).

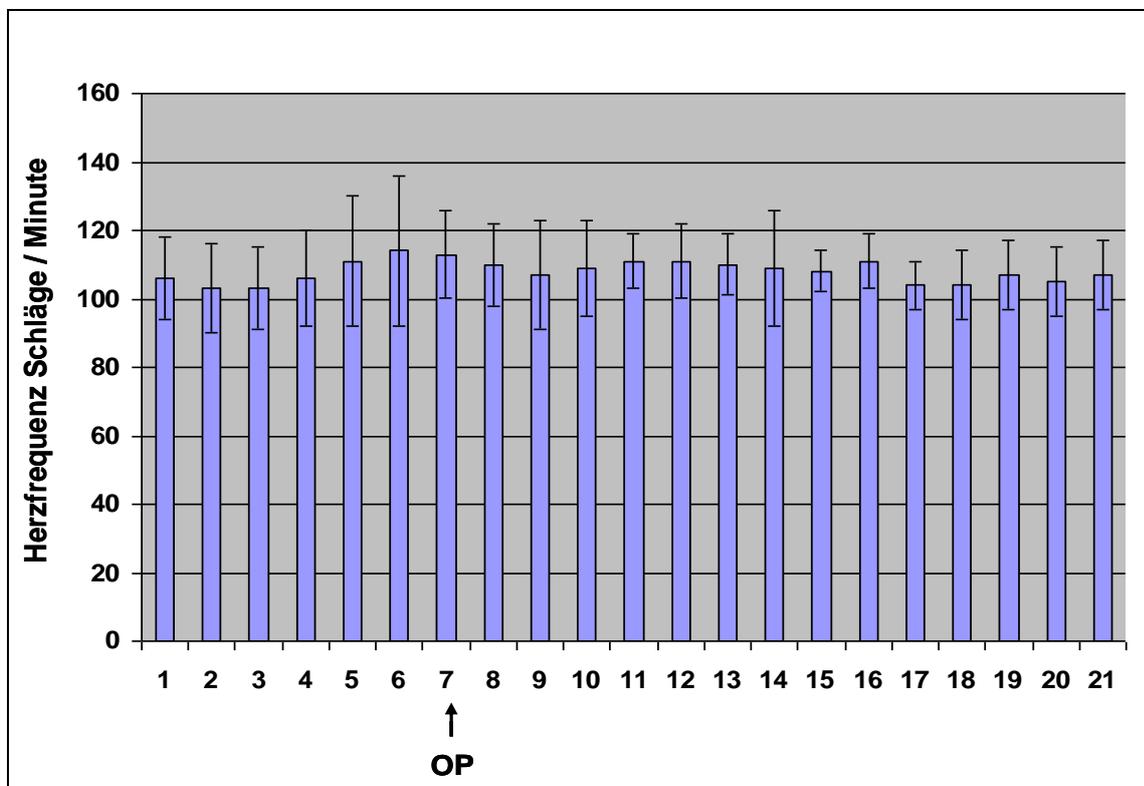


Abb. 5: Entwicklung der Herzfrequenz der Versuchstiere von Tag 1 (präoperativ) bis Tag 21 (postoperativ) der Studie ($\bar{x} \pm s$)

4.2.3 Entwicklung der Atemfrequenz

Die Atemfrequenz wurde während des Versuchszeitraumes täglich morgens um 8 Uhr gemessen. Die durchschnittliche Atemfrequenz bewegte sich prä- wie postoperativ bei allen Versuchstieren im Referenzbereich (Abb. 6 und Tabelle 11b im Anhang 9). Allerdings verminderte sich die Atemfrequenz während des Versuchszeitraumes statistisch signifikant ($p < 0,0001$; einfaktorielle Varianzanalyse). Am ersten Tag der Studie lag die durchschnittliche Atemfrequenz bei 41 Zügen/Minute, hingegen am 21 Tag der Studie bei 36 Zügen/Minute.

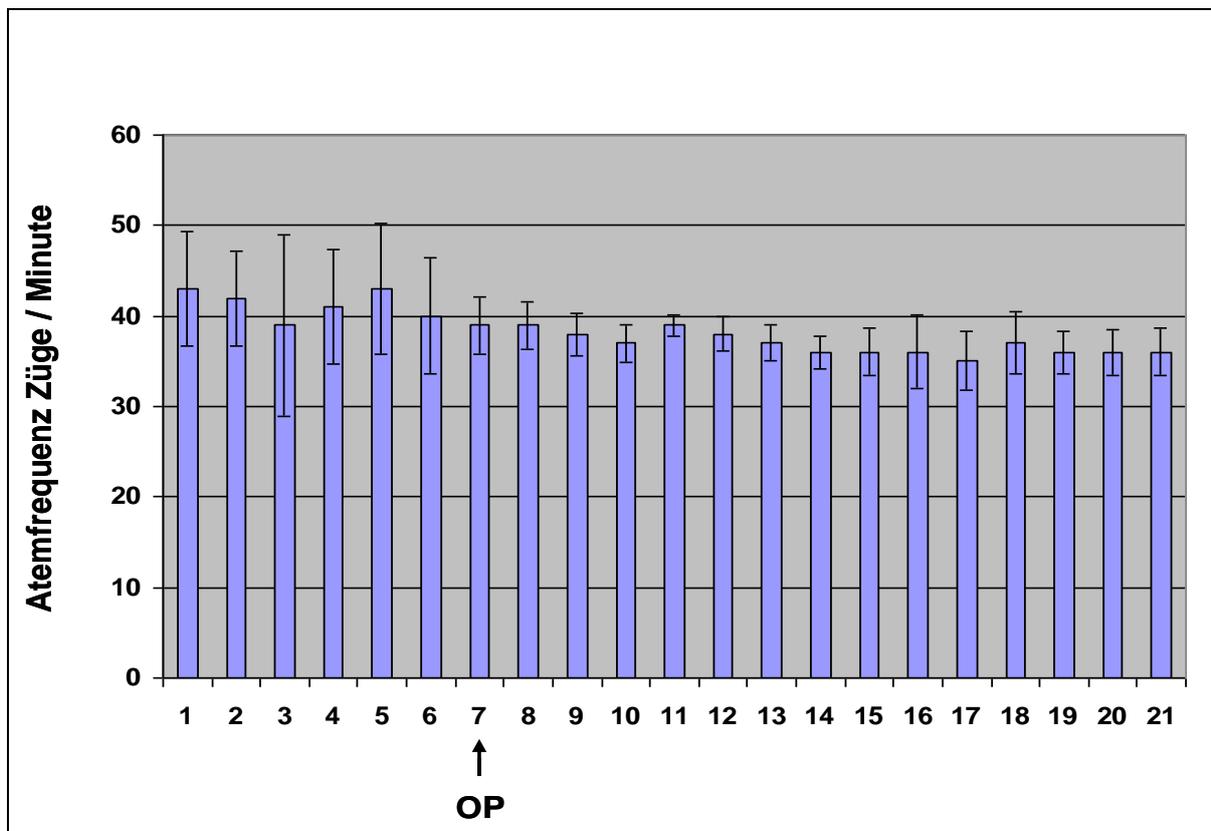


Abb. 6: Entwicklung der Atemfrequenz der Versuchstiere von Tag 1 (präoperativ) bis Tag 21 (postoperativ) der Studie ($\bar{x} \pm s$)

4.2.4 Entwicklung der vormittags gemessenen Körpertemperatur

Die Körpertemperatur wurde während des Versuchszeitraumes täglich morgens um 8 Uhr sowie am Nachmittag um 15 Uhr gemessen (Abb. 7 und Tabelle 11c im Anhang 9). Die durchschnittliche Morgentemperatur bewegte sich prä- wie postoperativ bei allen Versuchstieren im Referenzbereich. Sie sank allerdings während des Versuchszeitraumes statistisch signifikant ab ($p < 0,0001$; einfaktorielle Varianzanalyse). Am ersten Tag der Studie lag die morgendliche Temperatur bei durchschnittlich $39,0 \pm 0,5 \text{ °C}$; sie erniedrigte sich bis zum 21. Tag der Studie auf $38,3 \text{ °C} \pm 0,2 \text{ °C}$.

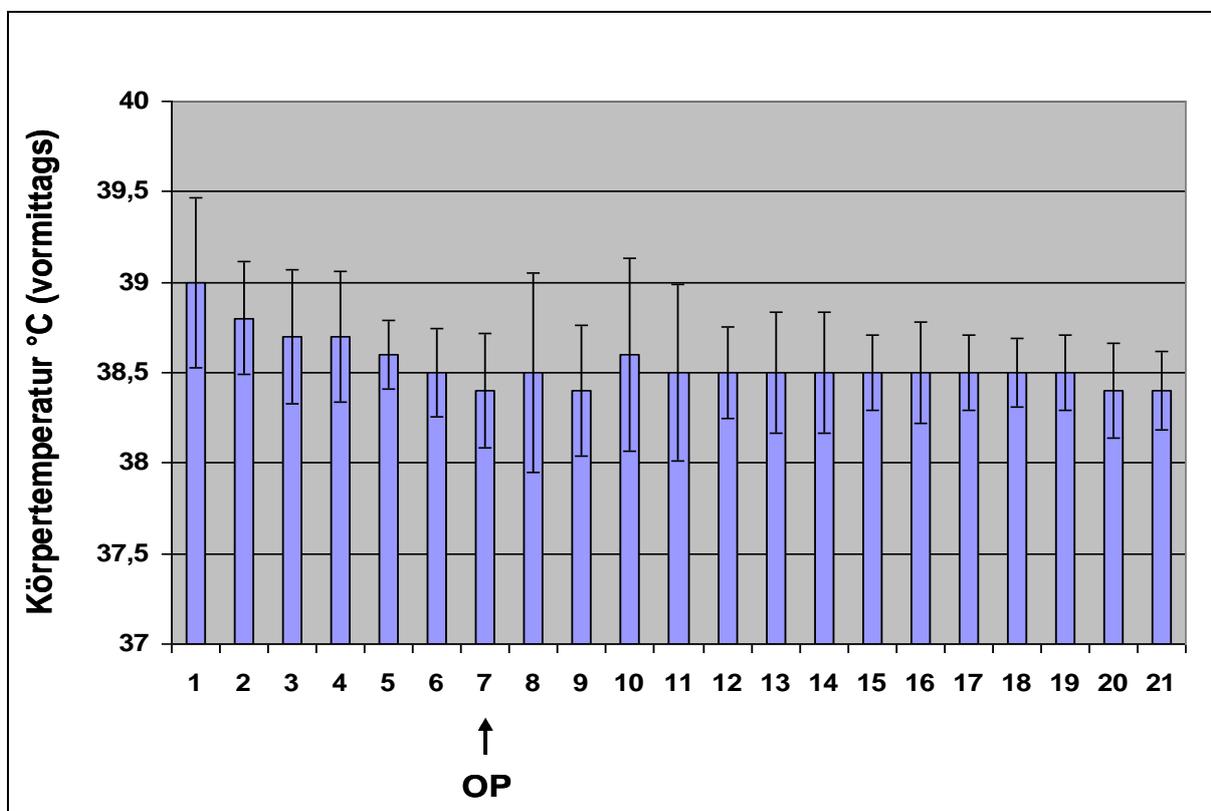


Abb. 7: Entwicklung der vormittags gemessenen Körpertemperatur der Versuchstiere von Tag 1 (präoperativ) bis Tag 21 (postoperativ) der Studie ($\bar{x} \pm s$)

4.2.5 Entwicklung der nachmittags gemessenen Körperinnentemperatur

Auch die am nachmittags gemessene durchschnittliche Körperinnentemperatur verändert sich über den kompletten Versuchszeitraum (Abb. 8 und Tabelle 11d im Anhang 9).

Wie die Vormittagstemperatur entwickelt sich auch die am Nachmittag gemessene Körperinnentemperatur bei allen Versuchstieren gleichsinnig. Im Versuchszeitraum nahm die Nachmittagstemperatur statistisch signifikant ab ($p < 0,0001$; einfaktorielle Varianzanalyse). Am ersten Tag der Studie lag die abendliche Temperatur bei durchschnittlich $39,0 \text{ °C} \pm 0,5 \text{ °C}$; sie erniedrigte sich bis zum 21. Tag der Studie auf $38,5 \text{ °C} \pm 0,2 \text{ °C}$.

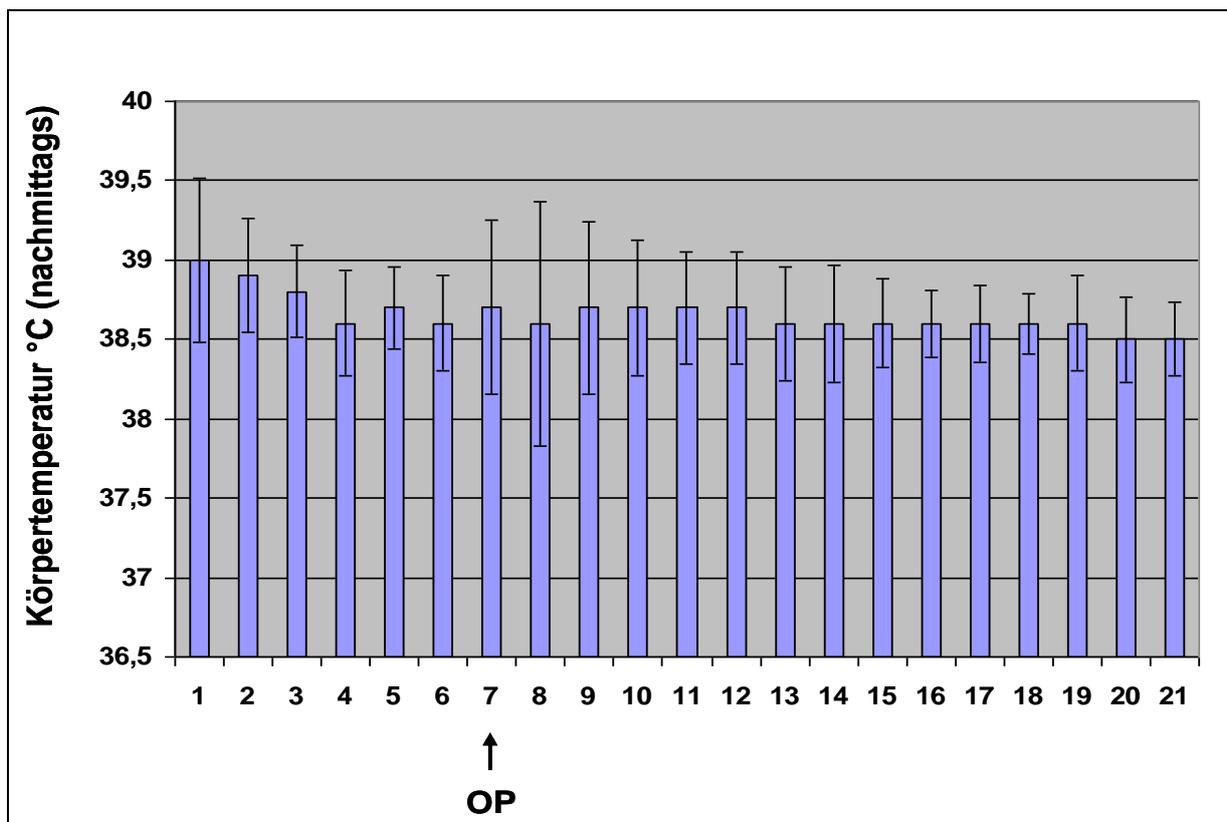


Abb. 8: Entwicklung der nachmittags gemessenen Körpertemperatur der Versuchstiere von Tag 1 (präoperativ) bis Tag 21 (postoperativ) der Studie ($\bar{x} \pm s$)

4.2.6 Entwicklung der Tränkeaufnahme

Die Tiere wurden während des Versuchszeitraums in der Klinik dreimal täglich kontrolliert mit Milchaustauscher getränkt. Die Tränke wurde morgens um 7 Uhr, nachmittags um 14 Uhr und abends um 19 Uhr angeboten (Abb. 9 und Tab. 11e in Anhang 9).

Nach der Operation kam es bei den Versuchstieren an den Tagen 7 (Operationstag) und 8 zu einer leichten Abnahme der Tränkeaufnahme um durchschnittlich 20 %.

Am Operationstag nahmen die Kälber statistisch signifikant weniger Tränke auf als an den Tagen des restlichen Versuchszeitraums ($p < 0,0023$; einfaktorielle Varianzanalyse).

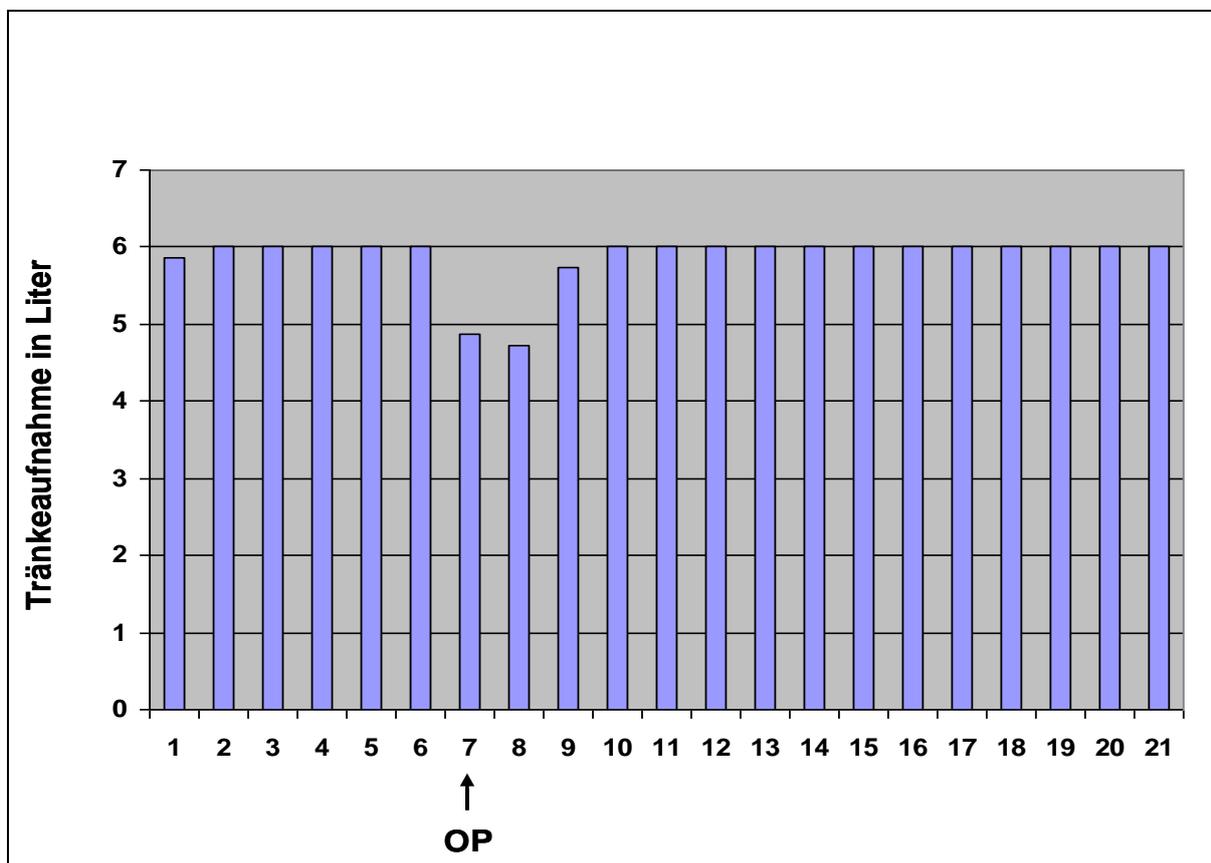


Abb. 9: Entwicklung der Tränkeaufnahme der Versuchstiere von Tag 1 (präoperativ) bis Tag 21 (postoperativ) der Studie ($\bar{x} \pm s$)

4.2.7 Entwicklung der Bauchdeckenspannung

Die Bauchdeckenspannung der Versuchstiere wurde während des Versuchszeitraumes täglich morgens um 8 Uhr beurteilt und anhand des Schemas aus Tabelle 10 in Score-Werte übertragen (Abb. 10 und Tabelle 11f im Anhang 9). Nach der Operation kam es bei allen Versuchstieren an den Tagen 7 und 8 zu einer leichten Zunahme der Bauchdeckenspannung, anschließend ging sie im Laufe des Versuchszeitraums kontinuierlich wieder zurück. Diese Zunahme der Bauchdeckenspannung war im Vergleich zu derjenigen im restlichen Versuchszeitraum statistisch nicht signifikant ($p = 0,8136$; einfaktorielle Varianzanalyse).

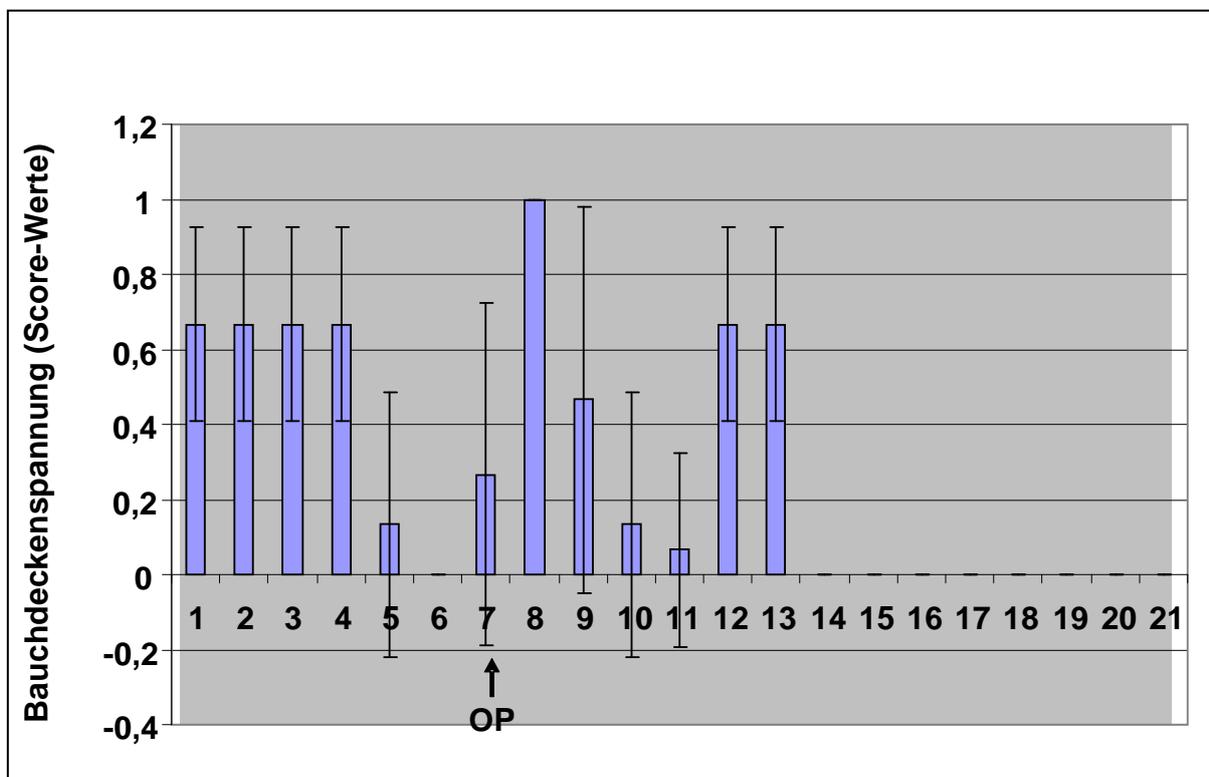


Abb. 10 : Entwicklung der Bauchdeckenspannung der Versuchstiere von Tag 1 (präoperativ) bis Tag 21 (postoperativ) der Studie ($\bar{x} \pm s$)

4.2.8 Entwicklung der Operationswunden

Die Operationswunden der Versuchstiere wurden während des Versuchszeitraumes täglich morgens um 8 Uhr beurteilt und die Befunde anhand des Schemas aus Tabelle 10 in Score-Werte übertragen (Abb. 11 und Tabelle 11g im Anhang 9).

Bei allen Versuchstieren entwickelten sich an einigen Trokarierungsstellen leichte subkutane emphysemätöse oder ödematöse Schwellungen nach der Operation, die sich nach spätestens 5 - 6 Tagen wieder zurückgebildet hatten. Allerdings kam es bei drei Versuchstieren (20 %) zu einem mittelgradigen subkutanen Emphysem. Trotz dieses Emphysems konnte prä- und postoperativ keine Wundinfektion festgestellt sowie kein statistisch nachweisbarer Unterschied ermittelt werden ($p = 0,1479$; einfaktorielles Varianzanalyse).

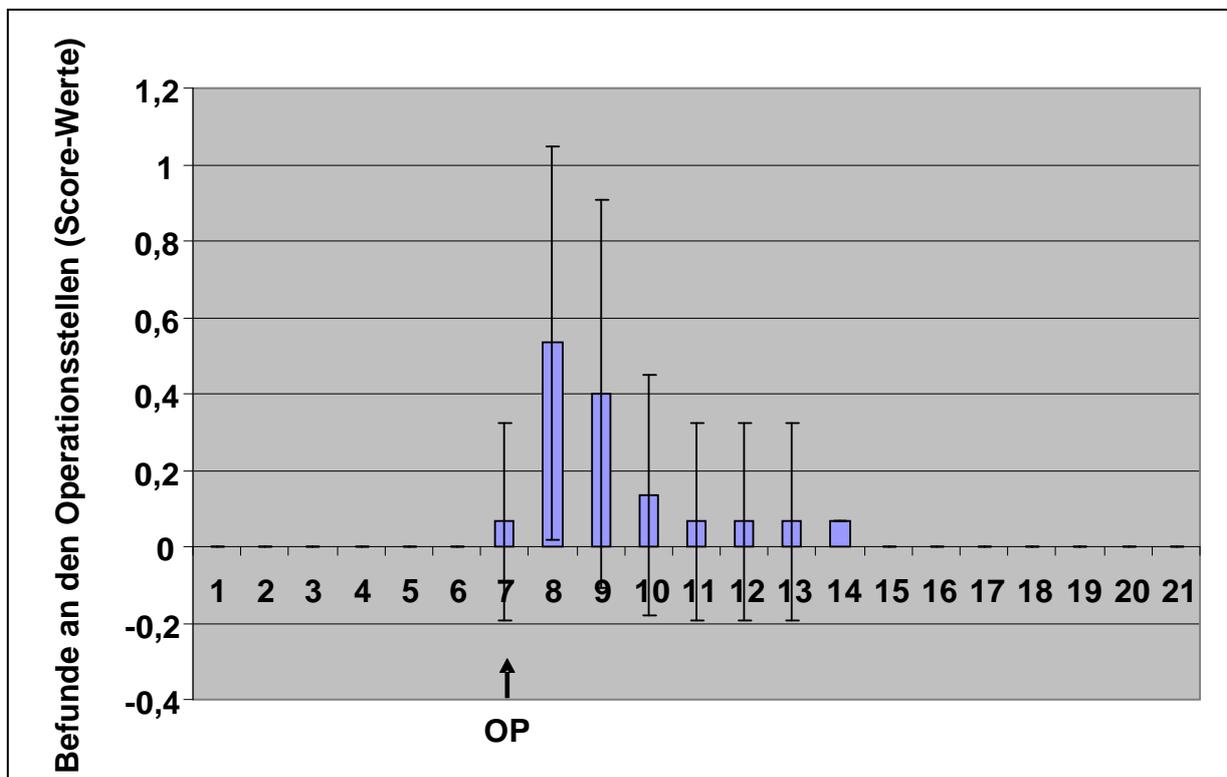


Abb. 11: Entwicklung der Operationswunde von Tag 1 (präoperativ) bis Tag 21 (postoperativ) der Studie ($\bar{x} \pm s$)

4.3 Laborbefunde bei den Versuchstieren im Versuchszeitraum

4.3.1 Erythrozytengehalt im Blut

Die durchschnittliche Erythrozytenkonzentration im Blut der Versuchstiere bewegte sich prä- und postoperativ im Referenzbereich von 5,0 bis 10,0 T/l (STÖBER u. GRÜNDER, 1990) (Abb. 12 und Tabelle 6a Im Anhang 9). Über den Versuchszeitraum stieg der Erythrozytengehalt im Blut der Kälber allerdings statistisch signifikant an ($p < 0,0001$; einfaktorische Varianzanalyse).

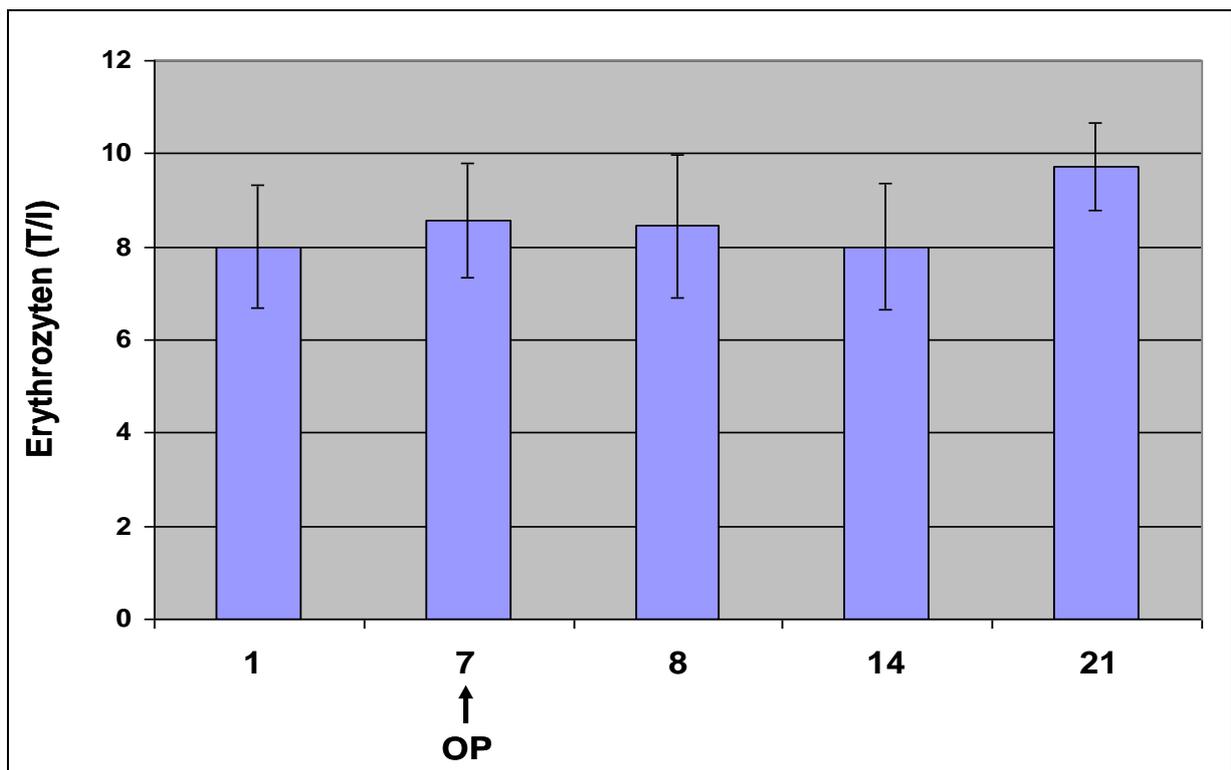


Abb. 12: Erythrozytengehalt im Blut der Versuchstiere von Tag 1 und 7 (präoperativ) sowie an Tag 8, 14 und 21 (postoperativ) der Studie ($\bar{x} \pm s$)

4.3.2 Hämoglobingehalt im Blut

Der durchschnittliche Hämoglobingehalt im Blut bewegte sich präoperativ und postoperativ bei allen Versuchstieren ebenfalls im Referenzbereich von 5,6 bis 8,1 mmol/l (STÖBER u. GRÜNDER, 1990); (Abb. 13 und Tabelle 6b im Anhang 9). Über die Versuchszeitraum stieg auch der Hämoglobingehalt im Blut statistisch signifikant an ($p < 0,0001$; einfaktorielle Varianzanalyse).

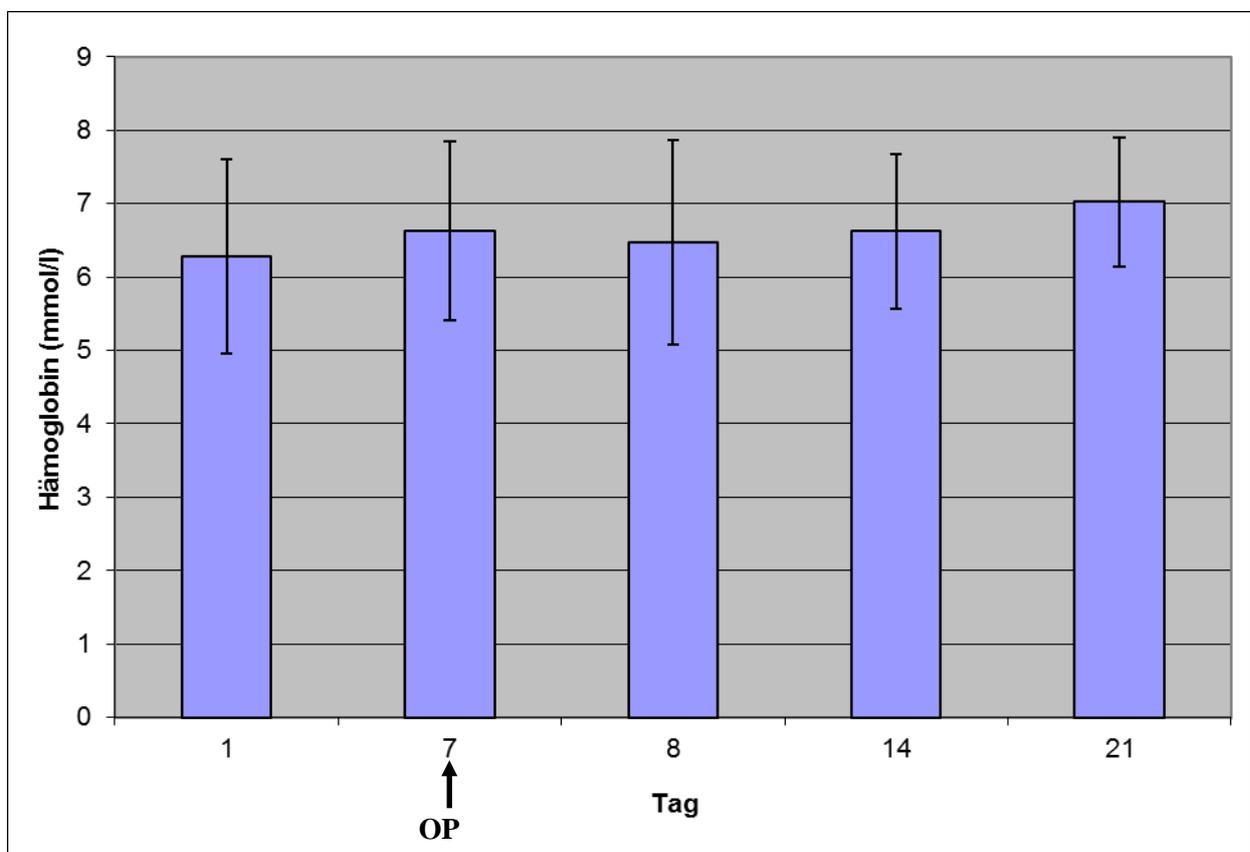


Abb. 13: Hämoglobingehalt im Blut der Versuchstiere von Tag 1 und 7 (präoperativ) sowie an Tag 8, 14 und 21 (postoperativ) der Studie ($\bar{x} \pm s$)

4.3.3 Hämatokritwert

Die durchschnittliche Hämatokritwert im Blut der Versuchstiere bewegte sich prä- und postoperativ ebenfalls im Referenzbereich von 0,28 bis 0,36 l/l (STÖBER u. GRÜNDER, 1990); (Abb. 14 und Tabelle 6c im Anhang 9). Über den Versuchszeitraum änderte sich auch der Hämatokritwert statistisch signifikant ($p < 0,0001$; einfaktorielles Varianzanalyse). Er stieg ähnlich wie der Erythrozytengehalt und der Hämoglobingehalt im Blut an.

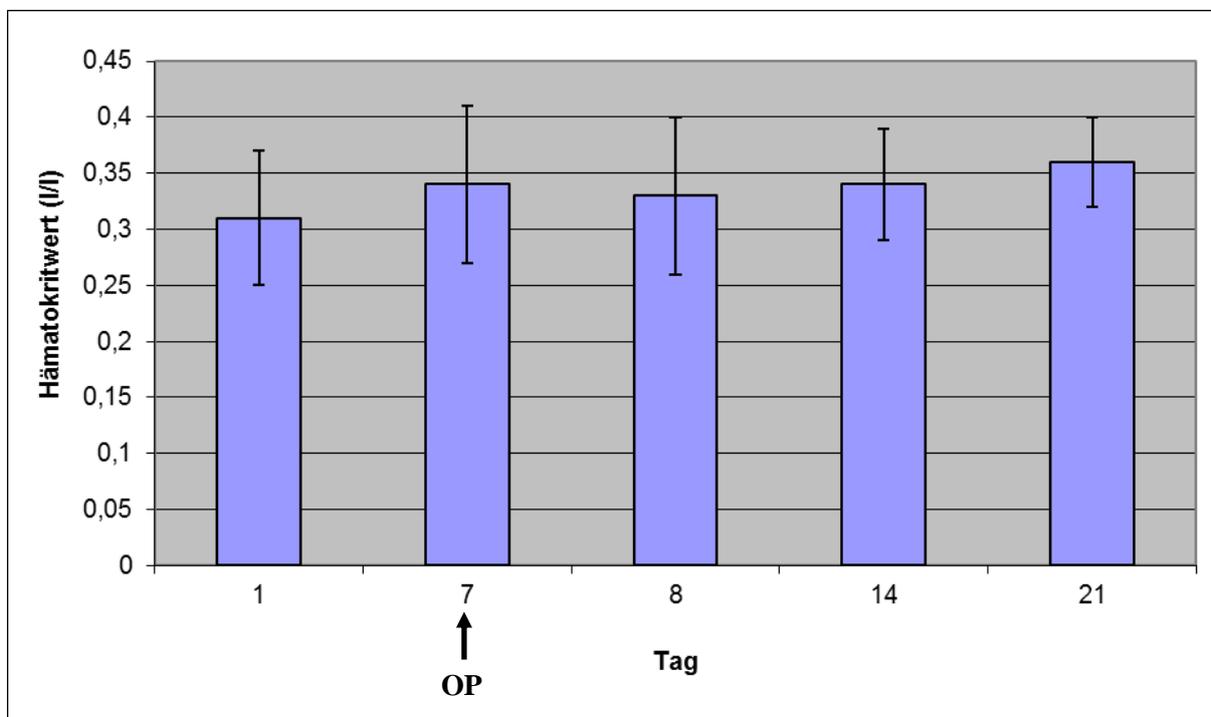


Abb. 14: Hämatokritwerte im Blut der Versuchstiere von Tag 1 und 7 (präoperativ) sowie an Tag 8, 14 und 21 (postoperativ) der Studie ($\bar{x} \pm s$)

4.3.4 Leukozytengehalt im Blut

Die durchschnittliche Leukozytengehalt im Blut der Versuchstiere bewegte sich prä- und postoperativ im Referenzbereich von 4-10 G/l (STÖBER u. GRÜNDER, 1990); (Abb.15 und Tabelle 6d im Anhang 9). Über den Versuchszeitraum änderte sich die Leukozytengehalt statistisch signifikant ($p < 0,0001$; einfaktorielle Varianzanalyse). Er fiel über den Versuchszeitraum von durchschnittlich $10,0 \text{ G/l} \pm 6,2 \text{ G/l}$ an Tag 1 auf $7,0 \text{ G/l} \pm 2,6 \text{ G/l}$ an Tag 21 ab.

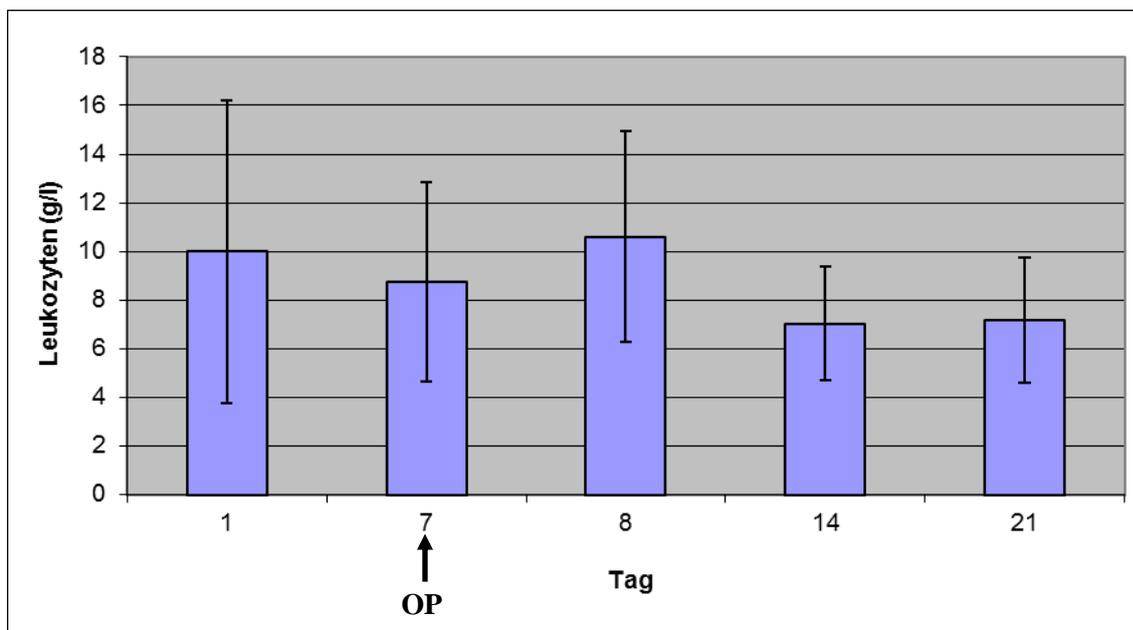


Abb. 15: Leukozytengehalt im Blut der Versuchstiere von Tag 1 und 7 (präoperativ) sowie an Tag 8, 14 und 21 (postoperativ) der Studie ($\bar{x} \pm s$)

4.3.5 Glukosegehalt im Plasma

Der durchschnittliche Glukosegehalt im Blut der Versuchstiere bewegte sich prä- und postoperativ im Referenzbereich von 4,4 bis 6,6 mmol/l (STÖBER u. GRÜNDER, 1990); (Abb. 16 und Tabelle 6e im Anhang 9). Über den Versuchszeitraum konnte kein statistisch nachweisbarer Unterschied ermittelt werden ($p = 0,2313$; einfaktorielle Varianzanalyse).

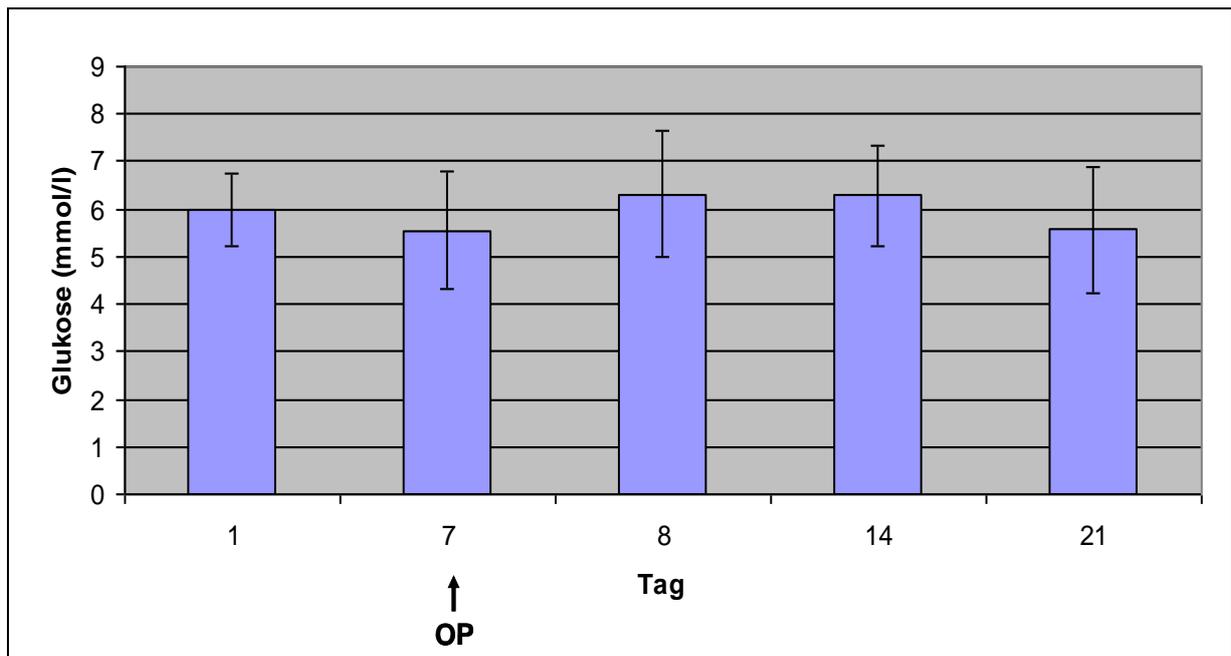


Abb.16: Glukosegehalt im Plasma der Versuchstiere von Tag 1 und 7 (präoperativ) sowie an Tag 8, 14 und 21 (postoperativ) der Studie ($\bar{x} \pm s$)

4.3.6 Fibrinogengehalt im Plasma

Der durchschnittliche Fibrinogengehalt im Blut der Versuchstiere bewegte sich prä- und postoperativ im Referenzbereich (Abb.17 und Tabelle 6f im Anhang 9). Der Fibrinogengehalt nach der Operation lag bei allen Versuchstieren an der oberen Grenze des Referenzbereichs von 2 bis 5 g/l (STÖBER u. GRÜNDER, 1990). Über den Versuchszeitraum konnte kein statistisch nachweisbarer Unterschied ermittelt werden ($p = 0,2313$; einfaktorielle Varianzanalyse).

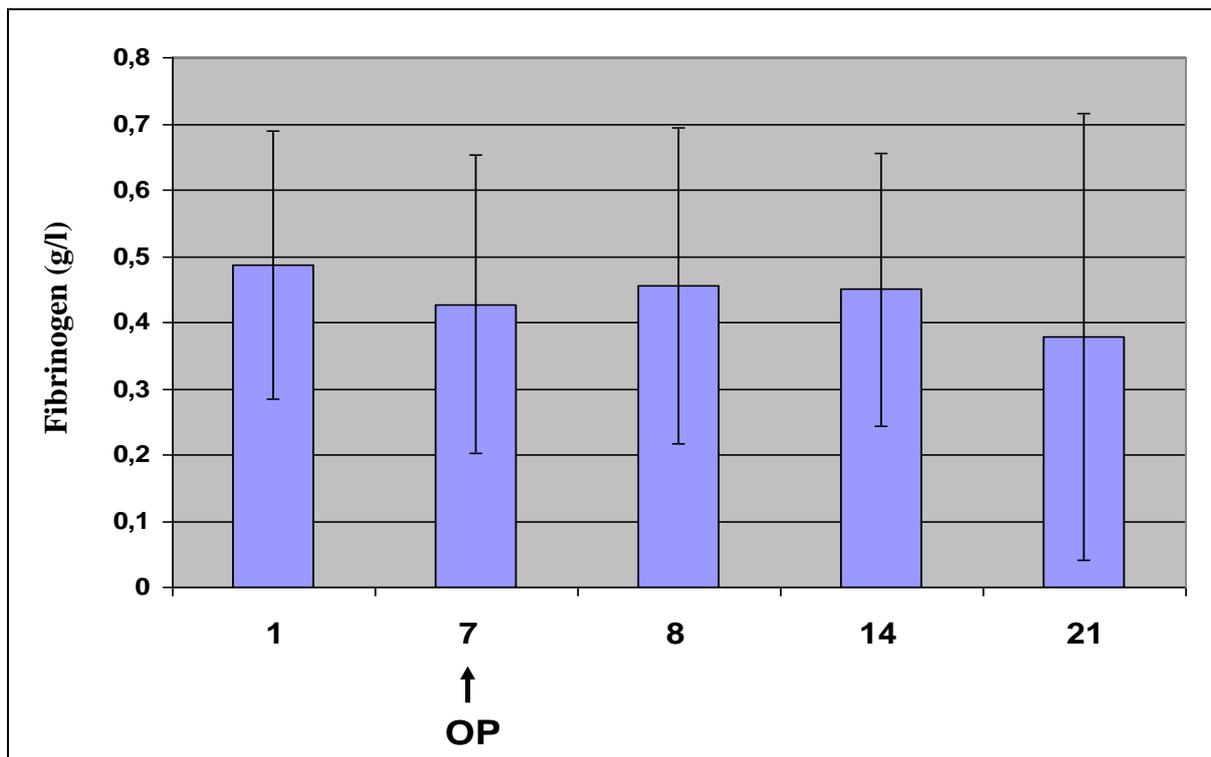


Abb.17: Fibrinogengehalt im Plasma der Versuchstiere von Tag 1 und 7 (präoperativ) sowie an Tag 8, 14 und 21 (postoperativ) der Studie ($\bar{x} \pm s$)

4.3.7 Base Excess im Blut

Die durchschnittliche Basenabweichung bewegte sich präoperativ und postoperativ bei allen Versuchstieren leicht im alkalischen Bereich, d. h. bei den meisten Probanden bestand zu diesem Zeitpunkt tatsächlich ein geringgradiger Basenüberschuss. Der Referenzbereich wird von -3 bis +3 mmol/l angegeben (STÖBER u. GRÜNDER, 1990). (Abb. 18 und Tabelle 6g im Anhang 9). Die Entwicklung des Base Excess über den Versuchszeitraum zeigte jedoch keine statistisch signifikanten Veränderungen ($p = 0,4050$; einfaktorielle Varianzanalyse).

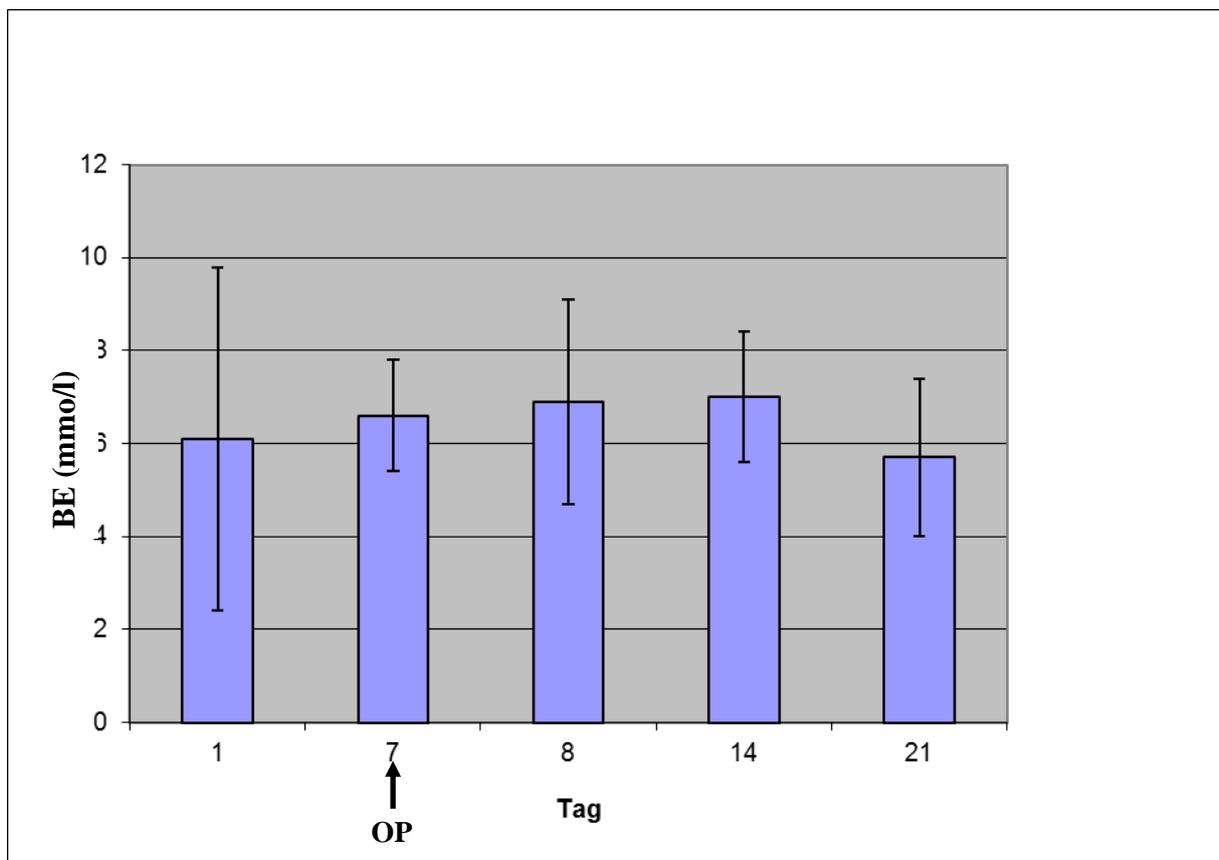


Abb.18: Basenabweichung (BE) im Blut der Versuchstiere von Tag 1 und 7 (präoperativ) sowie an Tag 8, 14 und 21 (postoperativ) der Studie ($\bar{x} \pm s$)

4.3.8 Harnstoffgehalt im Blut

Der durchschnittliche Harnstoffgehalt im Blut der Versuchstiere bewegte sich prä- und postoperativ im Referenzbereich von 3,3 bis 5,0 mmol/l (STÖBER u. GRÜNDER, 1990); (Abb. 19 und Tabelle 6h im Anhang 9). Im Versuchszeitraum verringerte sich Harnstoffgehalt jedoch statistisch signifikant ($p = 0,0226$; einfaktorielle Varianzanalyse).

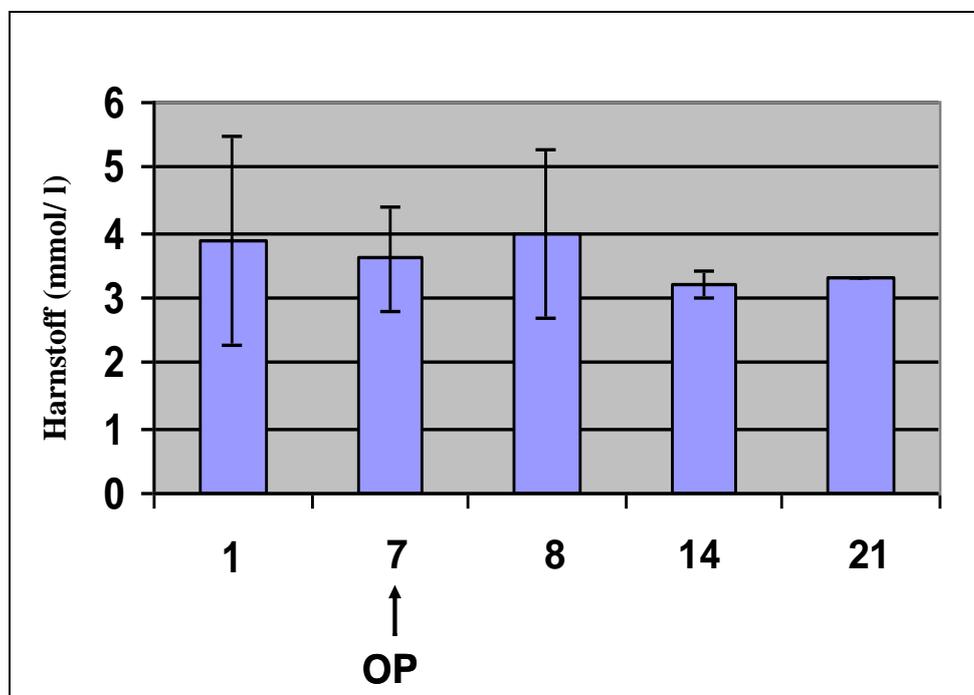


Abb. 19: Harnstoffgehalt im Blut der Versuchstiere von Tag 1 und 7 (präoperativ) sowie an Tag 8, 14 und 21 (postoperativ) der Studie ($\bar{x} \pm s$)

5. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde die Durchführung der laparoskopisch kontrollierten Biopsie eines Blinddarm- und eines Dünndarmlymphknotens zur Frühdiagnostik der Paratuberkulose bei Kälbern erstmals erprobt und beschrieben.

Grundlage der Bewertung der hier durchgeführten Biopsie-Methode waren die Hauptzielkriterien: Erfolgsrate, Komplikationsrate und Durchführbarkeit der Operation.

Zusätzliche wurden die entnommenen Biopate molekularbiologisch auf das Vorkommen von MAP untersucht um zu überprüfen, ob sich MAP in diesen Lymphknoten von jungen Kälbern aus einem Milchviehbestand mit natürlich vorkommender Paratuberkulose-Infektion nachweisen lässt.

5.1 Erfolgsrate der Operation

Da man *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* am häufigsten im digestiven System nachweisen kann (STRATMANN, 2006), wurde schon früher versucht, die Lymphknoten und insbesondere den Ileocecallymphknoten hierfür zu entnehmen (BENEDICTUS u. HAAGSMA, 1986; THIEL et al., 1996; HUMANN et al., 1999; KLEIN et al., 2002; AMEMORI et al., 2004).

Bei allen 15 Versuchstieren konnte ein Jejunallymphknoten biopiert werden, so dass die Erfolgsrate bezogen auf diese Lymphknoten 100 % betrug.

Das Auffinden des Lnn ileocaecalis war in 14 Fällen erfolgreich, bei einem Tier erwies es sich als nicht möglich. Abgesehen von diesem Fall, bei dem aufgrund übermäßiger Fetteinlagerungen in der Plica ileocaecalis der Blinddarmlymphknoten laparoskopisch nicht zu identifizieren war, konnte jedoch stets ein Biopiat aus diesem Lymphknoten gewonnen werden. Die Erfolgsrate der Biopiatentnahme des Blinddarmlymphknotens lag somit bei 95 %.

AMEMORI et al. (2004) versuchten eine laparoskopische Entnahme der Blinddarmlymphknoten bei vier Rindern. Diese Autoren berichten, dass eine laparoskopische Entnahme der Blinddarmlymphknoten bei keinem der Tiere möglich war. Es kam zu verschiedenen Komplikationen während der Operation. Von BENEDICTUS und HAAGSMA (1986) wurde jedoch von einer erfolgreichen Entnahme der Lymphknoten mittels Laparatomie berichtet. Ebenso gelang in einer Studie von KLEIN et al. (2002) die extrakorporale Entnahme von Dünndarmbiopaten bei 10 der 14 Versuchtiere (Kälber und Schafe).

5.2 Durchführbarkeit der Operation

Der Entzug des festen Futters erfolgte etwa 12 Stunden vor der Operation. Auf ein Absetzen der Milchtränke wurde verzichtet. Weiterhin wurde Wasser weiterhin ad libitum zur Verfügung gestellt. Zur Vorbereitung auf die Allgemeinanästhesie durchliefen alle Tiere dieser Studie diese präoperative Phase der partiellen Nahrungskarenz. Diese sollte auch dazu beitragen, das Volumen der intraabdominalen Organe zu verringern, um eine optimale laparotomische Sicht zu ermöglichen und damit die Verletzung von Organen zu vermeiden (LIESS, 1936; FUHRMANN, 1999; KAUFLOSS et al., 1995; SCHNEIDER u. OTTO, 1974).

Die Ergebnisse dieser Studie haben gezeigt, dass sich der Futterentzug 12 Stunden a. op. positiv auf die Übersichtlichkeit bei der Laparoskopie ausgewirkt hat. Vergleichbare Angaben über die Notwendigkeit einer präoperativen Nahrungskarenz bei Laparoskopien an Kälbern sind auch bei KLEIN et al. (2002) zu finden. Dagegen verzichteten andere Autoren vor ihren laparoskopischen Untersuchungen generell auf einen Futterentzug (KÖNIG et al., 2000; LEBER, 2004).

Insgesamt wurde durch die eigene Studie gezeigt, dass die angewandte Neuroleptanalgesie aus einer Kombination von Detomidin und Ketamin für einen solchen Eingriff als geeignet zu bewerten ist.

Zu erwähnen ist dabei, dass bei drei Kälbern (20 %) während der Operation das Sedativum (Detomidin) nachdosiert werden musste. Bei diesen Kälbern überschritt die Operation die Dauer von 30 Minuten; danach zeigten die Tiere ein unruhiges Verhalten. Jedes dieser drei Kälber erhielt 30 Minuten nach der ersten Injektion eine erneute Gabe Domosedan® in einer Dosierung von 0,1 ml i.m. Dies führte jedoch nicht zu Veränderungen der kontinuierlich gemessenen Parameter, wie Herz- und Atemfrequenz. Wir schließen daraus auf eine gute Analgesie während der Allgemeinanästhesie.

Nach Literaturangaben wurden Xylazin und Ketamin von HUMAN (1999) sowie von KLEIN et al. (2000) bei Anästhesien von Kälbern und Schafen eingesetzt. Viele Autoren verzichteten auf eine Sedation und verwendeten nur eine Lokalanästhesie (LIESS, 1936; PEMBRETON, 1979 und SEEGER, 2004) bei Rindern und bei kleinen Wiederkäuern SEEGER (1973).

Die gesamte Operationsdauer lag bei allen Tieren dieser Studie zwischen 18 und 37 Minuten ($\bar{x} = 26,2 \pm 5,0$ Minuten). Die Aufwachphase verlief bei allen Tieren komplikationslos. Wie auch in den Studien von KLEIN et al. (2002) und MAGDA (2002), erstreckte sie sich sowie über einen kurzen Zeitraum.

Während der Laparoskopie stellte sich das Auffinden des Caecums und der Plica ileocaecalis in der freien Bauchhöhle generell als leicht bis mittelschwer dar. Besonders schwer war dies aber, wenn sich das Caecum unter dem Darmkonvolut befand. In einem Fall war sowohl das Aufsuchen des Ileocaecallymphknotens als auch die Biopsientnahme aus dem Dünndarmlymphknoten sehr zeitaufwendig. Dies war vorrangig durch die Stärke der Fetteinlagerungen im Netz bedingt. Einen Sonderfall stellte dabei das Kalb dar, bei dem der Blinddarmlymphknoten aufgrund extremer Fetteinlagerung in der Plica ileocaecalis laparoskopisch nicht zu identifizieren war. Die Biopsie eines Jejunallymphknotens war dagegen bei allen Kälbern gut durchzuführen.

Um einem Einströmen von Gas zwischen die Bauchmuskelschichten und somit einer Emphysembildung nach der Wundnaht vorzubeugen, wurde das intraabdominale Gas vor dem Verschluss der Bauchwand durch die Trokardhülle der Optik abgelassen. Dies wurde auch von anderen Autorengruppen (JANOWITZ, 1998; SCHNEIDER u. OTTO 1974; SEEGER, 2004) bei erwachsenen Rindern sowie bei Kälbern und kleinen Wiederkäuern (KLEIN et al., 2002) durchgeführt.

5.3 Intra- und postoperative Komplikationen

Im Gegensatz zu den Berichten anderer Autoren (FUHRMANN, 1999; KLEIN et al. 2002) kam es in der vorliegenden Studie zu keinen intraoperativen Komplikationen.

Die postoperativen Komplikationen beschränkten sich auf ein mittelgradiges Unterhautemphysem im Bereich der Zugangsstelle bei drei Kälbern (20 %), das sich jedoch innerhalb von zwei bis vier Tagen vollständig zurückbildete. Diese Unterhautemphyseme entstanden, obwohl bei den 15 Tieren die Nadel nach Veress mit hoher Wahrscheinlichkeit korrekt in die Bauchhöhle eingeführt wurde und sich problemlos ein Pneumoperitoneum anlegen ließ.

Bei den klinischen Nachuntersuchungen konnten keine sonstigen pathologischen Veränderungen im Bereich der Zugangsstellen festgestellt werden. Berichte über

solche typische Komplikationen, wie sie bei den drei eigenen Versuchstieren beobachtet wurden, finden sich auch bei JANOWITZ (1998) sowie bei SEGEER (2004) bei erwachsenen Rindern sowie bei KLEIN et al. (2002) und FUHRMANN (1999) bei Kälbern und Schafen. Trotz dieser Veränderungen wurden bei keinem der drei Kälber in der Sektion weitere pathologische Veränderungen festgestellt. Es traten weder Verklebungen noch Bauchfellentzündungen auf, die im Zusammenhang mit der Biopsie der Blinddarm- oder Dünndarmlymphknoten hätten stehen können.

5.4 Bewertung der Operationsmethode

Die vorliegende Untersuchungen sollten als Basis für die Validierung der laparoskopischen Lymphknotenbiopsie beim Kalb dienen.

Gemäß der zugänglichen Fachliteratur wird die laparoskopische Untersuchung von Wiederkäuern zumeist nach einer Sedation des Probanden durchgeführt (ANDERSON et al., 1993; KAULFUSS et al., 1995 a,b). In Einzelfällen kam aber auch eine Inhalationsnarkose zur Anwendung (FURHMANN, 1999). Die in der eigenen Studie angewandte Sedierung bestand aus einer Kombination von Detomidin und Ketamin. Diese Methode hat sich für diesen Eingriff als durchaus geeignet erwiesen.

Das Anlegen des Pneumoperitoneums vor dem laparoskopischen Eingriff erfolgte bei allen 15 Kälbern komplikationslos und wurde gut toleriert. Eine Insufflation mit Gas bzw. Luft vor der Endoskopie erfolgte auch in den Arbeiten von ANDERSON et al. (1993), JANOWITZ (1998) sowie SEEGER (2004).

Prinzipiell besteht bei allen Kälbern, die nach Sedation in Seitenlage verbracht werden, die erhöhte Gefahr einer Aspirationspneumonie infolge Erbrechens von Panseninhalt. Zusätzlich ist der intraabdominale Druck durch das angelegte Pneumoperitoneum erhöht, was die ohnehin schon negativen Auswirkung der Narkose auf die Atmung und auf die Herz- Kreislauffunktion der Tiere verstärkt (FURHMANN, 1999). Trotz dieser möglichen Komplikationen war in der vorliegenden Arbeit klinisch keine Depression des Respirations- und Zirkulationssystems infolge des Pneumoperitoneums erkennbar. Diese Ergebnisse stehen im Konsens zu den Publikationen von JANOWITZ (1998) und SEEGER (2004) im Bezug auf erwachsene Rindern sowie von FUHRMANN (1999) und KLEIN et al. (2000) bei Kälbern.

5.5 Nebenzielkriterien

5.5.1 Klinische Parameter

Während des gesamten Versuchszeitraumes wurden bei den Studientieren täglich folgende Parameter erfasst: Futteraufnahme, Bauchdeckenspannung, Wundinfektion, Herz- und Atemfrequenz sowie Temperatur.

Es kam bei allen Versuchstieren zu einem erkennbaren Rückgang der Milchaustauscher-Aufnahme am Tag 7 - also dem Tag der Operation ($4,86 \pm 1,12$ l / Tag) und am Tag 8 ($4,73 \pm 1,09$ l / Tag) der Studie (Normwert: $6,0$ l / Tag). Dieser Rückgang der Futteraufnahme war statistisch zu sichern ($p < 0,0001$). An Tag 9 stieg die Futteraufnahme wieder an und blieb bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes auf diesem Niveau. Eine Erklärung dafür ist der Einfluss der Neuroleptanästhesie; ein solcher Effekt wurde auch von anderen Autorengruppen publiziert (FRANZ et al., 2000; KLEIN et al., 2002).

Eine weitere Erklärung dafür könnten der postoperative Wundschmerz und der operationsbedingte Stress darstellen. Entsprechendes wurde auch von LOEFFLER (1994) berichtet.

Insgesamt wurde durch die eigene Studie gezeigt, dass es nach der endoskopisch kontrollierten Biopsieentnahme zu einer schnelleren Normalisierung der Futteraufnahme - insbesondere des Kraftfutters - kommt, was im Konsens zu den Ergebnissen von van LEEUVEN (2000) steht. Dieses konnte auch von SEEGER, (2004) nach laparoskopischer Operation einer Labmagenverlagerung im Vergleich zu den laparotomierten Kühen festgestellt werden.

Ein Beleg dafür stellt das Ausbleiben einer nachweisbaren Erhöhung der Bauchdeckenspannung in den ersten Tagen post operationem bei allen Versuchstieren dar. Entsprechendes wurde auch von RÜDIGER (1983), von FUHRMAN, (1999) und von KLEIN et al. (2002) berichtet. Obwohl bei einigen Kälbern leichte Wundschwellungen oder subkutane Emphyseme im Bereich der Insertionsstellen an den Tagen 7 und 8 p. op. auftraten, die sich innerhalb von zwei bis vier Tagen wieder vollständig zurückbildeten, kam es bei den Versuchstieren zu keinen signifikanten Wundinfektionen. Als Erklärung dafür kann angeführt werden, dass sowohl der postoperative Wundschmerz als auch die intraabdominalen Manipulationen durch die minimal-invasive Technik der Laparoskopie im Vergleich zur Laparotomie gering sind. Gleichlautende Resultate liegen auch von MONCADA-

ANGEL (1983) in Bezug auf das erwachsene Rind sowie von STEINER u. ZULAUF (1999), KLEIN et al. (2002) und SHETKKO et al. (2004) für Kälber und von McKELVEY et al. (1985), MEINECKE (1986), FUHRMAN (1999), HUMANN et al. (1999), FRANZ et al. (2002) und LEBER et al. (2004) beim kleinen Wiederkäuer vor.

Die Herzfrequenz wurde täglich bestimmt, die ermittelten Parameter waren bei allen Kälbern während der ganzen Versuchszeit relativ konstant und bewegten sich im physiologischen Bereich (60 bis 80 Schläge/Minute). Es gab keine statistisch nachweisbaren Unterschiede.

Eine komplett andere Entwicklung war bei der Atemfrequenz der Kälber zu beobachten. Diese verringerte sich vom ersten Tag des Untersuchungszeitraumes bis zum Ende der Untersuchung signifikant um durchschnittlich 5 Atemzüge pro Minute ($p < 0,0001$). Eine postoperative Bronchopneumonie zu Beginn der Studie kann als Ursache dafür ausgeschlossen werden, da es bei keinem Tier Anzeichen dafür gab. Trotz dieser signifikanten Veränderung lagen alle ermittelten Werte im Referenzbereich der Atemfrequenz von 30 bis 45 Atemzüge/Minute.

Ein ähnlicher Verlauf zeigte sich bei der durchschnittlichen Körperinnentemperatur, die jeden Morgen erfasst wurde. Während des Versuchszeitraums sank diese um 0,5 °C, was statistisch belegt werden konnte ($p < 0,0001$). Parallel dazu reduzierte sich die ebenfalls täglich gemessene Nachmittagstemperatur aller Versuchstiere um durchschnittlich 0,3 °C ($p < 0,0001$). Auch alle diese Werte lagen im Referenzbereich. Der Abfall der Temperatur kann mit dem zunehmenden Alter der Tiere erklärt werden. Entsprechendes berichteten bereits STÖBER und GRÜNDER (1990).

5.5.2 Labordiagnostische Parameter

Für die weitere Beurteilung der postoperativen Entwicklung wurden zusätzliche Blutproben an den Tagen 1 und 7 a. op. sowie am 8., 14. und 21. Tag p. op. aus der Vena jugularis entnommen. Darin wurden die Erythrozytenzahl, der Hämoglobingehalt, der Hämatokritwert, die Leukozytenzahl, der Fibrinogengehalt (EDTA-Blut), die Plasma-Glukose-Konzentration (Natriumfluorid-Blut), die Blutgase (Heparin-Blut) und der Harnstoffgehalt bestimmt. Anhand dieser Messungen konnte nachgewiesen werden, dass sowohl die Erythrozytenzahl (von $8,6 \pm 1,3$ T/l auf $9,4 \pm$

1 T/l), der Hämoglobingehalt (von $6,6 \pm 1,2$ mmol/l auf $7,0 \pm 0,9$ mmol/l) als auch der Hämatokritwert (von $0,34 \pm 0,07$ l/l auf $0,36 \pm 0,04$ l/l) aller Kälber vom Beginn der Studie bis zum 21. Tag p. op. geringgradig zunahmen, was jeweils statistisch gesichert werden konnte ($p < 0,0001$). Lediglich in dem Zeitraum ein Tag vor der Operation bis 24 Stunden danach war ein Abfall dieser Werte zu verzeichnen (Erythrozytenzahl: von $8,6 \pm 1,3$ T/l auf $8,5 \pm 1,6$ T/l; Hämoglobingehalt: von $6,6 \pm 1,2$ mmol/l auf $6,5 \pm 1,4$ mmol/l; Hämatokritwert: von $0,34 \pm 0,07$ l/l auf $0,33 \pm 0,07$ l/l). Als Grund für die geringfügige Absenkung dieser Blutparameter können die durch den endoskopischen Eingriff verursachten Blutungen angesehen werden. Dieses Phänomen wurde bereits von WILDT et al. (1985), THIELE et al. (1996) sowie von HAHN et al. (2007) beobachtet und in gleicher Weise interpretiert. Wahrscheinlicher Grund für die kontinuierlichen Veränderungen der Blutparameter, die sich jedoch zu jeder Zeit im Referenzbereich bewegten, war das zunehmende Alter der Tiere.

Konträr zur Entwicklung des roten Blutbildes war im engen perioperativen Intervall (einen Tag a. op. bis einen Tag p. op.) sowohl eine Erhöhung der Leukozytenzahl (von $8,8$ G/l $\pm 4,1$ G/l auf $10,6 \pm 4,3$ G/l; $p < 0,01$) als auch eine solche des Harnstoffgehaltes ($3,6$ mmol/l $\pm 0,8$ auf 4 mmol/l $\pm 1,3$ mmol/l; $p < 0,01$) im Blut nachweisbar. Für die Interpretation dieser Ergebnisse kann die Arbeit von SEEGER (2004) herangezogen werden, welcher in seiner Studie analoge Resultate erzielte.

Die anderen Laborwerte (Fibrinogen, Plasma-Glukose, Blutgase) blieben während der ganzen Versuchszeit relativ konstant und lagen stets im physiologischen Bereich. Gleichlautende Ergebnissen sind von KLEIN et al. (2002) publiziert.

5.5.3 Sektionsbefunde

Am 14. Tag nach dem Eingriff wurden die Kälber euthanasiert und einer abschließenden Sektion unterzogen. Dabei wurde das Augenmerk insbesondere auf mögliche Veränderungen an den Operationswunden und in der Bauchhöhle gerichtet. Bei keinem der Kälber wurden pathologische Veränderungen, wie Adhäsionen oder Peritonitiden festgestellt, die im Zusammenhang mit der Biopsie des Blinddarm- und eines Dünndarmlymphknotens stehen könnten. Es waren lediglich kleinflächige Narbenbildungen im Bereich der Trokarierungstellen sowie einige Blutkoagula an den Biopsiestellen zu erkennen. Die eigenen Resultate stehen somit im Einklang mit denen von FUHRMANN (1999) und KLEIN et al. (2002) und

bestätigen die Ergebnisse der klinischen und labordiagnostischen Untersuchungen der vorliegenden Studie.

5.6 Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen

Die Ergebnisse der Studie belegen, dass bei Kälbern die Biopsie von Darmlymphknoten auch laparoskopisch schnell und sicher durchführbar ist. Zudem konnte bei Kälbern nach einer natürlichen Infektion erstmalig MAP-Genom in Darmlymphknoten mittels eines Real time-PCR-Verfahrens nachgewiesen werden (Tab. 13 in Anhang 9). In der hier vorliegenden Studie wurden 15 Tiere eingeschlossen. Um weitere Aussagen über die Sensitivität der Real-time-PCR machen zu können, müssen weitere Studien an größeren Probandenzahlen folgen, in denen auch zusätzlich kulturelle Untersuchungen auf MAP angezeigt wären.

5.7 Abschließende Bewertung des Verfahrens

Dieses Verfahren stellt hinsichtlich der Erfolgs- und Komplikationsrate eine vielversprechende Alternative zur Laparotomie dar. Der postoperative Verlauf war komplikationsarm und es konnte bei diesen Kälbern MAP in den Lymphknoten-Biopsaten nachgewiesen werden. Dieses Verfahren der Lymphknotenbiopsie ist so mit gut geeignet für die gezielte Untersuchung bestimmter Fragestellungen, etwa bei wissenschaftlichen Projekten, oder zur gezielten Beprobung wertvoller Einzeltiere. Weiter könnte diese Methode auch als Routineverfahren zur Paratuberkulose-Diagnostik bei Kälbern in Tierkliniken angewendet werden. Voraussetzung hierfür sind jedoch geeignete Instrumente sowie entsprechend erfahrene Mitarbeiter. Als Routineverfahren in der Praxis dürfte es aufgrund dieser Anforderungen wohl eher weniger in Frage kommen.

6. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Entwicklung eines Verfahrens zur laparoskopisch kontrollierten Biopsie von Blinddarm- und Dünndarmlymphknoten bei Kälbern. Denn die Untersuchung dieser Lymphknoten gilt noch wie vor als Goldstandard in der Paratuberkulose-Diagnostik bei Rindern.

Material und Methodik: Nach einer Pilotstudie am 5 Kälbern wurden 15 klinisch gesunde männliche Kälber der Rasse Deutsche Holsteins in die eigentliche Studie einbezogen. Der Altersdurchschnitt (\bar{x}) aller Tiere zum Zeitpunkt der Operation lag bei 16,5 Tagen, wobei das älteste Tier 30 Tage und das jüngste 14 Tage alt waren.

Grundlage der Bewertung des laparoskopischen Verfahrens waren folgende Hauptzielkriterien: Erfolgsrate, Komplikationsrate und Durchführbarkeit der Operation.

Zusätzlich wurden täglich folgende Parameter erfasst: Bauchdeckenspannung, Wundinfektionen, Herz- und Atemfrequenz, Körpertemperatur und Futteraufnahme. Zusätzlich wurde jeweils eine Blutprobe an den Tagen 1 und 7 a. op. sowie am 8., 14. und 21. Tag p. op. aus der Vena jugularis entnommen, Bestimmt wurden die Erythrozytenzahl, der Hämoglobingehalt, der Hämatokritwert, die Leukozytenzahl, der Fibrinogengehalt, die Plasma-Glukosekonzentration, der Harnstoffgehalt und die Blutgaswerte.

Ergebnisse: Der laparoskopische Eingriff konnte bei allen Tieren ohne größere Komplikationen durchgeführt werden. Die Sedation und Anästhesie mit 0,05 mg / kg Detomidin i. m., gefolgt von 6 mg / kg Ketamin i. v. sowie das angelegte Pneumoperitoneum wurden von allen 15 Kälbern gut toleriert. Die gesamte Operationsdauer betrug zwischen 18 und 37 Minuten ($\bar{x} = 26,2 \pm 5,0$ Minuten).

Bei allen 15 Versuchstieren konnte jeweils ein Jejunallymphknoten biopsiert werden, so dass die Erfolgsrate - bezogen auf diesen Lymphknoten - 100 % betrug.

Das Auffinden des Ln. ileocaecalis war bei 14 Kälbern erfolgreich. Abgesehen von dem einen Fall, bei dem aufgrund übermäßiger Fetteinlagerungen in der Plica ileocaecalis der Blinddarmlymphknoten laparoskopisch nicht zu identifizieren war, konnte soweit stets ein Biopat aus diesem Lymphknoten gewonnen werden. Die Erfolgsrate der Biopatentnahme aus dem Blinddarmlymphknoten lag somit bei 95 %. Bei drei Tieren traten leichte Reaktionen im Bereich der Insertionsstellen auf (leichte Wundschwellung, subkutanes Emphysem), die sich aber innerhalb von drei bis vier

Tagen vollständig zurückbildeten. Bei der Sektion fanden sich keine Hinweise auf eine Wundinfektion oder Peritonitis. An den Biopsiestellen konnten zu diesem Zeitpunkt lediglich noch kleine Blutkoagula festgestellt werden.

Schlussfolgerungen: Die Ergebnisse zeigen, dass die Technik der laparoskopisch kontrollierten Biopsieentnahme von Darmlymphknoten bei Kälbern sicher und schnell durchzuführen ist. Diese Verfahren könnte somit eine wertvolle Ergänzung der diagnostischen Möglichkeiten zur Erkennung von Infektion mit *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* darstellen.

7. Summary

The aim of this work was to develop a procedure for a laparoscopically controlled biopsy of the ileocaecal and small intestinal lymph nodes in calves; for the examination of these lymph nodes is still considered the gold standard in the diagnosis of paratuberculosis in cattle.

Materials and Methods: After a pilot study on 5 calves, 15 clinically healthy calves from the German Holstein breed were included in the actual study. The mean age (\bar{x}) at the time of the operation was 16.5 days, with the oldest animal being 30 days old and the youngest 14 days old.

The following primary outcome criteria: success rate, complication rate und feasibility of the operation served as the basis for the assessment of the laparoscopic procedure.

In addition, the following parameters were assessed daily: abdominal wall tension, wound infections, heart and respiratory rates, body temperature and feed intake. In addition, a blood sample from the vena jugularis was taken from each on days 1 and 7 before the operation as well as on days 8, 14 and 21 after the operation. The erythrocyte count, the haemoglobin content, the haematocrit value, the leukocyte count, the fibrinogen content, the plasma glucose concentration, the urea content and the blood gas values were determined.

Results: The laparoscopic procedure was performed in all animals without significant complications. The sedation and anaesthesia with 0.05 mg / kg of detomidine i. m., followed by 6 mg / kg of ketamine i. v. as well as the insufflated pneumoperitoneum were well tolerated by all 15 calves. The entire operation took between 18 and 37 minutes ($\bar{x} = 26.2 \pm 5.0$ minutes).

One jejunal lymph node was biopsied from all 15 experimental animals, so the success rate – in relation to these lymph nodes – was 100%.

Finding the ileocaecal lymph node was successful in 14 calves. Apart from the one case, where the appendiceal lymph nodes could not be identified laparoscopically due to excessive fat deposits in the plica ileocaecalis, a biopsy was usually obtained from this lymph node. The success rate of the biopsies taken from the appendiceal lymph nodes was thus 95%.

In three animals slight reactions around the area of the insertion sites occurred (slight swelling of the wound, subcutaneous emphysema), which subsided completely within three to four days. During the necropsy no evidence was found of a wound infection or peritonitis. At this point in time, only small blood clots were found at the biopsy sites.

Conclusions: The results show that the technique of a laparoscopically controlled biopsy of intestinal lymph nodes in calves can be performed safely and quickly. This procedure could thus represent a valuable addition to the diagnostic possibilities for the detection of infection with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*.

8. Literatur- / Quellenverzeichnis

Anderson DE, Gaughan EM, Saint JG (1993):

Normal laparoscopic anatomy of the bovine abdomen.
Can J Vet Res 70; 87-93.

Amemori T, Matlova L, Fischer OA, Ayele YW, Machackova M, Gopfert E, Pavlik I (2004):

Distribution of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in the gastrointestinal tract of shedding cows and its application to laparoscopic biopsy.
Czech Vet Res 49; 225-236.

Baumgartner W, Gasteiner J, Awad-Masalmeh M (1999):

Paratuberkulose beim Rind: Rückblick und Aussicht.
The 1st Middle – European Buiatrics Congress, Balatonfüred Hungary 1999, 746.

Benedictus G, Haagsma J (1986):

The efficacy of mesenteric lymph node biopsy in the eradication of paratuberculosis from an infected dairy farm.
Vet Quart 8; 112-19.

Budras KD, Wünsche A (2002):

Atlas der Anatomie des Rindes – Lehrbuch für Tierärzte und Studierende.
Schlütersche, Hannover.

Bulander K (2006):

Molekularbiologischer Nachweis von *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* aus Rinderkot.
Diss. med. vet. Giessen.

Burkhard E (2001):

Fehler bei Biopotentnahme und –versand.
Dtsch Tierärztl Wschr 22; 1-17.

Collins TM (1994):

Clinical approach to control of bovine paratuberculosis.
J Am Vet Assoc 204; 15-17.

Christiansen K (2000):

Laparoskopisch kontrollierte Operation des nach links verlagerten Labmagens (Janowitz - Operation) ohne Ablegen des Patienten.
Dtsch Tierarztl Wochenschr 66; 115-118.

Dünser M, Schweighardt H (2006):

Aktuelle Aspekte zur Diagnostik der Paratuberkulose.
Dtsch Tierarztl Wochenschr 2; 30-32.

Doll K (2006):

Die Paratuberkulose - Eine epidemiologische Herausforderung. Hessische Landestierärztekammer, Kongressband zur Fortbildung am 06.05.2006

Eicher M (1999):

Hämatologische und klinische-chemische Referenzwerte und Werte bei ausgewählten Krankheitsbildern im Blut von Trampeltieren (*Camelus bactrianus*).
Diss. med. vet. Leipzig.

Fischer A.T, Kent K.C, Carlson G.P, Madigan JE (1989)

Diagnostic laparoscopy in the horse.
J Am Vet Assoc 189; 289-292.

Fischer AT, Anne MV, Stanley RK (1995):

Laparoscopic inguinal herniorrhaphy in two stallions.
J Am Vet Assoc 207; 12-14.

Franz S, König M, Gasteiner J, Baumgartner W (1999):

Laparoskopie beim Rind - Indikationen und pathologische Befunde.
Wien Tierärztl Mschr 88; 53-62.

Franz S, König M, Gasteiner J, Baumgartner W (2000):

Laparoskopie beim Rind - 3. Mitteilung: Indikationen und pathologische Befunde.
Wien Tierärztl Mschr 87;163-72.

Franz S, Winter P, Schilcher F, Baumgartner W (2002):

Möglichkeiten der diagnostischen Laparoskopie beim Wiederkäuer - lymphatische Leukose beim Kalb.
Wien Tierärztl Mschr 30; 79-83.

Flebbe U (2002):

15 Jahre Paratuberkulosebekämpfung. Erfahrungen der Niedersächsischen Tierseuchenkasse.
Dtsch Tierä Wochr 109; 520-523.

Fuhrmann U (1999):

Zur laparoskopischen Untersuchung des Kalbes.
Diss. med. vet. München.

Galuppo LD, Snyder RS, Pascoe RJ, Stover MS, Morgan R (1996):

Laparoscopic anatomy of the abdomen in dorsally recumbent horses.
J Am Vet Assoc 57; 46-48.

Geue L, Köhler H, Conraths JF (2004):

Zur Epidemiologie der Paratuberkulose.
Dtsch Tierär Wschr 101; 340-343.

González J, Geijo VM, Garcia-Pariente C, Verena A, Corpa JM, Reyes LE (2005):

Histopathological classification of lesions associated with natural paratuberculosis infection in cattle.
J Comp Path 133; 184–196.

Gödicke Th (2002):

Untersuchungen zur Auswirkung der Schräglagerung und des Kapnoperitoneums auf wichtige hämodynamische Parameter während der Laparoskopie bei spontanen atmenden Kalb unter einer Ketamin - Xylazin Allgemeinanästhesie
Diss. med. vet. Leipzig.

Götze R (1926):

Zur Fremdkörperoperation beim Rinde.
Dtsch Tierärztl Wschr 34; 764-765.

Hahn MHK, Brune I.B, Hesemann R, Obländer Ch, Henke J, Erhardt W (1997):

Probleme bei der Laparoskopie unter Kapnoperitoneum: kontrollierte Beatmung, Kreislauf, Blutgase und Körpertemperatur.
Tierärztl Prax 25; 192-197.

Hacker U, Klim H, Margaret K (2004):

Untersuchung zur serologischen Prävalenz und zu Risikofaktoren der Paratuberkulose in Milchviehbetrieben in Mecklenburg-Vorpommern.
Dtsch Tierärztl Wschr 117; 140-144.

Homuth M (2002):

Diagnostik der Paratuberkulose.
Dtsch Tierärztl Wschr 109; 501-540.

Humann E, Riße R, Brüggemann M, Henze P, Ganter M (1999):

Zur Entnahme von Leberbiopsien beim Schaf mit verschiedenen Techniken.
Tierärztl Umschau 54; 151-157.

Huda A, Jensen HE (2003):

Comparison of histopathology, cultivation of tissues and rectal contents, and interferon - gamma and serum antibody responses for the diagnosis of bovine paratuberculosis.
J Comp Path 129; 259-267.

Ishida H, Furukawa Y, Kobayashi M, Tsuneoka K (1981):

Laparoscopic observation and biopsy of the pancreas. In: Ishida H, Furukawa Y. (Hrsg.): Endoskopy. Georg Thieme Verlag Stuttgart-New York 68-73.

Ishida H, Dohzono T, Furukawa Y, Kobayashi M, Tsuneoka K (1984):

Laparoscopy and biopsy in the diagnosis of malignant intra-abdominal tumors. In: Ishida H, Furukawa Y. (Hrsg.): Endoskopy. Georg Thieme Verlag Stuttgart-New York 140-142.

Janowitz H (1998):

Laparoskopische Reposition und Fixation des nach links verlagerten Labmagens beim Rind.
Tierärztl Prax 26; 308-313.

Janowitz H (1998):

Die Labmagenoperation unter endoskopischer Kontrolle.
VET impulse 10;19-21.

Janowitz H (1998):

Laparoskopische Reposition und Fixation des nach links verlagerten Labmagens beim Rind.
Proc Int Workshop Leipzig 249-53.

Janowitz H (2001):

Den Labmagen nicht mehr blind operieren.
TopAgrar 6;16-19.

Janowitz H (2001):

Ergebnisse aus der Praxis: Die laparoskopische Reposition und Fixation des nach links verlagerten Labmagens beim Rind.
Großtierpraxis 2; 9-14.

Kaulfuß KH, Richter A, Wolf M, Reinhold G (1995):

Die gynäkologische Laparoskopie beim Schaf.

1. Mitteilung. Tierärztl Prax 23; 26-31.

Kaulfuß KH, Richter A, Wolf M, Reinhold G (1995):

Die gynäkologische Laparoskopie beim Schaf.

2. Mitteilung. Tierärztl Prax 23; 132-138.

Klawonn W, Dräger KG, Jonas D, Heß GR (2004):

Ergebnisse von kultureller Kotuntersuchung und Antikörper-ELISA in drei Paratuberkulose-infizierten Milchviehherden 4 - 5 Jahre nach Einstellung der Impfungen.

Dtsch Tierärztl Wschr 109; 501-540.

Klein C, Franz S, Leber A, Bagö Z, Baumgartner W (2000):

Methodik der Darmbiopsientnahme unter laparoskopischer Kontrolle beim Kalb und Schaf.

Wien Tierärztl Mschr 89; 291-301.

Klee W, Paratuberkulose (Johnesche Krankheit) (2002)

In Dirksen G, Gründer H.-D. u. Stöber M (Hrsg.): Innere Medizin und Chirurgie des Rindes. Parey Buchverlag, Berlin und Wien, 586-591.

Koch F (1999):

Kontrollierte klinische Studie über die Behandlung von Kühen mit linksseitiger Labmagenverlagerung mittels perkutaner Abomasopexie unter endoskopischer Sichtkontrolle (Methode nach JANOWITZ) im Vergleich zur Omentopexie nach Laparotomie von rechts (Methode nach DIRKSEN).

Diss. med. vet. Hannover.

Köhler H, Möbius P, Moser I, Heller M (2004):

Aktuelle Methoden zur Diagnostik der Paratuberkulose - Bedeutung für Monitoring und Bekämpfung. 5. Berlin-Brandenburgischer Rindertag, 07-09.10.2004, Berlin, Tagungsband 27-30.

König M, Franz S, Gasteiner J, Baumgartner W (1999):

Laparoskopie beim Rind - 1. Mitteilung: Laparoskopie in der Fossa paralumbalis sinistra.

Wien Tierärztl Mschr 87; 70-76.

König M, Franz S, Gasteiner J, Baumgartner W (2000):

Laparoskopie beim Rind - 2. Mitteilung: Laparoskopie in der Fossa paralumbalis dextra.

Wien Tierärztl Mschr 87;105-110.

Kühholzer B, Müller S, Besenfelder U, Brem G (1996):

Endoskopische Embryotransferverfahren beim Schaf

1. Mitteilung: Embryogewinnung aus Eileiter und Uterus.

Wien Tierärztl Mschr 83; 366-369.

Kühholzer B, Müller S, Besenfelder U, Brem G (1996):

Endoskopische Embryotransferverfahren beim Schaf.

2. Mitteilung: endoskopische Follikelpunktion.

Wien Tierärztl Mschr 84; 370-373.

Kühholzer B, Müller S, Besenfelder U, Brem G (1997):

Endoskopische Embryotransferverfahren beim Schaf.

3. Mitteilung: intrauterine Besamung und Embryotransfer in den Eileiter.

Wien Tierärztl Mschr 85; 14-19.

Leber A, Sonja F, Klein C, Baumgartner W (2004):

Laparoskopie in der Fossa paralumbalis sinistra beim kleinen Wiederkäuer.

Wien Tierärztl Prax 32; 23-31.

Liess J (1936):

Die Endoskopie beim Rinde. Habilitationsschrift, Tierärztliche Hochschule Hannover.

Loho E (2004):

Einsatz starrer Endoskope zur Entfernung von Fremdkörpern der Luft- und oberen Speiswege.

Diss. med. Würzburg.

Loeffler K (1994):

Schmerz und Schmerzbewertung beim Tier.

Tierärztl Umschau 49; 262-265.

Magda MA (2002): Endoskopische Diagnostik beim Kleintier.

Diss. vet. med. Giessen.

McDonald WL, Ridige SE, Hope AF, Condron RJ (1999):

Evaluation of diagnostic tests for Johnes disease in young cattle.

Aust Vet J 77; 113-119.

McConnel CS, Churchil RC, Richard MM, Corkhill CM, Reddacliff LA, Whittington RJ (2004):

Surgical method for biopsy of terminal ileum and mesenteric lymph node of sheep for detection of Mycobacterium avium subsp paratuberculosis.

Aust Vet J 44; 122-124.

McKelvey WAC, Robinson JJ, Aitken PR (1985):

A simplified technique for the transfer of ovine embryos by laparoscopy.

Vet Rec 117; 492-494.

Meinecke B, Tillmann S (1986):

Befruchtungsergebnisse bei superovulierten Schafen und Ziegen nach laparoskopisch kontrollierter transmuralintrauteriner Insemination.

Wien Tierärztl Prax 14; 35-41.

Merkal RS, Whipple DL, Sacks JM, Snyder GR (1987):

Prevalence of Mycobacterium paratuberculosis in ileocecal lymph nodes of cattle culled in the United States.

J Am Vet Assoc 190; 126-132.

Moncada-Angel AH, Klug E, Krause D (1983):

Zur Anwendung des Wisap[®] CO₂ – PneuGasinsufflators nach SEMM zur Erstellung eines Pneumoperitoneums bei der pelviskopischen Untersuchung von Pferd und Rind.

Dtsch Tierärztl Wschr 90;437-440.

Mulon PY, Marie B, Andre D (2006):

Ventral laparoscopic abomasopexy in 18 cattle with displaced abomasum.

Vet Rec 35; 347-355.

Naoi M, Kokue E, Takahashi Y, Kido Y (1985):

Laparoskopie-assisted serialbiopsy of the bovine kidney.

Am J Vet Res 46; 699-702.

Pavlik I, Matlova L, Bartl J, Svastova P, Dvorska L, Whitlock R (2000):

Parallel faecal and organ *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* culture of different productivity types of cattle.

www.vri.cz/wwwrflptext.htm

Pemberton DH (1979):

Diagnosis of Johne's disease in cattle using mesenteric lymph node biopsy: accuracy in clinical suspects.

Aust Vet J 55; 217-219.

Rawlings AC, Elizabeth WH, Shannon B, Chanda C (2002):

Laparoscopic-assisted enterostomy tube placement and full-thickness biopsy of the jejunum with serosal patching in dogs.

J Am Vet Assoc 63, 119-122.

Rehm T (1999):

Etablierung und Standardisierung eines Sanierungsprogrammes zur Bekämpfung der Paratuberkulose in infizierten Rinderbeständen.

Diss. med. vet. Hannover

Rehbock F, Rommel P, Ebersbach T (1990):

Methodischer Beitrag zur transzervikalen Embryonengewinnung beim Rind.
Dtsch Tierärztl Wschr 67; 27-29.

Riße R, Brüggmann M, Henze P, Ganter M (1999):

Zur Entnahme von Leberbiopsien beim Schaf mit verschiedenen Techniken.
Tierärztl Umschau 54; 151-157.

Rommel PW, Kanitz T, Ebersbach, Reimer M (1990):

Laparoskopische Ovardiagnostik beim Rind
Mh. Vet. -Med 45;126-127.

Rüdiger B, Meyer C, Salazar VM (1983):

Untersuchung über den Einfluß des postoperativen Pneumoperitoneums auf den
Heilungsverlauf bei wegen linksseitiger Labmagenverlagerung chirurgisch
behandelten Kühen.
Prakt Tierarzt 11; 7-10.

Rommel PW, Kanitz T, Ebersbach, Reimer M (1990):

Laparoskopische Ovardiagnostik beim Rind
Mh. Vet. -Med 45;126-127.

Seeger T (2004):

Kontrollierte klinische Studie über die laparoskopische Behandlung von Kühen mit
linksseitiger Labmagenverlagerung (Methode nach JANOWITZ) im Vergleich zur
Reposition mit Omentopexie nach Laparatomie von rechts (Methode nach
Dirksen).
Diss. med. vet. Gießen.

Seeger K (1973):

Die Laparoskopie, eine Technik zur Routineuntersuchung des Genitaltrakts beim
Schaf.
Tierärztl Prax 1; 295-299.

Seeger T, Berisha P, Köhler K, Doll K (2007):

Laparoskopisch kontrollierte Biopsie von Dünndarmlymphknoten zur Paratuberkulose-Frühdagnostik bei Kälbern
Vortragsszusammenfassungen 4. Buiatrik-Tagung, München 2007.

Seeger T (1995):

Zur Technik und Auswertbarkeit von transkutan entnommenen Nierenbiopsaten beim Rind.
Diss. med. vet. Hannover

Simpson WJ, Else WR (1987):

Diagnostic value of tissue biopsy in gastrointestinal and liver disease.
Vet Rec 120; 230-233.

Siegl H, Böhm R, Ferguson J, Friedrich M, Losert MU (1994):

Laparoskopische Ovariohysterektomie bei einem Hund.
Wien Tierärztl Mschr 81; 149-152.

Sofrenovic J: (2000): Paratuberkulosa.

In: Jovanovic, J (Hrsg), Patoloska Morfologia Veterinarske Medizine. Knjiga, Beograd 654-660.

Stöber M, Gründer HD (1990): Blutbild.

In Dirksen G, Gründer HD, Stöber: Die klinische Untersuchung des Rindes.
Verlag Paul Parey, Berlin u. Wien, 204-206.

Schiller D, Staufenberg R (1999):

Laparoskopie beim Rind - Untersuchungstechnik, physiologische Verhältnisse in der Bauchhöhle.
Prakt Tierarzt 80; 426-436.

Shettko LD, Frisbie DD, Hendrickson AD (2004):

A comparison of knot security of commonly used hand - tied laparoscopic slipknots.
Am J Vet Res 33; 521-524.

Stamatovic SM (2001): Paratuberkulosa.

In: Jankovic, I (Hrsg), Bolesti papkara. Knijga, Beograd 232-235.

Stabel JR, Palmer MV, Whitlock RH (2003):

Immune responses after oral inoculation of weanling bison or beef calves with a bison or cattle isolate of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*.

J Wildl Dis 39; 545-459

Steiner A, Zulauf M (1999):

Diagnostische Laparoskopie bei der Kuh.

Schweiz Arch Tierheilk 141; 397-406.

Stratmann J (2006):

Entwicklung von Verfahren zum direkten Nachweis von *M. avium* subsp. *paratuberculosis* aus Rohmilch

Diss. med. vet. Hannover.

Stürtzbecher N (2005):

Vergleich der postoperativen Rekonvaleszenz nach laparoskopischer und traditioneller Ovariectomie der Hündin.

Diss. med. vet. Berlin.

Sweeney RW, Whitlock RH, Hamir AN, Rosenberger AE, Herr SA (1992):

Isolation of *Mycobacterium paratuberculosis* after oral inoculation in uninfected cattle.

Res vet Sci 53; 131-134.

Sweeney, RW, Uzonna J, Whitlock, RH, Habecker PL, Chilton P (2006):

Tissue predilection sites and effect of dose on *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* organism recovery in a short-term bovine experimental oral infection model.

Res vet Sci 80; 253-259.

Schneider F, Otto F (1974):

Zur laparoskopischen Beurteilung der inneren Genitalorgane beim Rind.

Schweiz Arch Tierheilk 116; 103-9.

Schönenbrücher H, Abdulmawjood A, Failing K, Bülte M (2008):

New triplex real-time PCR assay for detection of *M. avium* subsp. *partuberculosis* in bovine feces.

App Environ Microbiol 74; 2751-2758.

Thiele S, Kelch G, Frank GK (1996):

Endoskopie der Körperhöhlen und minimal invasive Chirurgie (MIC) bei Kleintieren - Übersichtsreferat.

Dtsch Tierärztl Wschr 109; 208-291.

Van Leeuwen E, Janowitz H, Willemsen MA (2000):

Laparoscopische repositie en fixatie van de lebmaagdislocatie naar links bij het rund.

Tijdschr Diergeneeskd 127; 391-2.

Van Leeuwen E, Janowitz H, Willemsen MA (2002):

Laparoscopic treatment of left displaced abomasum in cattle and results of 108 cases treated under field conditions.

Tijdschr Diergeneeskd 176; 251-3.

Wells SJ, Godden SM, Lindemann C, Collins JE (2003):

Evaluation of bacteriologic culture of individual and pooled fecal samples for detection of *Mycobacterium paratuberculosis* in dairy cattle herds.

J Am Vet Med Assoc 223; 1022-1225.

Wildt ED, Lawler FD (1985):

Laparoscopic sterilization of the bitch and queen by uterine horn occlusion.

Am J Vet Res 46; 864-866.

Wilson AG, Ferguson JG (1984):

Use of flexible fiberoptic laparoscope as a diagnostic aid in cattle.

Can Vet J 25; 229-234.

Winterhoff C, Beyersbach M, Strutzberg K, Gerlach GF (2002):

Etablierung und Evaluation eines ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Milch.

Dtsch Tierärztl Wschr 109; 230-234.

9. Anhang

Tabelle 3a: Klinische Befunde I

Tier-Nr.	Tag	Tränkeaufn.	Herzfrequenz	Atemfr.	Temp. VM	Temp. NM
TierNr	Tag	MAT	HF	AF	TVM	TNM
1	1	6	115	33	38.5	39.5
1	2	6	116	35	38.7	39.6
1	3	6	111	34	38.4	39.5
1	4	6	109	34	38.2	38.7
1	5	6	109	36	38.5	39.1
1	6	6	110	33	38.6	38.9
1	7	6	118	33	38.4	38
1	8	4	100	34	38.5	39.4
1	9	6	121	44	38.4	39.3
1	10	6	115	42	38.3	39.6
1	11	6	116	40	38.2	39.4
1	12	6	119	39	38.2	39.6
1	13	6	120	37	38.6	38.6
1	14	6	100	35	38.3	38.9
1	15	6	108	29	38.7	38.9
1	16	6	100	28	38.5	38.7
1	17	6	100	27	38.7	38.8
1	18	6	110	30	38.5	38.6
1	19	6	109	32	38.8	38.9
1	20	6	107	32	38.9	38.4
1	21	6	110	31	38.6	38.7
2	1	6	109	41	39.4	39.5
2	2	6	100	42	38.5	39.6
2	3	6	109	43	38.5	38.6
2	4	6	110	42	38.8	38.7
2	5	6	109	39	38.7	38.7
2	6	6	110	38	38.7	38.6
2	7	3	109	39	38.7	37.7
2	8	3	109	38	38.5	38.8
2	9	6	101	39	38.5	38.9
2	10	6	108	37	38.7	38.5
2	11	6	101	39	38.5	38.9
2	12	6	108	40	38.3	38.9
2	13	6	110	39	38.5	38.7
2	14	6	108	40	38.4	39
2	15	6	110	39	38.4	38.5
2	16	6	110	40	38.5	38.9
2	17	6	109	38	38.7	38.4
2	18	6	110	39	38.2	38.7
2	19	6	109	37	38.4	38.7
2	20	6	101	39	38.2	38.9
2	21	6	119	37	38.4	38.7

Tränkeaufnahme: Liter , MAT / Tag, Atemfrequenz: Züge pro Minute, Herzfrequenz: Schläge pro Minute, Körpertemperatur: °C

Tabelle 3a: Klinische Befunde I

TierNr	Tag	MAT	HF	AF	TVM	TNM
3	1	6	110	42	38.5	39.4
3	2	6	109	42	38.8	39.3
3	3	6	110	44	38.5	39
3	4	6	100	39	38.5	38.4
3	5	6	109	38	38.6	38.9
3	6	6	119	37	38.2	38.4
3	7	4	120	38	38.5	37.8
3	8	4	119	39	39	39
3	9	6	100	37	38.5	38.4
3	10	6	118	36	38.9	38.6
3	11	6	120	40	38.3	38.9
3	12	6	118	39	38.6	39
3	13	6	121	37	38.5	38.9
3	14	6	121	37	38.3	38.7
3	15	6	120	39	38.4	38.9
3	16	6	119	40	38.4	38.7
3	17	6	119	40	38.6	38.7
3	18	6	120	41	38.7	38.4
3	19	6	118	38	38.4	38.4
3	20	6	120	37	38.2	38.4
3	21	6	119	38	38.9	38.4
4	1	6	104	40	38.5	38.5
4	2	6	104	36	39	39
4	3	6	100	28	38.8	38.9
4	4	6	92	42	38.6	38.5
4	5	6	88	36	38.7	38.9
4	6	6	80	40	38.5	38.9
4	7	4	100	39	38.9	37.8
4	8	4	100	39	38.7	38.8
4	9	6	108	37	38.5	38.6
4	10	6	108	40	38.7	38.4
4	11	6	101	39	38.4	38.2
4	12	6	109	40	38.4	38.1
4	13	6	101	37	38.2	38.8
4	14	6	101	34	38.2	38.3
4	15	6	104	37	38.2	38.2
4	16	6	108	39	38.7	38.2
4	17	6	101	39	38.8	38.2
4	18	6	101	39	38.4	38.8
4	19	6	115	37	38.6	38.5
4	20	6	110	37	38.2	38.3
4	21	6	110	37	38.2	38.1
5	1	6	112	56	39.5	39.6
5	2	6	92	48	39.5	39.1
5	3	6	80	36	38.5	38.7
5	4	6	92	40	39.2	39.4
5	5	6	96	44	39.1	38.6
5	6	6	72	41	38.7	38.4

Tränkeaufnahme: Liter , MAT / Tag, Atemfrequenz: Züge pro Minute, Herzfrequenz: Schläge pro Minute, Körpertemperatur: °C

Tabelle 3a: Klinische Befunde I

Tier-Nr.	Tag	Tränkeaufn.	Herzfrequenz	Atemfr.	Temp. VM	Temp. NM
TierNr	Tag	MAT	HF	AF	TVM	TNM
5	7	6	88	40	38.6	37.8
5	8	6	100	38.3	38.4	38.7
5	9	6	101	38.1	38.7	38.6
5	10	6	101	37	38.6	38.7
5	11	6	101	40	38.6	38.9
5	12	6	100	38	38.4	38.7
5	13	6	109	34	38.7	38.6
5	14	6	108	37	38.8	38.5
5	15	6	99	37	38.8	38.7
5	16	6	108	39	38.6	38.7
5	17	6	96	36	38.6	38.9
5	18	6	97	38	38.3	38.8
5	19	6	98	35	38.6	38.9
5	20	6	97	37	38	38.7
5	21	6	106	35	38.2	38.8
6	1	6	108	40	39.6	38.5
6	2	6	80	48	39.4	38.7
6	3	6	108	32	39.4	38.9
6	4	6	108	36	39.6	38.5
6	5	6	80	40	38.9	38.7
6	6	6	120	41	38.6	38.7
6	7	6	108	39	39	39
6	8	4	100	38	38.5	38.8
6	9	4	72	34	39.3	38.5
6	10	6	72	39	38.6	38.6
6	11	6	100	39	38.4	38.4
6	12	6	78	38	38.4	38.5
6	13	6	84	41	38.5	38.8
6	14	6	56	37	38.5	38.7
6	15	6	95	37	38.4	38.6
6	16	6	120	38	38.5	38.7
6	17	6	108	35	38.2	38.5
6	18	6	78	38	38.8	38.4
6	19	6	87	37	38.5	38.6
6	20	6	88	37	38.6	38.7
6	21	6	87	34	38.5	38.7
7	1	6	92	44	39.2	39.9
7	2	6	100	36	38.5	38.7
7	3	6	88	36	39.6	38.7
7	4	6	88	36	38.9	38.7
7	5	6	92	38	38.5	38.8
7	6	6	102	39	38.5	38.7
7	7	6	105	37	38.7	37.5
7	8	4	102	39	38.8	37.9
7	9	6	80	41	37.9	38.3
7	10	6	90	37	38.5	38.4
7	11	6	97	38	38.4	38.5
7	12	6	100	41	38.4	38.5
7	13	6	105	37	38.5	38.2

Tränkeaufnahme: Liter , MAT / Tag, Atemfrequenz: Züge pro Minute, Herzfrequenz: Schläge pro Minute, Körpertemperatur: °C

Tabelle 3a: Klinische Befunde I

Tier-Nr.	Tag	Tränkeaufn.	Herzfrequenz	Atemfr.	Temp. VM	Temp. NM
TierNr	Tag	MAT	HF	AF	TVM	TNM
7	14	6	107	36	38.5	38.5
7	15	6	107	37	38.4	38.3
7	16	6	92	38	38.4	38.4
7	17	6	90	38.7	38.2	38.3
7	18	6	97	37	38.4	38.5
7	19	6	98	37	38.2	38.4
7	20	6	92	38	38.4	38.4
7	21	6	90	39	38.2	38.4
8	1	4	100	32	38.3	38.4
8	2	6	100	32	38.4	38.7
8	3	6	104	20	38.4	38.6
8	4	6	125	40	38.3	38.5
8	5	6	160	36	38.4	38.5
8	6	6	160	28	38.4	38.8
8	7	6	110	32	38.4	37.8
8	8	4	119	38	38.7	38.7
8	9	6	120	40	38.4	38.5
8	10	6	101	37	38.5	38.9
8	11	6	118	38	38.4	38.5
8	12	6	117	37	38.7	38.5
8	13	6	116	38	38.5	38.2
8	14	6	116	37	38.4	38.2
8	15	6	105	38	38.2	38.5
8	16	6	112	37	38.2	38.7
8	17	6	109	33	38.1	38.5
8	18	6	100	39	38.4	38.5
8	19	6	98	31	38.2	38.5
8	20	6	98	30	38.8	38.4
8	21	6	90	32	38.4	38.3
9	1	6	76	40	38.8	38.5
9	2	6	80	40	38.8	38.5
9	3	6	88	44	39	38.5
9	4	6	82	40	38.7	38.6
9	5	6	120	60	38.8	38.6
9	6	6	96	44	38.5	38.4
9	7	4	92	43	38.9	38.6
9	8	6	120	41	38.7	38.7
9	9	6	121	37	38.8	38.7
9	10	6	121	38	38.6	38.6
9	11	6	118	39	38.2	38.6
9	12	6	120	37	38.7	38.6
9	13	6	110	35	38.7	38.5
9	14	6	115	35	38.7	38.6
9	15	6	108	33	38.5	38.3
9	16	6	115	37	38.4	38.3
9	17	6	113	33	38.2	38.5
9	18	6	98	37	38.5	38.4
9	19	6	110	33	38.5	38.4
9	20	6	100	35	38.4	39.3

Tränkeaufnahme: Liter , MAT / Tag, Atemfrequenz: Züge pro Minute, Herzfrequenz: Schläge pro Minute, Körpertemperatur: °C

Tabelle 3a: Klinische Befunde I

Tier-Nr.	Tag	Tränkeaufn.	Herzfrequenz	Atemfr.	Temp. VM	Temp. NM
TierNr	Tag	MAT	HF	AF	TVM	TNM
9	21	6	108	38	38.3	38.8
10	1	6	110	44	39	38.6
10	2	6	118	34	38.2	38.5
10	3	6	120	37	38.5	38.5
10	4	6	120	36	38.8	38.2
10	5	6	127	44	38.5	38.4
10	6	6	136	40	38.6	38.9
10	7	4	120	40	38.4	37.7
10	8	6	110	44	38.5	38.7
10	9	6	120	37	38.5	38.9
10	10	6	118	34	38.2	38.5
10	11	6	120	37	38.5	38.5
10	12	6	117	39	38.6	38.9
10	13	6	117	38	38.4	38.7
10	14	6	107	35	38.7	38.3
10	15	6	112	33	38.6	38.7
10	16	6	115	39	38.7	38.6
10	17	6	100	33	38.4	38.7
10	18	6	115	30	38.5	38.9
10	19	6	101	37	38.4	38.3
10	20	6	119	38	38.3	38.4
10	21	6	109	36	38.4	38.8
11	1	6	100	52	38.8	38.9
11	2	6	100	48	39	38.8
11	3	6	110	48	38.8	38.5
11	4	6	120	44	38.7	38.5
11	5	6	124	48	38.5	38.4
11	6	6	134	48	38.3	38.6
11	7	4	132	44	38.9	38.5
11	8	4	132	44	38.5	38.6
11	9	6	120	40	38.6	38.4
11	10	6	118	37	38.7	38.5
11	11	6	119	39	38.5	38.6
11	12	6	121	34	38.4	38.5
11	13	6	115	36	38.6	38.9
11	14	6	115	36	38.5	38.5
11	15	6	112	37	38.4	38.5
11	16	6	121	37	38.4	38.6
11	17	6	109	37	38.5	38.9
11	18	6	112	38	38.5	38.6
11	19	6	125	33	38.5	38.9
11	20	6	99	33	38.7	38.7
11	21	6	101	33	38.7	38.2
12	1	6	100	48	38.6	38.5
12	2	6	99	48	39	38.5
12	3	6	120	60	38.8	38.7
12	4	6	100	56	38.5	38.4
12	5	6	110	56	38.7	38.5
12	6	6	120	56	38.9	38.6

Tränkeaufnahme: Liter , MAT / Tag, Atemfrequenz: Züge pro Minute, Herzfrequenz: Schläge pro Minute, Körpertemperatur: °C

Tabelle 3a: Klinische Befunde I

Tier-Nr.	Tag	Tränkeaufn.	Herzfrequenz	Atemfr.	Temp. VM	Temp. NM
TierNr	Tag	MAT	HF	AF	TVM	TNM
12	7	4	130	40	38.6	37.6
12	8	4	110	37	37.5	37.4
12	9	6	100	37	38.4	38.5
12	10	6	101	35	38.4	38.4
12	11	6	100	37	38.4	38.5
12	12	6	110	37	38.7	38.4
12	13	6	115	37	38.2	38.4
12	14	6	111	33	38.7	38.4
12	15	6	111	35	38.6	38.7
12	16	6	125	30	38.2	38.4
12	17	6	109	33	38.5	38.5
12	18	6	101	35	38.4	38.4
12	19	6	100	37	38.4	38.5
12	20	6	110	39	38.2	38.3
12	21	6	109	38	38.4	38.7
13	1	6	120	40	39	38.6
13	2	6	110	44	38.6	38.7
13	3	6	96	48	38.4	38.5
13	4	6	100	52	38.6	38.5
13	5	6	110	48	38.4	38
13	6	6	120	44	38.5	38.5
13	7	4	120	44	38.4	38.6
13	8	6	117	36	37	37
13	9	6	115	37	38	38.6
13	10	6	110	35	38.4	38.5
13	11	6	115	37	38.4	38.5
13	12	6	110	37	38.3	38.5
13	13	6	112	37	38.2	38.4
13	14	6	130	34	38.4	38.7
13	15	6	110	36	38.5	38.6
13	16	6	105	29	38.4	38.5
13	17	6	101	37	38.4	38.5
13	18	6	108	33	38.4	38.5
13	19	6	101	37	38.4	39.5
13	20	6	110	37	38.4	38.5
13	21	6	111	39	38.5	38.5
14	1	6	120	48	39.2	39.3
14	2	6	118	45	38.7	39.2
14	3	6	120	42	39.2	39.3
14	4	6	120	48	39.2	39.3
14	5	6	120	41	38.8	38.5
14	6	6	119	40	39.2	38.9
14	7	6	120	37	38.7	37.1
14	8	6	115	38	39.3	40.2
14	9	6	118	40	39.2	40.5
14	10	6	130	37	40.3	39.8
14	11	6	114	40	40.2	39.3
14	12	6	120	35	39.2	39
14	13	6	110	34	38.8	38.5
14	14	6	110	34	38.5	39

Tränkeaufnahme: Liter , MAT / Tag, Atemfrequenz: Züge pro Minute, Herzfrequenz: Schläge pro Minute, Körpertemperatur: °C

Tabelle 3a: Klinische Befunde I

Tier-Nr.	Tag	Tränkeaufn.	Herzfrequenz	Atemfr.	Temp. VM	Temp. NM
TierNr	Tag	MAT	HF	AF	TVM	TNM
14	15	6	110	36	38.5	38.8
14	16	6	100	32	38.5	38.6
14	17	6	100	36	38.6	38.7
14	18	6	120	37	38.7	37.1
14	19	6	115	38	39.3	40.2
14	20	6	110	36	38.5	38.6
14	21	6	120	34	38.6	38.7
15	0	6	120	40	39.4	39.8
15	1	6	120	42	40	39.5
15	2	6	119	43	39	39
15	3	6	108	42	38.7	38.9
15	4	6	120	36	39	39
15	5	6	118	40	38.8	38.5
15	6	6	115	37	38.4	39.6
15	7	6	119	39	39.6	37
15	8	6	120	37	38.6	39.3
15	9	6	121	38	38.7	38.6
15	10	6	120	39	39.2	39
15	11	6	114	40	39.1	39.2
15	12	6	112	38	38.8	38.9
15	13	6	110	40	39.6	39.7
15	14	6	130	38	39.6	39.7
15	15	6	110	38	39	39.3
15	16	6	100	36	39.4	39
15	17	6	99	38	38.8	39
15	18	6	100	40	38.9	39
15	19	6	110	38	39	38.8
15	20	6	120	36	38.7	38.9
15	21	6	110	38	38.9	38.7

Tränkeaufnahme: Liter , MAT / Tag, Atemfrequenz: Züge pro Minute, Herzfrequenz: Schläge pro Minute, Körpertemperatur: °C

Tabelle 3b: Klinische Befunde II

Tier-Nr.	Tag	Bauchdeckenspan	Wundinfektion	Emphysem
TierNr	Tag	BDS	WI	WE
1	1	0	0	0
1	2	0	0	0
1	3	0	0	0
1	4	0	0	0
1	5	0	0	0
1	6	0	0	0
1	7	0	0	0
1	8	1	1	0
1	9	1	1	0
1	10	0	0	0
1	11	0	0	0
1	12	0	0	0
1	13	0	0	0
1	14	0	0	0
1	15	0	0	0
1	16	0	0	0
1	17	0	0	0
1	18	0	0	0
1	19	0	0	0
1	20	0	0	0
1	21	0	0	0
2	1	0	0	0
2	2	0	0	0
2	3	0	0	0
2	4	0	0	0
2	5	1	1	0
2	6	1	0	2
2	7	0	0	2
2	8	0	0	1
2	9	0	0	1
2	10	0	0	1
2	11	0	0	0
2	12	0	0	0
2	13	0	0	0
2	14	0	0	0
2	15	0	0	0
2	16	0	0	0
2	17	0	0	0
2	18	0	0	0
2	19	0	0	0
2	20	0	0	0
2	21	0	0	0
3	1	0	0	0
3	2	0	0	0
3	3	0	0	0
3	4	0	0	0
3	5	1	0	0
3	6	1	1	0
3	7	0	0	0

Bauchdeckenspannung: 0 = weich; 1 = ggr. Gespannt; 2 = mgr. gespannt; 3 = hgr. Gespannt

Wundinfektion: 0 = keine; 1 = ggr. Schwellung; 2 = mgr. Schwellung; 3 = hgr. Schwellung; 4 =

Schwellung und Sekretion. Wundemphysem: 0 = kein; 1 = ggr. ; 2 = mgr. ;

Tabelle 3b: Klinische Befunde II

Tag	Tag	Bauchdeckenspan.	Wundinfektion	Emphysem
3	8	0	0	0
3	9	0	0	0
3	10	0	0	0
3	11	0	0	0
3	12	0	0	0
3	13	0	0	0
3	14	0	0	0
3	15	0	0	0
3	16	0	0	0
3	17	0	0	0
3	18	0	0	0
3	19	0	0	0
3	20	0	0	0
3	21	0	0	0
4	1	0	0	0
4	2	0	0	0
4	3	1	0	0
4	4	1	1	0
4	5	0	0	0
4	6	0	0	0
4	7	0	0	0
4	8	0	0	0
4	9	0	0	0
4	10	0	0	0
4	11	0	0	0
4	12	0	0	0
4	13	0	0	0
4	14	0	0	0
4	15	0	0	0
4	16	0	0	0
4	17	0	0	0
4	18	0	0	0
4	19	0	0	0
4	20	0	0	0
4	21	0	0	0
5	1	1	0	0
5	2	0	0	0
5	3	0	0	0
5	4	1	0	0
5	5	0	0	0
5	6	0	0	0
5	7	0	0	0
5	8	0	0	0
5	9	0	0	0
5	10	0	0	0
5	11	0	0	0
5	12	0	0	0
5	13	0	0	0
5	14	0	0	0
5	15	0	0	0

Bauchdeckenspannung: 0 = weich; 1 = ggr. Gespannt; 2 = mgr. gespannt; 3 = hgr. Gespannt
Wundinfektion: 0 = keine; 1 = ggr. Schwellung; 2 = mgr. Schwellung; 3 = hgr. Schwellung; 4 =
Schwellung und Sekretion. Wundemphysem: 0 = kein; 1 = ggr. ; 2 = mgr. ; 3 = hgr.

Tabelle 3b: Klinische Befunde II

Tier-Nr.	Tag	Bauchdeckenspan.	Wundinfektion	Emphysem
5	16	0	0	0
5	17	0	0	0
5	18	0	0	0
5	19	0	0	0
5	20	0	0	0
5	21	0	0	0
6	1	0	0	0
6	2	0	0	0
6	3	0	0	0
6	4	1	0	0
6	5	0	0	0
6	6	0	0	0
6	7	0	0	0
6	8	0	0	0
6	9	0	0	0
6	10	0	0	0
6	11	0	0	0
6	12	0	0	0
6	13	0	0	0
6	14	0	0	0
6	15	0	0	0
6	16	0	0	0
6	17	0	0	0
6	18	0	0	0
6	19	0	0	0
6	20	0	0	0
6	21	0	0	0
7	1	0	0	0
7	2	0	0	0
7	3	0	0	0
7	4	1	0	0
7	5	1	0	0
7	6	0	0	0
7	7	0	0	0
7	8	0	0	0
7	9	0	0	0
7	10	0	0	0
7	11	0	0	0
7	12	0	0	0
7	13	0	0	0
7	14	0	0	0
7	15	0	0	0
7	16	0	0	0
7	17	0	0	0
7	18	0	0	0
7	19	0	0	0
7	20	1	0	0
7	21	1	0	0
8	1	1	0	0
8	2	1	0	0

Bauchdeckenspannung: 0 = weich; 1 = ggr. Gespannt; 2 = mgr. gespannt; 3 = hgr. Gespannt

Wundinfektion: 0 = keine; 1 = ggr. Schwellung; 2 = mgr. Schwellung; 3 = hgr. Schwellung; 4 =

Schwellung und Sekretion. Wundemphysem: 0 = kein; 1 = ggr.; 2 = mgr.; 3 = hgr.

Tabelle 3b: Klinische Befunde II

Tier-Nr.	Tag	Bauchdeckenspan.	Wundinfektion	Emphysem
8	3	1	0	0
8	4	0	0	0
8	5	0	0	0
8	6	1	0	0
8	7	0	0	0
8	8	0	0	0
8	9	0	0	0
8	10	0	0	0
8	11	0	0	0
8	12	0	0	0
8	13	0	0	0
8	14	0	0	0
8	15	0	0	0
8	16	0	0	0
8	17	0	0	0
8	18	0	0	0
8	19	0	0	0
8	20	0	0	0
8	21	0	0	0
9	1	0	0	0
9	2	0	0	0
9	3	0	0	0
9	4	1	1	1
9	5	1	1	1
9	6	1	1	1
9	7	1	1	1
9	8	1	1	1
9	9	1	1	1
9	10	0	0	0
9	11	0	0	0
9	12	0	0	0
9	13	0	0	0
9	14	0	0	0
9	15	0	0	0
9	16	0	0	0
9	17	0	0	0
9	18	0	0	0
9	19	0	0	0
9	20	0	0	0
9	21	0	0	0
10	1	0	0	0
10	2	0	0	0
10	3	0	0	0
10	4	0	0	0
10	5	0	0	0
10	6	1	0	0
10	7	1	0	0
10	8	0	0	0
10	9	0	0	0

Bauchdeckenspannung: 0 = weich; 1 = ggr. Gespannt; 2 = mgr. gespannt; 3 = hgr. Gespannt
Wundinfektion: 0 = keine; 1 = ggr. Schwellung; 2 = mgr. Schwellung; 3 = hgr. Schwellung; 4 =
Schwellung und Sekretion. Wundemphysem: 0 = kein; 1 = ggr. ; 2 = mgr. ; 3 = hgr.

Tabelle 3b: Klinische Befunde II

Tier-Nr.	Tag	Bauchdeckenspan.	Wundinfektion	Emphysem
10	10	0	0	0
10	11	0	0	0
10	12	0	0	0
10	13	0	0	0
10	14	0	0	0
10	15	0	0	0
10	16	0	0	0
10	17	0	0	0
10	18	0	0	0
10	19	0	0	0
10	20	0	0	0
10	21	0	0	0
11	1	0	0	0
11	2	0	0	0
11	3	0	0	0
11	4	1	0	0
11	5	0	0	0
11	6	0	0	0
11	7	0	0	0
11	8	0	0	0
11	9	0	0	0
11	10	0	0	0
11	11	0	0	0
11	12	0	0	0
11	13	0	0	0
11	14	0	0	0
11	15	0	0	0
11	16	0	0	0
11	17	0	0	0
11	18	0	0	0
11	19	0	0	0
11	20	0	0	0
11	21	0	0	0
12	1	0	0	0
12	2	0	0	0
12	3	0	0	0
12	4	1	1	1
12	5	1	1	1
12	6	1	1	1
12	7	0	0	0
12	8	0	0	0
12	9	0	0	0
12	10	0	0	0
12	11	0	0	0
12	12	0	0	0
12	13	0	0	0
12	14	0	0	0
12	15	0	0	0
12	16	0	0	0
12	17	0	0	0
12	18	0	0	0

Bauchdeckenspannung: 0 = weich; 1 = ggr. Gespannt; 2 = mgr. gespannt; 3 = hgr. Gespannt
Wundinfektion: 0 = keine; 1 = ggr. Schwellung; 2 = mgr. Schwellung; 3 = hgr. Schwellung; 4 =
Schwellung und Sekretion. Wundemphysem: 0 = kein; 1 = ggr. ; 2 = mgr. ; 3 = hgr.

Tabelle 3b: Klinische Befunde II

Tier-Nr.	Tag	Bauchdeckenspan.	Wundinfektion	Emphysem
12	19	0	0	0
12	20	0	0	0
12	21	0	0	0
13	1	0	0	0
13	2	0	0	0
13	3	0	0	0
13	4	0	0	0
13	5	1	1	0
13	6	0	0	0
13	7	0	0	0
13	8	0	0	0
13	9	0	0	0
13	10	0	0	0
13	11	0	0	0
13	12	0	0	0
13	13	0	0	0
13	14	0	0	0
13	15	0	0	0
13	16	0	0	0
13	17	0	0	0
13	18	0	0	0
13	19	0	0	0
13	20	0	0	0
13	21	0	0	0
14	1	0	0	0
14	2	0	0	0
14	3	1	0	0
14	4	1	1	0
14	5	0	1	0
14	6	0	0	0
14	7	0	0	0
14	8	0	0	0
14	9	0	0	0
14	10	0	0	0
14	11	0	0	0
14	12	0	0	0
14	13	0	0	0
14	14	0	0	0
14	15	0	0	0
14	16	0	0	0
14	17	0	0	0
14	18	0	0	0
14	19	0	0	0
14	20	0	0	0
14	21	0	0	0
15	1	0	0	0
15	2	0	0	0
15	3	0	0	0
15	4	0	0	0
15	5	0	0	0
15	6	1	1	0

Bauchdeckenspannung: 0 = weich; 1 = ggr. Gespannt; 2 = mgr. gespannt; 3 = hgr. Gespannt
Wundinfektion: 0 = keine; 1 = ggr. Schwellung; 2 = mgr. Schwellung; 3 = hgr. Schwellung; 4 =
Schwellung und Sekretion. Wundemphysem: 0 = kein; 1 = ggr. ; 2 = mgr. ; 3 = hgr.

Tabelle 3b: Klinische Befunde II

Tier-Nr.	Tag	Bauchdeckenspan.	Wundinfektion	Emphysem
15	7	1	1	0
15	8	0	0	0
15	9	0	0	0
15	10	0	0	0
15	11	0	0	0
15	12	0	0	0
15	13	0	0	0
15	14	0	0	0
15	15	0	0	0
15	16	0	0	0
15	17	0	0	0
15	18	0	0	0
15	19	0	0	0
15	20	0	0	0
15	21	0	0	0

Bauchdeckenspannung: 0 = weich; 1 = ggr. gespannt; 2 = mgr. gespannt; 3 = hgr. gespannt

Wundinfektion: 0 = keine; 1 = ggr. Schwellung; 2 = mgr. Schwellung; 3 = hgr. Schwellung; 4 =

Schwellung und Sekretion. Wundemphysem: 0 = kein; 1 = ggr. ; 2 = mgr. ; 3 = hgr.

Tier-Nr.	OP-Dauer	Anästhesie	Nachdosierung	Einführen der Verres-Nadel	Anliegen des Pneumopexie	Auffinden des Caecums	Auffinden der Plica ileoc.	Fixation der Plica ileoc.	Auffinden des Ln.ileoc.	Biopsieentnahme	Komplikationen	Ln. Mesenterial	Fixation Ln. Mesenterial	Auffinden Ln. Mesenterial	Auffinden Biopsieentnahme	Komplikationen	Entgasung	Abgangsart	OP-Wiederholen
1	26	Ohne Problem	Kein	Mittelschwer	mittelschwer	Mittelschwer	mittelschwer	Leicht	Leicht	Ja	geringe Blutung	leicht	leicht	leicht	Ja	geringe Blutung	ohne Probleme	Euthanasie	Nein
2	27	Ohne Problem	Kein	Ohne Probleme	Ohne Probleme	Leicht	Leicht	Leicht	Leicht	Ja	geringe Blutung	leicht	leicht	leicht	Ja	geringe Blutung	ohne Probleme	Euthanasie	Nein
3	25	Ohne Problem	Kein	Ohne Probleme	Ohne Probleme	Leicht	Leicht	Leicht	Leicht	Ja	geringe Blutung	leicht	leicht	leicht	Ja	geringe Blutung	ohne Probleme	Euthanasie	Nein
4	30	Ohne Problem	Kein	Ohne Probleme	Ohne Probleme	Mittelschwer	Leicht	Leicht	Leicht	Ja	keine Blutung	leicht	leicht	leicht	Ja	geringe Blutung	ohne Probleme	Euthanasie	Nein
5	23	Ohne Problem	Kein	Ohne Probleme	Ohne Probleme	Leicht	Leicht	Leicht	Leicht	Ja	geringe Blutung	leicht	leicht	leicht	Ja	geringe Blutung	ohne Probleme	Euthanasie	Nein
6	32	Ohne Problem	0,1 ml Domosedan	Ohne Probleme	Ohne Probleme	Mittelschwer	Mittelschwer	mittelschwer	Mittelschwer	Ja	geringe Blutung	mittelschwer	mittelschwer	leicht	Ja	geringe Blutung	ohne Probleme	Euthanasie	Nein
7	37	Ohne Problem	0,1 ml Domosedan	Ohne Probleme	Ohne Probleme	Mittelschwer	Mittelschwer	mittelschwer	Schwer	Ja	geringe Blutung	mittelschwer	mittelschwer	mittelschwer	Ja	geringe Blutung	ohne Probleme	Euthanasie	Nein
8	24	Ohne Problem	Kein	Ohne Probleme	Ohne Probleme	Leicht	Leicht	Leicht	Leicht	Ja	geringe Blutung	leicht	leicht	leicht	Ja	geringe Blutung	ohne Probleme	Euthanasie	Nein
9	29	Ohne Problem	Kein	Mittelschwer	schwer	Mittelschwer	Mittelschwer	mittelschwer	Mittelschwer	Ja	geringe Blutung	mittelschwer	mittelschwer	mittelschwer	Ja	geringe Blutung	ohne Probleme	Euthanasie	Nein
10	28	Ohne Problem	Kein	Ohne Probleme	Ohne Probleme	Leicht	Leicht	Leicht	nicht möglich	Nein	geringe Blutung	leicht	leicht	leicht	Ja	geringe Blutung	ohne Probleme	Euthanasie	Nein
11	30	Ohne Problem	0,1 ml Domosedan	Ohne Probleme	Ohne Probleme	Leicht	Leicht	Leicht	Leicht	Ja	keine Blutung	leicht	leicht	leicht	Ja	geringe Blutung	ohne Probleme	Euthanasie	Nein
12	18	Ohne Problem	Kein	Ohne Probleme	Ohne Probleme	Leicht	Leicht	Leicht	Leicht	Ja	geringe Blutung	leicht	leicht	leicht	Ja	geringe Blutung	ohne Probleme	Euthanasie	Nein
13	23	Ohne Problem	Kein	Ohne Probleme	Ohne Probleme	Leicht	Leicht	Leicht	Leicht	Ja	geringe Blutung	mittelschwer	sehr schwer	mittelschwer	Ja	geringe Blutung	ohne Probleme	Euthanasie	Nein
14	20	Ohne Problem	Kein	Ohne Probleme	Ohne Probleme	Leicht	Leicht	Leicht	Leicht	Ja	geringe Blutung	leicht	mittelschwer	mittelschwer	Ja	geringe Blutung	ohne Probleme	Euthanasie	Nein
15	21	Ohne Problem	Kein	Ohne Probleme	Ohne Probleme	Mittelschwer	Mittelschwer	mittelschwer	Mittelschwer	Ja	geringe Blutung	mittelschwer	mittelschwer	mittelschwer	Ja	geringe Blutung	ohne Probleme	Euthanasie	Nein
	26,2																		

Tab. 4: Operationsbefunde und Komplikationen während der Operation

Tier Nr.	Incisionsstelle 1	Incisionsstelle 2	Incisionsstelle 3	Peritoneum	Caecum	Plica ileocaecalis	Biopsiestelle	Ln. ileocaecalis 2	Ln. ileocaecalis 3	Mesenterium	Biopsiestelle
1	obB	obB	obB	obB	obB	obB	obB	1,0x0,7x0,3	0,3x0,9x0,2	obB	Hämatom
2	obB	obB	obB	obB	obB	obB	obB	0,9x1,0x0,3	0,7x0,9x0,3	obB	obB
3	obB	obB	obB	obB	obB	obB	obB	1,0x0,5x0,3	1,0x0,9x0,4	obB	obB
4	obB	obB	obB	obB	obB	obB	Hämatom	1,0x0,2x0,5	0,3x0,1x0,2	obB	obB
5	obB	obB	obB	obB	obB	obB	obB	1,0x0,5x0,3	0,5x0,7x0,2	obB	obB
6	obB	obB	obB	obB	obB	obB	obB	1,0x1,0x0,3	----	obB	Hämatom
7	obB	obB	obB	Emphysematös	obB	obB	obB	1,4x0,9x0,3	1,0x0,5x0,4	obB	Hämatom
8	obB	obB	obB	obB	obB	obB	obB	1,0x0,5x0,3	1,5x1,0x0,4	obB	obB
9	obB	obB	obB	Emphysematös	dilatiert	obB	Hämatom	1,5x1,3x0,9	0,7x0,8x0,3	obB	obB
10	obB	obB	obB	obB	obB	obB	nicht vorh.	1,5x1,0x0,9	----	obB	Hämatom
11	obB	obB	obB	obB	obB	obB	obB	1,3x1,3x0,9	0,5x0,7x0,3	obB	obB
12	obB	obB	obB	Emphysematös	obB	obB	obB	1,0x1,3x0,9	0,5x0,8x1	obB	Hämatom
13	obB	obB	obB	obB	obB	obB	obB	1,5x1,0x0,9	1,0x1,0x0,5	obB	obB
14	obB	obB	obB	obB	obB	obB	obB	1,5x1,0x0,9	1,4x1,0x0,5	obB	obB
15	obB	obB	obB	obB	obB	obB	Hämatom	1,6x1,2x0,8	1,4x1,2x0,6	obB	obB

Tab. 5: Sektionsbefunde bei den Versuchstieren
obB = Ohne besonderen Befund

Tabelle 6: Protokollblatt zur Erfassung der Laborparameter

Tab. 6a: Entwicklung der Erythrozytenzahl im Blut (T/l) ab 1. Tag nach der Einlieferung bis zu 21. Tag.

Tag	\bar{x}	s
1	7,99	1,33
7	8,56	1,24
8	8,45	1,55
14	8,8	1,35
21	9,37	0,95

Tab. 6b: Entwicklung des Hämoglobingehalts im Blut (mmol/l) ab 1. Tag nach der Einlieferung bis zum 21. Tag.

Tag	\bar{x}	s
1	6,28	1,33
7	6,63	1,22
8	6,47	1,39
14	6,62	1,06
21	7,02	0,88

Tab. 6c: Entwicklung der Hämatokritwerte im Blut (l/l) ab 1. Tag nach der Einlieferung bis zum 21. Tag

Tag	\bar{x}	s
1	0,31	0,06
7	0,34	0,07
8	0,33	0,07
14	0,34	0,05
21	0,36	0,04

Tab. 6d: Entwicklung des Leukozytengehalts im Blut (Gl/l) ab 1. Tag nach der Einlieferung bis zum 21. Tag.

Tag	\bar{x}	s
1	9,99	6,23
7	8,75	4,09
8	10,61	4,33
14	7,04	2,32
21	7,19	2,57

Tab. 6e: Entwicklung des Plasmaglukosegehaltes (mmol/l) ab 1. Tag nach der Einlieferung bis zum 21. Tag.

Tag	\bar{x}	s
1	5,94	0,76
7	5,54	1,24
8	6,33	1,31
14	6,29	1,06
21	5,57	1,35

Tab. 6f: Entwicklung des Plasma-Fibrinogengehaltes (g/l) ab 1. Tag nach der Einlieferung bis zum 21. Tag.

Tag	\bar{x}	s
1	3,35	1,35
7	3,08	1,87
8	3,43	2,9
14	3,13	1,48
21	3,11	2,43

Tab. 6g: Entwicklung der Basenabweichung im Blut (mmol/l) ab 1. Tag nach der Einlieferung bis zum 21. Tag.

Tag	\bar{x}	s
1	6,1	3,7
7	6,6	1,2
8	6,9	2,2
14	7	1,4
21	5,7	1,7

Tab. 6h: Entwicklung der Harnstoffkonzentration im Blut (mmol/l) ab 1. Tag nach der Einlieferung bis zum 21. Tag.

Tag	\bar{x}	s
1	3,86	1,15
7	3,6	0,79
8	3,97	1,28
14	3,32	0,18
21	3,3	0

Tabelle 7: Protokollblatt zur Erfassung der Besitzerdaten, der Bestandsdaten, des Signalelements und der Anamnese

Ifd. Nr.: _____
Nr.: _____

Tier

Besitzerdaten

Besitzer:

Straße:

Ort:

Telefon:

Signalelement

Rasse:

Alter (Tage)

Geschlecht:

Gewicht (Kg)

Ohrmarkennummer:

Sonstiges:

Anamnese

Vorbehandlung

Tabelle 8: Protokollblätter zur Erfassung der Befunde bei der Aufnahmeuntersuchung

Lfd. Nr.:

Pat.

Nr.: _____

Parameter											
Allgemeinuntersuchung											
Verhalten											
Appetit											
Herzfrequenz											
Atemfrequenz											
Temperatur											
Hautturgor											
Schleimhäute											
Episkleral- gefäße											
Verdauungsapparat											
Pansen- füllung											
Perkussi- on- saskultati- on											
Schwing- auskultati- on											
Bauch- deckensp.											
Kotmenge											
Kotkonsi- stanz											

Kotfarbe												
Herz, Kreislauf												
Auskultation												
Sonstiges												
Atmungsapparat												
Auskultation												
Sonstiges												
Nabel												
Palpation												
Sonstiges												
Bewegungsapparat und Nervensystem												
Sonstiges												
OP-Wunde												
Konsistenz												
Sonstiges												
Therapiemaßnahmen												

Tabelle 9: Protokollblatt zur Erfassung der Operationsdaten

Lfd. Nr.: _____

Pat. Nr.: _____

Parameter			
	OP- Termin:	OP-Dauer (min):	
Zeit			
Anästhesie:			
	leicht	mittelschwer	schwer
Anlegender Veressnadel			
Anlegen Pneumoperitoneum			
Auffinden des Blinddarmes			
Auffinden der Plica ileocaecales			
Fixation der Plica ileocaecales			
Auffinden der Ln. ileocaecales			
Biopatientnahme:			
Komplikationen:			
Auffinden Ln. mesenteriales:			
Fixation Ln. mesenteriales:			
Biopatientnahme:			
Sonstiges:			

Tabelle 10: Protokollblatt zur Erfassung der Befundschlüssel

Bauchdeckenspannung

Tab.1: Befundschlüssel für die Dokumentation der Bauchdeckenspannung

Bewertung	Score
Weich	0
ggr. Gespannt	1
mgr. Gespannt	2
hgr. Gespannt	3

Wundinfektion

Tab.2: Befundschlüssel für die Dokumentation von Wundinfektionen

Bewertung	Score
Keine	0
ggr. Schwellung	1
mgr. Schwellung	2
hgr. Schwellung	3
Schwellung und Sekretion	4

Tabelle 11: Protokollblatt zur Erfassung der quantitativen klinischen Befunde

Tab. 11 a: Entwicklung der Herzfrequenz der Versuchstiere ab 1. Tag nach der Einlieferung bis zum 21. Tag.

Herzfrequenz der Versuchstiere		
Tage	\bar{x}	S
1	106	11,9
2	103	12,7
3	103	11,1
4	106	13,1
5	111	19
6	114	21,7
7	113	12,7
8	110	12
9	107	16
10	109	14,2
11	111	8,4
12	110	11,3
13	110	9
14	109	13
15	107	6
16	111	8
17	104	7
18	104	10
19	107	10
20	105	10
21	107	10

Tab.11b: Entwicklung der Atemfrequenz der Versuchstiere ab 1. Tag nach der Einlieferung bis zum 21. Tag.

Atemfrequenz der Versuchstiere		
Tag	\bar{x}	S
1	43	6,34
2	42	6,25
3	39	10
4	41	6,32
5	43	7,29
6	40	6,36
7	39	3,14
8	39	2,65
9	38	2,35
10	37	2,05
11	39	1,14
12	38	1,86
13	37	1,95
14	36	1,84
15	36	2,65
16	36	4,06
17	35	3,27
18	37	3,45
19	36	2,36
20	36	2,57
21	36	2,6

Tab. 11c: Entwicklung der Vormittags-Temperatur der Versuchstiere ab 1. Tag nach der Einlieferung bis zum 21. Tag.

Temperatur am Vormittag		
Tag	\bar{x}	S
1	39,0	0,47
2	38,8	0,31
3	38,7	0,36
4	38,7	0,31
5	38,6	0,19
6	38,5	0,24
7	38,4	0,55
8	38,5	0,55
9	38,4	0,36
10	38,6	0,53
11	38,5	0,49
12	38,5	0,25
13	38,5	0,33
14	38,5	0,33
15	38,5	0,21
16	38,5	0,28
17	38,5	0,21
18	38,5	0,19
19	38,5	0,21
20	38,4	0,26
21	38,4	0,22

Tab. 11d: Entwicklung der Nachmittags-Temperatur der Versuchstiere ab 1. Tag nach der Einlieferung bis zum 21. Tag.

Temperatur am Nachmittag		
Tag	\bar{x}	S
1	39,0	0,52
2	38,9	0,36
3	38,8	0,29
4	38,6	0,33
5	38,7	0,26
6	38,6	0,3
7	38,7	0,55
8	38,6	0,77
9	38,7	0,54
10	38,7	0,43
11	38,7	0,35
12	38,7	0,35
13	38,6	0,36
14	38,6	0,37
15	38,6	0,28
16	38,6	0,21
17	38,6	0,24
18	38,6	0,19
19	38,6	0,3
20	38,6	0,27
21	38,5	0,23

Tab. 11e: Entwicklung der Futtermittelaufnahme der Versuchstiere ab 1. Tag nach der Einlieferung bis zum 21. Tag.

Futtermittelaufnahme der Versuchstiere		
Tag	\bar{x}	S
1	5,86	0,51
2	6	0
3	6	0
4	6	0
5	6	0
6	6	0
7	4,86	1,12
8	4,73	1,09
9	5,73	0,7
10	0,07	0,35
11	0,07	0,26
12	0,07	0,26
13	6	0,26
14	6	0
15	6	0
16	6	0
17	6	0
18	6	0
19	6	0
20	6	0
21	6	0

Tab. 11f: Entwicklung der Bauchdeckenspannung der Versuchstiere ab 1. Tag nach der Einlieferung bis zum 21. Tag.

Bauchdeckenspannung der Versuchstiere		
Tag	\bar{x}	S
1	0,67	0,258
2	0,07	0,26
3	0,07	0,26
4	0,07	0,26
5	0,13	0,35
6	0,27	0
7	1.000	0,46
8	0,47	0
9	0,13	0,52
10	0,07	0,35
11	0,07	0,26
12	0,07	0,26
13	0,07	0,26
14	0	0,26
15	0	0
16	0	0
17	0	0
18	0	0
19	0	0
20	0	0
21	0	0

Befundschlüssel für die Dokumentation der Bauchdeckenspannung

Bewertung	Score
weich	0
ggr. Gespannt	1
mgr. Gespannt	2
hgr. Gespannt	3

Tab. 11g: Entwicklung der Wundinfektionen der Versuchstiere ab 1. Tag nach der Einlieferung bis zum 21. Tag.

Wundinfektion		
Tag	\bar{x}	S
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0,07	0,26
8	0,53	0,52
9	0,4	0,51
10	0,13	0,35
11	0,07	0,26
12	0,07	0,26
13	0,07	0,26
14	0	0
15	0	0
16	0	0
17	0	0
18	0	0
19	0	0
20	0	0
21	0	0

Befundschlüssel für die Dokumentation von Wundinfektionen

Bewertung	Score
Keine	0
ggr. Schwellung	1
mgr. Schwellung	2
hgr. Schwellung	3
Schwellung und Sekretion	4

Tabelle 12: Protokollblatt zur Erfassung der Sektionsbefunde:

Lfd. Nr.: _____

Pat.

Nr.: _____

Parameter	Tag 21	
Inzisionsstellen:		
Peritoneum:		
Caecum:		
Plica ileocaecalis:		
Biopsiestelle:		
Ln. ileocaecales:	Lage:	
	Größe:	
	Anzahl:	
Sonstiges:		

Tabelle 13: Protokollblatt zur Erfassung der Probenergebnisse der Real-time PCR-Untersuchungen auf MAP in den entnommenen Lymphknoten-Bioptaten

Kalb	Ln. ileocaecalis	Ln. jejunalis
1	Positiv	Positiv
2	Positiv	Negativ
3	Positiv	Positiv
4	Negativ	Negativ
5	Positiv	Negativ
6	Negativ	Negativ
7	Negativ	Negativ
8	Positiv	Negativ
9	Positiv	Negativ
10	---	Negativ
11	Negativ	Negativ
12	Negativ	Negativ
13	Positiv	Positiv
14	Positiv	Negativ
15	Positiv	Positiv

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. K. Doll für die Überlassung des Themas und die Unterstützung während der gesamten Arbeit.

Ich danke Herrn Dr. T. Seeger für die Betreuung während der praktischen Durchführung und die Unterstützung in der gesamten Zeit.

Ich danke Herrn Dr. K. Failing für die Mithilfe bei der statistischen Auswertung der erhobenen Daten.

Ich danke der Stiftung H. Wilhelm Schaumann für die finanzielle Unterstützung.

Ich danke den Mitarbeitern des Instituts für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde und des Instituts für Veterinär-Pathologie der Justus-Liebig-Universität Gießen für die Hilfe während meiner Arbeit.

Ich danke des Deutsche Akademische Austauschdienst (DAAD) für die finanzielle Unterstützung im letzten Jahr dieser Arbeit.

Ich danke meinen Mitdoktoranden Almahdi Akraiem, Marlene Sickinger, Ali Al-Bayati, Giuseppe Bosco, Nils Roloff, Alexander Nitzschke für die schöne Zeit in der Klinik für Wiederkäuer.

Ein Dankeschön auch an alle Tierpfleger und Famulanten für die freundliche Hilfsbereitschaft.

Ich danke Sabine, Brigitte und Ina für die moralische und organisatorische Unterstützung.

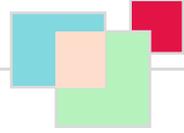
Der größte Dank gilt meiner Familie, besonderes meinem Vater und meiner Mutter die mir aufmunternd zur Seite standen und die nie den Glauben an mich verloren haben.

Mein größter Dank gilt meiner Ehefrau Arbnesha für ihre Geduld und die liebevolle Unterstützung in der gesamten Zeit.

Erklärung

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Petrit Berisha



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-5988-0



9 783835 195988 0