

RIJKSLANDBOUWPROEFSTATION HOORN

HET KOPERGEHALTE  
VAN LEVER EN BLOEDSERUM  
BIJ HET FRIES-HOLLANDSE RUND

WITH A SUMMARY  
THE COPPER CONTENT  
IN LIVER AND BLOOD SERUM  
OF FRIESIAN CATTLE

J. VAN DER GRIFT



STAATSDRUKKERIJ

UITGEVERIJBEDRIJF

---

VERSL. LANDBOUWK. ONDERZ. NO. 61.10 - 'S-GRAVENHAGE - 1955

21/10/55



# INHOUD<sup>1</sup>

	Blz.
I. INLEIDING EN PROBLEEMSTELLING . . . . .	1
II. BEHANDELING VAN HET PROEFPLAN. . . . .	7
1. Periodieke biopsie bij opgroeiend jongvee . . . . .	8
2. Periodieke biopsie bij drachtige runderen . . . . .	9
3. Onderzoek naar de koperstatus van volwassen melkgevende koeien op een aantal bedrijven in Nederland . . . . .	9
III. CHEMISCHE BEPALING VAN KOPER IN BLOED EN ORGAANWEEFSELS . . . . .	11
IV. BIOPSIE VAN DE LEVER . . . . .	14
1. Literatuur . . . . .	14
a. Instrumenten . . . . .	14
b. Operatieplaats . . . . .	15
2. Eigen onderzoek en gebruikt instrumentarium . . . . .	17
a. Operatietechniek . . . . .	17
I. Instrumentarium voor de kleine methode . . . . .	17
II. Instrumentarium voor de grote methode . . . . .	17
b. Bepaling van de insteekplaats . . . . .	19
c. Voorbehandeling en sterilisatie van de instrumenten en andere uten- siliën . . . . .	21
d. Stand en fixatie van het rund tijdens de operatie . . . . .	21
e. Voorbereiding en anaesthesie van de operatieplaats . . . . .	22
f. Operatie en nabehandeling . . . . .	22
I. De kleine methode bij kalveren . . . . .	22
II. De grote methode bij volwassen runderen . . . . .	23
g. Reacties van de lever op de biopsie . . . . .	25
V. VERDELING VAN HET KOPER IN DE LEVER EN HET KOPERGEHALTE VAN ENIGE ANDERE ORGANEN . . . . .	26
VI. PERIODIEKE BIOPSIE BIJ OPGROEIEND JONGVEE . . . . .	29
1. Kopergehalte van de lever en het bloedserum van kalveren tijdens de eerste vijf levensmaanden . . . . .	31
2. Kopergehalten van de lever en het bloedserum van jonge runderen ouder dan vijf maanden . . . . .	36
a. Het verloop van de kopergehalten van de lever . . . . .	36
b. Verloop van de kopergehalten van het bloedserum . . . . .	39

<sup>1</sup> De auteur, J. VAN DER GRIFT, promoveerde op 30 Juni 1955 aan de Rijks Universiteit te Utrecht op een gelijkloidend proefschrift tot doctor in de veeartsenijkunde.

het meest opvallende effect een bijna onmiddellijke stijging van de melkproductie.

Bij de runderen met een gehalte van 0,41–0,60 mg (18 % van het totaal) werd wel een gunstig resultaat waargenomen, maar over het geheel lang niet zo frappant als bij de eerste groep. Tenslotte werd bij de koeien met een gehalte van 0,61–0,80 mg (31,5 % van het totaal) soms een klein resultaat waargenomen, zoals geringe verbetering van de haarkleur en van de beharing en een kleine stijging van de melkproductie, maar minstens in hetzelfde aantal van de gevallen werd niet het minste resultaat geboekt en bleef het uiterlijk en de melkproductie op hetzelfde peil als vóór de toediening van kopersulfaat.

Deze laatste waarneming wijst er dus op, dat de gehalten tussen 0,60–0,80 mg onder bepaalde omstandigheden normaal kunnen zijn of een min of meer subklinisch kopertekort kunnen aanduiden.

Nu blijkt uit de literatuur, dat er maar weinig overeenstemming bestaat over het normale of gewenste gehalte aan koper in het bloeds serum en dat de onderzoekers soms geheel verschillende grenswaarden hiervoor opgeven. FRENS (22) geeft voor het zwartbonte vee op 0,80–1,20 mg per liter, SJOLLEMA (45) 1,00 mg, BIJKERK (7) 0,80 mg met een variatie van 10–20 %, BECK, Zuid-Australië (2) 0,70–1,70 mg, CUNNINGHAM, Nieuw-Zeeland (12) vindt bij 23 volwassen runderen gemiddeld 0,93, maar geeft hierbij geen variatie op, LOOSMORE en ALLCROFT, Engeland (36) 0,80–1,20 mg en tenslotte vinden JAMIESON en ALLCROFT, Engeland (30), dat de gemiddelde waarde tussen 0,70 en 1,00 mg per liter ligt.

Uit deze literatuurgegevens en eigen waarnemingen mag dus de conclusie worden getrokken, dat althans de kopergehalten boven 0,60 mg per liter waarschijnlijk niet erg betrouwbaar zijn voor de beoordeling van de koperstatus van het rund.

Nu is deze conclusie niet nieuw, want ook andere onderzoekers hadden dit reeds opgemerkt. Zo kwam CUNNINGHAM (12) in 1946 en LOOSMORE en ALLCROFT (36) in 1951 tot de conclusie, dat niet het kopergehalte van het bloed, maar het kopergehalte van de lever de beste waardemeter is voor de beoordeling van de koperstatus van het rund. CUNNINGHAM zegt o.a. hierover: „The liver is the main storage depot for copper and its contents of copper varies directly with the supply of this element available from the food. Blood copper on the other hand indicates in a general way the existing status of dietary supply of copper, though a fall of bloodcopper on transference to a diet low in copper is retarded by provision of copper from the liver.”

Deze uitspraak van CUNNINGHAM e.a. wordt bevestigd door de proeven van DICK (17) bij schapen. Hij vindt nl. een rechtlijnig verband tussen het kopergehalte van de lever en de hoeveelheid opneembaar koper, die aan de dieren verstrekt wordt.

Verder vonden COMAR, DAVIS en SINGER (9) bij experimenten met radioactief koper bij runderen, dat de lever relatief en absoluut t.o.v. andere organen en weefsels het meeste koper opnam en volgens BIJKERK kwam dit overeen met hetgeen SCHUBERT, VOGT, MAURER en RIEZLER (39) gevonden hadden met een soortgelijke onderzoeking.

Het is dus mogelijk, dat b.v. door voedingsinvloeden het kopergehalte in het bloed gaat dalen. Het daarvoor bestaande reguleringsmechanisme zal nu het koper in de lever mobiliseren en doen overgaan in het bloed. Nu hangt het maar van de snelheid af, waarmee dit gebeurt, of wij al of niet deze dan tijdelijke verlaging van het koper-

gehalte van het bloed zullen kunnen waarnemen. Gaat deze regulering inderdaad langzaam, dan is het dus mogelijk, dat het bloed een verlaagd gehalte vertoont, zonder dat de voorraad uitgeput behoeft te zijn. Dit zou het geval kunnen zijn bij dië verlaagde gehalten, waarbij extra toediening van opneembare koperzouten wel verhoging geeft van het kopergehalte van het bloed, maar geen zichtbaar effect heeft op de algemene toestand.

Is aan de andere kant de kopervoorraad van de lever zeer gering of uitgeput, dan zal uit de aard der zaak minder of tenslotte geen koper meer aan het bloed kunnen worden afgestaan en blijft het kopergehalte van het bloed laag. In dat geval zal een extra toediening van koperzouten een zichtbaar gunstig effect kunnen hebben.

Als deze gedachtengang juist is en de lever het koperdepôt is, dat indien dit nodig is, het bloed en daardoor de weefsels en organen voorziet van de benodigde hoeveelheid koper, die voor bepaalde stofwisselingsprocessen noodzakelijk is (SEEKLES, 42, 43, 44), dan zou het zeer gewent zijn, dat bekend was welk kopergehalte de lever moet hebben, om zijn taak als depôt van dit element goed te kunnen uitvoeren.

Helaas is dit allesbehalve het geval. De in de literatuur weergegeven kopergehalten van de lever van normale dieren vertonen een dusdanige spreiding, dat bijna geen onderzoeker een uitspraak doet welke gehalten het meest gewent zijn. Zo vonden o.a. JAMIESON en ALLCROFT (30) in Schotland in het slachthuis te Caithness in 45 levers van normale runderen 66 % onder 20 mg, 27 % tussen 20 en 60 mg en 7 % (3 stuks) met een gehalte, dat overeenkomt met het gemiddelde, dat CUNNINGHAM gevonden heeft voor pinken en volwassen runderen, nl. 76 en 100 mg per kg droge stof (zie tabel 1).

In het slachthuis te Aberdeenshire vonden zij in 42 levers van normale runderen 25 % (11 stuks) beneden 20 mg per kg droge stof en 40 % (18 stuks) boven 60 mg, maar zij maakten hierbij de opmerking, dat de 11 runderen met een lager leverkopergehalte dan 20 mg, afkomstig waren van bedrijven, waar verschijnselen van koperdeficiëntie voorkwamen. SJOLLEMA (47) is hierop een uitzondering. Hij meent, dat het gemiddelde leverkopergehalte bij volwassen, normale runderen 100 mg per kg droge stof is. Misschien is het dan ook zo, dat de z.g. normale runderen t.a.v. de koperstatus in sommige gevallen in het geheel niet normaal genoemd kunnen worden. Het is toch immers te opvallend, dat dië dieren, waarbij het meest frequent symptomen van koperdeficiëntie voorkomen, juist zulk een spreiding vertonen en dat bij andere diersoorten en ook bij de mens, waarbij onder normale omstandigheden tot nog toe deze symptomen van uitputting van de kopervoorraad niet zijn waargenomen, deze spreiding veel geringer is.

In tabel 1 zijn uit diverse publicaties (7, 12, 28) de gevonden kopergehalten van levers van normale individuen van verschillende diersoorten weergegeven.<sup>1</sup>

Terwijl mens, hond, paard, cavia, rat en varken een spreiding van de normale kopergehalten van de lever hebben van 1:3 of 1:4, is de verhouding tussen de laagste en hoogste gevonden gehalten bij runderen veel ruimer. Alleen bij het nuchtere kalf vinden CUNNINGHAM en HOFSTRA een verhouding die gelijk is aan die van de andere

<sup>1</sup> Prof. Dr L. SEEKLES gebruikte een dergelijke tabel tijdens een college aan de veterinaire faculteit van de Cornell University te Ithaca. N.Y.

TABEL 1. Kopergehalten in de lever van normale zoogdieren

Auteur	Soort	Cu-gehalte in mg/kg droge stof				Aantal
		laagste	hoogste	gemiddeld	verhouding laagste: hoogste	
BIJKERK	mens ( <i>man</i> )	32	87	50	1:3	6
BIJKERK	hond ( <i>dog</i> )	58	156	101	1:3	3
BIJKERK	paard ( <i>horse</i> )	13	32	18	1:2,5	37
BIJKERK	cavia ( <i>guinea pig</i> )	59	183	97	1:3	10
BIJKERK	rat	14	55	24	1:4	10
CUNNINGHAM	varken ( <i>pig</i> )	11,9	48,4	18,9	1:4	12
	<i>Rund (bovine)</i>					
HOFSTRA	nuchter kalf ( <i>new born calf</i> )	70	298	162	1:4	15
CUNNINGHAM	nuchter calf ( <i>new born calf</i> )	143	655	381	1:4,5	41
HOFSTRA	tot 1 jaar ( <i>yearling</i> )	8	226	86	1:28	10
CUNNINGHAM	tot 1 jaar ( <i>yearling</i> )	16	137	67	1:8,5	6
HOFSTRA	tot 2 jaar ( <i>two years</i> )	6	56	14	1:9	10
HOFSTRA	boven 2 jaar ( <i>aged</i> )	3	58	17	1:19	18
BIJKERK	boven 2 jaar ( <i>aged</i> )	5	194	27	1:39	55
CUNNINGHAM	boven 2 jaar ( <i>aged</i> )	23	409	200	1:18	23
<i>Author</i>	<i>Species</i>	<i>lowest</i>	<i>highest</i>	<i>mean</i>	<i>ratio lowest: highest</i>	<i>Number</i>
<i>Cu-content mg/kg D.M.</i>						

TABLE 1. Liver copper values of normal mammals

diersoorten. Toch is deze kleinere spreiding maar schijnbaar, want het laagste gehalte van CUNNINGHAM (143 mg) is dubbel zo hoog als het laagste gehalte van HOFSTRA (70 mg). Bij het hoogste gehalte is dit evenzo. Dit is bij CUNNINGHAM 655 en bij HOFSTRA 298 mg per kg droge stof.

Moet hieruit de conclusie worden getrokken, dat de gehalten van deze beide onderzoekers normaal zijn voor de uitwendige omstandigheden en de veerassen van Nieuw-Zeeland en Nederland of zijn de gehalten van HOFSTRA voor een fysiologisch optimale koperstatus te laag?

Ditzelfde geldt ook voor de gehalten van de koeien ouder dan 2 jaar. HOFSTRA vindt dezelfde spreiding als CUNNINGHAM, maar het hoogste gehalte van de laatste is 8 maal zo hoog als van de eerste en tenslotte geeft BIJKERK voor normale runderen gehalten op, die ongeveer het midden zijn van beide andere gehalten. Dit laatste zou er op kunnen wijzen, dat de gehalten van HOFSTRA inderdaad aan de lage kant zijn, omdat de Friese omstandigheden minder afwijken van de streken waarvan BIJKERK zijn normale runderen kreeg, dan van de omstandigheden en de veerassen van CUNNINGHAM.

Nu kan men zich bij al deze sterk uiteenlopende gehalten neerleggen en de grootste waarde hechten aan het feit, dat men deze gehalten toch heeft waargenomen bij normale dieren. Maar men kan zich ook afvragen of alle z.g. normale dieren normaal waren ook t.a.v. de optimale koperstatus. CUNNINGHAM en BIJKERK noemen b.v. hun koeien normaal, omdat de runderen bij de levende en bij de geslachte keuring geen afwijkingen vertoonden en goedgekeurd werden voor de consumptie. Ik meen te moeten betwijfelen of deze keuringsbevindingen een juist oordeel kunnen geven over het al of niet normaal zijn van het dier en wel heel speciaal t.a.v. de koperstatus.

HOFSTRA is zich dit dan ook bewust, als hij bij zijn normale runderen, ouder dan 2 jaar, opmerkt: „Onder deze groep runderen bevonden zich, naast de dieren, die waarschijnlijk op gronden van economische overwegingen uitgestoten werden uit het melkveehoudersbedrijf en die meestal vertegenwoordigers waren van de klasse C en D, dieren, die tijdens of na de productie-periode waren vetgemest en als slachtvee van goede kwaliteit moesten worden beschouwd”. Even verder schrijft hij: „Dat dieren, die in een goede voedingstoestand verkeren, een lage koperstatus kunnen hebben, was genoeg bekend, zoals b.v. bij zoetemelkskalveren.”

Men kan zich zelfs afvragen of slachtdieren, met uitzondering van de nuchtere kalveren en de dieren, die uit hoofde van een ongeval of soortgelijke redenen worden geslacht, wel ooit normaal zijn in vergelijking met de bedrijfsdieren van een melkveehouderijbedrijf. En tenslotte kan men zich afvragen of normaal schijnende bedrijfskoeien inderdaad altijd normaal zijn. Want dikwijls is de maat t.a.v. het normale gebaseerd op een vluchtig onderzoek (levende keuring bij slachting of stalinspectie) in vergelijking met soortgenoten uit de directe omgeving of in vergelijking met aangenomen normen.

Blijkens de resultaten is deze maatstaf zeker onvoldoende voor de beoordeling van het al of niet normaal zijn t.a.v. de koperstatus en waren de genoemde onderzoekers daardoor niet in staat op te geven welke kopergehalten van de lever fysiologisch gewenst zijn.

Nu maakten we in 1952 tijdens onze Amerikaanse reis<sup>1</sup> persoonlijk kennis met een methode tot het verkrijgen van een monster leverweefsel bij het levende dier (15).

Deze z.g. leverbiopsie werd gebruikt door G. K. DAVIS te Gainesville (Florida) in verband met zijn koperonderzoek en door C. K. WHITEHAIR (50) te Stillwater (Oklahoma) voor zijn onderzoek betreffende het vitamine A metabolisme.

Beiden toonden ons enige proefdieren – Herefords – waarvan periodiek een levermonster genomen was. Bij één van deze dieren was deze operatie zelfs 36 maal in ruim 1½ jaar toegepast. De conditie was goed en er was aan dit dier en ook aan de andere proefdieren, naar het uiterlijk althans, niets abnormaals waar te nemen. Deze frequente operatieve ingreep had blijkbaar geen nadelige invloed op de gezondheid.

Toen kwam de gedachte op, dat men met deze methode in staat zou zijn om door middel van lever- en bloedonderzoek bij normale „bedrijfs“-dieren, waarvan dus nauwkeurig de voorgeschiedenis bekend is, de koperstatus te bepalen.

Ook zou het hiermede misschien mogelijk zijn, om vanaf de geboorte totdat het rund volwassen is, het verloop van de koperstatus te vervolgen en daardoor gegevens te verkrijgen, waardoor het gewenste, dus normale, kopergehalte zou kunnen worden aangegeven.

<sup>1</sup> Studiereis van 5 Januari tot 29 April 1952, op uitnodiging van de Mutual Security Agency in het kader van de Technical Assistance. De studiegroep bestond uit: Prof. Dr L. SEEKLES, Ir J. WIND, Dr W. B. DEYS en J. VAN DER GRIFT.



## II. BEHANDELING VAN HET PROEFPLAN

Toen de gedachte zich ontwikkelde, dat het mogelijk moest zijn om door middel van leverbiopsie de koperstatus van het levende bedrijfsrund te bepalen en daarbij zelfs het verloop hiervan te vervolgen, kwam onmiddellijk de vraag naar voren of het kopergehalte van het door biopsie verkregen leverweefsel representatief is voor het kopergehalte van de lever.

Deze vraag diende eerst beantwoord te worden alvorens de onderzoeken omtrent de koperstatus met behulp van de biopsiemethodiek op een veilige basis konden worden begonnen.

Onder het kopergehalte van de lever verstaat men eigenlijk het gemiddelde kopergehalte van het leverparenchym. Uit de gehele lever of uit een deel ervan worden nl. enige monsters weefsel genomen, die na gedroogd en fijngemaakt te zijn, goed dooreen gemengd worden. In dit gemengde en droge weefsel bepaalt men daarna het kopergehalte en dit noemt men het kopergehalte van de lever.

Als men echter het kopergehalte bepaalt in door biopsie verkregen leverweefsel, dan bepaalt men het gehalte van één monster, dat afkomstig is van een zeer bepaald gedeelte van de lever, nl. van het rechter gedeelte, dat zich bij het rund normaal tegen de ribwand bevindt.

Indien nu deze beide gehalten zouden verschillen, dan zou leverbiopsie voor dit onderzoek geen of maar betrekkelijk weinig waarde hebben.

Nadat het benodigde instrumentarium voor de leverbiopsie te mijner beschikking was gekomen, is dit probleem het eerst onderzocht. Dit onderzoek had een gunstig resultaat; in Hoofdstuk V zijn de uitkomsten ervan weergegeven.

Toen dus als vaststaand aangenomen mocht worden, dat het kopergehalte van het biopsie-levermonster een voldoende juist criterium is voor het kopergehalte van de lever, ontstond de mogelijkheid, om de koperreserve van het *levende*, opgroeiende en volwassen bedrijfsrund vast te stellen.

Tevens kon ook nagegaan worden welke in- en uitwendige factoren invloed op de kopergehalten van de lever uitoefenen, als zou blijken, dat overeenkomstig de verkregen gegevens van DAVIS en WHITEHAIR en ook volgens LOOSMORE en ALLCROFT (36) en DICK (16) biopsie, zonder gevaar voor het dier, bij herhaling kon worden uitgevoerd.

Hierdoor zou het tenslotte misschien mogelijk worden, aan te geven welke koper voorraad tijdens bepaalde levensperioden aanwezig moet zijn voor een optimale koperstofwisseling.

Daar het bloed als transporteur van het koper naar en van de organen en weefsels een belangrijke rol speelt bij deze stofwisseling, spreekt het vanzelf, dat bij dit alles ook het kopergehalte van het bloedserum bepaald dient te worden.

CUNNINGHAM (11) en DICK (17) huldigen de opvatting, dat indien het kopergehalte van het bloed<sup>1</sup> daalt door tekort aan koper in de voeding, dit verlaagde bloedkopergehalte wordt aangevuld uit de kopervoorraad van de lever. Dit zou betekenen, dat

<sup>1</sup> Het kopergehalte van het totale bloed is gelijk aan het kopergehalte van het bloedserum, indien geen plotselinge veranderingen in de koperopname plaats vinden, zoals koperinjecties (COMAR e.a. (9)).

verwacht mag worden, dat speciaal bij uitputting van het depôt-koper van de lever, er een verband zal bestaan tussen het kopergehalte van de lever en dat van het bloed.

Het aantonen van een dergelijk verband, dat HOFSTRA niet heeft kunnen vinden, zou zeer aantrekkelijk zijn, omdat daardoor bepaalde bloedkopergehalten werkelijke waarde zouden blijken te hebben voor de beoordeling van de koperreserve van het dier en dit zou betekenen, dat het bloedonderzoek, zoals dit in de praktijk gebruikt wordt, in vele gevallen een waardevol diagnosticum kan zijn.

### 1. PERIODIEKE BIOPSIE BIJ OPGROEIEND JONGVEE

Om nu de koperstatus te bepalen en het verloop ervan na te gaan, werd gedacht, dat de meest waardevolle gegevens verkregen zouden worden, als van een aantal runderen vanaf de geboorte totdat zij volwassen zouden zijn, regelmatig, bijvoorbeeld éénmaal per maand, het kopergehalte van de lever en van het bloed c.q. het bloedserum bepaald werd.

Hiervoor werd bij zeven op de proefboerderij te Hoorn in het voorjaar van 1953 geboren kalveren één dag na de geboorte voor de eerste maal biopsie gedaan en ongeveer 200 ml bloed afgetapt. Dit werd vervolgens, met uitzondering van de maand Mei, maandelijks herhaald tot en met Februari 1954. Hierna werden deze chirurgische ingrepen éénmaal per twee maanden uitgevoerd tot en met December 1954. Op de operatiedag werden de dieren ook gewogen.

Aan deze proefgroep van zeven kalveren werden later nog 3 kalveren<sup>1</sup> op een leeftijd van 3 maanden toegevoegd.

Voor elk kalf bestond het rantsoen, naast hooi of gras ad libitum, uit de volgende hoeveelheden melk, resp. krachtvoeder: De eerste week 4 liter volle melk, de tweede tot de zevende week 6 liter volle melk, de zevende tot de elfde week 3 liter volle melk en 5 liter ondermelk, de elfde tot de vijftiende week 4 à 5 liter ondermelk en 1 kg eiwitrijk krachtvoer in de vorm van biks en daarna tot de opstalling in November 2 kg van dezelfde biks.

Begin Mei gingen de toen aanwezige proefkalveren in de weide, maar daarbij werden de kalveren, die eind April geboren waren, enige weken lang 's nachts opgesteld. Dit laatste gebeurde ook met kalf 54, dat in Juni geboren werd.

De tien proefdieren werden 12 November 1953 opgesteld en zij kregen toen 1 kg eiwitrijk krachtvoer, 5 kg bieten en hooi ad libitum.

Medio Februari werden zij actief geïmmuniseerd tegen Abortus Bang. Op 7 April werd kalf 54, dat een te groot leeftijdsverschil had met de andere dieren, geslacht om na te gaan welke invloed de biopsie op de weefsels had gehad.

Op 27 April werden zij zonder bijvoeding in de weide gedaan. Tijdens deze weideperiode werden zij, met uitzondering van de nummers 87B, 89A en 33A, op een leeftijd van  $\pm$  15 maanden gedekt door de stier van de proefboerderij te Hoorn.

Proefrund 89A werd op 23 Juli 1954 uit nood gedood, wegens een cysteuze verandering in de uterus, die een spontane urinelozing onmogelijk maakte.

Daar de nummers 87B en 33A om foktechnische redenen geen waarde hadden, werden zij niet gedekt en om dezelfde reden als kalf 54 geslacht op 26 November 1954.

Bij de opstalling op 7 November 1954 bleken de nummers 6 en 10 niet drachtig te zijn.

<sup>1</sup> Deze dieren waren als nuchtere kalveren aangekocht voor een voederproef. Na beëindiging ervan werden zij door mij overgenomen.

In tabel 3 (pag. 30) zijn de gewichten en de kopergehalten van lever en bloedserum weergegeven; in Hoofdstuk VI worden de resultaten nader behandeld.

In combinatie met dit onderzoek werd van de moederdieren van de kalveren 64A, 89A en 33A vier en twintig uur na de partus het kopergehalte van de lever (verkregen door middel van biopsie) bepaald, om na te gaan of er een verband bestaat tussen het gehalte van de lever van het moederdier en dat van het kalf. De resultaten hiervan worden ook in Hoofdstuk VI nader gezien.

## 2. PERIODIEKE BIOPSIE BIJ DRACHTIGE RUNDEREN

Oorspronkelijk lag het in de bedoeling om het onderzoek naar de koperstatus van de tien jonge runderen voort te zetten tot 2 à 3 maanden na de eerste partus, dus tot de tijd dat het vrouwelijke dier werkelijk volwassen is. Dit wilde dus zeggen, dat het onderzoek onder normale omstandigheden minstens zes en twintig maanden moest duren. Nu was de duur van de proef wel geen bezwaar, maar op het moment dat met het onderzoek werd begonnen, bestond er nog geen zekerheid, dat herhaaldelijke biopsie zonder bezwaar voor de gezondheid en de normale ontwikkeling kon worden uitgevoerd.

Daarbij moest onder ogen worden gezien, dat – mede onder invloed van de telkens herhaalde biopsie – de dieren misschien niet drachtig zouden worden, terwijl het onderzoek onvolledig zou zijn, als dit fysiologisch gebeuren er niet in werd betrokken.

Om deze risico's nu te omzeilen werd besloten om ten eerste het onderzoek bij het jongvee zolang voort te zetten, tot zij na hun tweede weideperiode in de stal waren weergekeerd en ten tweede de invloed van de drachtigheid op de koperreserve te onderzoeken bij zeven drachtige koeien, die reeds éénmaal hadden gekalfd. Hiervoor werd de eerste biopsie verricht ongeveer 4 maanden voor de vermoedelijke kalfdatum en maandelijks voortgezet tot gemiddeld 2 maanden na de partus.

Van deze zeven proefdieren vielen er tijdens het onderzoek twee af, omdat bij een koe (no. 47) door een waarschijnlijk abnormale ligging, het levermonster niet regelmatig kon worden verkregen en de tweede (no. 38) haar vrucht verwierp op ruim zes maanden.

De resultaten van dit onderzoek zijn in Hoofdstuk VII weergegeven.

## 3. ONDERZOEK NAAR DE KOPERSTATUS VAN VOLWASSEN MELKGEVENDE KOEIEN OP EEN AANTAL BEDRIJVEN IN NEDERLAND

Dit onderzoek is speciaal in het proefplan opgenomen om na te gaan of er een verband bestaat tussen het kopergehalte van het bloed en van de lever. Hiervoor leek mij het onderzoek op een aantal willekeurige bedrijven min of meer verspreid over Nederland het meest geschikt. Verwacht mocht dan worden, dat de spreiding van de lever- en bloedgehalten van boerderij tot boerderij en van rund tot rund zo groot is, dat door een biopsie, die éénmaal bij een koe wordt verricht, voldoende gegevens verkregen zouden worden om het bestaan van een dergelijk verband aan te tonen.

Tijdens de weideperiode – in de tijd dat volgens onze koperbepalingen in het bloedserum de grootste variatie optreedt – van 1953 en 1954 werden op ieder van een

negental bedrijven drie of vier melkgevende koeien onderzocht. Zoveel mogelijk waren de hiervoor uitgezochte dieren naar conditie, beharing, melkproductie en leeftijd, vertegenwoordigers van het gemiddelde van de betreffende vee­stapel. Hierbij waren dus koeien, die klinisch normaal waren, maar er waren er ook bij, waarvan de conditie en de beharing van dien aard waren, dat niet meer van klinisch normale dieren gesproken kon worden, waar echter voor dit beeld geen aanwijsbare redenen konden worden aangetoond. Op drie van deze negen bedrijven had dit onderzoek zowel in 1953 als in 1954 plaats.

Nu werden uit het onderzoek van 1953 te weinig gegevens verkregen over levers met een hoog gehalte aan koper. Om deze hogere gehalten nu te verkrijgen, werden drie bedrijven, waar reeds tenminste één jaar regelmatig kopersulfaat, zowel op stal als in de weide werd bijgegeven en waar de conditie en de melkproductie t.o.v. de omgevende bedrijven sterk verbeterd waren, ook in dit onderzoek betrokken.

De resultaten van dit onderzoek zijn in Hoofdstuk VIII weergegeven.

### III. CHEMISCHE BEPALING VAN KOPER IN BLOED EN ORGAANWEEFSELS

#### *Benodigde reagentia*

- a. Zuiver water                      Aqua dest., nogmaals in geheel glazen toestel overdestilleren.
- b.  $H_2SO_4$                               Chemisch zuiver s.g. 1,84.
- c.  $HNO_3$  65 % s.g. 1,4              Gezuiverd door destillering in een geheel glazen toestel.
- d. Ammonia 25 %  
    Ammonia 10 %                      Destilleren in een geheel glazen toestel en in aq. bidest. opvangen.
- e.  $H_2O_2$  30 %                        Chemisch zuiver.
- f. Natriumcitraat 20 %                Zo zuiver mogelijk.  
    185 gr Na citraat 5,5 aq. oplossen in aq. bidest. en aanvullen tot 500 ml en filtreren.  
    Indien niet geheel zuiver, dan deze oplossing in een scheidrecter met overmaat van een oplossing van dithizon in  $CHCl_3$  uitschudden en onderste laag weg laten vloeien.  
    Nu verder met  $CHCl_3$  nawassen tot deze kleurloos afloopt. Daarna de chloroform uit de citraatoplossing laten verdampen.
- g. Natriumdiaethyldithiocarbamaat 0,1 %      De te gebruiken oplossing van 0,1 % is beperkt houdbaar, dus dagelijks vers bereiden.
- h. Phenolphthaleïnepapier
- i. Tetrachloorkoolstof                 $CCl_4$  wordt eerst met wat CaO gedestilleerd, dan  $\pm 12$  uur op vast NaOH bewaard en daarna gedestilleerd.
- j. Alcohol 96 % (zuiver)              Het is aan te raden Cu-vrije alcohol in voorraad te hebben, daar veel glaswerk absoluut droog moet zijn bij het gebruik en dit door spoelen met alcohol vlug kan worden verkregen. Alcohol te zuiveren door overdestilleren in geheel glazen toestel.

#### *Glaswerk*

Al het te gebruiken glaswerk moet Cu-vrij zijn.

Nieuw glaswerk eerst uitkoken met 10 %  $HNO_3$ , daarna kan men volstaan met  $3 \times$  uitspoelen met warm 10 %  $HNO_3$  of 24 uur in verdund salpeterzuur bewaren. Daarna goed omspoelen met aq. dest. en daarna minstens 3 maal met aq. bidest. goed naspoelen.

Bewaar al het te gebruiken glaswerk zo mogelijk in 10 %  $HNO_3$ .

## BEHANDELING VAN HET BLOEDSERUM OF -PLASMA

*Destructie van het bloedserum of -plasma*

15 ml serum wordt in een 250 ml kolf gepipetteerd en na toevoeging van 7,5 ml  $H_2SO_4$  geconc. en 7,5 ml  $HNO_3$  65% op een gaasje boven kleine vlam verhit tot het water verdampt is en nevels gevormd worden. Dan kan het gaasje verwijderd worden en op iets hogere vlam verder gedgestrueerd. Telkens als de vloeistof donker van kleur wordt en nevels zich vormen, wordt de vlam uitgedraaid en na enige afkoeling worden enkele druppels ( $\pm 10$ ) geconc.  $HNO_3$  toegevoegd. Dit geschiedt zolang, totdat de vloeistof na nevelvorming helder blijft en na 5 minuten koken niet meer van kleur verandert. Dan wordt nog eenmaal  $HNO_3$  toegevoegd en de destructie nog 20 minuten voortgezet.

Na enig afkoelen wordt uit een pipet 2 ml  $H_2O_2$  langs de wand druppelend in het kolfje gebracht en verhit tot het sterke schuimen voorbij is. Deze bewerking wordt nog 2 maal herhaald. Na de laatste maal wordt de verhitting nog 20 minuten voortgezet. Deze behandeling dient om het nitrosylzwavelzuur te verwijderen.

Na afkoeling wordt achtereenvolgens toegevoegd: 10 ml aq. bidest., 15 ml natrium-citraat opl. 20% en tenslotte  $\pm 15$  ml ammonia 25% onder afkoeling en in kleine porties.

Het Na-citraat wordt toegevoegd om geen neerslag van Ca-phosfaat te krijgen na toevoeging van de ammonia en om  $Fe^{++}$  en  $Mn^{++}$ -ionen door het citroenzuur te binden.

Daarna verder afkoelen tot kamertemperatuur.

*Analyse*

De inhoud van de destructiekolf wordt overgebracht in de scheitrechter (250 ml). De kolf moet minstens 3 maal met zo weinig mogelijk aq. bidest. goed omgespoeld worden, om zeker te zijn, dat alle stof is overgebracht.

Nu wordt de reactie juist alcalisch gemaakt door telkens toevoegen van enige druppels ammonia (reactie controleren door met een glasstaafje een druppeltje vloeistof op phenolphthaleinepapier te tippen).

Van hier af worden alle verdere bewerkingen bij kunstlicht verricht, omdat het Cu-carbamaat-complex daglichtgevoelig is.

Nu wordt 5 ml 0,1% carbamaatreagens in de scheitrechter gebracht, even geschud en 10 minuten gewacht. Na inbrengen van 15 ml tetrachloorkoolstof wordt gedurende 1 minuut krachtig geschud. Na volledige afscheiding van het  $CCl_4$  wordt dit afgetapt in een maatkolfje van 25 ml (met glazen stop). Dan wordt de vloeistof nog 2 maal met 5 ml tetra krachtig geschud en deze tetra ook in het kolfje opgevangen, dat daarna met tetra tot 25 ml wordt aangevuld.

Nu wordt de tetra-oplossing in de cuvette gefiltreerd door een asvrij filter (eerste hoeveelheid filtraat wegwerpen), waarna meting t.o.v. zuivere tetra kan volgen bij een golflengte van 430  $\mu$ . Van de verkregen extinctie wordt de extinctie van de blanco afgetrokken.

De hoeveelheid Cu wordt afgelezen van een ijklijn, die is verkregen door met bekende hoeveelheden Cu het gehele voorschrift te volgen. De hiervoor benodigde Cu-

standaardoplossing wordt als volgt gemaakt: 392,5 mg  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  wordt in aq. bidest. opgelost en aangevuld tot een liter. Van deze oplossing wordt een verdunde oplossing gemaakt door 25 ml te verdunnen tot 500 ml, 1 ml van deze oplossing bevat dan 5  $\gamma$  Cu.

Het is voldoende een ijklijn te maken met resp. 0, 5, 10, 15, 20, 25 en 30  $\gamma$  Cu.

#### BEHANDELING VAN DE ORGAANWEEFSELS

Het lever-, spier- of miltweefsel wordt met een roestvrij stalen mes op een kopervrije glazen plaat verkleind en daarna in een porceleinen schaalpje bij 105 °C, b.v. gedurende een nacht gedroogd. Hierna wordt het weefsel in een porceleinen mortier fijngemaakt en in een weegflesje overgebracht en nogmaals bij 105 °C gedroogd tot constant gewicht.

#### *Destructie van het weefsel*

De destructie is gelijk aan die van het bloedserum of -plasma, maar men doet in plaats van 7,5, 5 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  en  $\text{HNO}_3$  bij het weefsel in de destructiekolf en in plaats van 10 druppels worden telkens 7 à 8 druppels  $\text{HNO}_3$  toegevoegd.

#### *Analyse*

Voor de analyse wordt dezelfde methode gevolgd als bij het serum, zij het met enige kleine wijzigingen. Zo wordt in plaats van 15 slechts 10 ml Na-citraat toegevoegd en voor de ammonia 25% wordt  $\text{NH}_4\text{OH}$  10% gebruikt.

## IV. BIOPSIE VAN DE LEVER

### I. LITERATUUR

In de humane chirurgie is de biopsie van de lever al vrij lang bekend. Volgens BONE (4) werd zij reeds in 1833 door DUPUYTEN beschreven, terwijl zij op het internationaal medisch congres van 1895 te Rome door LUCATELLO besproken werd.

Sindsdien wordt zij in de menselijke geneeskunde voor diagnostische doeleinden met wisselende frequentie toegepast.

In 1939 werd het instrumentarium er voor en de techniek met zijn voor- en nadelen uitvoerig beschreven door IVERSEN en ROHOLM (29).

Haar intrede in het diergeneeskundig onderzoek en de diagnostiek is echter van veel later datum.

In 1944 wordt zij beschreven door DICK (16). Hij gebruikte haar voor de bestudering van de koperstofwisseling bij schapen. Vanaf dit moment komt men in de literatuur regelmatig publicaties tegen, waarin methodes voor biopsie van de lever bij kalveren en volwassen runderen worden beschreven.

Door de meeste onderzoekers wordt zij gebruikt voor de bestudering van de koper- en ijzerstofwisseling en volgens enige onderzoekers is zij voor een dergelijk onderzoek van de grootste waarde. LOOSMORE en ALLCROFT (36) zeggen dan ook: „We agree with CUNNINGHAM that liver copper figures give the most reliable index of the copper status of an animal” en zij bedoelen hier kopergehalten, die bepaald werden in door biopsie verkregen levermonsters. Dit wil echter niet zeggen, dat de biopsie alleen waardevol zou zijn voor deze soort van onderzoekingen. Zij kan van even groot nut zijn bij de bestudering van andere stofwisselingsprocessen, waarbij de lever een rol speelt, mits men per keer aan 2 à 2,5 gram vers leverweefsel voldoende heeft.

Zo maakten WHITEHAIR c.s. (50) er gebruik van bij hun onderzoek van het metabolisme van vitamine A en carotenen bij runderen.

Eén van de grote voordelen van deze kleine chirurgische ingreep is nl., dat men hem zonder schadelijke gevolgen met tussenpozen van 2 weken of 1 maand kan herhalen. G. K. DAVIS toonde mij te Gainsville enige 2-jarige runderen waarbij reeds 12 maal biopsie was toegepast. C. K. WHITEHAIR liet mij te Stillwater een koppel runderen zien, waar bij elk dier reeds meer dan 24 van dergelijke operaties waren uitgevoerd (bij één dier zelfs 36 maal). In beide gevallen waren ontwikkeling en conditie normaal.

#### *a. Instrumenten*

Met uitzondering van de instrumenten, die WHITEHAIR c.s. gebruiken, verschillen de in de literatuur beschreven instrumenten maar heel weinig. Door vrijwel alle auteurs wordt een lange dunne trocar beschreven, met een kleine variatie in de dikte en de lengte. De canule hiervan wordt, nadat de huid, de tussenribspieren en het peritoneum gepasseerd zijn en de stylette verwijderd is, met zachte druk 6-8 cm in de lever geboord. Het levermonster zit dan in de canule, maar is aan de onderzijde nog verbonden met het omliggende leverweefsel. Door nu met een recordspuit, die op de



canule past, een kleine onderdruk te maken, komt dit stukje lever los van de rest en wordt met het instrument mee buiten het lichaam gebracht.

UDALL (49) en zijn medewerkers beweren, dat afsluiting van de canule met de vinger reeds voldoende is om het levermonster los te krijgen, als men het instrument terugtrekt. Het is dus volgens hem niet nodig om hiervoor een spuit te gebruiken.

De methode, die WHITEHAIR gebruikt, wijkt echter van het bovenstaande af en hij gebruikt ook een geheel ander instrumentarium. Dit bestaat uit een zeer wijde trocar, een lamp met flexibele lampdrager en het eigenlijke biopsie-apparaat, dat zo geconstrueerd is, dat het levermonster met een stalen draadje kan worden losgesneden.

De trocar wordt na de huidsnede krachtig door de tussenribspieren en het peritoneum gedrukt en daarna wordt, na verwijdering van de stylette, de onderrand van de tube op het leveroppervlak gebracht. Dit kan men controleren met de lamp. Daarna wordt het biopsie-instrument zacht draaiend door de kapsel in de lever gedrukt en wordt het levermonster met het stalen draadje losgesneden.

Bij deze methode kan men dus waarnemen wat men doet en behoeft men niet, zoals bij de andere methodes, het instrument alleen op het gevoel in de lever te boren. Deze methode heeft echter het nadeel, dat men haar niet kan gebruiken bij jonge kalveren en schapen, omdat bij deze dieren de ruimte tussen 2 ribben te klein is voor deze wijde trocar.

#### *b. Operatieplaats*

Normaal ligt de lever bij runderen ouder dan vijf maanden, dus nadat de voormagen tot ontwikkeling zijn gekomen, geheel rechts van de mediaanvlakte. Zijn lengte-as verloopt van caudo-dorsaal naar cranio-ventraal. De convexe parietale vlakte ervan ligt tegen het diaphragma en de 2 of 3 laatste ribben en reikt soms tot het dwarsuitsteeksel van de eerste lumbaalwervel.

De aanhechting van het diaphragma aan de buikwand verloopt van de achtste costo-chondraal-verbinding met een boog dorso-caudaal tot de twaalfde rib,  $\pm 15$  cm van het costo-vertebraalgewricht. De rechter nier reikt van de twaalfde intercostale ruimte tot de tweede of derde lumbaalwervel.

Bij het jonge kalf ligt, als de voormagen dus nog niet ontwikkeld zijn, de lever meer mediaal en heeft meestal geen costale vlakte.

Door deze ligging is de operatieplaats aan de rechterzijde van het dier min of meer bepaald.

LOOSMORE en ALLCROFT gebruiken als insteekplaats de elfde intercostale ruimte, 6-8 inches van de dorsale middellijn, afhankelijk van de leeftijd en grootte van het rund. UDALL c.s. gebruiken bij volwassen dieren de tiende of de elfde intercostale ruimte op een kwart van de afstand van het costo-vertebraalgewricht en de costo-chondrale verbinding. Bij kalveren opereren zij tussen de elfde en twaalfde rib op de hoogte van de uiteinden van dwarsuitsteeksels van de lendenwervels. Als zij gebruik maken van de tiende intercostale ruimte, passeren zij met de trocar de pleuraholte en het diaphragma. Zij waarschuwen dan ook om de stylette vooral niet uit de canule te trekken, voordat men goed gevoeld heeft, dat men het diaphragma gepasseerd is, om op deze manier pneumothorax te voorkomen.

FIG. 1. Instrumentarium voor leverbiopsie (kleine methode).

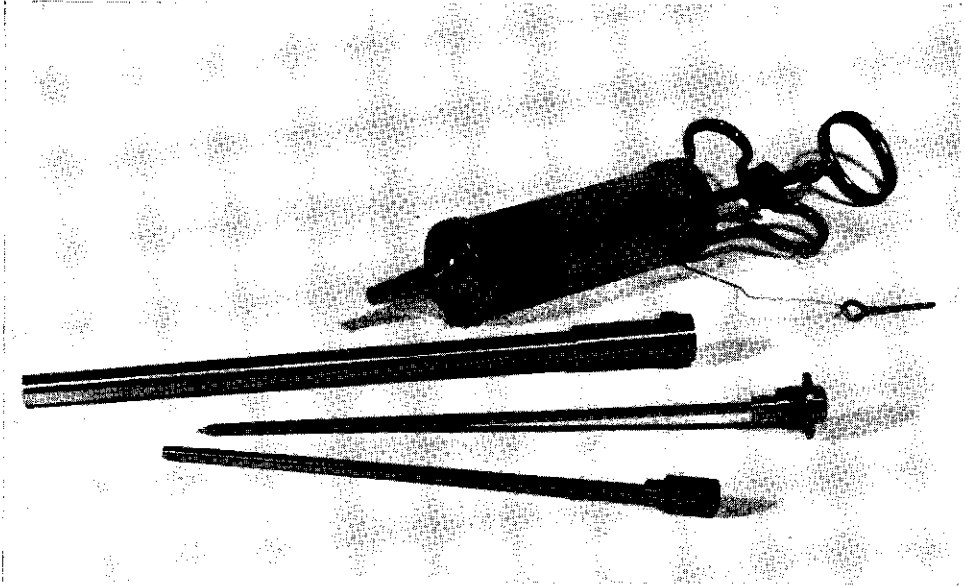


FIG. 1. Instruments for liver biopsy (small method).

FIG. 2. Instrumentarium voor leverbiopsie (grote methode).

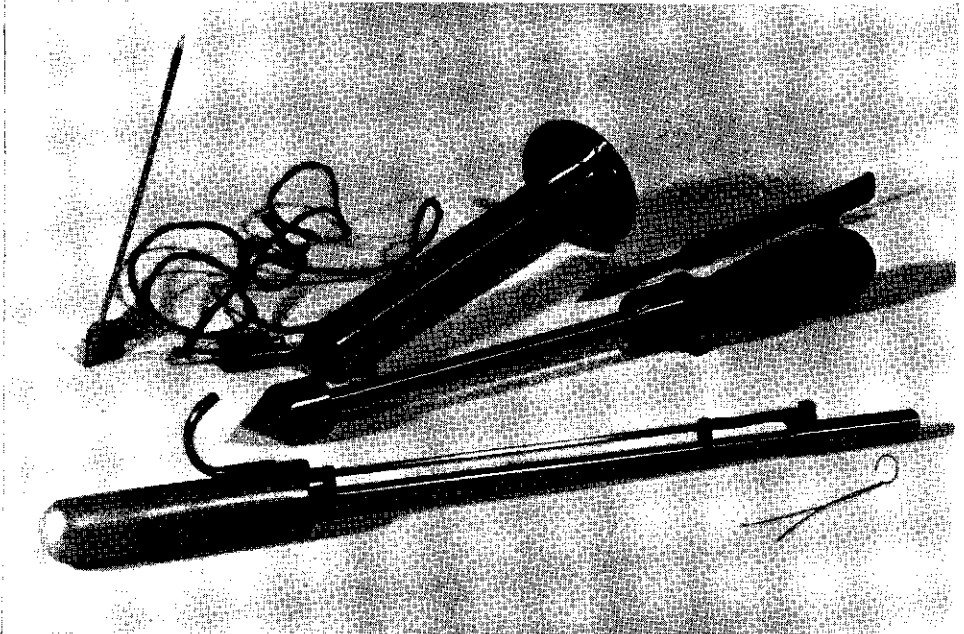


FIG. 2. Instruments for liver biopsy (large method).

WHITEHAIR en zijn medewerkers gebruiken als operatieplaats de twaalfde intercostale ruimte, 25-27 cm van de dorsale middellijn.

## 2. EIGEN ONDERZOEK EN GEBRUIKT INSTRUMENTARIUM

### a. Operatietechniek

Bij de 269 door mij verrichte leverbiopsieën werden twee operatiemethoden met een verschillend instrumentarium toegepast, die als een „kleine” en een „grote” methode nader zullen worden beschreven.

Bij kalveren tot een leeftijd van  $1\frac{1}{2}$  jaar werd de „kleine” methode toegepast; bij runderen boven de leeftijd van  $1\frac{1}{2}$  jaar werd de „grote” methode gebruikt.

Met de kleine methode werd een vers levermonster verkregen van gemiddeld 400 mg en met de grote methode een vers levermonster van 2000 mg. Voor jonge dieren is 400 mg vers leverweefsel voldoende om betrouwbare koperbepalingen te doen, omdat het kopergehalte van de lever hiervoor voldoende hoog is. Voor runderen ouder dan  $1\frac{1}{2}$  jaar, met dikwijls lage kopergehalten, is een monster van 2000 mg echter zeer gewenst.

### I. Instrumentarium voor de kleine methode

LOOSMORE en ALLCROFT (36) geven in hun publicatie een duidelijke beschrijving van dit instrumentarium.

Het bestaat uit een trocart en een recordspuit, die passend is gemaakt op de canule van de trocart.

De trocart is geheel van roestvrij staal. De canule of tube heeft een totale lengte van 195 mm. De kop ervan heeft een lengte van 24 mm. De uitwendige middellijn is 5 mm en de inwendige 4 mm. De scherpe onderkant heeft een slijprand van 5 mm. De stylette met de scherpe driekantige punt is 10 mm langer dan de canule.

Op de canule, waarvan de kop inwendig conisch geboord is, past een recordspuit van 50 ml. In de zuigersteel van deze spuit zijn enige gaatjes geboord, waarin een pennetje past, dat de zuiger op zijn plaats houdt, als de onderdruk in de canule is opgewekt door de zuiger iets op te halen.

### II. Instrumentarium voor de grote methode

Dit instrumentarium komt in grote lijnen overeen met het instrumentarium, dat door WHITEHAIR c.s. (50) is beschreven.

Het bestaat uit een wijde trocart, een lampdrager met lampje en het eigenlijke biopsie-apparaat.

Ook deze instrumenten zijn van roestvrij staal.

De tube van de trocart heeft een lengte van 150 mm. De uitwendige diameter is 22 mm en de inwendige 20 mm. Op de tube is een platte doorboorde plaat gelast met een doorsnede van 53 mm. In deze plaat zijn twee gaatjes geboord, waardoor de lampdrager in de tube gefixeerd kan worden. De onderrand van de tube is min of meer scherp. Mijn stylette heeft een scherpe vierkantige punt van 20 mm en is totaal 23 mm langer dan de tube. De stylette van de trocart volgens WHITEHAIR is stomp en de



randen van de vier slijpvlakken zijn iets afgerond. In de praktijk bleek een scherpe punt met scherpe slijpvlakken echter beter te voldoen, omdat daardoor het peritoneum beter geperforeerd wordt en zodoende losdrukken van het buikvlies van de ribwand wordt voorkomen. Bij het gebruik van een stompe punt heeft men wel het voordeel, dat de leverkapsel minder snel doorboord wordt, maar deze doorboring doet geen schade, omdat op die plaats ook het levermonster genomen kan worden en er dus toch een defect in de kapsel komt.

De door mij gebruikte lampdrager met lampje is 130 mm lang en 2 mm dik en kan, nadat de stylette uit de tube verwijderd is, op de schijf van de tube worden bevestigd. Voor het lampje, dat het operatieveld goed verlicht, is een batterij van  $2\frac{1}{2}$  volt nodig. WHITEHAIR gebruikt een losse lamp. De dunne lampdrager, die tijdens de verdere operatie in de tube blijft zitten, stelt de operateur in staat om alles nauwkeurig te blijven observeren.

Het eigenlijke biopsie-apparaat heeft zonder de handgreep een lengte van 200 mm. Het heeft aan het einde een beker met een scherpe, snijdende rand. De uitwendige diameter van deze beker is 9,8 mm en de inwendige 9 mm. De lengte ervan is uitwendig 43 mm en inwendig 35 mm. Ongeveer  $1\frac{1}{2}$  mm onder de snijdende rand is een gaatje van  $1\frac{1}{2}$  mm, waardoor de uiteinden komen van het stalen draadje, dat het levermonster aan de onderzijde moet lossnijden. Precies boven de bodem zit eveneens een gaatje van  $1\frac{1}{2}$  mm. Dit is aangebracht om de lucht gelegenheid te geven uit te wijken, als het bekertje in de lever geboord wordt.

De uiteinden van het stalen draadje, dat een dikte heeft van 0,25 mm, worden door een schroefje aan het trekapparaat bevestigd. De trekker hiervan kan zo ver naar achter gehaald worden, dat het draadje nog juist binnen de beker blijft en niet naar buiten schiet, waardoor beschadiging van de boorwand in de lever voorkomen wordt.

Tenslotte behoort bij dit instrumentarium als hulpinstrument nog een mesje met een lang heft om het peritoneum in te snijden wanneer blijkt, dat de punt van de stylette het peritoneum niet of slechts gedeeltelijk heeft geperforeerd.

#### *b. Bepaling van de insteekplaats*

Daar in de literatuur verschillende plaatsen worden opgegeven, die voor biopsie van de lever in aanmerking komen, was het van belang door enige inleidende proeven uit te maken, welke plaats hiervoor het meest geschikt is. Als proefdieren werden twee slachtdieren gebruikt. Bij deze beide runderen werden, onder locale anaesthesie, vijf naalden van 20 cm lengte door de huid en tussenribspieren in de lever gestoken op de plaatsen, die door de onderzoekers werden aangegeven.

Naald 1 werd, zoals UDALL aangeeft, gestoken in de tiende intercostale ruimte, op een kwart van de afstand tussen het costo-vertebraal gewricht en de costo-chondrale verbinding, loodrecht op het lichaamsoppervlak.

Naald 2 werd op dezelfde hoogte en in dezelfde richting in de elfde intercostale ruimte gestoken. Deze plaats is eveneens gebruikt door UDALL en zijn medewerkers.

Naald 3 werd gestoken in de twaalfde of laatste intercostale ruimte, 7 cm onder de denkbeeldige lijn van de uiteinden van de dwarsuitsteeksels van de lendenwervels in de

richting van het linker ellebooggewricht. G. K. DAVIS gebruikt deze plaats, zoals hij mij te Gainesville mededeelde.

Naald 4 werd in dezelfde intercostale ruimte gestoken als naald 3, maar 3 cm lager.

Tenslotte werd naald 5 ingestoken op de plaats, die WHITEHAIR te Stillwater mij opgaf, nl. in de twaalfde intercostale ruimte, 25 cm van de dorsale middellijn, in antero-ventrale richting. Deze laatste plaats lag tussen de plaatsen van de naalden 3 en 4 in. Hierna werden de dieren terstond gedood.

Bij het neervallen werd gezorgd, dat de koeien op de linkerzijde rolden, om daardoor te voorkomen, dat de naalden van richting zouden veranderen, als de dieren op de rechterzijde zouden terecht komen.

Na het openen van de buikholte werden de levers zó uit het lichaam genomen, dat de naalden niet van plaats veranderden.

Bij beide proefkoeien waren de resultaten ongeveer gelijk. Alle naalden werden in de lever aangetroffen.

Bij de eerste proefkoe zat naald 1 dwars door de vena cava. Bij de tweede koe was zij er vlak naast. Naald 2 was beide keren gevaarlijk dicht in de buurt van deze grote ader.

Om twee redenen waren deze beide insteekplaatsen ongewenst. In de eerste plaats passeert men met de trocar de pleuraholte, wat waarschijnlijk onaangename complicaties kan opleveren, en in de tweede plaats komt men veel te dicht bij de vena cava. Perforatie hiervan zou vrij zeker door inwendige verbloeding tot de dood van het dier leiden.

De naalden 3, 4 en 5 bevonden zich in het dikke rechterbovengedeelte van de lever, 4-7 cm van de dorsale rand, vlak bij de lobus-caudatus. Naald 3 zat het meest dorsaal, daarna volgde op een afstand van 2 à 3 cm naald 5 en tenslotte weer op enkele cm afstand naald 4.

Bij contróle van de buikwand en de rechter nier bleek no. 3 gevaarlijk dicht langs de nier door het niervet te zijn gegaan. De nummers 4 en 5 bleken, verder van de nier, rechtstreeks in de lever te zijn gekomen, ver van de vena cava en de galblaas.

Later bleek, dat de insteekplaats van naald 4 minder bruikbaar is dan de plaats van naald 5, omdat op die plaats de lever neiging heeft voor het biopsie-apparaat uit te wijken, waardoor het soms moeilijk is om het instrument in de lever te boren.

Resumerend kan dus gezegd worden, dat uit deze proeven blijkt, dat de insteekplaats volgens WHITEHAIR in het midden van de twaalfde intercostale ruimte, 25-28 cm van de dorsale middellijn, afhankelijk van de grootte en conditie van de koe, de beste is. Na het passeren van het peritoneum moet de tube cranio-ventraal gericht worden.

Bij kalveren tot 3 maanden oud, bleek uit de praktijk de beste plaats de twaalfde intercostale ruimte, 2 cm of 1 vingerbreedte onder de lijn van de uiteinden van de dwarsuitsteeksels van de lendenwervels, stekend in de richting van het linker ellebooggewricht. Bij kalveren van 3 tot 7 maanden oud 4 cm of 2 vingerbreedten; bij kalveren ouder dan 7 of 8 maanden en bij pinken ongeveer 5 cm onder deze lijn en in dezelfde richting.

Tenslotte kan hier nog worden opgemerkt, dat de operatie het beste kan worden uitgevoerd als de voormagen goed gevuld zijn, want daardoor wordt de lever beter tegen de ribwand gefixeerd.

In het geval, dat de koe een zwevende rib heeft, wordt de voorlaatste intercostale ruimte gebruikt.

*c. Voorbehandeling en sterilisatie van de instrumenten en andere utensiliën*

In vele gevallen bevat het leverweefsel en ook ander orgaanweefsel van runderen slechts enkele microgrammen koper per gram droge stof. Dit houdt in, dat er dus ernstig voor gewaakt moet worden, dat deze kleine hoeveelheid koper niet vergroot wordt door verontreiniging van buiten af. De onderzoeker zal zich bij het nemen van weefselmonsters nauwgezet moeten afvragen of hij wel alle maatregelen genomen heeft, die de kans op verontreiniging met koper uitsluiten of althans zo klein mogelijk maken. Dat wil dus in de eerste plaats zeggen, dat geen koperen instrumenten of instrumenten met koperen onderdelen gebruikt mogen worden – daarom is alles van roestvrij staal – en in de tweede plaats moet alles, behalve bacterieel-steriel, ook koper-vrij gemaakt worden.

Alle instrumenten en voorwerpen, die met het levermonster in aanraking komen, worden daarom vóór de normale sterilisatie aan een speciale behandeling onderworpen. De metalen instrumenten worden hiervoor eerst met een warme 5-procentige salpeterzuuroplossing gespoeld en de niet metalen voorwerpen met een warme 10-procentige salpeterzuuroplossing. Daarna worden ze eerst enige malen met gedestilleerd water en tenslotte enige malen met dubbel gedestilleerd water afgespoeld. Hierna worden ze te drogen gelegd in een eveneens kopervrije bak van polyvinylchloride.

Na het drogen worden de instrumenten in een droog-sterilisator een half tot één uur bij 200 °C gesteriliseerd.

Tijdens de operatie worden de instrumenten niet op steriele handdoeken gelegd, maar in de p.v.c.-bak.

Als een serie operaties achter elkaar wordt gedaan, is het voor de bacteriële steriliteit beter, dat deze bak gevuld wordt met kopervrije alcohol van 70 % en dat de instrumenten daarin gelegd worden, nadat ze vooraf met dubbel gedestilleerd water zijn schoongespoten.

*d. Stand en fixatie van het rund tijdens de operatie*

Alle biopsieën zijn gedaan bij het vierkant staande dier. Het is duidelijk, dat de fixatie van het onhandelbare pasgeboren kalf een geheel andere is dan de fixatie van het graskalf of volwassen rund.

Het jonge kalf, tot een leeftijd van 2 à 3 maanden, wordt het beste vastgehouden als de assistent voorovergebogen tegen de linkerzijde van het dier gaat staan, met de linkerarm de hals en met de rechterarm de heup en flank fixeert, door met de hand de liesplooï te pakken. Hij moet hierbij opletten, dat het dier normaal recht blijft staan.

Het oudere kalf wordt met de linkerzijde tegen een muur of tegen een hek gezet en alleen aan het hoofd vastgehouden. De beste methode is om hierbij met de rechterhand de onderkaak in ondergreep vast te pakken.

Het volwassen rund wordt eveneens met de linkerzijde tegen muur of hek gezet en ook alleen bij het hoofd gefixeerd.

Bij een goede anaesthesie is de pijnreactie zó gering, dat het vrijwel nooit nodig is

om het dier tijdens de operatie in de neus vast te houden; het is voldoende om met de linkerhand de linker horen te pakken en de rechterarm over de neus te slaan.

*e. Voorbereiding en anaesthesie van de operatieplaats*

De huid wordt tussen en op de twaalfde en dertiende rib ruim kaalgeschoren en met alcohol 70% gereinigd; daarna wordt bij de „kleine” methode 4 ml astracaine-adrenaline 2% subcutaan en 1 à 2 ml intramusculair tot op het peritoneum ingespoten. Bij de „grote” methode wordt 8 à 10 ml subcutaan en 2 à 4 ml intramusculair gespoten.

De injectie-naald wordt bij beide methodes enige centimeters voor en boven de te maken huidsnede ingestoken. Gevoelloosheid treedt zeer snel op en is volledig.

Daarna wordt de huid nogmaals met alcohol afgewreven.

*f. Operatie en nabehandeling*

*I. De kleine methode bij kalveren*

In de twaalfde of laatste intercostale ruimte wordt, afhankelijk van de leeftijd en grootte van het kalf, twee, vier of vijf centimeter onder de lijn van de dwarsuitsteeksels van de lendenwervels, een huidsnede van  $1\frac{1}{2}$  cm gemaakt.

Nu worden met de trocar de tussenribspieren en het peritoneum doorstoken en de stylette uit de canule verwijderd. Deze laatste wordt nu gericht in de richting van het linker ellebooggewricht en dieper ingestoken, totdat men op een zachte weerstand stuit. Dit is de lever.

De afstand van dit dieper insteken is afhankelijk van de leeftijd van het kalf en van het gevuld zijn van de voormagen. Bij het nuchtere kalf ligt de lever nl. meer mediaal dan bij oudere kalveren en bij deze laatste komt bij een goede vulling van de voormagen de lever meer tegen de ribwand.

Met zachte druk en draaiend wordt de canule nu 6-8 cm in de lever geboord.

Het snijden van de scherpe, vrije rand van de canule in de lever is goed voelbaar en ook dikwijls hoorbaar.

Daarna wordt de recordspuit op de kop van de canule geplaatst en de zuiger zover opgetrokken, dat het pennetje door de doorboorde zuigersteel kan worden gestoken.

Bij de eerste operaties werd aanvankelijk de zuiger tot 10 ml opgetrokken, maar daardoor kwam het levermonster dikwijls in de spuit en werd ook bloed mee opgezogen. Bij de latere operaties werd de zuiger slechts over een afstand van 1 tot  $1\frac{1}{2}$  cm opgetrokken. Hierdoor bleef het levermonster in de canule en kwam er ook minder bloed mee.

Spuit en canule worden nu tezamen teruggetrokken en het levermonster met de spuit uit de canule verwijderd en opgevangen in een porceleinen schaalje, dat gevuld is met aq. bidest. Het bloed en eventuele bloedstolsels worden van het levermonster gescheiden. Indien het verkregen levermonster te klein is, kan de punctie zonder enig bezwaar herhaald worden.

Tenslotte wordt de huidwond gehecht met een zijden hechting of met een agrafe en afgedekt met steriel wattenpluksel.



Voor het onderzoek werd de hierboven beschreven methode 155 maal toegepast. In alle gevallen werd voldoende leverweefsel verkregen. Het gemiddelde gewicht van het verse leverweefsel was 400 mg. LOOSMORE c.s. (36) en UDALL (49) kregen met hun methode levermonsters met gemiddeld hetzelfde gewicht.

Complicaties traden nooit op en de kalveren groeiden, ondanks maandelijks herhaling van deze leverbiopsie, de eerste 5 maanden van hun leven gemiddeld 850 gram per dag, terwijl aangenomen wordt (DAMMERS c.s. (14)), dat 800 gram voldoende is.

## II. De grote methode bij volwassen runderen

Evenwijdig aan de ribben wordt in de twaalfde intercostale ruimte, afhankelijk van de grootte en conditie van de koe, op een afstand van 25–29 cm van de dorsale middellijn een huidsnede van 4 cm gemaakt. De wijde trocar wordt door deze huidwond met kracht door de tussenribspieren en het peritoneum gedrukt. De trocar wordt nu ventro-craniaal gericht en de stylette wordt verwijderd. Nu wordt de lampdrager in de trocar-huls bevestigd.

Als het peritoneum volledig geperforeerd en de steekrichting goed is, krijgt men de leveroppervlakte terstond in het gezichtsveld.

Mocht het peritoneum nog intact zijn of slechts gedeeltelijk geperforeerd, dan wordt dit ingesneden met het verlengde mesje en de huls of tube iets verder doorgeschoven.

Nu komt het een enkele maal voor, dat iets te hoog is ingestoken of dat de koe in dusdanig goede conditie is, dat de trocar in het niervet terecht komt. In dit geval wordt de tube iets teruggetrokken en meer ventraal en naar voren gericht. Het is n.l. niet mogelijk om de lever via het niervet te bereiken en de rechter nier wordt dan ook te dicht genaderd.

Als de tube zacht op de leverkapsel is gefixeerd, wordt het biopsie-apparaat door de tube in de lever geboord, tot het stuit tegen de bovenplaat van de trocar-huls. Door nu vervolgens de trekker naar achteren te halen, wordt het levermonster in het bekertje van het omgevende leverweefsel losgesneden en kan het gevulde biopsie-apparaat verwijderd worden. Door de lamp is men in staat de gehele handeling te blijven volgen. De wond in de lever vult zich in de meeste gevallen slechts langzaam geheel of gedeeltelijk met bloed, dat zeer snel stolt. Na contrôle of het levermonster inderdaad in het bekertje zit, wordt de huls verwijderd en de huid met 2 of 3 hechtingen gesloten. Tenslotte wordt de wond met steriel wattenpluksel afgedekt.

Het levermonster, met een gemiddeld gewicht van 2000 mg, wordt opgevangen in een porceleinen schaalte en met aq. bidest. gereinigd van eventueel aanhangende bloedstolsels.

De operatie werd 114 keer met succes uitgevoerd zonder nadelige gevolgen voor de proefdieren. In twee gevallen trad na het insteken van de trocar een vrij ernstige spierbloeding op. In deze beide gevallen werd de operatie niet voortgezet, maar werd de huid, na verzorging van de bloeding, onmiddellijk gehecht. In drie gevallen werd geen levermonster verkregen, omdat de lever niet bereikt kon worden wegens een waarschijnlijk min of meer afwijkende ligging.

FIG. 4. Levermonsters, verkregen door biopsie.

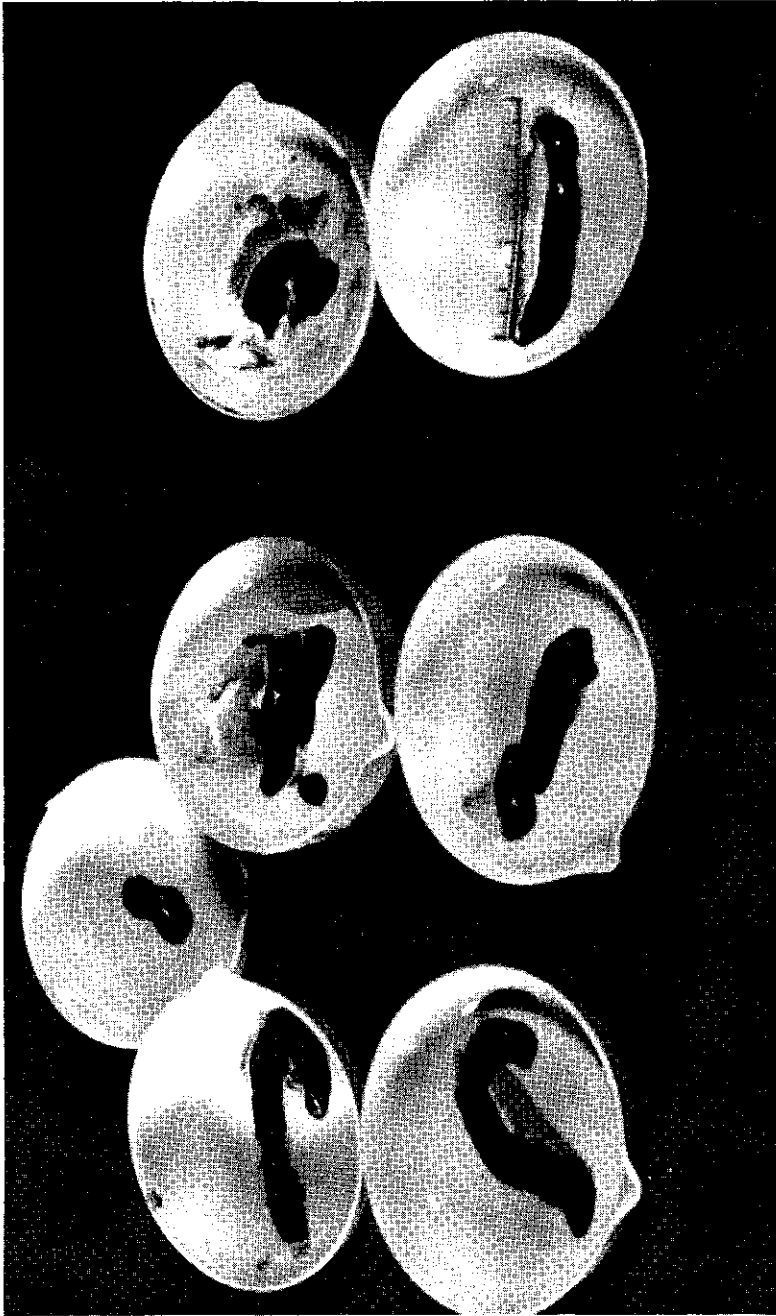


FIG. 4. Liver samples obtained by biopsy.

*g. Reacties van de lever op de biopsie*

In 1952 werden de eerste biopsieën, voor de ontwikkeling van de operatie-techniek, verricht bij een zestal slachtkoeien.

Na de biopsie werden de dieren dezelfde dag geslacht en werd het operatiegebied nauwkeurig onderzocht.

In de tussenrib-musculatuur en onder het peritoneum werden enige kleine, diffuse bloedingen aangetroffen. De leverkapsel vertoonde bij alle dieren een rond gat zonder rafels en het steekkanaal in de lever was droog. In twee gevallen waren enige kleine, wandstandige bloedstolsels aanwezig.

In 1954 vond een dergelijk onderzoek nogmaals plaats, maar nu bij een viertal jonge runderen, waarbij vanaf de geboorte regelmatig biopsie volgens de kleine methode was uitgevoerd.

Kalf 54 werd op een leeftijd van 10 maanden na 10 biopsieën geslacht. De runderen 89A, 33A en 87B waren bij slachting resp. 16, 20 en 21 maanden oud en hadden resp. 14, 16 en 17 maal de biopsie ondergaan.

Bij geen van de dieren waren vergroeiingen aanwezig en het peritoneum was glad en glanzend, maar over een klein oppervlak ( $\pm 8 \text{ cm}^3$ ) iets verdikt. Bij rund 89A en 87B waren op de leverkapsel enige bindweefselstrookjes, die niet vergroeid waren met de omgeving.

Van alle steekkanalen in de lever – behalve van de laatste, die onmiddellijk voor de slachting waren aangebracht – was niets terug te vinden en littekens waren niet aanwezig.

Dit resultaat kwam geheel overeen met wat IVERSEN (29) vond bij de mens. Bij 5 secties, 3, 20, 31, 41 en 44 dagen na de biopsie, werd nl. door hem geen spoor van het punctiekanaal teruggevonden.

Uit het bovenstaande kan dus, evenals uit de literatuur, de conclusie worden getrokken, dat leverbiopsie geen nadelige gevolgen voor het dier behoeft te hebben. Verder blijkt ook, dat het regeneratief vermogen van de lever zo groot is, dat geen littekenweefsel gevormd wordt.

## V. VERDELING VAN HET KOPER IN DE LEVER EN HET KOPERGEHALTE VAN ENIGE ANDERE ORGANEN

In Hoofdstuk II werd uiteengezet, dat leverbiopsie pas dan waarde heeft voor het koperonderzoek, indien vaststaat dat het kopergehalte van het daarbij verkregen leverweefsel representatief is voor het kopergehalte van leverweefsel uit andere delen van de lever en dus voor het gemiddelde kopergehalte van de parenchym van de lever als geheel.

Dat wil dus met andere woorden zeggen, dat het koper gelijkelijk over de lever verdeeld moet zijn.

Deze voorwaarde is zo belangrijk, dat zij eerst vastgesteld moest worden, voordat aan leverbiopsie in verband met koperonderzoek betekenis kon worden toegekend.

Wat de runderen betreft, gaf de literatuur geen uitsluitel en ik had verzuimd om deze vraag aan G. K. DAVIS te Gainesville voor te leggen. In Juni 1952 werd daarom in zes monsters van één lever, afkomstig van een volwassen, normale slachtkoe, het kopergehalte bepaald. Rekening houdende met een mogelijke analyse-fout van  $\pm 5\%$  bleek, dat in deze lever het koper gelijk verdeeld was over het gehele orgaan (zie tabel 2).

In November van datzelfde jaar werden de levers van drie volwassen koeien op dezelfde manier onderzocht, nadat onmiddellijk vóór de slachting biopsie bij deze dieren was verricht. De resultaten hiervan waren gelijk aan het eerste resultaat en ook bleek het biopsie-levermonster een kopergehalte te hebben, dat bevredigend overeenkwam met de gehalten van de andere levermonsters, dus ook met het gemiddelde gehalte (zie tabel 2).

In 1954 werd dit, tegelijkertijd met een onderzoek naar de gevolgen van telkens herhaalde biopsieën, bij 4 runderen nogmaals bekeken. Ook ditmaal waren de resultaten bevredigend.

Wel moet hierbij worden opgemerkt, dat er bij de hoge kopergehalten een grotere variatie is tussen de gehalten onderling, dan bij de lage gehalten.

Tegelijkertijd met het voorgaande onderzoek werd van dezelfde dieren ook in enige andere organen en weefsels, zoals de milt, hartspier, rugspier (*Musc. Longissimus dorsi*) en de gladde spier van de penswand, het kopergehalte bepaald.

Uit de resultaten hiervan (tabel 2), blijken de gehalten van elk orgaan onderling maar heel weinig te verschillen. Er is ook geen verschil tussen de gehalten van de kalveren en de volwassen koeien. De middelbare afwijking is bij de milt, hartspier en de penswandspier  $\pm 10\%$  van het gemiddelde. De gehalten van de rugspier vertonen een grotere spreiding. Hier is de middelbare afwijking  $\pm 25\%$  van het gemiddelde. Waarschijnlijk kan men dus bij de milt, het hart en de penswandspier spreken van het intrinsieke kopergehalte van het betreffende orgaan (of dit ook opgaat voor de skeletspieren is mijns inziens niet duidelijk).

Dit zou dus betekenen, dat het dier tot het uiterste zal proberen deze gehalten op peil te houden en dat pas bij totale uitputting van de kopervoorraad deze gehalten zullen gaan dalen, maar dan zal het dier aan deze uitputting ten onder gaan.

TABEL 2. Verdeling van het koper in de lever en het kopergehalte van enige andere weefsels van jong vee en niet-drachtige, droogstaande koeien

Datum van biopsie en van slachting	Nummer en leeftijd van het dier	Cu-gehalte biopsie-monster $\gamma/\text{gram}$	Cu-gehalten levermonsters na slachting in $\gamma/\text{gram}$				gemiddeld	gehalte biopsie-monster in % van het gemiddelde	Cu-gehalte $\gamma/\text{gram}$ na slachting in:			
			rechts	midden	links	gemiddeld			mitweefsel	hartspier	rugspier	peeswandspier
10-11-'52	no. 2	269,0	287,0	270,0	257,0	271,0	99,2	3,8	21,1	4,2	5,0	
7-4-'54	3 mnd (month) no. 54	92,0	118,0	113,0	154,0	128,0	71,8	4,1	17,3	3,1	4,4	
23-7-'54	10 mnd (month) no. 89A	181,0	159,0	195,0	180,0	178,0	101,7	4,8	18,0	2,5	4,9	
26-11-'54	16 mnd (month) no. 33A	5,8	5,8	6,0	6,0	5,9	98,3	3,5	16,3	2,3	4,2	
26-11-'54	20 mnd (month) no. 87B	6,9	5,8	5,6	5,6	5,7	121,1	4,2	17,0	2,4	3,8	
17-6-'52	21 mnd (month) no. 99	-	10,2	10,4	11,3	10,6	-	-	-	-	-	
14-11-'52	4,5 jaar (year) no. 73	5,7	10,3	11,4	10,0	10,6	-	-	-	-	-	
15-11-'52	5 jaar (year) no. 74	5,2	5,8	6,1	5,0	5,6	101,7	4,3	17,0	2,9	4,7	
17-11-'52	6 jaar (year) no. 78	8,4	5,0	6,5	7,8	6,4	81,2	3,7	15,9	1,8	-	
Gem. Mean	7 jaar (year)		7,1	7,0	7,6	7,2	116,7	4,1 $\pm$ 0,42	17,7 $\pm$ 1,66	2,8 $\pm$ 0,73	4,6 $\pm$ 0,48	
Date of biopsy and slaughtering	Number and age of the animal	Cu-content biopsy-sample $\gamma/\text{gr}$	right	middle	left	average	content biopsy sample in % of the average	spleen tissue	heart muscle	back muscle	muscle of the rumen wall	

TABEL 2. Distribution of copper in the liver and the copper content of some other tissues of young cattle and non pregnant, dry cows

Deze veronderstelling krijgt basis, als we eens nagaan wat JAMESON en ALLCROFT (30) vonden bij „copper pine of calves” in sommige streken van Schotland. Kalveren, die aan dit syndroom lijden, sterven altijd, wanneer men ze niet behandelt. Men kan het voorkomen en genezen met kopersulfaat.

Deze onderzoekers nu vonden bij 5 ernstig zieke kalveren in de milt ongeveer dezelfde gehalten als ik nl. 4,6 3,9 6,9 5,0 6,5 mg per kg droge stof, maar in de hartspier waren de door hen gevonden gehalten lager, nl. 8,4 10 13 11 11,8 mg per kg, in plaats van het door mij gevonden gemiddelde van 17,7 mg  $\pm$  1,66. En tenslotte vonden ze in de hartspier van 2 kalveren, die genezen waren door toediening van kopersulfaat, resp. 15,6 en 19,6 mg, welke gehalten volkomen overeenkomen met het door mij gevonden gemiddelde.

Resumerend kan dus gezegd worden, dat wij door middel van leverbiopsie in staat zijn de koperreserve van het levende bedrijfsrund te bepalen, omdat gebleken is, dat het kopergehalte van het leverweefsel, verkregen door deze biopsie, voldoende overeenkomt met het gemiddelde kopergehalte van de lever.

Tevens blijkt, dat de andere onderzochte organen, gezien de geringe variabiliteit van hun kopergehalten, voor de bepaling van de koperreserve niet in aanmerking komen.

## VI. PERIODIEKE BIOPSIE BIJ OPGROEIEND JONGVEE

In Hoofdstuk II werd uiteengezet, dat waardevolle gegevens verkregen zouden kunnen worden, indien het mogelijk zou zijn over de gehele ontwikkelingsperiode van jonge runderen regelmatig de koperstatus te bepalen.

Hierbij moest in ieder geval aan één voorwaarde worden voldaan, nl. dat de herhaaldelijk uitgevoerde biopsie geen invloed zou hebben op de groei en de ontwikkeling van de proefdieren.

Met uitzondering van het proefdier 89A<sup>1</sup> werden tijdens de gehele proefperiode geen ziekteverschijnselen waargenomen.

In de eerste vijf levensmaanden groeiden de zeven kalveren, die voor dit onderzoek gebruikt werden, gemiddeld 850 gram per dag, terwijl volgens DAMMERS c.s. (14) 800 gram reeds voldoende is voor een normale ontwikkeling. Op een leeftijd van 19 maanden wogen 7 proefdieren gemiddeld 380 kg, wat volkomen normaal is. Na één dekking werden vier van de zes dieren drachtig en bij slachting van de proefdieren 54, 89A, 33A en 87A, resp. 10, 16, 20 en 21 maanden oud, werden geen afwijkingen waargenomen, die een ongunstige invloed hadden kunnen uitoefenen op een normale ontwikkeling. Uit al deze waarnemingen meen ik met grote waarschijnlijkheid te mogen vaststellen, dat de leverbiopsie geen invloed heeft gehad op de algemene stofwisseling en dat de verkregen gegevens gebruikt mogen worden voor de beoordeling van de werkelijke koperstatus.

Aanvankelijk werd geprobeerd de gegevens van elk proefrund in één grafiek weer te geven, maar door de heterogeniteit van het proefmateriaal ontstond hierbij een dusdanig onoverzichtelijk beeld, dat hiervan moest worden afgezien. Daarom werd besloten om in de grafiek het rekenkundige gemiddelde van de gevonden waarden weer te geven. Hierbij moest echter ook de verkregen lijst van elk proefdier in twee gedeelten gesplitst worden, omdat de dieren niet op dezelfde datum geboren waren en omdat later ook nog 3 proefdieren op een leeftijd van drie maanden aan deze proef werden toegevoegd, waarvan dus de gehalten van de eerste drie maanden niet bepaald werden.

In de eerste grafiek (fig. 5, pag. 34) is weergegeven het verloop van de lichaamsgeichten en van de kopergehalten van de lever en van het bloed in de eerste vijf levensmaanden. Dit is dus over de tijd, dat het jonge dier voor zijn ontwikkeling afhankelijk is van melk of melkvervangingsproducten.

In de tweede grafiek (fig. 6, pag. 38) zijn dezelfde gegevens uitgezet over de tijd, dat de dieren onafhankelijk zijn van deze voeding. Zij vangt aan in October 1953 en eindigt in December 1954 en is min of meer aansluitend aan de eerste. In October 1953 kreeg nl. geen van de proefdieren meer melk of melkproducten en waren voor alle proefdieren de omstandigheden gelijk geworden. Dat betekent dus, dat met het kleine leeftijdsverschil verder geen rekening meer behoeft te worden gehouden.

<sup>1</sup> Op 23 Juli 1954 moest dit jonge rund wegens een cysteuze vervorming van de uterus uit nood worden gedood. De oorzaak van het ontstaan ervan is onbekend. Deze grote uterus-cyste oefende een dusdanige druk uit op de hals van de urineblaas, dat spontane urinelozing onmogelijk werd.

TABEL 3. Gewicht, leeftijd en kopergehalte van lever en bloedserum van jongvee

Rund	Geboren (Born)	O	L	B	G	O	L	B	G	O	L	B	G	O	L	B	G
		Febr. '53				Maart '53				April '53				Juni '53			
87B	5-2-'53	1 d.	473	37	37	1 mnd	239	66	58	2 mnd	185	44	88	4 mnd	150	60	138
89A	12-3-'53					1 d.	316	56	-	1 mnd	199	66	-	3 mnd	98	60	110
33A	16-3-'53					1 d.	447	47	-	1 mnd	260	59	-	3 mnd	203	65	106
64A	24-4-'53									1 d.	239	56	-	1 mnd	106	52	74
100	28-4-'53									1 d.	348	34	-	1 mnd	149	81	59
49	28-4-'53									1 d.	166	42	-	1 mnd	90	47	70
6	±30-4-'53																
3	±30-4-'53																
9	±30-4-'53																
54	7-6-'53													1 d.	384	45	40
		Juli '53				Aug. '53				Sept. '53				Oct. '53			
87B	5-2-'53	5 mnd	96	70	166	6 mnd	144	60	-	7 mnd	159	68	222	8 mnd	161	63	250
89A	12-3-'53	4 mnd	121	81	133	5 mnd	167	74	-	6 mnd	162	75	196	7 mnd	127	93	220
33A	16-3-'53	4 mnd	161	71	132	5 mnd	135	59	-	6 mnd	153	74	199	7 mnd	178	69	218
64A	24-4-'53	2 mnd	74	53	99	3 mnd	55	82	-	4 mnd	138	56	158	5 mnd	135	79	182
100	28-4-'53	2 mnd	119	62	84	3 mnd	168	69	-	4 mnd	169	75	144	5 mnd	133	71	171
49	28-4-'53	2 mnd	84	60	97	3 mnd	69	57	-	4 mnd	70	75	147	5 mnd	62	70	166
6	±30-4-'53					3 mnd	192	83	-	4 mnd	172	79	147	5 mnd	117	81	174
3	±30-4-'53					3 mnd	524	57	-	4 mnd	297	67	142	5 mnd	228	75	164
9	±30-4-'53					3 mnd	456	52	-	4 mnd	260	61	154	5 mnd	182	67	179
54	7-6-'53	1 mnd	154	61	64	2 mnd	108	56	-	3 mnd	162	55	116	4 mnd	211	80	139
		Nov. '53				Dec. '53				Jan. '54				Febr. '54			
87B	5-2-'53	9 mnd	148	83	274	10 mnd	134	87	284	11 mnd	142	78	287	12 mnd	135	64	306
89A	12-3-'53	8 mnd	159	81	237	9 mnd	254	100	244	10 mnd	281	100	241	11 mnd	251	82	250
33A	16-3-'53	8 mnd	214	69	251	9 mnd	175	90	254	10 mnd	197	106	249	11 mnd	203	84	270
64A	24-4-'53	6 mnd	136	64	199	7 mnd	198	67	208	8 mnd	134	71	208	9 mnd	134	70	217
100	28-4-'53	6 mnd	135	80	198	7 mnd	201	83	202	8 mnd	225	106	211	9 mnd	214	80	214
49	28-4-'53	6 mnd	25	56	180	7 mnd	48	72	186	8 mnd	52	92	193	9 mnd	60	95	217
6	±30-4-'53	6 mnd	111	94	188	7 mnd	60	83	197	8 mnd	71	92	194	9 mnd	79	75	212
3	±30-4-'53	6 mnd	167	68	187	7 mnd	254	80	190	8 mnd	270	74	203	9 mnd	238	71	212
9	±30-4-'53	6 mnd	182	89	206	7 mnd	170	66	210	8 mnd	176	75	213	9 mnd	210	67	234
54	7-6-'53	5 mnd	322	62	149	6 mnd	94	69	166	7 mnd	80	74	171	8 mnd	79	78	184

O = Ouderdom (age) in maanden (months)

L = Lever (biopsie) (liver) mg per kg droge stof (dry matter)

B = Bloed (serum) (blood)  $\gamma$  per 100 ml

G = Gewicht (weight) kg



TABLE 3. *Weight, age and copper content of liver and bloodserum of young cattle*

Rund	Geboren (Born)	O	L	B	G	O	L	B	G	O	L	B	G	O	L	B	G
		April '54				Juni '54				Juli '54				Aug. '54			
87B	5-2-'53	14 mnd	104	86	308	16 mnd	83	61	339					18 mnd	53	59	373
89A	12-3-'53	13 mnd	271	91	291	15 mnd	132	77	311	16 mnd	181	117					
										23-7-'54 geslacht (slaughtered)							
33A	16-3-'53	13 mnd	116	95	310	15 mnd	39	66	323					17 mnd	40	85	361
64A	24-4-'53	11 mnd	114	69	257	13 mnd	54	55	286					15 mnd	23	71	325
100	28-4-'53	11 mnd	304	81	251	13 mnd	146	66	290					15 mnd	92	82	334
49	28-4-'53	11 mnd	86	74	227	13 mnd	68	54	258					15 mnd	24	30	304
6	±30-4-'53	11 mnd	89	80	241	13 mnd	24	81	274					15 mnd	29	35	317
3	±30-4-'53	11 mnd	122	67	249	13 mnd	72	65	282					15 mnd	30	65	309
9	±30-4-'53	11 mnd	167	59	270	13 mnd	56	60	302					15 mnd	24	62	351
54	7-6-'53	10 mnd	92	57	194	7-4-'54 geslacht (slaughtered)											
		Oct. '54				Nov. '54				Dec. '54							
87B	5-2-'53	20mnd	21	52	376	21 mnd	7	27									
89A	12-3-'53					26-11-'54 geslacht (slaughtered)											
33A	16-3-'53	19 mnd	9	45	379	20mnd	6	21									
						26-11-'54 geslacht (slaughtered)											
64A	24-4-'53	17 mnd	15	57	324					19 mnd	8	54	374	drachtig (pregnant)			
100	28-4-'53	17 mnd	45	99	350					19 mnd	11	67	388	niet drachtig (non pregnant)			
49	28-4-'53	17 mnd	6	21	324					19 mnd	9	38	359	drachtig (pregnant)			
6	±30-4-'53	17 mnd	24	20	339					19 mnd	7	38	359	niet drachtig (non pregnant)			
3	±30-4-'53	17 mnd	-	54	326					19 mnd	7	28	368	drachtig (pregnant)			
9	±30-4-'53	17 mnd	12	34	392					19 mnd	6	25	431	drachtig (pregnant)			
54	7-6-'53																

### 1. KOPERGEHALTE VAN DE LEVER EN HET BLOEDSERUM VAN KALVEREN TIJDENS DE EERSTE VIJF LEVENSMANDEN

Zoals hierboven reeds is opgemerkt, is het jonge kalf de eerste maanden van zijn leven afhankelijk van de voeding met melk of vervangingsproducten ervan. In de eerste drie weken neemt het uitsluitend deze voeding op. Hierna wordt het eerste sprietje ruwvoer opgenomen en twee of drie weken later is dit al tot een weegbare hoeveelheid toegenomen. Na vier à vijf maanden heeft het kalf onder normale bedrijfsomstandigheden geen melkvoeding meer nodig en kan het zich als het ware zelf voeden. Het is dan een zelfstandig individu geworden, dat zich, met ruwvoeder van goede kwaliteit, normaal kan ontwikkelen.

Onderzoekingen op het gebied van de ontwikkeling van het magenstelsel van het rund hebben dit bevestigd.

Het kalf wordt geboren met een volledig ontwikkelde lebmaag voor de vertering van de eerste melkvoeding. De drie voormagen, die voor de ruwvoedervertering zo belangrijk zijn, zijn bij de geboorte alleen in aanleg aanwezig en volgens SMITH (48) is dan de gezamenlijke inhoud van deze voormagen maar dertig procent van de totale maaginhoud. Bij het volwassen rund echter is de inhoud van de pens tachtig procent van de totale inhoud van het magenstelsel, de netmaag vijf procent, de boekmaag zeven tot acht procent en tenslotte de lebmaag nog maar zeven procent.

Volgens LAGERLOF (34) en SAVAGE (40) hebben de voormagen op een leeftijd van drie à vier maanden, in verhouding tot de lichaamsgrootte, dezelfde inhoud als bij het volwassen rund. In diezelfde tijd daalt volgens KENNEDY (33) ook het suikergehalte van het bloed van ongeveer 120 mg per 100 ml tot een gehalte, dat ook voor volwassen runderen normaal is, nl. tot 50 à 60 mg per 100 ml. Tenslotte vonden POUNDEN en HIBBS (38) 30 dagen na de geboorte reeds bij 33 % van de kalveren die bacterieflora, welke ook aanwezig is bij volwassen runderen.

Uit dit alles mag dus de conclusie worden getrokken, dat het kalf op een leeftijd van vijf maanden onafhankelijk is geworden van de melkvoeding en zich in physiologische zin tot een zelfstandig individu heeft ontwikkeld.

Als we nu de rekenkundige gemiddelden van tabel 4, uitgezet op de grafiek (fig. 5), nader bekijken, komen enige opvallende feiten naar voren.

In de eerste plaats daalt het kopergehalte van de lever in de eerste maand van gemiddeld 339 tot gemiddeld 171 mg per kg droge stof en in de tweede maand tot 114 mg. Dat wil dus zeggen, dat tijdens de eerste twee levensmaanden een groot gedeelte van de koperreserve van de lever verbruikt is.

Door twee factoren, die een grote invloed hebben op deze kopervoorraad, wordt deze afname verklaarbaar. In de eerste maand bestond de voeding bij deze proef uitsluitend uit melk en in de tweede maand uit melk en een weinig ruwvoeder. Deze melk nu is koperarm. Zij bevat volgens onze eigen bepalingen en volgens ELVEHJEM (18), GODDEN (23) en CORRIE (10) slechts 0,05-0,15 mg koper per liter. Verder is voor de groei relatief veel koper nodig (SEEKLES (42) en HOFSTRA (28)). Als nu van buitenaf, dus door de melkvoeding, geen of weinig koper wordt aangevoerd, wordt het begrijpelijk, dat het voor de groei noodzakelijke koper betrokken moet worden van de lever. Dat deze conclusie een grote mate van waarschijnlijkheid heeft, wordt gedemonstreerd door het feit, dat de koperreserve in de tweede maand – dus in de tijd, dat het jonge kalf reeds enig ruwvoeder opneemt, dat veel rijker aan koper is dan de melk (8-15 mg per kg droge stof) – minder afneemt, dan in de eerste maand.

Na twee maanden is er een soort evenwichtstoestand ontstaan, waarbij het kopergehalte van de lever niet meer afneemt.

Misschien kan dit als volgt verklaard worden. Volgens COMAR c.s. (9) heeft het bekleedende epitheel van de gehele digestie-tractus een hoog gehalte aan koper in verhouding tot de andere organen en weefsels (met uitzondering van de lever en de nieren). Nu ontwikkelt zich het magenstelsel zeer speciaal tijdens de eerste twee maanden en

TABEL 4. Lichaamsgewicht en kopergehalte van de lever en het bloedserum van kalveren tijdens de eerste vijf levensmaanden

TABLE 4. *Body-weight and copper content of the liver and the bloodserum of calves during the first five months of life*

O = leeftijd (age) B = bloedserum (bloodserum)  $\gamma$  per 100 ml  
 L = lever (liver) mg per kg droge stof (dry matter) G = gewicht (weight) kg

Rund	Geb. (Born)	O	L	B	G	O	L	B	G	O	L	B	G
87B	5-2-'53	1 d.	473	37	37	1 mnd	239	66	58	2 mnd	185	44	88
89A	12-3-'53	1 d.	316	56	—	1 mnd	199	66	—	2 mnd	—	—	—
33A	16-3-'53	1 d.	447	47	—	1 mnd	260	59	—	2 mnd	— <sup>1</sup>	71	—
64A	24-4-'53	1 d.	239	56	—	1 mnd	106	52	74	2 mnd	74	53	99
100	28-4-'53	1 d.	348	34	—	1 mnd	149	81	59	2 mnd	119	62	84
49	28-4-'53	1 d.	166	42	—	1 mnd	90	47	70	2 mnd	84	60	97
54	7-6-'53	1 d.	384	45	40	1 mnd	154	61	64	2 mnd	108	56	—
Gem. (mean)			339	45	38		171	62	65		114	58	92
87B	5-2-'53	3 mnd	— <sup>1</sup>	46	—	4 mnd	150	60	138	5 mnd	96	70	166
89A	12-3-'53	3 mnd	98	60	110	4 mnd	121	81	133	5 mnd	167	74	—
33A	16-3-'53	3 mnd	203	65	106	4 mnd	161	71	132	5 mnd	135	59	—
64A	24-4-'53	3 mnd	55	82	—	4 mnd	138	56	158	5 mnd	135	79	182
100	28-4-'53	3 mnd	168	69	—	4 mnd	169	75	144	5 mnd	133	71	171
49	28-4-'53	3 mnd	69	57	—	4 mnd	70	75	147	5 mnd	62	70	166
54	7-6-'53	3 mnd	162	55	116	4 mnd	211	80	139	5 mnd	322	62	149
Gem. (mean)			126	62	111		146	71	142		150	69	167

<sup>1</sup> Monster verloren gegaan (sample lost)

zal dus in die tijd een relatief grote behoefte aan koper bestaan. Daarna zal die behoefte in verhouding afnemen en kan de totale koperbehoefte aangevuld worden uit de steeds groter wordende hoeveelheid niet melkachtige voedingsstoffen.

Het zal zelfs mogelijk zijn, dat uit dat voedsel door de darm zoveel koper wordt opgenomen, dat dit weer als reserve-koper in de lever wordt vastgelegd.

Of dit laatste de verklaring is voor de gemiddelde stijging van het kopergehalte van de lever bij mijn proefdieren, moet misschien worden betwijfeld. De spreiding van de gehalten is daarbij nl. zo groot, dat deze stijging even goed op toeval kan berusten.

In de tweede plaats is het opvallend, dat de proefkalveren, ondanks een hoog kopergehalte van de lever, toch geboren worden met een betrekkelijk laag kopergehalte van het bloedserum ( $45 \gamma \pm 8,5$  per 100 ml) en dat bij alle proefdieren, met uitzondering van 64A, dit gehalte in de eerste levensmaand stijgt tot  $62 \gamma \pm 10,5$  per 100 ml. In de daarop volgende maanden stijgt het gemiddelde gehalte tot een waarde van  $70 \gamma$  per 100 ml, maar de gehalten onderling vertonen dan ook weer een dusdanige spreiding, dat het niet uitgesloten moet worden geacht, dat ook hierbij het toeval een rol speelde.

Dat het kopergehalte in het bloedserum in de eerste maand stijgt, vindt waarschijnlijk zijn verklaring hierin, dat een reguleringsmechanisme het kopergehalte van het serum laat stijgen ten koste van de kopervoorraad van de lever, om aan de relatief grote behoefte van de organen en de weefsels aan dit element, te kunnen voldoen.

Terugkomend op de kopergehalten van de lever blijkt, dat het door mij gevonden

FIG. 5. Gewicht en kopergehalte van de lever en het bloedserum van kalveren van de geboorte tot een leeftijd van 5 maanden.

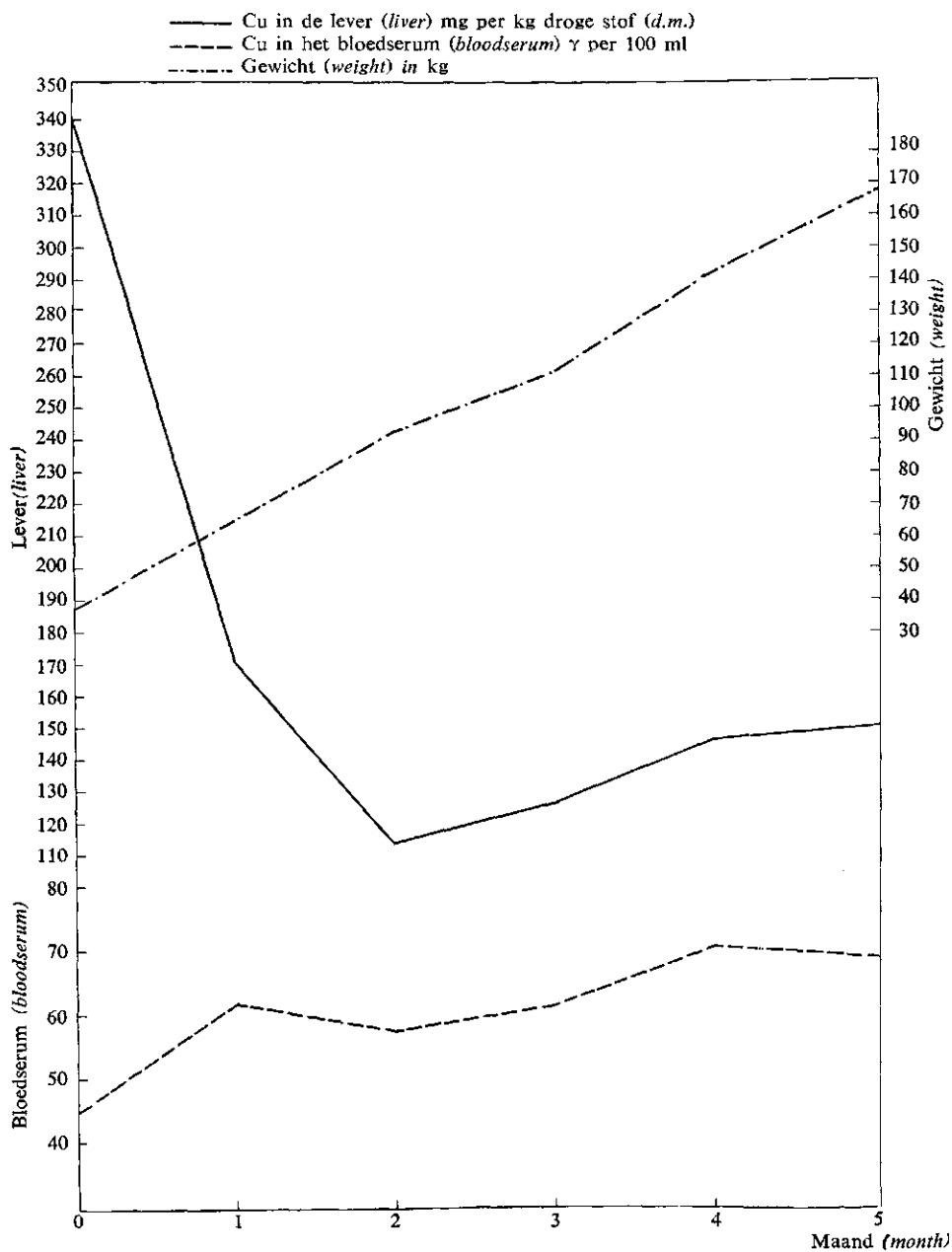


FIG. 5. Weight and copper content of the liver and the bloodserum of calves from birth till an age of 5 months.

geboorte-gemiddelde van 339 mg ongeveer overeenkomt met het gemiddelde van CUNNINGHAM (12) van 381 mg per kg droge stof. Er is dus, wat de koperreserve aangaat, blijkbaar weinig of geen verschil tussen de pasgeboren kalveren van de diverse veerassen en de omstandigheden waaronder zij geboren worden.

HOFSTRA vond bij zijn nuchtere kalveren, geslacht in het slachthuis te Leeuwarden, een gemiddelde van 162 mg en neemt daarbij aan, dat dit gehalte normaal is. Hij vond nl. bij zijn nuchtere kalveren, geboren in de omgeving van Lemmer – in de streek waar weidediarrhee, dus voorwaardelijk kopertekort voorkomt – gemiddeld 201 mg en zegt hiervan: „Uit het feit, dat deze waarden gemiddeld hoger waren dan die, welke bij normale nuchtere kalveren<sup>1</sup> werden gevonden, meen ik te moeten concluderen, dat de kalveren uit de omgeving van Lemmer op grond van het bij hen gevonden kopergehalte van de lever, geacht mogen worden niet gepreädisponeerd te zijn voor koperdeficiëntie.”

Ik meen, dat deze uitspraak op grond van het hieronder volgende niet juist is. Bij het begin van de toepassing van de biopsie-methodiek werden door mij ook enige moederdieren in het onderzoek betrokken.

Een etmaal na de partus werd bij drie moederdieren biopsie verricht volgens de grote methode en volgens de kleine methode ook bij de drie daarbij behorende kalveren.

In tabel 5 zijn de verkregen gegevens weergegeven.

TABEL 5. Kopergehalten van de lever en het bloedserum van moederdier en kalf 24 uur na de partus

Nummer moederdier	Lever mg per kg droge stof	Bloedserum $\gamma$ per 100 ml	Nummer kalf	Lever mg per kg droge stof	Bloedserum $\gamma$ per 100 ml
64	3,25	29	64A	239	56
89	18	68	89A	316	56
33	210	75	33A	447	47
<i>Number mother</i>	<i>Liver mg per kg d.m.</i>	<i>Bloodserum <math>\gamma</math> per 100 ml</i>	<i>Number calf</i>	<i>Liver mg per kg d.m.</i>	<i>Bloodserum <math>\gamma</math> per 100 ml</i>

TABLE 5. Copper content of the liver and the bloodserum of mother and calf 24 hours after parturition

Door dit kleine aantal gegevens wordt ten eerste de waarneming van COMAR c.s. (9) bevestigd, dat het kopergehalte van de lever van het pasgeboren kalf een veelvoud is van het leverkopergehalte van de moeder, dus dat de embryonale lever een grote selectiviteit t.a.v. koper heeft.

Ten tweede komt duidelijk naar voren, dat naarmate het kopergehalte van de lever van het moederdier hoger is, de koperreserve van het kalf groter wordt.

Koe 64, die een zeer kleine koperreserve heeft, brengt een kalf ter wereld, dat in de lever 239 mg koper per kg droge stof heeft, terwijl uit koe 33, met een goede koperreserve, een kalf geboren wordt met 447 mg.

Nu is het gehalte van kalf 64A van 239 mg nog hoger dan het gemiddelde, dat

<sup>1</sup> Geslacht in het slachthuis te Leeuwarden.

HOFSTRA gevonden heeft bij de kalveren uit de omgeving van Lemmer. Dus kan worden aangenomen, dat deze laatste kalveren geboren waren uit moederdieren, waarvan de koperreserve zeer klein was, welke toestand zeker niet als optimaal gezien kan worden. Temeer daar het gehalte van kalf 33A, geboren uit een koe met een hoge koperreserve, geheel overeenkomt met het gemiddelde gehalte van CUNNINGHAM.

Concluderend kan dus gezegd worden, dat gezien het verloop van de kopergehalten van de lever tijdens de eerste levensmaanden, het voor een goede ontwikkeling zeer gewenst is, dat het kalf geboren wordt met een grote koperreserve en dat daarvoor het kopergehalte van de lever het best groter dan 300 mg per kg droge stof kan zijn.

## 2. KOPERGEHALTEN VAN DE LEVER EN HET BLOEDSERUM VAN JONGE RUNDEREN OUDER DAN VIJF MAANDEN

Voor het onderzoek van het verloop van de koperstatus van jonge runderen kwamen zeven van de tien proefdieren in aanmerking, nl. de nummers 33A, 64A, 100, 49, 6, 3 en 9 (zie tabel 6). Deze periode van onderzoek loopt van October 1953 tot en met het begin van December 1954.

Van October tot 12 November 1953 bevonden de dieren zich nog in de weide, van 12 November tot 27 April 1954 waren zij in de stal, van 27 April tot 7 November waren zij weer in de weide en de laatste drie weken van de waarnemingsperiode waren ze weer in de stal teruggekeerd.

Tijdens de gehele periode werden geen klinische ziekte-symptomen waargenomen. Wel liet de conditie aan het einde van het weideseizoen 1954, dat zich kenmerkte door veel neerslag en weinig zonneschijn, te wensen over. De dieren waren mager en de beharing maakte een dorre indruk. Verkleuring van de zwarte beharing werd niet opgemerkt. De faeces waren dun, maar men kon niet spreken van diarree. Vrijwel onmiddellijk na de opstalling had de stalvoeding een gunstige invloed op de conditie.

Bij het opstallen bleken de proefdieren 64A, 49, 3 en 9 drachtig te zijn, terwijl de nummers 100 en 6 na één dekking niet drachtig waren geworden.

### *a. Het verloop van de kopergehalten van de lever*

In de grafiek (fig. 6) van de rekenkundige gemiddelden blijkt, dat het kopergehalte aan het eind van de weideperiode, terwijl de kalveren ook nog krachtvoer kregen (zie Hoofdstuk II), weinig of niet verschilt van het gemiddelde kopergehalte gedurende de stalperiode. Wel werden in December, Januari en Februari de hoogste gemiddelde gehalten gevonden, maar dit is in April alweer op het niveau van November. Het gehalte van Maart is niet bepaald, omdat na Februari de biopsie maar éénmaal per twee maanden werd uitgevoerd.

Voordat de dieren op 27 April in de weide gingen, vond de laatste biopsie van de stalperiode plaats.

Bij de bepaling in Juni bleken alle gehalten belangrijk lager te zijn geworden en bij de bepaling in Augustus, October en December bleek deze daling, zij het in afnemende mate, zich te hebben voortgezet tot het lage gemiddelde van 8 mg per kg droge stof.



FIG. 6. Gewicht en kopergehalte in de lever en het bloedserum van jongvee van October 1953 tot en met December 1954.

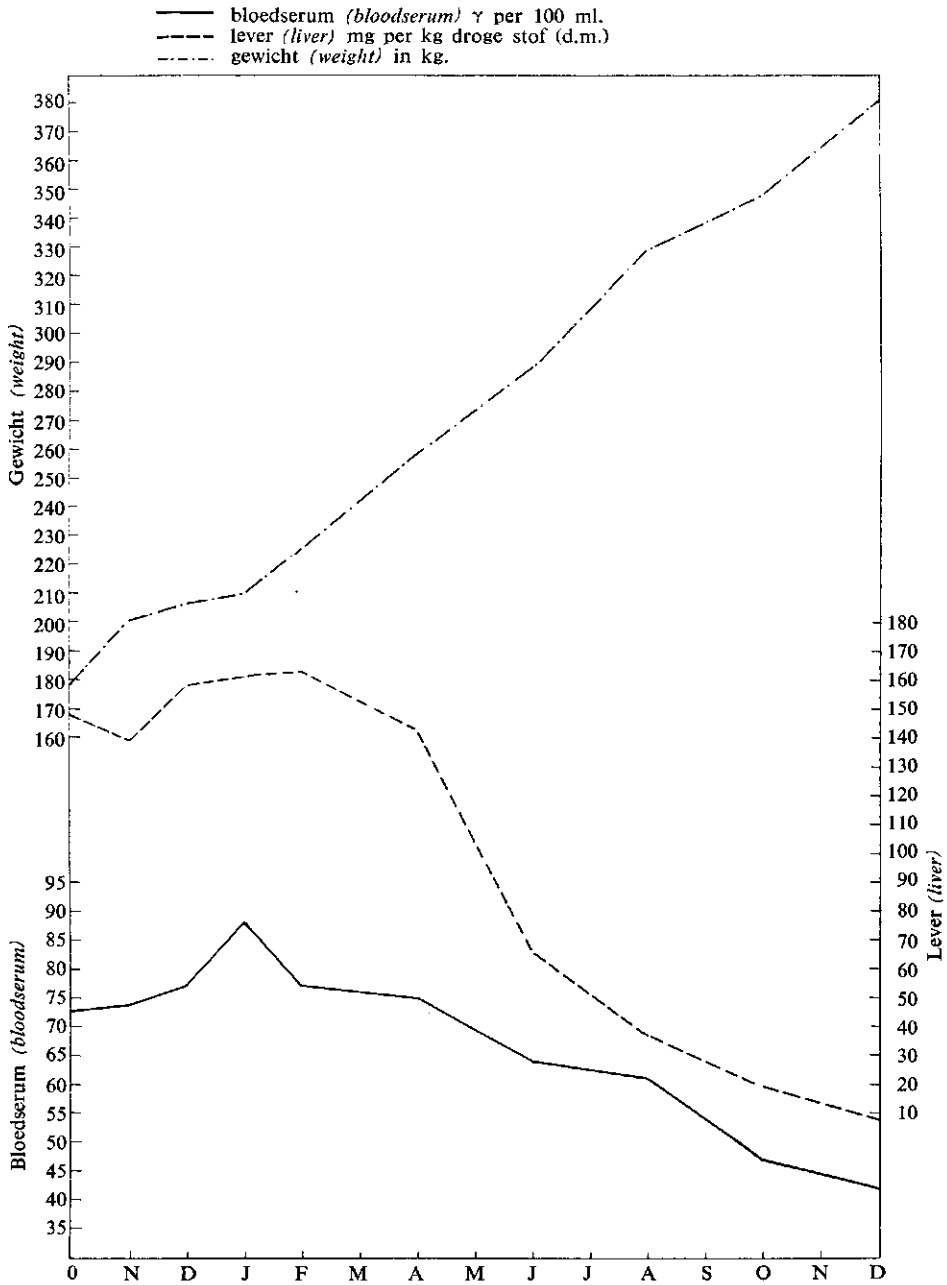


FIG. 6. Weight and copper content of the liver and the bloodserum of young cattle from October 1953 till the end of 1954.



Dat wil dus zeggen, dat de gehele weideperiode deze gemiddelde daling van 143 tot 8 mg heeft veroorzaakt.

De symptomen van koperdeficiëntie, die wij meestal waarnemen aan het eind van de weideperiode, worden niet alleen veroorzaakt door eigenschappen van het najaarsgras. Het voorjaars- en zomergras heeft deze eigenschappen namelijk evenzeer. Of deze vorm van deficiëntie in de zomer dan wel in het najaar zal gaan optreden, is afhankelijk van de kopervoorraad, waarmee de dieren in de weide komen en van de mate waarin de eigenschappen, die deze deficiëntie doen ontstaan, in het gras voorkomen.

Welke stoffen of eigenschappen van het gras hiervoor verantwoordelijk moeten worden gesteld, kan hier niet worden beantwoord, maar wel volgt hieruit, dat extra koperverstrekking tijdens de gehele weideperiode voor zeer veel weidegebieden (zo niet voor alle) in Nederland van zeer grote betekenis is, omdat men hierdoor pas de zekerheid krijgt, dat uitputting van het reservekoper kan worden voorkomen. Want of men deze reserve in de stalperiode zo groot zal kunnen maken, dat niet alleen uitputting in de weideperiode wordt voorkomen, maar ook voldoende aanwezig is voor een optimale koperbevoorrading van het nageslacht (zie Hoofdstuk VII) zal moeten worden betwijfeld.

#### *b. Verloop van de kopergehalten van het bloedserum*

Uit de grafiek (fig. 6) blijkt, dat in het algemeen de kromme, die de punten verbindt van de rekenkundige gemiddelden van de kopergehalten van het bloedserum, een verzwakt schaduwbeeld is van de kromme van de kopergehalten van de lever.

Alleen in December vertoont het gemiddelde kopergehalte van het serum een top, die niet aanwezig is bij het gemiddelde kopergehalte van de lever.

Dat wil dus zeggen, dat het mechanisme, hetwelk het kopergehalte van het bloed reguleert, bij deze jonge dieren niet in staat is de koperspiegel op een bepaald niveau te houden (zie Hoofdstuk VIII) en dat het kopergehalte van het bloed dus niet alleen bij een lage, maar ook bij een hoge koperstatus bepaald wordt door het kopergehalte van de lever.

Rund 100 is hierop een uitzondering. Blijkbaar is bij dit dier het reguleringsmechanisme beter ontwikkeld, want bij een leverkopergehalte van 11 mg per kg droge stof in December, was het serumkopergehalte nog 67  $\gamma$  per 100 ml, terwijl bij de andere proefdieren reeds in October bij dezelfde of hogere leverkopergehalten veel lagere serumkopergehalten werden geconstateerd.

Bij het minder goed ontwikkelde reguleringsmechanisme zal het serumkopergehalte automatisch voldoende hoog zijn om aan de koperbehoefte van de organen en weefsels te voldoen, indien maar voldoende reservekoper – dit is het kopergehalte van de lever – aanwezig is.

En het kopergehalte van het bloedserum moet voldoende hoog zijn, omdat er niet de minste reden is om aan te nemen, dat de organen en weefsels van het jonge rund beter dan die van het volwassen rund, in staat zouden zijn, om uit het bloedserum met een laag kopergehalte voldoende koper op te nemen.

Waar nu hoogstwaarschijnlijk de benedengrens van een normaal serumkopergehal-

te bij de volwassen koe 60  $\gamma$  per 100 ml is (Hoofdstuk VIII), mag dit gehalte ten minste als zodanig worden aangenomen voor het jonge rund. Dit wordt ook bevestigd door de gevonden gehalten van het pas geboren kalf, die van de geboorte af in één maand stijgen van gemiddeld 45 tot gemiddeld 62  $\gamma$  per 100 ml. Dit zou dus betekenen, dat kopergehalten van de lever kleiner dan 40 mg per kg droge stof bij jonge runderen, reeds serumkopergehalten kunnen doen optreden, die ongewenst zijn voor een optimale koperstofwisseling.

Hierdoor zou ook de minder goede conditie van de dieren tijdens de laatste maanden van de weideperiode 1954 verklaarbaar worden. En hier zou tenslotte uit volgen, dat bij het minder ontwikkelde reguleringsmechanisme van het jonge rund, tenminste een kopergehalte van de lever aanwezig moet zijn van 50 à 60 mg, om een voldoende hoge koperspiegel van het bloed te waarborgen.

## VII. PERIODIEKE BIOPSIE BIJ DRACHTIGE RUNDEREN

Toen in het voorjaar van 1953 begonnen werd bij pasgeboren kalveren de koperstatus te bepalen door middel van regelmatig toegepaste leverbiopsie, was er geen zekerheid, dat dit onderzoek voortgezet zou kunnen worden totdat de proefdieren volwassen zouden zijn. En zou dit het geval zijn, dan stond nog helemaal niet vast, dat de dieren drachtig zouden worden.

Toch mocht, wilde dit onderzoek enigszins volledig zijn, niet nagelaten worden na te gaan welke invloed de drachtigheid op de koperstatus van het rund heeft. Dit werd van nog groter belang, toen bleek, dat de koperreserve van het moederdier een grote invloed heeft op het leverkopergehalte van het kalf (Hoofdstuk VI). Dit zou omgekeerd betekenen, dat het zeer goed mogelijk zou zijn, dat de koperreserve van het kalf wordt gevormd ten koste van de kopervoorraad van de moeder.

Om dit nu na te gaan, werd van October 1953 af bij zes drachtige koeien van drie en een half jaar éénmaal per maand leverbiopsie gedaan. Deze runderen moesten in de maanden Februari, Maart of April kalven. Koe 47 werd al spoedig uit deze proef genomen, omdat het alleen maar de eerste keer mogelijk was een levermonster te krijgen. De twee volgende maanden mislukte dit, doordat met het gebruikte instrumentarium de lever niet meer bereikt kon worden. Blijkbaar had de lever zijn embryonale ligging behouden en kwam hij daardoor niet tegen de ribwand.

Behalve deze afwijking, werden tijdens het verdere verloop van deze proef geen bijzonderheden waargenomen. Alle dieren kalfden normaal af en er kon geen ongunstige invloed van de biopsie geconstateerd worden.

Bij koe 5 werd in Maart '54 geen biopsie gedaan, omdat de operatiedag ongeveer samenviel met de kalfdatum. Achteraf bleek deze beslissing een zeer goede te zijn geweest, want 24 uur na de partus kreeg de koe melkziekte.

Hoewel deze dieren allemaal onder dezelfde omstandigheden verkeerd hebben, is het opvallend, welke spreiding de kopergehalten van de lever vertonen (zie tabel 7, fig. 7, pag. 42). Van koe 25 is bij de aanvang dit gehalte 145 mg, terwijl dit van koe 5 maar 7 mg is. De gehalten van de andere drie proefdieren liggen hiertussen.

Als we koe 5 met haar zeer laag gehalte aan koper in de lever en met een verlaagd gehalte van het bloedkoper buiten beschouwing laten, blijkt, dat het kopergehalte van de lever bij de andere 4 dieren naar de partus toe, regelmatig afneemt en daarna in ongeveer twee maanden weer is gestegen tot het uitgangshehalte. Dit wordt duidelijk gedemonstreerd door de grafiek (fig. 8, pag. 43) van de rekenkundige gemiddelden.

Volgens deze gemiddelden neemt het leverkopergehalte in de laatste vier maanden van de drachtigheid – indien hiervoor tenminste de kopervoorraad voldoende groot is – af met 35 % en stijgt in ongeveer twee maanden met hetzelfde percentage.

Daar na de opstalling op 16 November 1953 het voederrantsoen voor de partus niet gewijzigd werd, kan met grote waarschijnlijkheid worden aangenomen, dat deze waargenomen afname van het leverkopergehalte wordt veroorzaakt door de drachtig-

FIG. 7. Biopsie van 5 drachtige runderen van October 1953 t/m April 1954.  
Cu-gehalte van de levers in mg per kg droge stof.

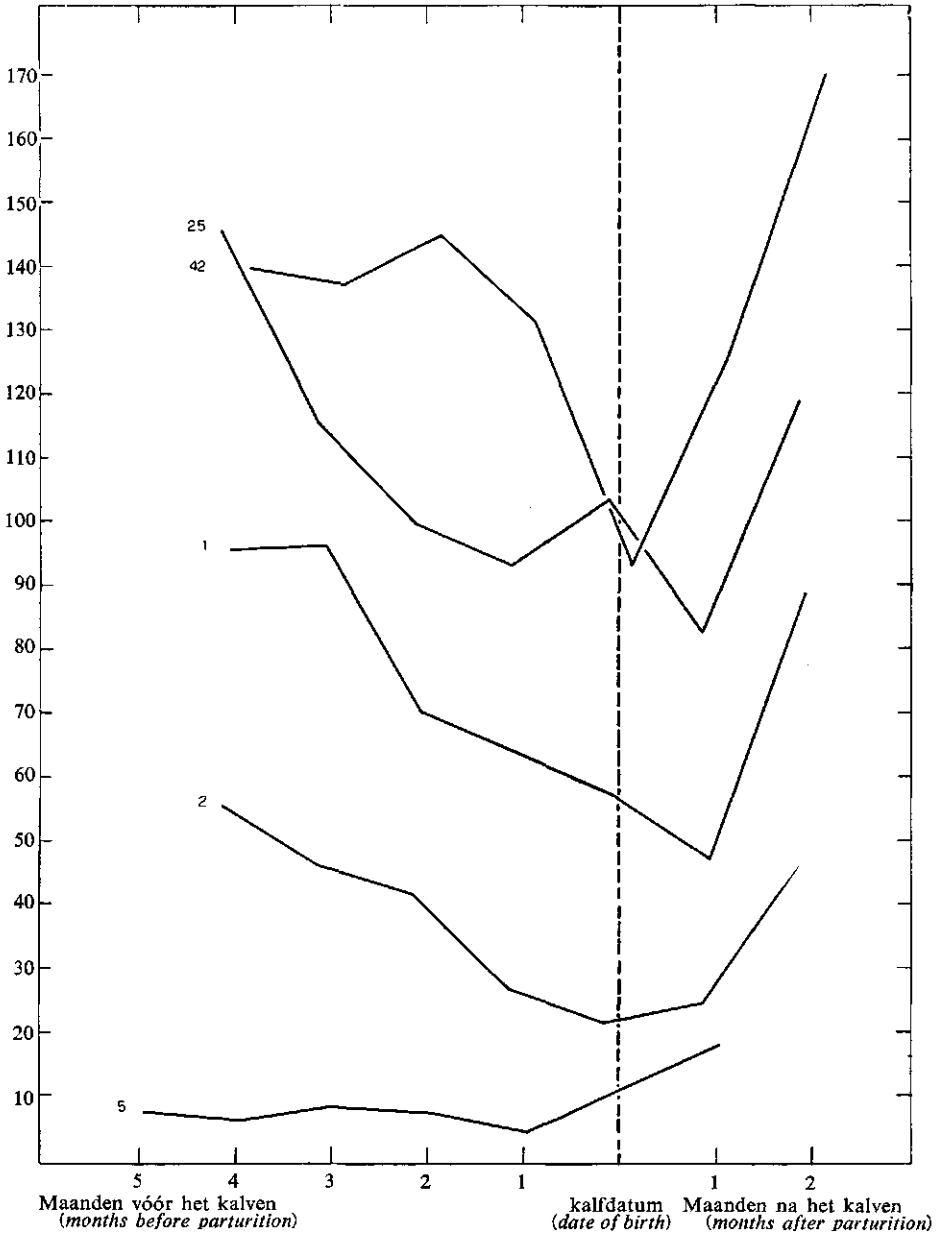


FIG. 7. Biopsy of five pregnant cows from October 1953 till May 1954.  
Cu content of the livers in mg per kg d.m.

FIG. 8. Het gemiddelde kopergehalte van de lever en het bloedserum van 4 drachtige runderen.

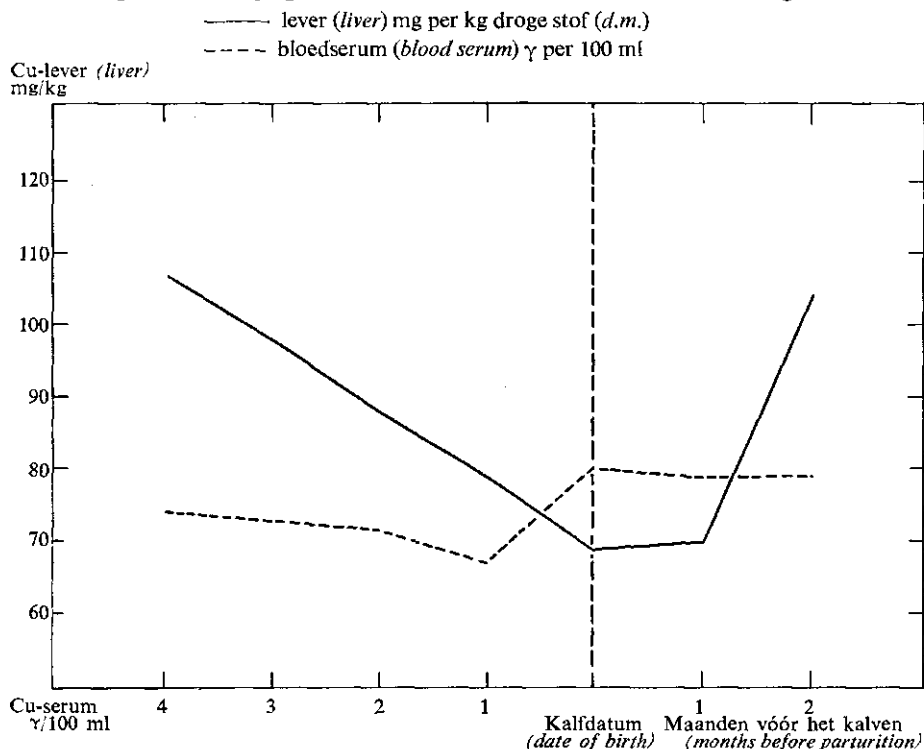


FIG. 8. The mean copper content of the liver and the bloodserum of four pregnant cows.

heid, omdat bij niet drachtige runderen tijdens de stalperiode juist dit gehalte gaat stijgen (ALLCROFT (1)).

Na de partus werd het voederrantsoen aangevuld met een hoeveelheid krachtvoer overeenkomende met de melkproductie van de dieren. In hoeverre deze krachtvoederhoeveelheid invloed heeft gehad op de stijging na de partus, is niet uit te maken, omdat het kopergehalte van het voederrantsoen vóór en na de partus helaas niet bepaald is.

Het kopergehalte van het bloedserum blijft, met uitzondering van dat van koe 5, tijdens de gehele waarnemingsperiode schommelen tussen normale waarden (fig. 8).

Koe 5 heeft in de vijf bepalingen vóór de partus een kopergehalte van de lever, dat varieert tussen zeven en vier mg per kg droge stof en stijgt na de partus in ongeveer één maand tot 18 mg. Het gehalte van het bloedserum is vóór de partus ook te laag en schommelt tussen 39 (de laatste bepaling voor de partus) en 54  $\gamma$  per 100 ml en stijgt daarna tot 62  $\gamma$ .

Hierdoor zal deze koe waarschijnlijk niet in staat zijn geweest om aan haar kalf de optimale hoeveelheid reservekoper mede te geven.

Of het toeval is, dat juist deze koe met haar lage koperstatus 24 uur na de partus melkziekte krijgt, is een vraag, die hier slechts zijdelings wordt gesteld.

TABEL 7. Kopergehalten van de lever en het bloedserum vóór en na de partus

Nummer	15-10-'53		16-11-'53		14-12-'53	
	lever mg/kg	serum $\gamma$ /100 ml	lever mg/kg	serum $\gamma$ /100 ml	lever mg/kg	serum $\gamma$ /100
1 . . . . .	95	76	96	63	70	73
2 . . . . .	56	71	47	77	42	74
5 . . . . .	7	54	6	52	8	51
25 . . . . .	145	78	116	74	100	69
42 . . . . .	140	75	137	80	145	71
<i>Number</i>	<i>lever</i>	<i>serum</i>	<i>lever</i>	<i>serum</i>	<i>lever</i>	<i>serum</i>

TABLE 7. Copper contents of the liver and the bloodserum before and after parturition

<sup>1</sup> Om de partus op 21-3 geen biopsie gedaan.

Uit de waarnemingen van dit hoofdstuk en de waarneming dat er een verband bestaat tussen het leverkopergehalte van het moederdier en het kalf (Hoofdstuk VI) mag dus worden geconcludeerd, dat het van fysiologisch, dus ook van bedrijfstechnisch belang is, dat het drachtige rund enige maanden voor de partus een koperreserve in de lever heeft, die groter is dan 40 mg, opdat een afname van ruim dertig procent ondergaan kan worden, zonder dat een kopertekort zal gaan optreden.

15-1-'54		16-2-'54		20-3-'54		23-4-'54	
lever mg/kg	serum $\gamma$ /100 ml	lever mg/kg	serum $\gamma$ /100 ml	lever mg/kg	serum $\gamma$ /100 ml	lever mg/kg	serum $\gamma$ /100 ml
68	61	57	90	47	63	89	63
28	68	21	64	24	68	46	79
7	57	4	39	-	46	18	62
93	68	103	68	83 <sup>1</sup>	78	119	73
131	68	93	105	126	105	170	101
<i>lever</i>	<i>serum</i>	<i>lever</i>	<i>serum</i>	<i>lever</i>	<i>serum</i>	<i>lever</i>	<i>serum</i>

# VIII. ONDERZOEK NAAR DE KOPERSTATUS VAN VOLWASSEN MELKGEVENDE KOEIEN OP EEN AANTAL BEDRIJVEN IN NEDERLAND

## 1. DE PROEFOPZET

In Hoofdstuk I werd er op gewezen, dat de lever, wat het koper betreft, het depôt-orgaan van het dierlijk lichaam is.

Het bloed heeft de taak, het door de intestinae uit het voedsel opgenomen koper te transporteren en tegelijkertijd de organen en weefsels van koper te voorzien. Hierbij kan in het midden worden gelaten, of het door de digestie-tractus opgenomen koper rechtstreeks naar de organen kan worden vervoerd, of dat dit eerst via het poortaderstelsel getransporteerd wordt naar de lever om daar in een voor de weefsels opneembare vorm te worden getransformeerd en daarna pas naar de organen wordt vervoerd.

Uit de taak van de lever en die van het bloed volgt, dat deze beide weefsels nauw met elkaar in verband moeten staan en dat een reguleringsmechanisme de verbindende schakel tussen beide is.

Dit reguleringsmechanisme zorgt er onder normale omstandigheden voor, dat het bloedkopergehalte op een bepaald niveau blijft. Dat wil dus zeggen, dat bij meer koper-aanvoer dan koper-verbruik, het kopergehalte van het bloed weinig of niet zal veranderen, maar dat dit koper gedeponereerd zal worden in de lever.

Als er dus te weinig koper wordt opgenomen, zoals voorkomt op de lichte zandgronden, of wanneer overmatige hoeveelheden koper worden verbruikt, zoals waarschijnlijk het geval is bij weidediarrhee, zal zolang voldoende koperreserve aanwezig is, het kopergehalte van het bloed constant blijven ten koste van het kopergehalte van de lever, dat daardoor gaat dalen. Dit zal voortgaan tot het moment, dat de lever uitgeput gaat raken en het reguleringsmechanisme niet meer in staat is, het bloedkopergehalte op het fysiologisch gewenste niveau te houden. Op dat tijdstip gaat dus ook het kopergehalte van het bloed zakken. Dit betekent, dat bij lage bloedkopergehalten tegelijkertijd lage gehalten van de lever mogen worden verwacht.

Deze gedachtengang vormde de basis van het proefplan om bij het volwassen melkrund het verband tussen bloed en lever na te gaan.

Dat HOFSTRA dit verband niet heeft kunnen vinden, is waarschijnlijk veroorzaakt door het feit, dat hij voor zijn onderzoek de levers en het bloed van slachtdieren gebruikte. Het is nl. de vraag of slachtdieren als zodanig eigenlijk wel ooit in aanmerking komen voor een dergelijk onderzoek. In de eerste plaats is het helemaal niet zeker, dat zij in vergelijking met melkgevende bedrijfskoeien normaal zijn ten aanzien van de koperstofwisseling en in de tweede plaats is het heel goed mogelijk, dat onder invloed van het vasten vóór het slachten, het vervoer naar het slachthuis en het komen onder voor het dier zeer uitzonderlijke omstandigheden, een „stress”-toestand gaat optreden, waardoor in dit geval speciaal het kopergehalte van het bloedserum gaat afwijken van het gehalte, dat bij hetzelfde dier gevonden zou worden, indien het onder normale.



bedrijfsomstandigheden was gebleven. Dat wijzigingen in het kopergehalte van het bloedserum betrekkelijk snel kunnen verlopen, wordt aangetoond door de proeven van COMAR c.s. (9) met radioactief koper. Intraveneus toegediend koper werd in vijf minuten voor 64 % teruggevonden in de weefsels, terwijl van de resterende 36 % een groot deel uit het bloedplasma verdween en opgenomen werd in de erythrocyten. Nu is dit ingespoten koper wel geen lichaam-eigen koper, maar hierdoor wordt toch wel gedemonstreerd, dat snelle veranderingen van het serumkopergehalte niet uitgesloten zijn.

## 2. HET VERLOOP VAN DE PROEFNEMINGEN

Om dus zeker te zijn, dat bij dit onderzoek de uitwendige omstandigheden zoveel mogelijk ongewijzigd bleven, werd de leverbiopsie bij de proefdieren op het bedrijf zelf uitgevoerd en omdat de dieren zich in de weide bevonden, werd, als het weer het toeliet, de operatie in de buitenlucht verricht.

In de zomer van 1953 werd begonnen met twee bedrijven, waar verwacht mocht worden, dat lage en hoge gehalten in de lever en het bloedserum gevonden zouden worden. Van bedrijf 1 waren enige aanwijzingen, dat voorwaardelijk kopergebrek zou kunnen voorkomen, terwijl van bedrijf 2 geen aanwijzingen van enig kopergebrek aanwezig waren.

Het resultaat van het onderzoek bevestigde de veronderstellingen (zie tabel 8). Op het eerste bedrijf waren de gehalten van het bloedserum en het levermonster laag, terwijl op het tweede bedrijf met uitzondering van koe 4170 beide gehalten hoger waren.

TABEL 8. Kopergehalten van de lever en het bloedserum van melkgevende bedrijfskoeien op een negental bedrijven in Nederland (Fries-Hollands vee)

Datum	Bedrijf	Naam, leeftijd dier	Bloed $\gamma$ /100 ml	Biopsie lever $\gamma$ /g droge stof
9-7-'53	1. P. S. te E.	Meta, 3 jaar	17	1,2
		Eefje, 4 jaar	25	1,9
		Rika, 2½ jaar	26	2,9
9-7-'53	2. J. v. d. G. te Z.	No. 4170, 2½ jaar	17	8,1
		No. 2780, 6 jaar	111	10,1
		No. 2785, 6 jaar	93	24,2
		No. 2784, 6 jaar	100	46,2
2-9-'53	3. B. J. R. te H.	Harmke 4, 4 jaar	84	80,2
		Reinske 9, 3 jaar	75	229,5
		Klaske 3, 3 jaar	93	269,9
3-9-'53	4. G. K. te F.	No. 14, 3 jaar	66	12,4
		No. 9, 4 jaar	32	5,4
		No. 38, 3 jaar	28	3,6

Vervolg tabel op blz. 48 - *Continued see p. 48*

Datum	Bedrijf	Naam, leeftijd dier	Bloed $\gamma$ /100 ml	Biopsie lever $\gamma$ /g droge stof
14-10-'53	5. P. B. de B. te S.	Sietske 80, 2½ jaar	69	10,4
		Ymkje 27, 2½ jaar	53	10,7
29-10-'53	6. J. K. te N.	Mina 50, 3 jaar	65	15,0
		Mina 60, 4 jaar	100	18,2
		Trijntje 8, 4 jaar	72	18,3
29-3-'54	I. K. te U.	Koe „de Geer”, 4 jaar	94	157,6
20-7-'54	2. J. v. d. G. te Z.	No. 4178, 3½ jaar	42	4,2
		No. 3842, 4½ jaar	88	32,1
		No. 3844, 4½ jaar	93	91,2
		No. 4171, 3½ jaar	65	6,6
22-7-'54	7. N. F. te L.	Doutje, 10 jaar	79	309,4
		Uppie 2, 3 jaar	73	233,8
		Nageltje, 9 jaar	103	569,5
		Gadrana, 6 jaar	83	443,1
22-7-'54	8. S. B. te T.	Trijntje, 3 jaar	78	24,6
		Sjoukje, 6 jaar	100	189,6
		Geertje, 6 jaar	84	224,6
		Anneke, 5 jaar	66	56,5
26-8-'54	4. G. K. te F.	No. 7, 3 jaar	67	206,3
		No. 38, 6 jaar	93	138,1
		No. 9, 5 jaar	71	19,4
26-8-'54	3. B. J. R. te H.	Harmke 4, 5 jaar	86	80,9
		Alida 3, 4 jaar	83	69,2
		Reinske 9, 4 jaar	84	121,0
23-12-'54	9. S. P. te W.	Jacoba 14, 2 jaar	12	5,6
		Jacoba 15, 2 jaar	18	6,0
		Assendelft 45, 2 jaar	13	4,8
		Coba Fries 4, 2 jaar	13	7,0
		Betje 9, 2 jaar	24	9,4
<i>Date</i>	<i>Farm</i>	<i>Name and age of animal</i>	<i>Blood <math>\gamma</math>/100 ml</i>	<i>Biopsy liver <math>\gamma</math>/gr d.m.</i>

TABLE 8. Copper content of the liver and the bloodserum of dairy cows on nine farms in the Netherlands (Friesian cattle)

Ongeveer twee maanden later werd weer op twee bedrijven een zelfde onderzoek verricht. Op bedrijf 3 mochten, gezien de resultaten met het verstrekken van koperzouten tijdens de stalperiode (zie korte beschrijving van de bedrijven) en gezien de conditie en gezondheidstoestand, hogere gehalten verwacht worden. Op bedrijf 4 zouden deze gehalten weer laag kunnen zijn.

Ook ditmaal beantwoordden de resultaten volkomen aan de verwachtingen. Van de runderen van bedrijf 3 waren beide gehalten hoog tot zeer hoog en van de drie koeien van bedrijf 4 werden twee lage gehalten van lever en bloedserum gevonden, terwijl koe 14 een iets hoger gehalte had, zowel van de lever als van het serum.

In October van 1953 was het tenslotte nogmaals mogelijk om op twee bedrijven het onderzoek voort te zetten. Bedrijf 5 is een zeer intensief gevoerd bedrijf met een zeer hoge melkproductie, waar dus normale gehalten verwacht mochten worden, terwijl van bedrijf 6 zeer veel aanwijzingen waren, dat lage tot zeer lage gehalten zouden kunnen worden gevonden. In beide gevallen werden de veronderstellingen echter niet bevestigd.

De twee koeien van bedrijf 5 hadden een laag Cu-gehalte van de lever en een verlaagd Cu-gehalte van het serum; de drie koeien van bedrijf 6 hadden een hoger gehalte van de lever en het serum. Beide bedrijven pasten echter volkomen in het kader van het onderzoek.

*Door de bereikte resultaten van 1953 (zie tabel 8) was er alle reden om dit onderzoek in 1954 voort te zetten.*

In Maart 1954 deed zich plotseling de mogelijkheid voor om leverbiopsie te verrichten bij een melkgevende koe, die zich in de stal bevond. Zoals te verwachten was, werd bij dit rund een hoog Cu-gehalte van de lever en het serum gevonden.

In Juli 1954 werd op bedrijf 2 bij andere koeien weer de koperstatus door middel van biopsie bepaald. Twee runderen hadden nu een laag kopergehalte van de lever met een verlaagd gehalte van het serum en twee runderen hadden hogere gehalten van lever en serum.

Verder werden in Juli twee bedrijven onderzocht, waar de runderen langer dan één jaar koperzouten kregen, zowel in de stal als in de weide.

Op bedrijf 7 was men ermede begonnen in 1951 en op bedrijf 8 in 1952. In beide gevallen werden hoge gehalten in de lever gevonden, maar van bedrijf 8 waren ze minder hoog dan van bedrijf 7 en twee van de koeien hadden een gehalte, dat zeker niet hoog genoemd kan worden.

In Augustus werden de bedrijven 3 en 4 nogmaals onderzocht. Op bedrijf 3 werden nu ongeveer twee jaar in de stal extra koperzouten gegeven en op bedrijf 4 was alleen tijdens de laatste stalperiode extra koper verstrekt. De gehalten van bedrijf 3 waren nu lager dan in 1953, maar koe Harmke 4 had dezelfde gehalten als in 1953, terwijl Reinske 9, 100 mg lager was.

Van bedrijf 4 was het kopergehalte van koe 9 gestegen van 5,4 tot 19,4 mg.

Tenslotte werden in December op bedrijf 9, vijf runderen van twee jaar onderzocht, die door omstandigheden tot half December in de weide hadden gelopen. Zoals mocht worden verwacht, hadden alle dieren een laag kopergehalte in de lever en in het bloedserum.

Alle onderzochte dieren waren bedrijfsdieren, die in conditie, ontwikkeling enz. als vertegenwoordigers van het gemiddelde van de betreffende veestapels konden worden aangemerkt.

## 3. KORTE BESCHRIJVING VAN DE BEDRIJVEN

- BEDRIJF 1.** Gemengd bedrijf met overwegend grasland. Grondsoort: kleihoudend veen met enige percelen kleihoudend zand. Bedrijfsvoering is normaal. Algemene conditie van het vee matig tot goed; ontwikkeling van het jongvee matig; melkproductie: normaal. In het najaar hebben de dieren in de weide soms te dunne faeces.
- BEDRIJF 2.** Gemengd bedrijf. Grondsoort: hoogliggende rivierklei. De veehouderij is weinig intensief. Algemene conditie van het vee matig tot goed; melkproductie normaal.
- BEDRIJF 3.** Overwegend weidebedrijf. Grondsoort: gedeeltelijk zand en gedeeltelijk kleihoudend laagveen. Bedrijfsvoering is goed. Tijdens de weideperiode van 1952 was de conditie van het vee slecht, evenals de melkproductie. De ontwikkeling van het jongvee was slecht. Het serumkopergehalte van enige dieren was toen resp. 27, 17 en 19 $\gamma$  per 100 ml. Tijdens de stalperiode 1952-1953 werd aan alle runderen 500 mg kopersulfaat per dier per dag verstrekt, met een zeer goed resultaat. Deze koperverstrekking werd in de stalperiode 1953-1954 voortgezet.
- BEDRIJF 4.** Weidebedrijf. Grondsoort: kleihoudend laagveen. Intensieve bedrijfsvoering. Klachten: te lage melkproductie, diarree aan het eind van de weideperiode en slechte ontwikkeling van de kalveren. De eigenaar is na de biopsie in 1953, 500 mg kopersulfaat per dier per dag gaan verstrekken. Ook op dit bedrijf werd hiermede een zeer goed resultaat bereikt.
- BEDRIJF 5.** Weidebedrijf. Grondsoort: klei. Bedrijfsvoering is zeer intensief. Goede melkproductie; conditie van het vee is goed, beharing was te weinig glanzend.
- BEDRIJF 6.** Weidebedrijf; jonge ontginning. Grondsoort: zandhoudend laagveen. Bedrijfsvoering is zeer matig. Klachten: slechte conditie van het vee en lage melkproductie.
- BEDRIJF 7.** Weidebedrijf. Grondsoort: zand en zandhoudend laagveen. Bedrijfsvoering is normaal. Tijdens de weideperiode 1951 was de conditie van de dieren matig, evenals de melkproductie. Vele dieren hadden diarree. In September van dat jaar werden zeer lage bloedkopergehalten gevonden, nl. 12, 10, 9 en 8 $\gamma$  per 100 ml. Tijdens de stalperiode 1951-1952 is met kopersulfaatverstrekking begonnen en steeds voortgezet (ook in de weide). Het resultaat ervan was zeer goed. De conditie van de dieren werd uitstekend en de melkproductie nam belangrijk toe.

	Melkproductie	
	in kg	in % (1950 = 100%)
1950 } geen extra koper . . .	75585	100
1951	73323	97
1952 } . . . . .	82103	108,6
1953 } extra koper . . . . .	87127	115,3
1954	86325	114,2

- BEDRIJF 8.** Weidebedrijf. Grondsoort: zand en zandhoudend laagveen. Bedrijfsvoering is matig. In 1952 waren alle dieren in zeer slechte conditie en was de melkproductie zeer laag. Bij enige dieren werden toen zeer lage serumkopergehalten gevonden, nl. 11, 12 en 13 $\gamma$  per 100 ml. Tijdens de stalperiode 1952-1953 werd begonnen met kopersulfaat te geven (500 mg per dier per dag). Hiermede wordt steeds doorgedaan. Het resultaat hiervan is zeer goed.
- BEDRIJF 9.** Weidebedrijf. Grondsoort: kleihoudend veen. Bedrijfsvoering goed. De dieren zijn door omstandigheden tot half December 1954 in de weide gebleven. De conditie van de dieren was zeer matig en ze hadden een ruige beharing.

## 4. RESULTATEN VAN HET ONDERZOEK

In het begin van dit hoofdstuk werd door mij verondersteld, dat bij bedrijfsrunderen lage kopergehalten van de lever gepaard zullen gaan met lage kopergehalten van het bloedserum, omdat bij deze lage leverkopergehalten het reguleringsmechanisme niet meer in staat zal zijn het kopergehalte van het bloedserum op een fysiologisch niveau te houden. Deze veronderstelling blijkt bij beschouwing van de analyse-resultaten bevestigd te worden (tabel 8).

Bij de twee en twintig proefdieren met een leverkopergehalte lager dan 25 mg per kg droge stof zijn maar drie runderen (14 %), die daarbij in het bloedserum een hoger gehalte hebben dan 73  $\gamma$  per 100 ml. Het zijn de runderen 2780 en 2785 van bedrijf 2 en Mina 60 van bedrijf 6. De overige negentien runderen hebben een serumkopergehalte dat lager is dan 73  $\gamma$  per 100 ml. De reden, waarom deze 3 dieren een uitzondering vormen, is niet bekend.

Van de twintig runderen met leverkopergehalten hoger dan 25 mg per kg variëren de serumkopergehalten van 66  $\gamma$ , met een leverkopergehalte van 56 mg, tot 103  $\gamma$  per 100 ml, met een leverkopergehalte van 570 mg (resp. koe Anneke van bedrijf 8 en Nageltje van bedrijf 7). Uit de gehalten van deze beide runderen zou misschien de indruk kunnen ontstaan, dat normaal het hoogste serumkopergehalte gepaard gaat met het hoogste leverkopergehalte. Dit is echter maar toeval, want koe 7 van bedrijf 4 heeft een leverkopergehalte van 206 mg en een serumkopergehalte van slechts 67  $\gamma$ , terwijl koe 2784 van bedrijf 2 een leverkopergehalte van 46 mg en een serumkopergehalte van 100  $\gamma$  heeft en Sjoukje van bedrijf 8 respectievelijk 170 mg en 100  $\gamma$ .

In fig. 9 zijn de kopergehalten van de lever en het serum uitgezet; op de abscis die van het serum en op de ordinaat die van de lever. De verdeling van de punten vertoont een zeer sprekend beeld en het hierboven besprokene komt hierop duidelijk naar voren.

Bij de bestudering van de punten werd besloten om niet één kromme, maar twee rechte lijnen door de punten te berekenen, nl. één, die evenwijdig aan de y-as verloopt en het gemiddelde weergeeft van alle serumkopergehalten, die behoren bij leverkopergehalten, groter dan 25 mg per kg en een regressielijn, die berekend is door alle punten behorende bij runderen, waarvan de leverkopergehalten kleiner dan 25 mg per kg zijn.

Dat de lijn evenwijdig aan de y-as inderdaad verantwoord is, werd hierboven reeds uiteengezet. Bij leverkopergehalten boven 25 mg is de schommeling van de serumkopergehalten om het gemiddelde namelijk zeer willekeurig, maar binnen bepaalde grenzen en doen de punten zeker geen verband tussen lever- en serumkopergehalten meer blijken. Dit komt overeen met de gedachte, dat het reguleringsmechanisme van normale melkkoeien het serumkopergehalte binnen zeer bepaalde grenzen zal kunnen houden.

Uit de berekening van het gemiddelde volgt, dat op de onderzochte bedrijven bij elk leverkopergehalte boven 25 mg een serumkopergehalte van  $85,3 \gamma \pm 10,5$  per 100 ml verwacht mag worden. Door toepassing van het t-criterium van „Studenti”-FISHER kan hieruit worden afgeleid, dat de serumkopergehalten van normale melkgevendende bedrijfsrunderen van het Fries-Hollandse ras met grote waarschijnlijkheid tussen 63 en 107  $\gamma$  per 100 ml liggen ( $P = 0,05$ ).

FIG. 9. Het kopergehalte van lever en bloedserum van melkgevende bedrijfsrunderen.

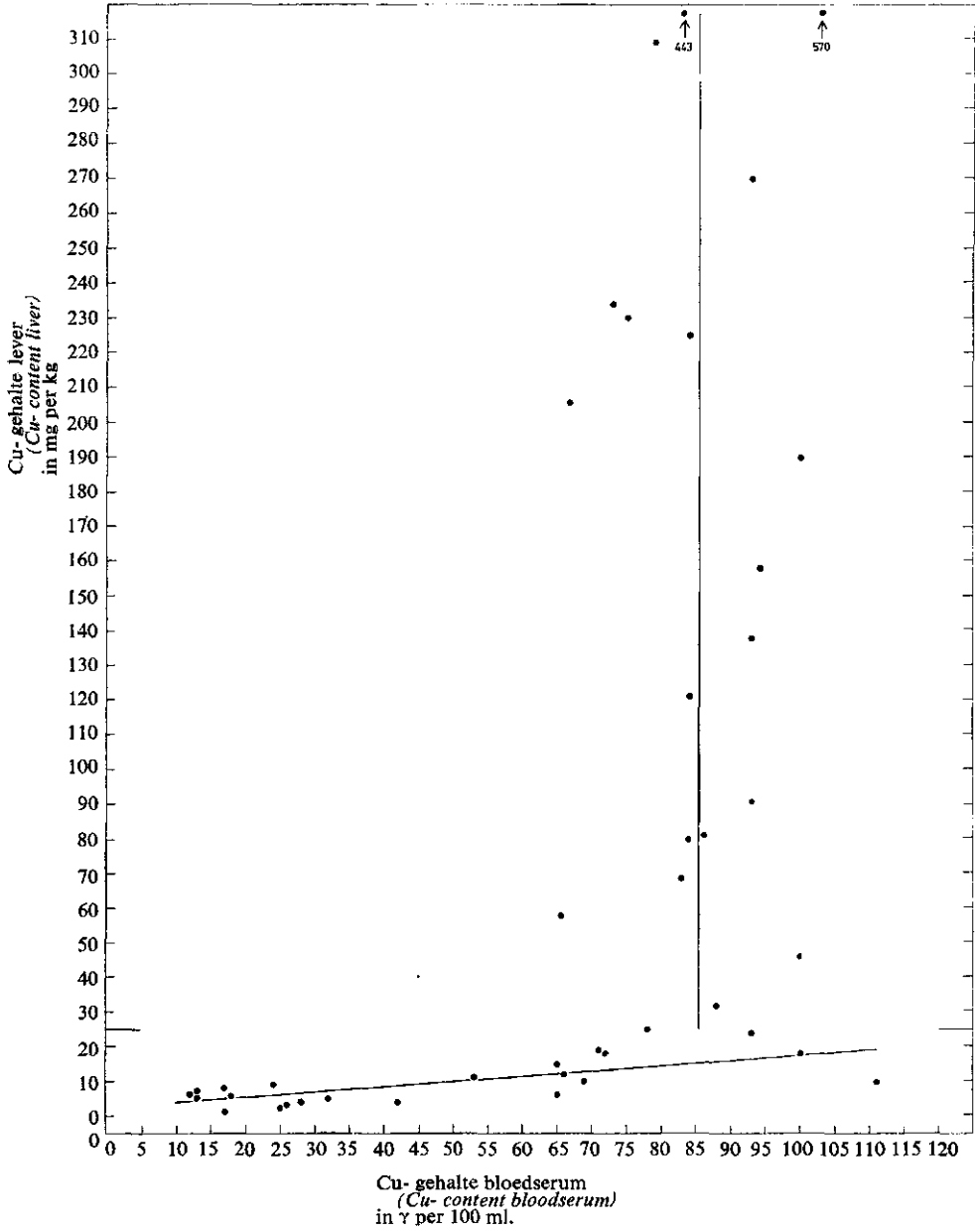


FIG. 9. The copper content of liver and bloodserum of dairy cows.

Door de 22 punten, die het verband weergeven tussen de serumkopergehalten en de leverkopergehalten voorzover deze beneden 25 mg per kg droge stof liggen, kan een regressielijn berekend worden met de volgende formule:

$$y \text{ (kopergehalte lever)} = 0,1493 (x - 45) + 8,9877$$

De regressiecoëfficiënt, die de richting van de lijn bepaalt met de bijbehorende middelbare afwijking, bedraagt  $0,1493 \pm 0,0295$ . Aangezien deze regressiecoëfficiënt meer dan vijfmaal zo groot is als zijn middelbare afwijking, mag, het aantal vrije vergelijkingen, waarop de berekening berust in aanmerking nemende, met grote waarschijnlijkheid vastgesteld worden, dat het verband tussen serumkoper- en leverkopergehalte positief is; met andere woorden: bij hogere waarde van het serumkoper behoort door-eengenenomen ook een hogere waarde van het leverkoper.

Uit het voorgaande volgt, dat serumkopergehalten kleiner dan  $60\gamma$  met zeer grote waarschijnlijkheid veroorzaakt worden door een te kleine koperreserve in de levers, mits het reguleringsmechanisme niet gestoord is. Zeer lage serumgehalten gaan dan gepaard met zeer lage gehalten van de lever.

Het is zelfs zo, dat het serumkopergehalte dan zeer betrouwbaar is voor de bepaling van de koperstatus, want bij de 269 door mij verrichte biopsieën is het maar éénmaal<sup>1</sup> voorgekomen, dat een serumkopergehalte kleiner dan  $30\gamma$  gevonden werd naast een levergehalte hoger dan 10 mg per kg droge stof.

Voor de practijk betekent dit, dat het bloedonderzoek voor het opsporen van koperstekorten bij het rundvee grote waarde heeft, indien men gehalten vindt, die kleiner zijn dan  $60\gamma$ . Men weet dan met vrij grote zekerheid, dat de kopervoorraad te klein is voor een optimale koperstofwisseling. Hierbij moet men echter met enige factoren rekening houden. Ten eerste moet men van één koppel ten minste 3 à 4 dieren (liefst 20 % van het totaal aantal dieren) in het onderzoek betrekken, ten tweede moeten deze dieren representatief zijn voor het gemiddelde van de betreffende veestapel, ten derde moeten zij ten minste één jaar op het bedrijf aanwezig zijn (verstoring van het reguleringsmechanisme door acclimatisering) en ten vierde moet meer dan 50 % van de onderzochte runderen een serumgehalte hebben, dat beduidend lager is dan  $60\gamma$  per 100 ml.

Vindt men daar tegenover serumkopergehalten, die  $60\gamma$  of hoger zijn, dan mag *niet* worden geconcludeerd, dat er voldoende reservekoper in het lichaam aanwezig is. Uit tabel 8 en uit figuur 9 blijkt duidelijk, dat het reguleringsmechanisme bij volwassen dieren als het ware tot het uiterste zal proberen om de koperspiegel van het bloed op een fysiologisch gewenst niveau te houden. Het is dus heel goed mogelijk, dat normale serumgehalten gevonden worden, terwijl de levervoorraad fysiologisch gezien reeds te klein is.

Hierdoor worden ook de wisselende resultaten verklaard, die bereikt werden met de extra koperverstrekking aan runderen met serumkopergehalten van 60 tot  $80\gamma$  per 100 ml tijdens ons onderzoek in 1951 en 1952 (Hoofdstuk I).

<sup>1</sup> Rund 6 (Hoofdstuk VI) had op een leeftijd van 17 maanden in October 1954 een serumkopergehalte van  $20\gamma$  en een leverkopergehalte van 24 mg.

## IX. OVERZICHT VAN DE BEREIKTE RESULTATEN EN DE CONSEQUENTIES HIERVAN

Tijdens de nazomer en herfst van 1951 en 1952 werd van 346 koeien, verdeeld over ruim 90 veehouderijen, het kopergehalte van het bloedserum bepaald in verband met weidediarrhee en andere klachten, waarbij verlaagde serumkopergehalten een rol zouden kunnen spelen, zoals slechte conditie, te lage melkproductie en verminderde vruchtbaarheid.

Bij dit onderzoek werd bij 33 % van de dieren een kopergehalte gevonden, dat lager was dan 40  $\gamma$  per 100 ml. 18 % had een gehalte van 40 tot 60  $\gamma$ , 31,5 % een gehalte van 60 tot 80  $\gamma$  en 17,5 % had een gehalte, dat hoger was dan 80  $\gamma$  per 100 ml. Door mij werd toen nog aangenomen, dat alle gehalten lager dan 80  $\gamma$  ongewenst waren en dat extra koperverstrekking in de vorm van kopersulfaat bij deze gehalten moest worden geadviseerd. Al heel spoedig werd bij deze extra kopertoediening opgemerkt, dat bij de serumkopergehalten van 60 tot 80  $\gamma$  in een aantal gevallen wél en in zeker hetzelfde aantal gevallen geen effect van deze extra kopertoediening was waar te nemen. Dit wees er op, dat gehalten van 60 tot 80  $\gamma$  waarschijnlijk in sommige gevallen niets te maken hadden met enige vorm van kopergebrek. Dit maakte, dat de beoordeling van bij de serumanalyse gevonden weinig verlaagde gehalten uiterst moeilijk, zo niet onmogelijk was.

Nu waren o.a. CUNNINGHAM, LOOSMORE en ALLCROFT tot de conclusie gekomen, dat niet het kopergehalte van het bloedserum, maar het kopergehalte van de lever de meest betrouwbare waardemeter was voor de beoordeling van de koperstatus, omdat de lever het depôt-orgaan van dit element is.

Er was echter maar weinig overeenstemming over het kopergehalte van de lever dat voor een optimale koperstofwisseling noodzakelijk is. Toen nu tijdens een Amerikaanse reis in 1952 persoonlijk werd kennis gemaakt met de methodiek der leverbiopsie, ontstond de gedachte, dat het met deze methode mogelijk moest zijn om vast te stellen, welke kopervoorraad in lever van jonge en volwassen bedrijfsrunderen gewenst is, door bij runderen van de geboorte af regelmatig de koperstatus te bepalen met behulp van leverbiopsie. Tevens zou het door middel van deze biopsie mogelijk zijn vast te stellen, welke serumkopergehalten al of niet betrouwbaar zijn voor het opsporen van kopertekorten, door bij een aantal melkgevende bedrijfsrunderen het kopergehalte van de lever en van het bloedserum te bepalen en te zien of er een verband tussen beide gehalten bestaat.

Alvorens echter met dit onderzoek zou kunnen worden begonnen, moest eerst worden vastgesteld, dat het kopergehalte van het levermonster, verkregen door biopsie, representatief is voor het gemiddelde kopergehalte van de lever.

Voor het onderzoek werd het kopergehalte van het leverweefsel en van het bloedserum volgens de colorimetrische methode met diaethyldithiocarbamaat bepaald (39). Hierbij werd gebruik gemaakt van de Beckman spectrophotometer model B.



## 1. BIOPSIE VAN DE LEVER

In het begin van de veertiger jaren deed de biopsie van de lever haar intrede in het diergeneeskundig onderzoek. DICK (16) gebruikte hiervoor de methode, die ook in de menselijke geneeskunde wordt gebruikt en die uitvoerig is beschreven door IVERSEN en ROHOLM (29). De 5 mm dikke trocart wordt hierbij 6-8 cm met een borende beweging in de lever gedrukt en het leverweefsel door middel van een spuit losgezogen (kleine methode).

WHITEHAIR c.s. (50) gebruikten voor hun onderzoek van het vitamine-A metabolisme een wijde trocart, die als speculum dienst doet en waar doorheen het biopsie-apparaat in de lever wordt geboord en het leverweefsel door middel van een metalen draadje wordt losgesneden (grote methode).

Met de kleine methode werd gemiddeld 400 mg leverweefsel verkregen en met de grote methode gemiddeld 2000 mg. De operatie-techniek van de kleine methode, die bij alle runderen kan worden toegepast, is eenvoudiger dan de grote, die alleen bij volwassen runderen mogelijk is, maar deze heeft het voordeel, dat men het gehele gebeuren met het oog kan waarnemen.

Bij beide methodes is de regeneratie van het leverweefsel volledig en kan de telkens herhaalde biopsie op dezelfde plaats gedaan worden.

De operatieplaats is voor beide in de twaalfde intercostale ruimte. Afhankelijk van de leeftijd van het proefdier wordt bij de „kleine” een huidsnede gemaakt van 1,5 cm, twee tot vijf centimeter onder de lijn van de dwarsuitsteeksels van de lendenwervels. Bij de „grote” wordt een huidincisie gemaakt van 4 cm, vijf en twintig tot acht en twintig centimeter van de dorsale middellijn.

In beide gevallen kan de operatie onder locale anaesthesie – behalve bij het pasgeboren kalf – bij het vrijstaande dier worden uitgevoerd.

## 2. VERDELING VAN HET KOPER IN DE LEVER EN HET KOPERGEHALTE VAN ENIGE ANDERE ORGANEN

Volgens alle onderzoekers is de lever het depôt-orgaan van het koper. Daardoor is het kopergehalte van de lever het beste criterium voor de bepaling van de koperstatus, omdat alle andere organen en weefsels een bepaald met hun functie samenhangend kopergehalte hebben, dat voortdurend aangevuld wordt uit het voedsel of uit de hoeveelheid reserve-koper, die in de lever aanwezig is. Indien dus in deze organen en weefsels verlaagde gehalten gevonden worden, dan kan dit op een meer deficiënte toestand van het dier wijzen, maar als normale gehalten gevonden worden, betekent dit alleen maar, dat op het moment van onderzoek een toestand van deficiëntie niet bestaat.

Om nu bij het levende bedrijfsrund de koperstatus met behulp van leverbiopsie te kunnen bepalen, moet het kopergehalte van dit leverweefsel representatief zijn voor het gemiddelde kopergehalte van de lever. Hiervoor werden 9 dieren van verschillende leeftijden onderzocht. Uit het onderzoek blijkt in de eerste plaats, dat het koper vrijwel gelijkelijk over de gehele lever verdeeld is en in de tweede plaats dat het kopergehalte van het biopsie-levermonster voldoende overeen komt met het gemiddelde kopergehalte van de lever (zie tabel 2).

### 3. PERIODIEKE BIOPSIE BIJ OPGROEIEND JONGVEE EN BIJ DRACHTIGE KOEIEN

Van 7 proefrunderen werd van Februari 1953 tot December 1954 van de geboorte af, maandelijks de koperstatus bepaald door middel van lever- en bloedserumonderzoek. Bij 3 andere proefdieren begon dit onderzoek drie maanden na de geboorte. Tijdens de eerste vijf levensmaanden groeiden ze 850 gram per dag en op een leeftijd van negentien maanden wogen 7 proefdieren gemiddeld 380 kg. Na één dekking werden vier van de zes dieren drachtig. Hieruit zou dus volgen, dat met grote waarschijnlijkheid geconcludeerd mag worden, dat de gegevens, verkregen door het toepassen van de biopsie-methodiek, gebruikt mogen worden voor de beoordeling van de koperstatus van gezonde dieren.

In de periode, dat de jonge dieren afhankelijk zijn van de voeding van melk of vervangingsproducten ervan, blijkt, dat het leverkopergehalte tijdens de eerste twee levensmaanden daalt met 65 % tengevolge van deze koperarme melkvoeding. Daar volgens COMAR c.s. (9) en anderen het bekleedende epitheel van de digestie-tractus relatief veel koper bevat en het digestie-apparaat in diezelfde tijd een grote evolutie doormaakt, is het van groot belang, dat hiervoor voldoende koper aanwezig is. Een leverkopergehalte van 300 mg per kg droge stof bij de geboorte is zeer gewenst.

Daar nu, blijkens het onderzoek van drie moederdieren met hun kalveren, het leverkopergehalte van het kalf afhankelijk is van dat van het moederdier (zie tabel 5), is het evenzeer gewenst, dat het leverkopergehalte van het moederdier vóór de partus hoger is dan 20 mg per kg droge stof. Uit maandelijks herhaalde biopsie bij vijf drachtige runderen blijkt, dat reeds vier maanden voor de partus het leverkopergehalte van deze dieren regelmatig afneemt, blijkbaar ten voordele van het leverkopergehalte van het embryo. Bij de proefdieren is deze afname 30 %. Dit betekent dus, dat vier à vijf maanden voor de partus het kopergehalte van de lever ten minste 40 mg per kg droge stof moet zijn voor een optimale koperstofwisseling van het dier zelf en voor een goede reservevorming van het koper in de lever van de groeiende vrucht.

In de periode, dat de opgroeiende runderen onafhankelijk zijn geworden van de melkvoeding, is het kopergehalte van de lever en het bloedserum, in de tijd, dat de dieren zich in de stal bevinden, vrijwel constant. Tijdens de daarop volgende weideperiode dalen beide regelmatig. Hieruit blijkt ten eerste, dat het reguleringsmechanisme bij deze jonge runderen nog niet in staat is het kopergehalte van het serum op een bepaald niveau te houden, maar dat dit gehalte mede afhankelijk is van het kopergehalte van de lever en ten tweede, dat de gehele weideperiode van 1954<sup>1</sup> verantwoordelijk is voor de daling van de beide gehalten en niet een gedeelte ervan. Daar bij een leverkopergehalte van 40 mg reeds een serumkopergehalte aanwezig kan zijn, dat waarschijnlijk niet voldoende hoog is voor een optimale koperstofwisseling, mag geconcludeerd worden, dat het kopergehalte van de lever van runderen tussen 1 en 2 jaar ten minste 50 à 60 mg moet bedragen.

<sup>1</sup> De weideperiode van 1954 kenmerkte zich door overvloedige grasgroei, veel neerslag en weinig zonneschijn.

#### 4. ONDERZOEK NAAR DE KOPERSTATUS VAN VOLWASSEN MELKGEVENDE KOEIEN

In de weideperiode van 1953 en 1954 werd van 42 melkgevende koeien van een negental bedrijven de koperstatus bepaald, om na te gaan of er een verband bestaat tussen het serum- en het leverkopergehalte. Hierbij werd, o.a. door een operatie ter plaatse, gezorgd, dat een mogelijke toestand van „stress”, die het kopergehalte van het bloedserum zou kunnen beïnvloeden, niet zou optreden.

Bij dit onderzoek kwam vast te staan, dat er een verband bestaat tussen de beide kopergehalten, indien het kopergehalte van de lever lager is dan 25 mg per kg droge stof. Bij leverkopergehalten hoger dan 25 mg doen de serum- en leverkopergehalten echter geen verband meer blijken, maar schommelen de serumkopergehalten binnen bepaalde grenzen om een gemiddelde. Van de onderzochte dieren is het gemiddelde serumkopergehalte bij deze leverkopergehalten  $85,3 \pm 10,5 \gamma$  per 100 ml. Bij toepassing van het t-criterium blijkt, dat het bloedkopergehalte van melkgevende bedrijfsrunderen van het Fries-Hollandse ras met grote waarschijnlijkheid tussen 63 en 107  $\gamma$  per 100 ml zal liggen ( $P = 0,05$ ).

Hieruit volgt tevens, dat serumkopergehalten kleiner dan 60  $\gamma$  met dezelfde waarschijnlijkheid veroorzaakt worden door een te kleine koperreserve van de lever.

Van de 42 door mij onderzochte melkgevende bedrijfsdieren hadden 25 stuks geen extra koper gehad. Als men nu aanneemt, dat leverkopergehalten lager dan 25 mg per kg droge stof voor een optimale koperstofwisseling ongewenst zijn, volgt hieruit, dat 84 % (21 stuks) van de 25 runderen dit gewenste kopergehalte niet had.

Ook BIJKERK (7) bepaalde voor zijn onderzoek het leverkopergehalte van normale slachtdieren. Uit dit onderzoek blijkt, dat 70 % een gehalte had dat lager was dan 25 mg. Bij een zelfde onderzoek van HOFSTRA (28) bleek 74 % van de dieren een gehalte te hebben, dat lager was dan 25 mg per kg droge stof.

Als we de resultaten van deze drie onderzoeken zouden beschouwen als waarnemingen, die gelden voor de gehele populatie, dan zou het dus mogelijk zijn, dat 75 % van de volwassen runderen van het Fries-Hollandse ras een koperstatus heeft, die niet optimaal kan worden genoemd.

## SUMMARY AND CONCLUSIONS

### THE COPPER CONTENT OF LIVER AND BLOOD SERUM IN FRIESIAN CATTLE

In the late summer and autumn of 1951 and 1952 the copper content of the bloodserum was determined in 346 cows, distributed over about 90 farms. This was done in connection with scouring disease in pasture and other disturbances, which could be expected to be related with decreased copper contents of the bloodserum, i.e. bad condition, decreased milkproduction and reduced fertility.

In this investigation 33 percent of the animals had a copper content below 40 $\gamma$  per 100 ml, 18 percent between 40 and 60 $\gamma$ , 31.5 percent between 60 and 80 $\gamma$  and 17.5 percent had a content higher than 80 $\gamma$  per 100 ml.

At that time we supposed, that all values below 80 $\gamma$  per 100 ml were undesirable and that in these cases it was advisable to give additional copper. In a number of cases with copper contents between 60 and 80 $\gamma$  it was observed, that the administration of additional copper had only a very slight effect, but in the same number of other cases no effect was observed at all.

This observation indicated, that in some cases copper values of the bloodserum, between 60 and 80 $\gamma$ , very probably, have nothing to do with any form of copper deficiency. This made the evaluation of only slightly reduced values extremely difficult, perhaps even impossible.

CUNNINGHAM, LOOSMORE and ALLCROFT had already arrived at the conclusion that instead of the copper content of the bloodserum the copper content of the liver is the most reliable standard for the evaluation of the copper status, because the liver is the chief depot of this element. However, there was no agreement about the copper content of the liver which guarantees optimum copper metabolism.

After having attended a demonstration of liver biopsy during a journey in U.S.A., it became clear to me, that with the aid of this method it would be possible to determine the desirable supply of copper in young and adult dairy cows by regular determination of the copper status, starting from birth. By determining the copper content of the liver and the bloodserum of normal dairy cows and by seeing if there is a relationship between both values, it also might be possible to determine which copper contents of the bloodserum can be used for a reliable diagnosis of copper deficiency. Before commencing this investigation it was necessary to make sure, that the copper content of the liversamples obtained by biopsy are similar to the mean copper content of the (whole) liver.

The copper content of the livertissue and the bloodserum was analysed by the diaethyldithiocarbamate method. For this analysis the Beckman B spectrophotometer was used.

#### 1. BIOPSY OF THE LIVER

In the early forties of this century biopsy of the liver became a useful method in veterinary science and animal biology. DICK (16) used the same method, which is employed in humans and which has been described in detail by IVERSEN and ROHOLM (29).

The trocar having a thickness of 5 mm is inserted with a boring movement into the liver to a depth of 6–8 cm and the liver tissue is loosened by the suction of a syringe (small method).

For the research on vitamin A metabolism WHITEHAIR c.s. (50) used a larger trocar, which was used as a speculum and through which the biopsy apparatus is inserted into the liver. The liver tissue is cut loose by a metal wire (large method).

By the method of DICK a.o. the specimen of fresh liver tissue obtained, has a mean weight of 400 mg and the specimen obtained by the method of WHITEHAIR a.o. has a mean weight of 2000 mg.

The operational technic of the first method is easier than the second one, which only can be used on cattle above 1.5 year of age. However, this last method has the advantage that the whole procedure can be carried out under full vision. In both methods the regeneration of the liver tissue is complete and it is therefore possible to repeat the biopsy in the same operation-place.

The seat of operation is for both between the twelfth and thirteenth rib. Depending on the age of the animal the skin incision (1.5 cm) of the small method is made from two to five centimeter below the line of the lateral processus of the lumbar vertebrae.

The incision (4 cm) by the second method is made twenty-five to twenty-eight centimeters from the dorsal middleline.

In both cases the operation is carried out under local anaesthesia.

## 2. DISTRIBUTION OF THE COPPER IN THE LIVER AND THE COPPER CONTENT OF SOME OTHER ORGANS

According to all investigators the liver is the depot of the copper. Therefore the copper content of the liver is the best criterion for the evaluation of the copper status. All other organs and tissues have the copper contents needed for their function and these are constantly supplemented by nutritional copper and by amounts of reserve copper from the liver. If low copper contents are found in these organs and tissues, this indicates a state of deficiency, but if normal contents are found, this only shows that the state of functional deficiency did not yet occur that moment. Nine animals of different ages were examined to determine if the specimens obtained by the biopsy had the same copper content as the mean copper content of the whole liver. From this investigation it was evident, in the first place, that the copper was distributed evenly over the whole liver and secondly, that the copper content of the specimen obtained by biopsy represents sufficiently the mean copper content of the liver (see table 2).

## 3. REPEATED BIOPSY IN YOUNG CATTLE AND IN PREGNANT COWS

Monthly, starting from birth, the copper content was determined from February 1953 till December 1954 in liver and in bloodserum of seven animals. In three other animals a similar investigation started three months after birth.

During the first five months of life they grew 850 g daily and at an age of nineteen months the average weight of the young cows was 380 kg. After only one service four

out of six became pregnant. With great probability the conclusion can therefore be drawn, that these data, obtained by liver biopsy and serum analysis, may be used for the evaluation of the copper status of normal bovines.

In the period, that the young calves are depending on milkfeeding – which is poor in copper – the copper content of the liver decreases 65 percent.

Because – according to COMAR c.s. (9) and others – the epithelium of the digestive tract contains relatively much copper and the digestive apparatus passes through a huge evolution during that time, it is of great importance, that sufficient copper is available. A livercopper content of at least 300 mg per kg d.m. at the moment of birth is therefore very desirable.

As the investigation of three cows and their calves demonstrated, that the livercopper content of the calf depends on that of the mother (see table 5) it is equally desirable, that the livercopper content of the mother before parturition is more than 20 mg per kg d.m. Monthly repeated biopsy in five pregnant cows showed, that already four months before calving the liver content decreases regularly, obviously for the benefit of the livercopper content of the embryo.

In the test animals this diminution is 30 percent. This indicates, that for an optimum copper metabolism of the cow herself and for the development of a good copper reserve in the liver of the growing foetus, the copper content of the liver must be at least 40 mg per kg d.m. four to five months before calving.

During the period, that the growing cattle have become independent of milk feeding, the copper content of the liver and the bloodserum is fairly constant as long as they are stabled, but from the time that the animals are turned out on pasture both copper contents diminish regularly (see figure 6).

The conclusion which can be drawn in the first place is, that the regulating mechanism of the young animals is not adequate to keep the copper content of the serum on a fixed level, because this content was related closely to the copper content of the liver. In the second place, that the *whole* pasture season of 1954 was responsible for the decline of both values and not a period of it.

As livercopper contents of 40 mg can be present simultaneously with serum copper contents which are in all probability insufficient for an optimum copper metabolism, the conclusion may also be drawn that the copper content of the liver of cows between one and two years of age has to be at least 50 to 60 mg per kg d.m.

#### 4. THE COPPER STATUS OF ADULT LACTATING COWS

During the pasture season of 1953 and 1954 the copper status was determined in 42 lactating cows on nine different farms, to observe the relationship, if any, between the copper content of the bloodserum and the liver.

By operating on the spot it was tried to avoid a condition of „stress”, whereby the copper content of the blood might be influenced. By this investigation it becomes clear, that there is a relationship between both copper contents, if the copper content of the liver is below 25 mg per kg d.m.

But if the copper contents are higher than 25 mg this relationship does not longer exist. In these cases the serumcopper content fluctuates between certain limits.

With copper contents of the liver above 25 mg the average serumcopper content is namely  $85.3 \pm 10.5$  per 100 ml.

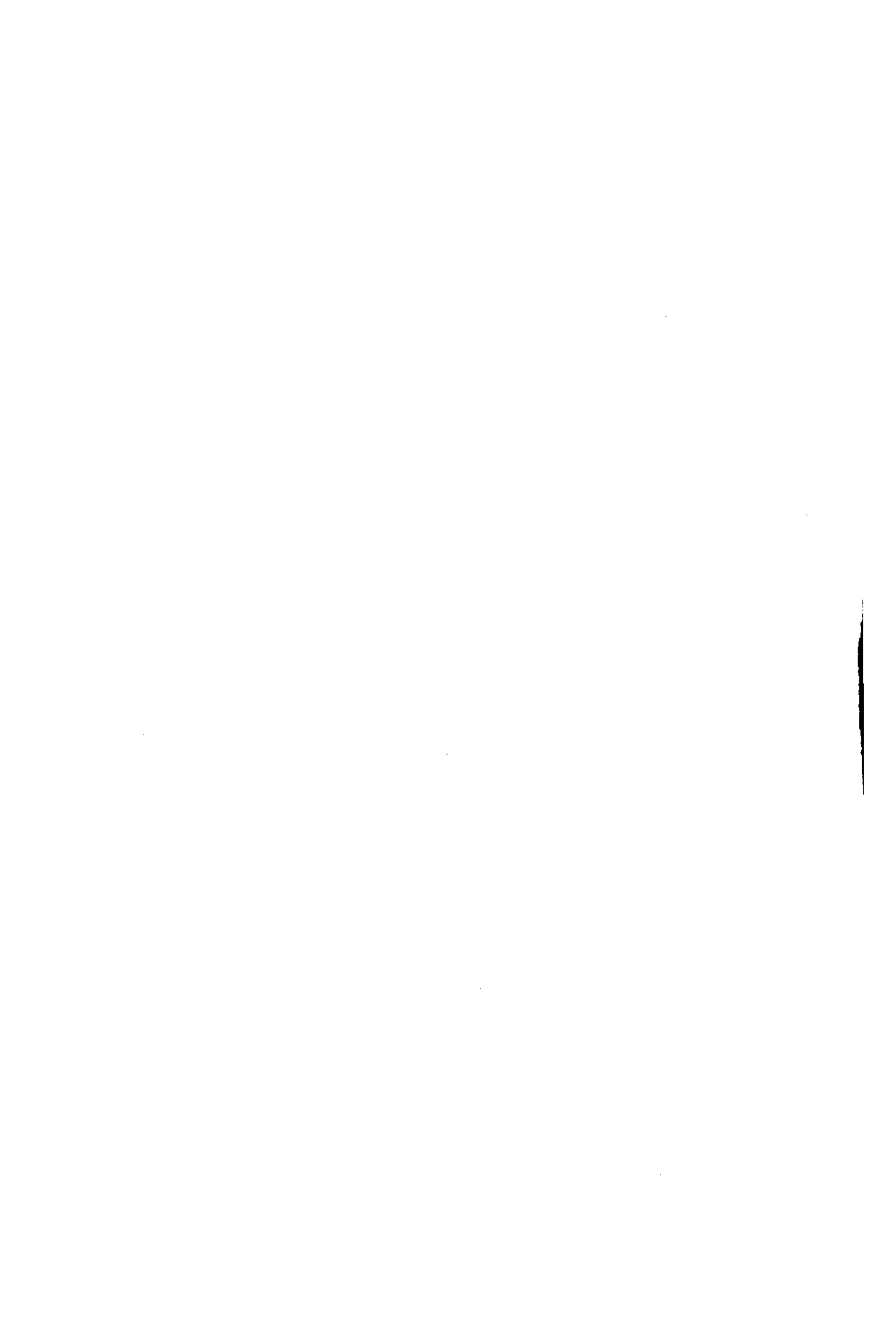
By the application of the t-criterion it is apparent, that the copper content of the bloodserum in lactating Friesian cows lies between 63 and 107  $\gamma$  per 100 ml ( $P = 0.05$ ).

At the same time it can be concluded – with the same probability – that copper contents less than 60  $\gamma$ , are related with a too small reserve of the copper in the liver.

Twenty-five of the forty-two lactating cows, which we examined, had not been given any additional copper. Accepting the fact, that copper contents of the liver below 25 mg per kg d.m. are undesirable for an optimum copper metabolism, it follows, that 84 percent (21 head) of the 25 cows did not have this desired copper content.

BIJKERK (7) determined the copper content of the liver of normal slaughter cattle. He found, that 70 percent of his animals had a content below 25 mg. In a similar investigation by HOFSTRA (28) it was evident that 74 percent of the cattle had a content lower than 25 mg.

If we accept, that the results of these three investigations are applicable to the whole cattle population, than we may conclude, that 75 percent of the adult Friesian cattle has a copper status, which is not optimal.





## LITERATUUR

1. ALLCROFT, R., PARKER, W. H. *Brit. J. Nutr.* 3 (1949) 205.
2. BECK, A. B. *Austr. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 19 (1941) 249.
3. BECKER, D. E., SMITH, S. E. and LOOSLI, J. R. *Science* 110 (1949) 71.
4. BONE, J. F. *The North Am. Vet.* 35 (1954) 747.
5. BOUGHTON, I. B., HARDY, W. T. *Agr. and Mech. College of Texas, Bull.* 499 (1934).
6. BROUWER, E., FRENS, A. M., REITSMAN, P., KALISVAART, C. *Versl. Landbouwk. Onderz.* 44 (4) C. (1938) 267; *Landbouwk. Tijdschr.* 50 (1938) 598.
7. BIJKERK, R. Diss. Utrecht. 1949.
8. CARTWRIGHT, G. E. A Symposium on Copper metabolism. 274-315. Baltimore. The Johns Hopkins Press. 1950.
9. COMAR, C. L., DAVIS, G. K. and SINGER, L. *J. Biol. Chem.* 174 (1948) 905.
10. CORRIE, F. E. *London Fertiliser J.* 1948.
11. CUNNINGHAM, I. J. *New Zealand J. Sci. Tech.* 27 (1946) 381.
12. ———— *New Zealand J. Sci. Tech.* 27 (1946) 372.
13. ———— *New Zealand J. Agr.* 69 (1944) 599.
14. DAMMERS, J., DIJKSTRA, N. D., FRENS, A. M. *Versl. Landbouwk. Onderz.* 57.9. 1951.
15. DELS, W. B., GRIFT, J. v. D., SEEKLES, L., WIND, J. Sporenelementen en andere Biochemische onderwerpen bij planten en dieren (1954). 's-Gravenhage, Uitgeverij Excelsior.
16. DICK, A. T. *Austr. Vet. J.* 20 (1944) 298 and *Austr. Vet. J.* 28 (1952) 234.
17. ———— *Austr. J. Agr. Res.* 5 (1954) 511.
18. ELVEHJEM, C. A., STEENBOCK, H. and HART, E. B. *J. Biol. Chem.* 83 (1929) 27.
19. ESCH, G. J. VAN, HART, P. C. *Landbouwk. Tijdschr.* 65 (1953) 738.
20. FERGUSSON, W. S. *J. Agr. Sci.* 33 (1943) 116.
21. FRENS, A. M. *Tijdschr. v. Diergeneesk.* 68 (1941) 763.
22. GODDEN, W. *Chem. and Ind.* 58 (1939) 791.
23. GORTER, F. J. *Nature* 136 (1935) 185.
24. HAMMOND, J. Progress in the physiology of farm animals. London. Vol. I 1954.
25. HART, E. B., STEENBOCK, H., WADDELL, J. and ELVEHJEM, C. A. *J. Biol. Chem.* 77 (1928) 797.
26. ———— *J. Biol. Chem.* 77 (1928) 797.
27. HOFSTRA, S. T. Diss. Utrecht, 1952.
28. IVERSEN, P. and ROHOLM, K. *Acta med. Scandinav.* 102 (1939) 1.
29. JAMIESON, S. and ALLCROFT, R. *Brit. J. of Nutr.* 4 (1950) 16.
30. KAMERMANN, P. A. E. *South African J. of Sci.* 49 (1953) 285.
31. KEILIN, D., MANN, T. *Proc. Roy. Soc. Sec. B* 125 (1938) 187.
32. KENNEDY, W. L., ANDERSON, A. K., BECHDEL, S. I. and SHIGLEY, J. F. *J. Dairy Sci.* 22 (1939) 251.
33. LAGERLOF, N. *Skand. Vet. Tidskr.* 19 (1929) 253.
34. LOESCHE, A. Z. *Phys. Chem.* 199 (1931) 125.
35. LOOSMORE, R. M. and ALLCROFT, R. *Vet. Rec.* 63 (1951) 414.
36. MORRISON, D. B., NASH, T. P. J. *J. Biol. Chem.* 88 (1930) 479.
37. POUNDEN, W. D., HIBBS, J. W. *J. Dairy Sci.* 30 (1947) 582.
38. REITH, J. F., RAMEAU, L. B., MULDER, E. G., SEEKLES, L., KNIPHORST, L. C. E., DEYS, W. B. *Chem. Weekbl.* 43 (1947) 106.
39. SAVAGE, E. S. and MCCAY, C. M. *J. Dairy Sci.* 25 (1942) 595.
40. SCHUBERT, G., VOGT, H., MAURER, W., RIEZLER, W. *Naturwissenschaften* 31 (1943) 589.
41. SEEKLES, L. *Tijdschr. v. Diergeneesk.* 71 (1946) 304.
42. ———— *Vet. J.* 104 (1948) 279.
43. ———— *14e Intern. Vet. Congress London* (1949).
44. ———— *Rec. Med. Vet. Alfort* (1949) 797.
45. SEGHETTI, L. and MARSH, H. *Am. J. Vet. Research.* 14 (1953) 9.
46. SJOLLEMA, B. *Biochem. Zeitschr.* 295 (1938) 372; *Landbouwk. Tijdschr.* 50 (1938) 598.
47. SMITH, S. E. *Agricultural Chemistry II.* 1951. 347, 375.
48. UDALL, R. H., WARNER, R. G. and SMITH, S. E. *Cornell Vet.* 42 (1952) 25.
49. WHITEHAIR, C. K., PETERSON, D. R., VAN ARSDELL, W. J. and THOMAS, O. O. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 121 (1952) 285.
50. WILKERSON, A. V. *J. Biol. Chem.* 104 (1934) 541.

