

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Material

3.1.1.1. Betrieb1

Das Datenmaterial wurde im Untersuchungszeitraum vom 28.05.1999 bis zum 9.10.2000 gewonnen. Bei dem Tiermaterial handelte es sich um eine schwankende Anzahl von 30 bis 55 Kühen der Rasse Holstein-Friesian mit einer durchschnittlichen Jahresmilchleistung von etwa 9.000 kg/Kuh. Die durchschnittliche Milchmenge lag bei 32 kg/Kuh/Tag. Es handelte sich um ein offenes System, in dem ständig eine geringe Fluktuation (ca. 5Kühe/Monat) zwischen der Roboterherde und der FGM-Herde (300 melkende Kühe) bestand. Euterkranke Kühe wurden aus der über den Roboter gemolkenen Herde herausgenommen. Die Kühe am Roboter wurden in einem zweireihigen Liegeboxenlaufstall mit 83 Tiefstreuboxen und planbefestigten Laufgängen gehalten. Es war eine Einboxenanlage der Firma Lely (Astronaut) - Typ 20 installiert (ab Frühjahr 1999), die im 24-h-Betrieb arbeitete. Die Kühe bewegten sich im freien Kuhverkehr. Die Futtervorlage erfolgte einmal am Tag in Form einer partialen Mischration für etwa 28 kg Milchleistung. Das Futter wurde dreimal täglich herangeschoben. Das restliche Kraftfutter wurde im Roboter angeboten.

In der Zeit des „Lactocorderversuches“ (13.03.2000 bis 15.03.2000) befanden sich 56 melkende Kühe in der Gruppe, die vom Roboter gemolken wurde.

3.1.1.2. Betrieb 2

Die Datenerhebung wurde hier in einem Untersuchungszeitraum vom 19.09.2000 bis zum 9.10.2001 vorgenommen. Bei dem Tiermaterial handelte es sich um eine schwankende Anzahl von 100 bis 140 Kühen der Rasse Holstein-Friesian mit einer durchschnittlichen Milchleistung von 8.500 kg/Kuh/ Jahr. Sie wurden hauptsächlich in zwei Stallgruppen gehalten - Gruppe 1 waren Frischmelker und Gruppe 2 Altmelker. Beide Gruppen wurden in je einem AMS gemolken. Einige Tiere bildeten die Gruppe 3, die „Rohrmelkergruppe“ (etwa 15 Tiere zur Ausbildung der Lehrlinge an der Rohrmelkanlage, Strichverletzungen). Sie liefen im Stallabteil der Gruppe 1 mit und wurden über die vorhandene Rohrmelkanlage gemolken. Diese Milch wurde mit der im Roboter gewonnenen Milch im Tank gemischt. Die durchschnittliche Milchmenge

der Gruppe 1 (Frischmelker) lag bei 37 kg/Kuh/Tag. Zwischen Gruppe 1, Gruppe 2 und den Trockenstehern bestand immer ein geringer Tierwechsel (0 bis 10 Tiere/Monat). Die Färsenzutreter (Erstkalbinnen) entstammten der eigenen Nachzucht. Die euterkranken Tiere wurden in den Herden belassen. Die intrazisternalen Behandlungen erfolgten mit Cloxacillin® (1000mg Cloxacillin/Viertel) oder NPV-Suspension® (Neomycinsulfat 25 mg + Benzyl-Penicillin-Procaïn-1H₂O 100.000 IE/Viertel). Die Erstkalbinnen wurden grundsätzlich bis zu 24 Stunden nach der Kalbung einmalig mit Tylosel 200® (Wirkstoff: Tylosin - 30 ml intramuskulär) aufgrund eines gehäuften Auftretens von akuten Sta.-aureus-Mastitiden behandelt. Bei der Aufstallung handelte es sich um einen vierreihigen Liegeboxenlaufstall mit Außenfütterung und Spaltenboden mit zusätzlichem Kotschieber. Im Abteil der Gruppe 1 befanden sich 67 Liegeplätze (15 als Tiefstreubox, 52 als Hochbox mit Liegematte), im Abteil der Gruppe 2 Hochboxen mit jeweils unterschiedlichen Liegematten. In jedem der zwei Abteile war eine Einboxenmelkanlage der Firma Lely (Astronaut) - Typ 30 seit Herbst 1999 installiert, die im 24-h-Betrieb arbeitete. Für Gruppe 1 lag ein freier, für Gruppe 2 ein gelenkter Kuhverkehr vor. Die Futtevorlage erfolgte einmal am Tag für beide Gruppen in Form einer partiellen Mischration für etwa 23 kg Milchleistung und wurde mehrere Male am Tag herangeschoben. Das restliche Kraftfutter wurde im Roboter angeboten.

3.1.1.3. Melktechnik

a) Spezielle Melktechnik. Die Boxenzahl pro Roboter betrug 1. Die Melkbox war mit Gittertoren verschließbar. Die Gittertore und der Melkarm wurden pneumatisch bedient. Die Tiererkennung wurde über Sensoren realisiert. Die Euterreinigung erfolgte durch gegenläufig rotierende Reinigungsbürsten aus Plastik, welche nach jeder Melkung mit PES-Lösung desinfiziert wurden. Eine Sauberkeitskontrolle der Euter nach deren Reinigung konnte vom Roboter nicht durchgeführt werden. Die Zitzensuche erledigte ein Laser, das Ansetzen wurde im Vierermodul vorgenommen und gemolken wurde im Wechseltakt. Die Zitzenbecher (mit Silikonzitzengummis ausgestattet) wurden viertelindividuell (nach Milchfluß) abgenommen. Zum Austrieb diente eine elektrische Austreibhilfe. Für die Melkzeuhygiene zwischen zwei Melkungen wurden eine Zwischenspülung mit Wasser oder eine Zwischendesinfektion verwendet. Zur Diagnostik wurden am Roboter die Messung der viertelbezogenen Leitfähigkeit der Milch und der Gesamtgemelksmenge sowie die Erfassung der

Ansetzdauer und der Melkdauer pro Viertel durchgeführt. Die Milchmengenmessung erfolgte über einen Schwimmer im Milchsammelbehälter und die Erfassung der elektrischen Leitfähigkeit über in die langen Milchschräuche integrierte Leitfähigkeitssensoren. Sensoren zur Erkennung von Farbabweichungen der Milch (MQC - Milk Quality Control-System) waren in den Robotern von Betrieb 2 ab Februar 2001 installiert und mit den Leitfähigkeitssensoren räumlich verknüpft. Diese Sensoren wurden im Juli 2001 in Betrieb genommen. Es lag ein sogenanntes Zentrales Reinigungssystem - das CRS - vor. Als Bedienelemente standen der Nebenfunktionskasten, das Roboterbedienfeld und der gekoppelte Personalcomputer mit dem Managementprogramm (Expert) der Firma NEDAP zur Verfügung. Die nutzbare Datenablage erfolgte in Form von „Daily backups“. Diese Dateien konnten nach dem 10.07.2001 nicht mehr verwendet werden, da eine Inkompatibilität zwischen Demonstrationsversion auf den Universitätsrechnern und der Roboterversion des NEDAP-Programmes auftrat.

b) Elemente der Mastitisiagnostik.

- Elektrische Leitfähigkeit. Die Firma Lely gibt den Wert der Leitfähigkeit in NEDAP-Einheiten an, was einem Umrechnungsfaktor von ca. 16 gegenüber der in der Literatur angegebenen Einheit Millisiemens pro Zentimeter (mS/cm) entspricht. Der gleitende Mittelwert wird aus den letzten drei Melkungen gebildet. Die Schwellenwerte können von dem Besitzer selbst eingestellt werden. Die Überschreitung dieser Werte hat die Ausgabe eines sogenannten „Leitfähigkeitsalarms“ zur Folge. Bei der Ausgabe einer Alarmliste erscheint ein Stern an dem betreffenden Meßwert. Unter dem Menü-Punkt „Gesundheit >> Leitfähigkeit“ ist eine Übersicht abzurufen, die den EL-Wert der letzten Melkung, den gleitenden Durchschnitt des Viertels und die aktuelle prozentuale Abweichung vom geringsten aktuellen Viertelwert (Differenzmethode) sowie jede Art von Alarm für das Viertel angibt. Zur Einstellung durch den Landwirt und zur Ermittlung der Leitfähigkeitsschwellenwerte kann die Übersicht „Gesundheit >>Einstellungen>> Leitfähigkeit“ genutzt werden. Die Herstellervorgabe kann bezüglich eines akuten Hinweises verändert werden (Lely-Handbuch zum NEDAP-Programm und Astronaut Service Manual 3.3.3 Robot Information Healthmenu V001)(Abweichende Einstellungen Betrieb 1 bis 12/99 = B1.1. und ab 12/99 = B1.2. und Betrieb 2 = B2; in Sternen (**): Herstellereinstellung):

1. - die Anzahl der höchsten Leitfähigkeitsmessungen in einer Melkung, die einen Leitfähigkeitswert ergeben (Durchschnitt); (B1.1.+B1.2. = 10, B2 = 15, *20*),
2. - die mögliche prozentuale Abweichung der aktuellen Meßwerte der Viertel vom Wert des Viertels mit dem aktuell niedrigsten Meßwert, über der ein Alarm ausgelöst wird (die Aktivität von Punkt 2. wird durch die Einstellung Punkt 3. beeinflusst - siehe Punkt 3.); (B1.1.+1.2. = 15, *20*),
3. - ein Prozentsatz gibt an, in welcher Höhe der aktuelle gleitende Durchschnitt eines Viertels vom aktuellen gleitenden Mittelwert des Viertels mit dem geringsten gleitenden Mittel abweichen darf, bevor es einen „akuten Alarm“ auslöst. Dieses ist eine dominante Eingabe gegenüber Punkt 2.. Wird 3. = 0 gesetzt, kommt 2. als Alarmschwelle in Funktion; (B1.1.+1.2. = 15, B2 = 0, *20*),
4. - die maximale Standardabweichung, die ein Meßwert haben darf, um beim gleitenden Durchschnitt pro Kuh berücksichtigt zu werden (B1.1.+1.2. = 2, *3*),
5. - die Toleranz bis zu welcher prozentualen Abweichung des Leitfähigkeitswertes ein Alarm angegeben werden darf (*50 %*),
6. - der minimal erlaubte Leitfähigkeitswert (B1.1. = 60, B1.2. = 50, *50*),
7. - der maximal erlaubte Leitfähigkeitswert (B1.2. = 150, *140*),
8. - der minimal erlaubte Leitfähigkeitswert bei dem ein Alarm ausgelöst wird (B1.1.+1.2. = 60, B2 = 60, *50*).

Ein Alarm wird gegeben, wenn folgende vier Bedingungen gemeinsam erfüllt sind:

- a) Der gemessene Wert ist $> 20\%$ (kann festgelegt werden) höher als das Viertel mit dem niedrigsten gemessenen Wert.
- b) Der gemessene Wert aus der vorhergehenden Melkung ist $> 20\%$ (kann festgelegt werden) höher als das Viertel mit dem niedrigsten gemessenen Wert aus der vorhergehenden Melkung.
- c) Der gleitende Durchschnitt ist $> 20\%$ (kann festgelegt werden) höher als das Viertel mit dem geringsten gleitenden Durchschnitt. Der gleitende Durchschnitt wird aus den letzten drei Melkungen errechnet.
- d) Der gemessene Wert ist höher als ein Minimum, das festgesetzt ist.

- MQC - Milk Quality Control-System. Das MQC mißt mit Hilfe eines sogenannten Farbsensors die Farben der Milch während des Milchflusses. Visuelle, farbliche Abweichungen der Milch von der Norm sollen hiermit erfaßt werden.

3.1.1.4. Zur Desinfektion verwendete Lösungen

Zur Zitzendesinfektion nach dem Melken wurde das Präparat p-3-cide® plus (Verwendungskonzentration mit 2600 bis 2900 ppm bzw. mg/kg verfügbarem Jod) der Firma Henkel-Ecolab GmbH verwendet. Zur Desinfektion von Reinigungsbürsten und Zitzengummis wurde das Desinfektionsmittel Wofasteril® der Firma KESLA PHARMA WOLFEN GMBH mit einer Konzentration von 800 bis 1200 ppm PES verwendet.

3.1.2. Methodik

3.1.2.1. Methoden zur Eutergesundheitsuntersuchung und Diagnosestellung

Die Untersuchung der laktierenden Kühe im AMS auf Eutergesundheit wurde im Abstand von 4 Wochen durchgeführt. Auf dem Betrieb 1 erfolgte dieses innerhalb von zwei Stunden unter Verwendung des auf dem Betrieb vorhandenen Fischgrätenmelkstandes. Es wurden nacheinander vorgenommen: Vormelkprobe, Mastitis-Schnelltest, Probennahme für die bakteriologische Untersuchung und anschließend die klinische Untersuchung des Euters. Auf dem Betrieb 2 war die Milchuntersuchung und Milchprobennahme in der Roboterbox notwendig. Nur bei einer Untersuchung wurde der Mastitis-Schnelltest durchgeführt. Nach dem Melken wurden die Tiere im Selektionstor fixiert und die klinische Euteruntersuchung vorgenommen. Der Zeitaufwand betrug zwischen 10 und 12 Stunden für 55 bis 60 Tiere.

a) Klinische Untersuchung. Die spezielle Untersuchung der Milchdrüse erfolgte durch Adspektion und Palpation des Gewebes und durch Sekretbeurteilung (Vorgemelk) bei meist gleichen Untersuchenden. Starke Einblutungen in das Hohlraumssystem des Euters (Blut) kamen in beiden Beständen im Untersuchungszeitraum nicht vor. Nach Fuchs (1994) kommen geringe Blutbeimengungen, die bei Erhalt des Milchcharakters zur Rosafärbung der Milch führen, durch Diapedesisblutungen zustande und sind bei frischlaktierenden Tieren nicht ungewöhnlich („physiologisches Blutmelken“), deshalb werden diese in der vorliegenden Arbeit nicht als Sekretveränderung, basierend auf einer Entzündung, sondern separat als blutiges Sekret (b) betrachtet und bei der Bewertung der Leistungsfähigkeit der Roboterdiagnostik zur Erkennung von Euterentzündungen nicht

einbezogen. Durch das Tier selbst trockengestellte Viertel waren klinisch kaum von verödeten aufgrund Mastitis zu unterscheiden. Deshalb werden sie hier zusammen aufgeführt. In die Auswertung gingen folgende differenzierte Veränderungen

- im Sinne der Resultate von Euterentzündungen ein:

atrophisches Viertel	- at
derbes Viertelgewebe	- d
Groß- und Kleinknotigkeit, Strangbildung im Gewebe des Viertels	- Kn, kn, strng
Sekretveränderungen (Flocken, Eiter, Wäßrigkeit, Blut)	- Svä
tote Viertel (selbst trockengestellt oder verödet)	- tot
- oder als prädisponierende Faktoren für Mastitiden ein:	
blutiges Sekret (Milch leicht rosa)	- b
Hyperkeratose des Zitzenkanals	- Hk
Zitzenverletzung	- Zv

b) Bakteriologische Untersuchung. Nach der Desinfektion der Zitzenspitzen mit 70-prozentigem Alkohol wurden die Viertelgemelksproben unter sterilen Kautelen entnommen. Die Probenlagerung schloß sich für maximal 48 Stunden im Kühlschrank an. Die bakteriologische Untersuchung auf Mastitiserreger erfolgte nach Standardmethode² ohne Antibiogramm. Sämtliche Milchproben wurden auf hemmstofffreiem 6 %-igem Blutagar und Neomycin-Staphylokokkentoxin – Aesculin – Blutagar angelegt. Weiterhin wurden notwendige Spezialnährböden verwendet. Die Untersuchungsmethoden orientieren sich an den Leitlinien zur Isolierung und Identifizierung von Mastitiserregern (DVG, Gießen, März 2000), LABORATORY and FIELD Handbook on bovine mastitis (National Mastitis Council 1987, USA), Untersuchungsmethoden - AVID, Arbeitsanweisungen (Mastitisiagnostik – DDR).

c) Untersuchungen auf Zellzahl (Gesamtgemelk/ Viertelgemelk)

- Mastitis-Schnelltest (nach Schalm)

Nach dem Verwerfen des Vorgemelkes wurden je Viertel ca. 3 ml Zisternenmilch in die Test-Schalen gemolken und ebensoviel Test-Flüssigkeit dazugegeben. Der Inhaltsstoff der Testflüssigkeit (Alkyl-Arylsulfonat) führt bei vermehrtem Zellgehalt (Zellkerne) zur Schlieren- und Gelbildung in der Flüssigkeit. Zusätzlich kommt es bei

² Staatliches Veterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt Potsdam

pH-Wertveränderungen der Milch zu Farbänderung durch den pH-Indikator Bromkresolpurpur. In Betracht gezogen wurden die Gel- und Schlierenbildung. Der Test ermöglicht das Ablesen verschiedener Zellbereiche (siehe Tabelle 15).

Tab. 15: Bewertung des Mastitis-Schnelltestes zitiert bei Wendt (1998)

Grad	Farbe - Konsistenz	annähernde Zellzahl/ml
-	hellrot-violett, flüssig	< 300.000
+	weinrot, leichte Schlierenbildung	bis 600.000
++	intensiv dunkelrot-violett, auffällig schleimig	bis 1,5 Mio.
+++	Purpurfärbung, schlechte Mischung, zusammenhängendes Gel (Gallerte)	> 1,5 Mio.

- Fossomaticmethode - Zellzahlermittlung und -erfassung aus der Leistungsprüfung und Zellzahlermittlung aus mit einem Lactocorder genommenen Viertelgemelksproben

Die Erhebung der Zellzahldaten der Gesamtgemelke konnte zeitgleich mit den anderen Untersuchungen aus den Ergebnissen der monatlichen Milchleistungsprüfung für annähernd jeden Untersuchungsmonat (außer Juli 1999) erfolgen. Mit Hilfe eines speziellen Probennahmegerätes (Shuttle) wurde von jedem Gemelk eine repräsentative Milchprobe entnommen und vom Landeskontrollverband in Waldsiedersdorf mit der Fossomaticmethode („Fossomat 5000“) hinsichtlich der Zellzahl untersucht. Hierbei werden Zellkerne mit Ethidiumbromid angefärbt und anschließend fluoreszenzoptisch im Sinne der Durchflußzytometrie gezählt. Dieses Vorgehen entspricht einem Routineverfahren laut Milchgüteverordnung nach L 01.01.-1 der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren gemäß § 35 Lebensmittel- und Bedarfsgegenstände-

gesetzt. Die Zellzahlen werden als gewichtetes arithmetisches Mittel aus den Ergebnissen der Gemelke eines Tages errechnet.

Zur Erfassung von Viertelgemelkszellzahlen wurden Proben mit Hilfe von Lactocorder-Geräten während des Milchflusses entnommen, die dann ebenfalls vom Landeskontrollverband untersucht wurden. Die Proben für die Erfassung der Viertelgemelkszellzahlen wurden in Betrieb 1 etwa 6 Tage nach der MST-Untersuchung entnommen. In Betrieb 2 folgte das Gemelk der Probenentnahme dem Gemelk der MST-Testung direkt.

d) Diagnosestellung für das Tier bzw. Euter aus der Kombination der klinischen und bakteriologischen sowie der Zellzahluntersuchung mit Fossomaticmethode.

- gesund: frei von klinischen Symptomen (außer Hyperkeratose und „physiologischem Blutmelken“), kein Mastitiserregernachweis, Zellzahl ≤ 100.000 Zellen/ml
- latent infiziert: frei von klinischen Symptomen (außer Hyperkeratose und „physiologischem Blutmelken“), Mastitiserregernachweis, Zellzahl ≤ 100.000 Zellen/ml
- subklinisch infiziert: frei von klinischen Symptomen (außer Hyperkeratose und „physiologischem Blutmelken“), Mastitiserregernachweis, Zellzahl > 100.000 Zellen/ml
- klinisch krank: klinische Symptome (außer Hyperkeratose und „physiologischem Blutmelken“), mit oder ohne Mastitiserregernachweis, Zellzahl \leq oder > 100.000 Zellen/ml

e) Untersuchungen zur elektrischen Leitfähigkeit. Sie wird viertelbezogen durch Sensoren in den langen Milchschräuchen des Roboters gemessen und über die gesamte Melkung viertelweise erfaßt (alle 5 sec). Aus den höchsten Meßwerten (ca. 20) wird ein Mittelwert gebildet, für diese Melkung gespeichert. Die Überschreitung der Schwellenwerte hat die Ausgabe eines sogenannten „Leitfähigkeitsalarms“ zur Folge. Die Angabe eines solchen Hinweises wurde für die Betrachtungen als Grundlage gewählt und mit ausgedruckten Listen als Datengrundlage vor der Untersuchung gesichert. Die Überprüfung der Aussagefähigkeit der elektrischen Leitfähigkeit bezüglich der Eutergesundheit wurde mit Hilfe der Berechnung von Sensitivität (%)

wahr positive) und Spezifität (% wahr negative) gegenüber den bakteriologischen Befunden (bU positiv), den klinischen Befunden (Svä), den Zellzahlbefunden (Gesamtgemelk sowie Viertelgemelk; Schwelle 100.000 Zellen/ml) und der „Oder“-Kombination dieser Befunde durchgeführt. Bei einer Einzelgemelkszellzahl von > 100.000 Z/ml wurde das Vorliegen eines Alarmes auf mindestens einem der vier Viertel als wahr positiver Befund gewertet. Zusätzlich wurde der Anteil falsch positiver Alarme bezüglich der Gesamtzahl der Alarme erfaßt.

f) Farbuntersuchungen der Milch mit dem MQC - Milk Quality Control-System. Es wurde anhand der Daten des MQC von drei Untersuchungstagen überprüft, in wieweit pathologische Veränderungen des Sekretes (Flocken, Eiter, Wäßrigkeit) tatsächlich als Hinweis „Verändert“ durch das MQC angegeben wurden. Dazu wurden die zeitgleichen Befunde der klinischen Untersuchungen genutzt. In Betracht kamen die Melkung vor, zur und nach der Untersuchung. War ein Viertelgemelk durch das MQC als verändert angegeben, wurde bei in der klinischen Untersuchung tatsächlich verändertem Sekret ein wahr positiver Befund aufgezeichnet. Bestimmt wurden Sensitivität und Spezifität der MQC-Angaben im Vergleich zu visuellen Veränderungen des Vorgemelkes.

3.1.2.2. Methoden zur Hygieneüberprüfung

a) Probenentnahme. Mit sterilen Baumwolltupfern wurden an folgenden Punkten Proben genommen: am Antriebsblock der Reinigungsbürsten, an den Reinigungsbürsten, an den Zitzengummis bezüglich der Zwischendesinfektion und an den Zitzengummiköpfen und -schaften bezüglich der Hauptreinigung. Von Bürsten und Block wurden jeweils vor der Desinfektion (nach der Euterreinigung) und dann nach der 2-minütigen Einwirkzeit des Desinfektionsmittels PES Abstriche genommen. Bei der Kontrolle des chlorhaltigen Desinfektionsmittels war die Einwirkzeit 3-minütig. Zur Kontrolle der Melkzeug-Zwischendesinfektion wurden jeweils 2 Zitzengummiköpfe beim Ausschwenken (vor Desinfektion) mit Tupfern beprobt und dieses beim darauffolgenden Einschwenken (nach der Desinfektion) wiederholt. Um die Hauptreinigung zu prüfen, wurden von allen vier Zitzenbechern jeweils von Zitzengummikopf (unter der Lippe) und Zitzengummischaft zum einen vor der Hauptreinigung und zum anderen nach der Hauptreinigung Abstriche entnommen.

b) Probenbearbeitung. Sie erfolgte nach Standardmethode³ (Ausstrich auf Blut- und Gassner-Agar). Bei allen Tupfern wurden semiquantitative Keimzahlbestimmungen vorgenommen. Folgende Wertbereiche werden vorgegeben:

Beurteilung des Wachstums		Beurteilung des Desinfektionserfolges
0	- \leq 5 kbE/Platte	sehr gut
+	- $>$ 5 - 20 kbE/Platte	gut
++	- $>$ 20 - 100 kbE/Platte	mäßig
+++	- $>$ 100 kbE/Platte	ungenügend

Der Wert wird geschätzt als Summe der kbE von Blut- und Gassner-Platte zusammen. Befunde von „0“ und „+“ werden als hygienisch gut eingestuft. „++“ und „+++“ sind als kritische Kontamination zu betrachten (Model, 2001).

3.1.2.3. Bestimmung der Peressigsäure- und Chloridkonzentration

Die Bestimmung der Peressigsäurekonzentration der am Roboter verwendeten Desinfektionslösungen wurde mit Teststreifen (Firma Merck) vorgenommen. Die Meßbereiche lagen zwischen 10 und 50 ppm bzw. zwischen 100 und 500 ppm. Mit beiden Varianten wurde getestet. Zur Erfassung der Konzentration wurde die Desinfektionslösung für die Bürsten und den Block aufgefangen und gegebenenfalls verdünnt. Bezüglich der Zwischendesinfektion konnte häufig nicht genügend bzw. gar keine Flüssigkeit aufgefangen werden. Deshalb wurde der Teststreifen (Meßbereich 100 bis 500 ppm) in den Zitzengummis positioniert und nach der Zwischendesinfektion entnommen, und bewertet. Die Bestimmung des Aktivchlorgehaltes erfolgte im Untersuchungsamt² durch die jodometrische Titration in Anlehnung an die frühere TGL 37768/04.

3.1.2.4. Methode zur Bestimmung des Keimgehaltes der Anlieferungsmilch

Die Keimzahlbestimmung in der Rohmilch erfolgte mit Hilfe der durchflußzytometrischen Zählung von Mikroorganismen mit dem Gerät „Bactoscan-FC-150“. Es handelte sich dabei um ein Routineverfahren laut Milchgüterverordnung nach der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren gemäß § 35 Lebensmittel- und

³ Staatliches Veterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt Potsdam

Bedarfsgegenständegesetz (amtliches Verfahren L 01.00-5). Es wird bei der Angabe der monatlichen Keimzahl das geometrische Mittel aus den Keimzahlergebnissen der einzelnen Proben des Monats gebildet.

3.1.2.5. Methode zur Bestimmung des Gefrierpunktes der Anlieferungsmilch

Die Bestimmung des Gefrierpunktes von Rohmilch ist eine Methode zur Ermittlung des Fremdwassergehaltes der Milch und erfolgte mit Hilfe von Infrarotspektroskopie und Leitfähigkeit mit dem Gerät „Milkoscan-FT-6000“. Es handelt sich um eine indirekte Methode laut Milchgüterverordnung nach der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren gemäß § 35 Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz (amtliches Verfahren L 01.00-29). Liegt ein Gefrierpunkt von $> -0,515$ bzw. $> -0,520^{\circ}\text{C}$ vor (molkereiabhängig), ist die Milch nicht verkehrsfähig.

3.1.2.6. Methode zur Milchprobenentnahme aus dem Milchsammelbehälter

Die Proben wurden dem Gesamtgemelk der betreffenden Kuh zur Untersuchung auf Rückstände von Antibiotika und zur Ermittlung des Jodgehaltes der Rohmilch entnommen. Dieses erfolgte während der Abpumpphase des Milchabscheiders mit Hilfe einer 50 ml Spritze mit aufgestecktem Kanülenkonus aus dem Verbindungsstück, welches auf den Milchabscheider folgt (Gummiknie mit Entnahmeöffnung für Probenahmegerät „Shuttle“).

3.1.2.7. Untersuchung auf Antibiotika-Rückstände

Zur Überprüfung des Erfolges der Spülung nach programmierter Separation eines Gemelkes von einer antibiotisch behandelten Kuh wurde das Folgegemelk von einer nichtbehandelten Kuh auf Hemmstoffe getestet. Hemmstoffbelastete Milch ist nicht verkehrsfähig und darf somit nicht in den Milchtank gelangen. Zwischen Behandlung und Probenahme lagen maximal 24 Stunden. Die Bezeichnung des verwendeten Tests zum Nachweis von Hemmstoffen ist DELVOTEST® SP (Ampullen). Es handelt sich um einen Test für den qualitativen Nachweis von Antibiotika, Sulfonamiden, Dapson und antibakteriell wirksamen Futterzusatzstoffen in Rohmilch, pasteurisierter Konsummilch sowie Säuglings- und Kleinkindernahrung auf Milchbasis. Die Untersuchungen erfolgten gemäß der Arbeitsvorschrift des Herstellers „Gist-brocades“.

Tab. 16: Mindest-Nachweisgrenzen mit dem DELVOTEST® SP

(* Konzentration in parts per million (ppm = oder mg/l Milch)

** Konzentration in Internationalen Einheiten pro ml Milch

n.n. nicht nachweisbar, Nachweisgrenze über 10 ppm

Blanco Kontrolle: Zeitpunkt, an dem die hemmstofffreie Milchprobe nach gelb umschlägt)

Antibiotikum *	Blanco Kontrolle	2 ¾ Stunden	3 Stunden
Penicillin G	0,002	0,0025	0,0025
Penicillin G **	0,003	0,003 - 0,004	0,003 - 0,004
Cloxacillin	0,015	0,015 - 0,025	0,02 - 0,025
Dicloxacillin	0,01	0,01 - 0,015	0,01 - 0,015
Oxacillin	0,005	0,01	0,01
Nafcillin	0,005	0,005 - 0,008	0,01
Ampicillin	0,002 - 0,003	0,003 - 0,004	0,003 - 0,005
Amoxicillin	0,002	0,003 - 0,004	0,003 - 0,005
Cephapirin	0,005	0,005 - 0,008	0,005 - 0,01
Cefalonium	0,005 - 0,01	0,01 - 0,02	0,015 - 0,025
Cefalexin	0,04 - 0,06	0,06 - 0,1	0,06 - 0,1
Cefacetil	0,02	0,02 - 0,04	0,02 - 0,04
Cefaperazon	0,04	0,06 - 0,1	0,06 - 0,1
Tetracyclin	0,1	0,2 - 0,4	0,3 - 0,6
Oxytetracyclin	0,1	0,2 - 0,4	0,4 - 0,5
Chlortetracyclin	0,1 - 0,15	0,2 - 0,4	0,3 - 0,6
Tylosin	0,01 - 0,02	0,03 - 0,05	0,1
Erythromycin	0,05	0,1 - 0,15	0,25
Lincomycin	0,1	0,2	0,3 - 0,4
Spiramycin	0,2	0,35 - 0,75	n.n.
Gentamycin	0,1 - 0,3	0,2 - 0,4	0,4 - 0,5
Neomycin	0,1 - 0,2	0,3 - 1,0	0,4 - 2,0
Dihydrostreptomycin	0,3 - 0,5	1,5 - 3,0	2,5 - 10,0
Kanamycin	2,5	7,5	n.n.
Chloramphenicol	2,5	7,5	7,5 - 10,0
Sulfamethazin	0,025	0,05 - 0,1	0,1 - 0,2
Sulfadimethoxin	0,05	0,05 - 0,1	0,1
Sulfathiazol	0,05	0,05 - 0,1	0,1 - 0,15
Sulfadiazin	0,05	0,05 - 0,1	0,1
Dapson	0,001	0,001 - 0,004	0,004 - 0,008
Trimethoprim	0,05	0,1 - 0,3	0,5

Verwendet wird eine Ampulle mit Agarmedium, welches eine standardisierte Anzahl von Sporen des *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* C 953 enthält. Eine Nährstofftablette wird hinzugegeben. Die verwendete Menge der Milchprobe beträgt $0,1 \text{ ml} \pm 10 \%$ und wird direkt auf das Agarmedium und die Nährstofftablette gegeben. Die Bebrütung erfolgt im Wasserbad oder auf dem Heizblock bei $64,0 \text{ °C} \pm 0,5 \text{ °C}$. Bei der angegebenen Temperatur entwickeln sich aus den Sporen Keime, welche Säure bilden und zum Umschlag der Agarfarbe führen. Die Farbe der unteren zwei Drittel der Ampullen wird bestimmt. Liegen Hemmstoffe in höheren Konzentrationen als der Nachweisgrenze des Tests (Tabelle 16) vor, erfolgt kein Farbumschlag in der betreffenden Zeit. Hemmstoffkonzentrationen um die Nachweisgrenze rufen einen unvollständigen Farbumschlag hervor. Die Nachweisgrenzmessung ist beim Ablesen der Proben direkt nach Farbumschlag der Negativkontrolle (ohne Hemmstoffe) von violett nach hellgelb möglich. Bei den in Tabelle 16 angegebenen Nachweisgrenzen handelt es sich um „Zirka“-Werte.

3.1.2.8. Dippmittel-Spraymengenkontrollen

Die Spraymenge je Melkung wurde ermittelt, indem der Jodverbrauch pro Tag über drei Tage erhoben und durch die Anzahl der in dieser Zeit erfolgten Melkungen geteilt wurde.

3.1.2.9. Jodmeßverfahren

Zur Anwendung kamen zwei Verfahren. Mit dem Einsatz einer ionenselektiven Elektrode (Methode 2) wurde aufgrund der deutlich geringeren Kosten der Hauptteil der Proben untersucht. Zur Kontrolle der dabei ermittelten Ergebnisse wurden Untersuchungen von Doppelproben von einem akkreditierten Labor mittels Gaschromatographie durchgeführt (Methode 1).

a) Methode 1. Es wurde die gaschromatographische Bestimmung des Jodgehaltes in der Milch durch die Milchwirtschaftliche Lehr- und Untersuchungsanstalt Oranienburg mit der Hausmethode MLUA-O AV 3-28 durchgeführt. Hierbei wird aus der Probe hergestelltes Jodacetophenon mit n-Heptan extrahiert und gaschromatographisch mit einem Elektroneneinfangdetektor bestimmt. Der Meßbereich liegt zwischen 0,1 bis 2 mg/l Jod. Das Referenzmaterial BCR⁴ Nr.150

⁴ Gemeinschaftsbüro für Referenz, Kommission der europäischen Gemeinschaft, Brüssel, Belgien

enthält Magermilchpulver mit einem zertifizierten Jodgehalt von 1,29 mg/kg, und wird in Form einer Referenzprobe mitgeführt.

b) Methode 2. Die Standardaddition wurde zur Messung von Jodid in mit Wasser mischbaren organischen Lösungen verwendet. Der Meßbereich erstreckt sich von 0,02 bis 0,2 mg/l Jodid. Verwendet wurde eine ionenselektive Sonde zur Messung der freien Jodid - Ionen über Abweichungen im elektrischen Strom.

3.1.2.10. Methode zur Untersuchung des Einflusses der ZMZ

Der Einfluss der ZMZ auf die Eutergesundheit wurde auf Viertelebene in einem 3-Tages-Versuch vom 13.03.2000 bis zum 15.03.2000 in Betrieb 1 untersucht. Zur Ermittlung der ZMZ und zur Entnahme repräsentativer Milchproben aus dem Viertelgemelk wurden 6 „Lactocorder®“ eingesetzt. Mit Hilfe der im Lactocorder gespeicherten Zeitdaten konnte die ZMZ für jedes Viertel und mit den Milchproben die Viertelgemelkszellzahl ermittelt werden. Die Zeitangabe durch den Lactocorder für die Berechnung der ZMZ entsprach dem Zeitpunkt des erfolgreichen Ansetzens der Zitze.

3.1.2.11. Untersuchung des Vorgemelkes auf Fettgehalt

Mit einem Behälter wurde das am Ende der Melkung unter dem Roboterarm aus den Milchleitungs-(Vorgemelks-)stutzen abfließende Sekret aufgefangen und in zwei Chargen zeitlich unterschiedlich in zwei Laboratorien auf seinen Fettgehalt untersucht. Zum einen laut Milchgüteverordnung (L 01.00-08/ L 01.00-9) mit der Methode nach Gerber und zum anderen mit der Infrarot-Messung (amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren gemäß § 35 Lebensmittel- und Bedarfsgegenstände-gesetz).

3.1.2.12. Datensicherung und -bearbeitung

Die Milchleistungsprüfungsdaten sowie die Daten der bakteriologischen Untersuchungen von Viertelgemelken direkt nach der Kalbung (K-0-Proben) wurden durch die Betriebsleiter zur Verfügung gestellt. Die Roboterdaten wurden in der Dateiform „daily backup“ von dem mit dem Roboter verbundenen Personalcomputer kopiert. Diese Daten wurden generell auf der Festplatte des Computers für 13 Tage gespeichert. Gelesen werden konnten diese Datensicherungen durch eine Demonstrationsversion des Expertprogrammes der Firma NEDAP. Die Auswertung

der Daten erfolgte hauptsächlich in Form der beschreibenden Statistik (arithmetisches und geometrisches Mittel, Standardabweichung, Minimum, Maximum, Schwankungsintervall). Die Zellzahlen wurden logarithmiert, um eine annähernd symmetrische Verteilung zu erreichen. Für die transformierten Werte wurde das einfache Schwankungsintervall ($\bar{x} \pm s$) berechnet. In den Tabellen wurden das geometrische Mittel und die entlogarithmierten Werte für das Schwankungsintervall angegeben. Es erfolgten weiterhin die Berechnung von Prozentsätzen, gewichtetem arithmetischem Mittel zur Einbeziehung der Milchmenge in die Konzentrationsermittlung von Jod und einfacher Korrelation zum Methodenvergleich. Bei der Berechnung von Prozentsätzen können rundungsbedingte Abweichungen (maximal $\pm 0,1\%$) von 100 % vorliegen. Bei Variablen mit nominaler Skala (Atrophie) wurde der CHI²-Test zum Vergleich der Gruppen verwendet, wobei die Ergebnisse hoch signifikant ($p < 0,01$), signifikant ($p < 0,05$) und nicht signifikant (n.s.) abweichend von der Zufallshypothese H_0 sein können. Nach Haiger (1982) darf die Besetzung der Klassen beim CHI²-Test, in diesem Falle Viertel, nicht weniger als 5 Werte betragen. Deshalb wurden je nach Hypothese 2 sich entsprechende Viertel zu einer Klasse zusammengefaßt. Es wurde das Datenverarbeitungsprogramm „Excel 2000“ verwendet. Weiterhin erfolgte die Berechnung von Sensitivität und Spezifität zur Bewertung von Testsicherheiten nach folgenden Formeln:

Sensitivität = wahr positiv x 100 / wahr positiv + falsch negativ

Spezifität = wahr negativ x 100 / wahr negativ + falsch positiv

Definitionen: Die Sensitivität gibt an, wieviel Prozent der kranken Kühe oder Viertel durch den Test als krank erkannt werden. Die Spezifität gibt an, wieviel Prozent der gesunden Kühe oder Viertel tatsächlich als gesund erkannt werden. Wahr positiv ist das Ergebnis von dem Test, wenn auch der Referenztest positiv ist. Falsch positiv ist ein Testergebnis, wenn dieses im Gegensatz zum Referenztest positiv ausgefallen ist. Wahr negativ ist der Test, wenn auch der Referenztest negativ ist. Falsch negativ ist das Ergebnis, wenn das Testergebnis negativ, aber der Referenztest positiv ist.

· wahr positiv + falsch negativ = Anzahl tatsächlich kranker „n“;

· wahr negativ + falsch positiv = Anzahl tatsächlich gesunder „n“