

3 Material und Methode

3.1 Allgemeines

Die Untersuchungen wurden im Zeitraum von zwölf Monaten von April 1999 bis April 2000 im Rahmen einer Verlaufsstudie durchgeführt. Acht verschiedene Betriebe auf der Halbinsel Eiderstedt an der Westküste Schleswig-Holsteins stellten ihre Milchkuhherde den Untersuchungen zur Verfügung, wobei betreffende Herden eine vermehrte Klauenproblematik in den vorhergegangenen Jahren gezeigt hatten. Die Betriebsgröße variierte zwischen 49 und 69 Milchkühen und betrug im Mittel 58 Tiere, wobei insgesamt ein Kuhbestand von 467 Tieren untersucht wurde.

Die jährliche Milchleistung pro Betrieb und Jahr lag im Herdenmittel bei 5783 bis 9168 kg. Die durchschnittliche Milchleistung der gesamten Betriebe im Jahr lag bei 7401 kg.

In der Mehrzahl der Fälle handelte es sich bei den untersuchten Rindern um die Rasse „Deutsche Schwarzbunte“, wobei auch einige Rinder der Rasse „Deutsche Rotbunte“ sowie wenige „Angler“ vertreten waren.

Die Kühe wurden in Boxenlaufställen auf Spaltenböden bzw. Einstreu oder in Anbindehaltung (trockenstehende Tiere) mit Stroheinstreu gehalten. In den Sommermonaten (Mai bis Oktober) erhielten die Kühe ganztägig Weidegang, in einem der Betriebe nur stundenweise.

In der Regel wurde eine Mehrkomponentenration als Mischration mit individueller Kraftfuttergabe über eine Abruffütterung bzw. in einem Fall als totale Mischration mit gleichartiger Kraftfuttergabe angeboten.

Trockenstehende Kühe standen während der Sommermonate nur unregelmäßig zur Untersuchung zur Verfügung. Dies hing mit der vollkommenen Weidehaltung betreffender Tiere und damit verbundenen organisatorischen Gründen zusammen.

3.2 Beschreibung der einzelnen Betriebe

Tabelle 2 zeigt die Betriebsstrukturen der acht untersuchten Milchviehbetriebe.

Tab.2: Betriebsstrukturen

	Anzahl Milch-kühe	Durchschnittliche Milchleistung	Haltungsform	Fütterung	Trockensteher
Betrieb 1	59	7575 kg	Boxenlaufstall mit Stroheinstreu	Gras- u. Maissilage, MLF, Algenkalkleckstein	6-8 Wochen a.p. trocken gestellt, 14 Tage a.p. angefütert, Boxenlaufstall auf Spaltenboden
Betrieb 2	69	7640 kg	Boxenlaufstall auf Spaltenboden	Gras- u. Maissilage, MLF, Weizen, Futterkalk, Mineralfutter	6-8 Wochen a.p. trocken gestellt, 14 Tage a.p. angefütert, Anbindehaltung auf Stroh
Betrieb 3	56	6503 kg	Boxenlaufstall auf Spaltenboden	Grassilage, MLF, Mineralfutter	6-8 Wochen a.p. trocken gestellt, 14 Tage a.p. angefütert, Anbindehaltung auf Stroh
Betrieb 4	49	7447 kg	Boxenlaufstall auf Spaltenboden	Grassilage, Sojaschrot, Maiskörner, MLF, Mineralfutter	6-8 Wochen a.p. trocken gestellt, 7- 14 Tage a.p. angefütert, Anbindehaltung auf Stroh
Betrieb 5	58	9168 kg	Boxenlaufstall auf Spaltenboden	Gras- u. Maissilage, Sojaschrot, Trockenschnitzel, Weizen, Rapsexpeller, MLF, Mineralfutter	6-8 Wochen a.p. trocken gestellt, 14 Tage a.p. angefütert, Boxenlaufstall auf Spaltenboden
Betrieb 6	63	8003 kg	Boxenlaufstall auf Spaltenboden	Gras- und Maissilage, Trockenschnitzel, Weizen, MLF, Mineralfutter	6-8 Wochen a.p. trocken gestellt, kein prinzipielles Anfüttern, Anbindehaltung auf Stroh, ca. 1 Woche a.p. Einbringen in Milchkuhherde
Betrieb 7	55	7092 kg	Boxenlaufstall auf Spaltenboden	Grassilage Ausgleichsfutter MLF, Mineralfutter	6-8 Wochen a.p. trocken gestellt, kein prinzipielles Anfüttern, Boxenlaufstall auf Spaltenboden
Betrieb 8	58	5783 kg	Boxenlaufstall auf Spaltenboden	Grassilage, Ausgleichsfutter, MLF	saisonale Abkalbung angestrebt, daher gemeinsames Trockenstellen der Gesamtherde u.U. 3 Monate a.p., kein prinzipielles Anfüttern, Boxenlaufstall auf Spaltenboden

3.3 Auswahl der Probanden

Jeder der acht Betriebe wurde im Verlauf von zwölf Monaten im 28- bis 30-tägigem Abstand besucht. Bei jedem Bestandsbesuch wurde zunächst ein Lahmheitsprofil erstellt, indem die Milchkuhherde durch ruhiges Vorantreiben auf glattem, festem Untergrund vorgestellt wurde und so eine Einstufung betreffend lahmer Tiere in die verschiedenen Lahmheitsgrade I-V (nach ROSENBERGER, 1990) vorgenommen wurde. Hierbei entspricht Grad I einer leichten, Grad II einer mäßigen, Grad III einer deutlichen, Grad IV einer schweren und Grad V einer sehr schweren Lahmheit. Letztere bezeichnet den Fall, dass der Patient sich nur noch auf drei Beinen fortbewegt. Kühe, die einen Lahmheitsgrad von III und höher aufzeigten, wurden möglichst entweder noch am selben Tag oder an den folgenden Tagen untersucht, um eine Lahmheitsdiagnose zu stellen und eine entsprechende Therapie einzuleiten.

Anschließend wurden zu dem Zeitpunkt des Besuchs trockenstehende Kühe, die sich im Stadium von bis zu vier Wochen a.p. befanden, sowie frisch abgekalbte Kühe, die sich im Stadium bis zu vier Wochen p.p. befanden, notiert.

Alle für die Untersuchung zur Verfügung stehenden Kühe wurden demnach in drei Gruppen aufgeteilt und standen zur Probenentnahme pro Betrieb zur Verfügung:

Gruppe 1: Trockensteher ab 4 Wochen a.p.

Gruppe 2: Frischgekalbte bis zu 4 Wochen p.p.

Gruppe 3: Kühe mit einem Lahmheitsgrad größer/gleich III

Weitere Kriterien, die berücksichtigt wurden, waren der Klauenpflegezustand der Gesamtherde bzw. die Frage nach einer regelmäßigen Klauenpflege in den jeweiligen Betrieben. Hierbei konnte in drei Kategorien unterteilt werden:

- I keine regelmäßige Klauenpflege
- II Klauenpflege regelmäßig einmal im Jahr
- III Klauenpflege regelmäßig zweimal pro Jahr

Des Weiteren wurde die Handhabung von Pufferzugaben in den Futterrationen in Form von Calciumcarbonat, Natriumhydrogencarbonat o.ä. im Kraftfutter oder durch Nutzung von Futterkalk in den verschiedenen Betrieben miteinbezogen.

Schließlich wurden für die einzelnen Kühe die Anzahl vorhergegangener Laktationen sowie die Tage a.p. oder p.p. zum Tag der jeweiligen Probenentnahme festgehalten.

Die Abgangsdaten der im Verlauf der jeweiligen Laktation lahmen Kühe wurden während der zwölf Monate der Probenentnahme sowie darüber hinaus verfolgt. Diesbezüglich wurde eine Unterteilung vorgenommen :

- Abgang bis zu 3 Monate nach Feststellung der Lahmheit
- Abgang 4-6 Monate nach Feststellung der Lahmheit
- Abgang 7-12 Monate nach Feststellung der Lahmheit
- Abgang später als 12 Monate nach Feststellung der Lahmheit

Im Verlauf der zwölf Monate wurden insgesamt 467 verschiedene Kühe untersucht, wobei jede einzelne Kuh unter Umständen bis zu dreimal als Proband fungierte, nämlich bestenfalls als trockenstehende, darauf als frisch abgekalbte und im weiteren Verlauf als lahmgehende Kuh.

3.4 Probenentnahme und -untersuchung

Als Probenmaterial wurde jedem der am Tag zuvor festgelegten Probanden Pansensaft, Harn und Blut entnommen. Die Probenentnahmen erfolgten bezüglich der einzelnen Betriebe jeweils zur gleichen Tageszeit.

3.4.1 Pansensaft

Der Pansensaft wurde mit einem Pansensaftentnahmegesetz nach HAMBURGER entnommen. Bei diesem Modell (Bild 2) handelt es sich um eine flexible Sonde von 2,40 m Länge mit einem kolbenförmigen, relativ schweren ca. 100ml fassenden Auffanggefäß. Dieses Auffanggefäß läßt sich mittels eines Drahtes, der mit dem Deckel des Gefäßes verbunden ist, vom entgegengesetzten Ende der Sonde öffnen und schließen. Die Sonde wurde im geschlossenen Zustand per os in den Pansen eingeführt, dort mit Hilfe des Drahtes geöffnet und unter Hin- und Herbewegung mit Pansensaft gefüllt (Bild 1). Wichtig ist das Verschließen des Auffanggerätes vor dem Herausziehen aus dem Pansen, um eine Vermischung mit neutralisierendem Speichel zu verhindern. Nach Abschrauben des Auffangbehälters wurde der

gewonnene Pansensaft in eine 100ml- Versandflasche (Fa. Sarstedt) gegeben. Mit einem jeweils vor Probenentnahme kalibriertem pH-Meter (pHep®, waterproof, Microprocessor, HANNAinstruments) wurde nun sofort der pH-Wert des Pansensaftes bestimmt und die Probe gelangte bis zur Untersuchung zur Aufbewahrung in eine auf 38 Grad Celsius temperierte Wärmebox.

Bild 1: Pansensaftentnahme mit dem Gerät nach HAMBURGER



Bild 2: Pansensaftentnahmegesetz nach HAMBURGER



Der Pansensaft wurde anschließend im Labor einer tierärztlichen Praxis weitergehend untersucht, wobei eine Infusorienschätzung vorgenommen wurde. Hierzu wird der Pansensaft nochmals aufgemischt, ein Tropfen auf einen vorgewärmten Objektträger gegeben und unter 60- bis 80facher Vergrößerung mäanderförmig durchgemustert, wobei Zahl, Größe und Beweglichkeit der Infusorien beurteilt werden. Danach wurde die Probe verworfen. Die Beurteilung wurde nach Hölzer (1971, in FÜRLL, 1981)) vorgenommen, der die Ergebnisse in 5 Stufen einteilte:

- I massenhaft Infusorien; lebhafte Bewegung;
kleine:mittlere:große Infusorien= 3:4:3

- II viele Infusorien; gute Beweglichkeit,
kleine:mittlere:große= 6:3:1

- III mäßig viele Infusorien; träge Bewegungen;
kleine:mittlere:große=7:2:1

IV wenig Infusorien, schwache Bewegungen,
mäßig tote Infusorien

V vereinzelt oder keine Infusorien, kaum Bewegungen,
meist tote mazerierte Infusorien

Stufe I und II wurden zusammengefaßt, so daß vier Gruppen entstanden, die absteigend mit +++, ++, + und - bezeichnet wurden.

3.4.2 Harn

Der Harn wurde entweder durch Auffangen von Spontanharn oder mit Hilfe eines Uteruskatheters nach BRESLAU gewonnen und in 100ml-Versandflaschen (Fa. Sarstedt) gegeben. Es folgte eine sofortige pH-Wert-Messung, anschließend verblieben die Harnproben bei Umgebungstemperatur bis zum Abschluß der jeweiligen Probenentnahmen und wurden später bei -18 Grad Celsius tiefgefroren. Die Harnproben wurden gesammelt per Kurier zum Labor der Klinik für Klauentiere der Freien Universität Berlin verbracht und weitergehend laboranalytisch untersucht, wobei folgende Parameter bestimmt wurden:

- pH
- Na
- K
- Ca
- Mg
- Cl
- P
- NSBA
- Säuren
- Basen
- NH_4^+
- BSQ

3.4.3 Blut

Die Blutentnahme erfolgte durch Punktion der Arteria oder Vena caudalis mediana. Zum Auffangen des Blutes dienten:

- 10-ml-Röhrchen zur Serumgewinnung (Fa. Sarstedt)
- 5-ml-Na-Fluorid-Röhrchen (Fa. Sarstedt) für die Glucosebestimmung

Die Blutproben wurden bis zur Aufbereitung in Kühltaschen bei 4-10 Grad Celsius aufbewahrt. Die Aufbereitung erfolgte im Anschluß der Probeentnahmen im Labor einer tierärztlichen Praxis, wobei durch Zentrifugation (10 Minuten bei 4000U/min) Serum und aus dem Na-Fluorid-Blut Plasma gewonnen wurde.

Bis zum Versand auf dem Postweg wurden Serum und Plasma bei 4-8 Grad Celsius im Kühlschranks aufbewahrt.

Im klinischen Labor der Rinderklinik der Tierärztlichen Hochschule Hannover wurde das Serum auf folgenden Einzelparameter untersucht:

- Vitamin B₁₂

Außerdem wurden Serum- und Plasmaproben an das Labor der 2. Medizinischen Klinik der Ludwig-Maximilian Universität München versandt und auf folgende Parameter untersucht:

- Glucose
- Laktat
- β -OHB
- Harnstoff
- Kreatinin
- Tp
- Tbil
- GOT
- GGT
- GLDH
- CK
- P
- Mg
- Albumine
- Ca

3.4.4 Milchdaten

Die Milchdaten der betreffenden Kühe wurden den Listen des Landeskontrollverbandes Schleswig-Holstein e.V. entnommen, die im Abstand von vier Wochen durch Milchprobenuntersuchungen für jeden Betrieb neu erstellt werden. Es wurden jeweils die Milchdaten des Tages aufgenommen, der dem Tag der Entnahme der weiteren Proben am nächsten lag. Hierbei wurden folgende Parameter betrachtet:

- Milchleistung
- Milchfett
- Milcheiweiß
- Fettfreie Trockenmasse

3.5. Statistische Auswertung

Sämtliche Daten wurden zunächst in Microsoft Excel eingegeben, anschließend wurde das Datenmaterial mit dem Statistikprogramm SPSS Version 10.0 bzw. 11.0 ausgewertet.

BÜHL und ZÖFEL (2000) definieren alle unten genannten statistischen Begriffe und Verfahren im Einzelnen.

Diese Verfahren werden im Sinne einer deskriptiven bzw. explorativen Statistik verwendet. Der Begriff *statistisch auffällig* im Text bedeutet, daß die Überschreitungswahrscheinlichkeit p kleiner als die global bei 0,05 festgelegte Irrtumswahrscheinlichkeit ist.

In der Analyse wurden nichtparametrische Tests angewandt, da bei den Werten der betreffenden Variablen nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden konnte.

Zur Überprüfung des Zusammenhangs zwischen nominalskalierten Variablen- z.B. Klauenpflege und Pufferzugaben zum Futter- wurde der Chi-Quadrat-Test angewandt. In den Tabellen sind neben den absoluten und prozentualen Häufigkeiten auch die unter der Nullhypothese „die beiden Größen sind voneinander unabhängig“ erwarteten Werte angegeben. Im Falle der Ablehnung der Nullhypothese ($\alpha = 0,05$) wurden die standardisierten Residuen beurteilt. Als auffällig gelten Zellen, die ein standardisiertes Residuum zeigen, das betragsmäßig größer 2 ist.

Für den statistischen Zusammenhang zwischen der Anzahl bisheriger Kalbungen und einer eventuellen Lahmheit wurde der Korrelationskoeffizient nach Spearman bestimmt.

Zum Mittelwertvergleich der Pansensaft-, Milch-, Harn- und Blutwerte der Trockensteher bzw. Frischgekalbten (unabhängiger Stichprobenvergleich im weiteren Verlauf der Laktation „lahm“ oder „gesund“) wurde der U- Test nach Mann und Whitney herangezogen.

Ebenso wurde mit den Pansensaft-, Milch-, Harn- und Blutwerten der Trockensteher bzw. Frischgekalbten im Vergleich Entwicklung eines Klauensohlengeschwürs im weiteren Verlauf der Laktation ja oder nein verfahren.