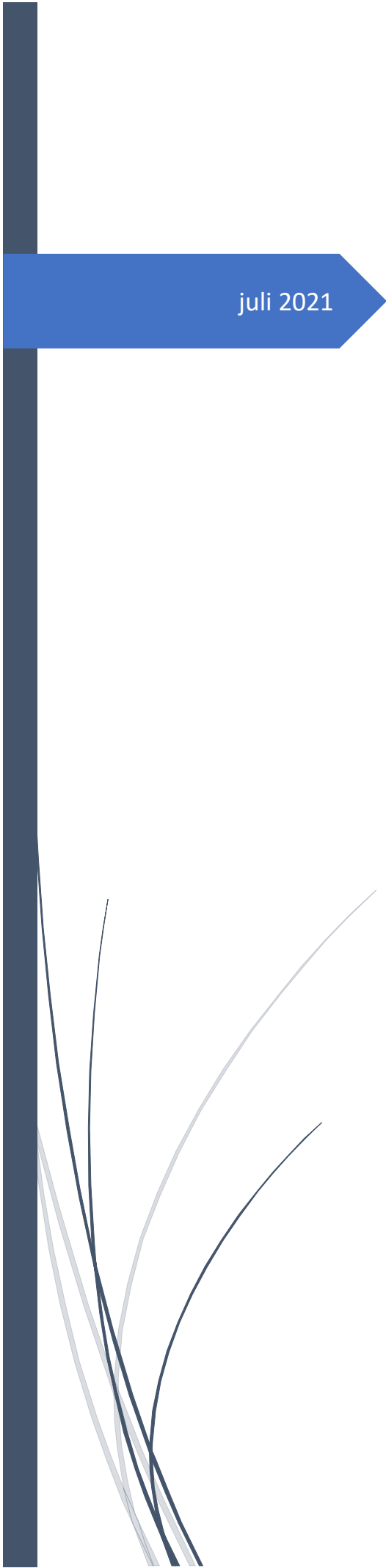


A dark blue vertical bar runs along the left edge of the page. A blue arrow-shaped banner points to the right from this bar, containing the text 'juli 2021'. In the bottom left corner, there are several thin, curved lines in dark blue and light grey, resembling stylized grass or reeds.

juli 2021

Effect van AHV Extra Bolus op de uiergezondheid

Rob. P. C. de Vries
AERES HOGESCHOOL

Effect van AHV Extra Bolus op de uiergezondheid

Afstudeerwerkstuk 1^e versie

Opdrachtgever

Naam	AERES Hogeschool
Adres	De Drieslag 4
Postcode/ Plaats	8251 JZ Dronten

Afstudeerdocent

Naam	Jitty Oosterga
Email	j.oosterga@aeres.nl

Auteur

Naam	Rob. P. C. de Vries
Opleiding	Agrarisch Ondernemerschap Dier- en Veehouderij
Minor	Internationaal Bedrijfsleiderschap
Adres	Bahnhofstraße 22
Postcode/ Plaats	39264 Deetz, Duitsland
Email	rob_de_vries@outlook.de

Periode

Afstudeerperiode	Voorjaar 2021
Datum	12 juli 2021

DISCLAIMER

Dit rapport is gemaakt door een student van Aeres Hogeschool als onderdeel van zijn/haar opleiding. Het is géén officiële publicatie van Aeres Hogeschool. Dit rapport geeft niet de visie of mening van Aeres Hogeschool weer. Aeres Hogeschool aanvaardt geen enkele aansprakelijkheid voor enige schade voortvloeiend uit het gebruik van de inhoud van dit rapport.

Voorwoord

In het kader van mijn studie agrarisch ondernemerschap aan de AERES Hogeschool te Dronten is dit afstudeerwerkstuk tot stand gekomen. Binnen de studie heb ik de specialisatie Dier en Veehouderij gevolgd. Hierdoor is de affiniteit met deze sector nog sterker geworden. Het belang van een goed imago van de landbouw is een van de belangrijkste dingen die ik geleerd heb binnen de opleiding. Hierdoor heb ik voor het meesterstuk een onderwerp gekozen dat ter bevordering van het imago moet bijdragen. Met het afronden van dit meesterstuk komt het afronden van de studie en daarmee een leerzame en gezellige periode in Dronten tot een eind.

Graag wil ik hierbij gebruik maken om mijn dank uit te spreken aan de personen die mij hebben geholpen bij het tot stand komen van dit vooronderzoek. Mijn dank geldt hierbij in het bijzonder mijn afstudeerbegeleidster Jitty Oosterga en mentor Erik Hassink.

Ik wens u veel leesplezier toe.

Rob. P. C. de Vries

Deetz, juli '21

Inhoudsopgave

ABSTRACT	4
ZUSAMMENFASSUNG	5
SAMENVATTING.....	6
1. INLEIDING	7
2. AANPAK.....	12
3. RESULTATEN	15
3.1 INVLOED AHV EXTRA BOLUS OP DE MELKPRODUCTIE.....	16
3.2 INVLOED AHV EXTRA BOLUS OP HET AANTAL MASTITIS GEVALLEN.....	19
3.3 INVLOED AHV EXTRA BOLUS OP HET CELGETAL	21
4. DISCUSSIE	25
4.1 INVLOED AHV EXTRA BOLUS OP DE MELKPRODUCTIE.....	26
4.2 INVLOED AHV EXTRA BOLUS OP HET AANTAL MASTITISGEVALLEN	26
4.3 INVLOED AHV EXTRA BOLUS OP HET CELGETAL	27
5. CONCLUSIE EN AANBEVELINGEN.....	29
BRONNENLIJST	31
BIJLAGEN.....	33
I. SPSS-UITSLAGEN DEELVRAAG 1 – INVLOED AHV EXTRA BOLUS OP DE MELKPRODUCTIE	33
A. DESCRIPTIEVE STATISTIEK TOTALE GROEPEN	33
B. DESCRIPTIEVE STATISTIEKEN DIEREN CELGETAL > 1.000.000 CELLEN PER MILLILITER MELK	34
C. DESCRIPTIEVE STATISTIEKEN DIEREN CELGETAL < 1.000.000 CELLEN PER MILLILITER MELK	35
D. UITKOMSTEN GEPAARDE T-TOETS	36
II. DEELVRAAG 2 – INVLOED AHV EXTRA BOLUS OP HET AANTAL MASTITIS GEVALLEN	38
A. DOCUMENTATIE MASTITISBEHANDELINGEN	38
B. UITKOMSTEN CHIKWADRAATTOETS	42
III. SPSS-UITSLAGEN DEELVRAAG 3 - INVLOED AHV EXTRA BOLUS OP HET CELGETAL.....	43
A. DESCRIPTIEVE STATISTIEK TOTALE GROEPEN	43
B. DESCRIPTIEVE STATISTIEKEN DIEREN CELGETAL > 1.000.000 CELLEN PER MILLILITER MELK	44
C. DESCRIPTIEVE STATISTIEKEN DIEREN CELGETAL < 1.000.000 CELLEN PER MILLILITER MELK	45
D. OVERZICHT BEHANDELDE KOEIEN.....	46
E. UITKOMSTEN GEPAARDE T-TOETS	47

Abstract

In a changing Western society where animal welfare and antibiotic use in agriculture are becoming increasingly important issues, dairy farming must adapt to these new and stricter requirements. This includes the development and application of new disease treatment strategies. However, mastitis, both subclinical and clinical, is still one of the biggest reasons for culling in dairy farming. Alternative control options should therefore be carefully researched and applied. In recent years, the communication between bacteria, Quorum Sensing, and its control, Quorum Quenching, has become an increasingly important topic in sciences and agriculture. Scientific literature shows that the interruption of Quorum Sensing causes a breakdown of biofilm. This decomposition makes it easier to fight the causing bacteria. But what can the dairy farm do specifically with Quorum Quenching? Based on this, the question "What is the effect of breaking through Quorum Sensing on sub-clinical mastitis in Holstein Frisian dairy cows, caused by the AHV Extra Bolus, during a period of 6 months" arose. The study mainly looked at the effect on milk production, the number of clinical mastitis cases and the effect on the somatic cell count. The study was carried out on a dairy farm in Germany located on the border between the states of Saxony and Thuringia. The trial involved 175 animals. Of these, 31 dairy cows were treated with the AHV Extra Bolus in November 2020.

The analysis of the milk production records showed that in this study the AHV Extra Bolus has no significant influence on milk production. However, there are a number of marginal notes to this, such as the calculation based on averages. A significant effect on the number of registered cases of mastitis has been shown. The majority of the registered cases of mastitis, 8 out of 11, have been demonstrated in animals in the experimental group. However, based on the literature, this can be regarded as a successful treatment. The somatic cell count was significantly reduced by the AHV Extra Bolus. The experimental group started in November with an average somatic cell count of 3,331,000 cells per millilitre of milk. After treatment with the bolus, the somatic cell count was lowered to an average of 345,000 cells by May. However, this average in May is distorted by a number of cows for which no successful treatment could be attested.

All in all, it can be concluded that the bolus has a strong positive effect on udder health. On the basis of this study, the use of this bolus in the event of an increase in the somatic cell count is strongly recommended. This will enable the use of antibiotics to be further reduced, thereby enhancing the image of dairy farming in (Western) society and animal health. However, research is still necessary to find the effect of Quorum Quenching on the various pathogens.

Zusammenfassung

In einer sich wandelnden westlichen Gesellschaft, in der das Wohlergehen der Tiere und der Einsatz von Antibiotika in der Landwirtschaft immer wichtigere Themen werden, muss sich die Milchviehhaltung an diese neuen und strengeren Anforderungen anpassen. Dazu gehört auch die Entwicklung und Anwendung neuer Strategien zur Behandlung von Krankheiten. Dennoch ist Mastitis, sowohl subklinisch als auch klinisch, immer noch einer der Hauptgründe für die Keulung in der Milchviehhaltung. Daher sollten alternative Behandlungsmöglichkeiten sorgfältig erforscht und angewendet werden. In den letzten Jahren hat die Kommunikation zwischen Bakterien, das Quorum Sensing, und deren Kontrolle, das Quorum Quenching, an Bedeutung in der Wissenschaft und neuerdings auch in der Landwirtschaft gewonnen. Der wissenschaftliche Diskurs zeigt, dass die Unterbrechung des Quorum Sensing einen Zusammenbruch des Biofilms bewirkt. Durch diese Zersetzung können die verursachenden Bakterien leichter bekämpft werden. Aber was kann die Milchwirtschaft konkret mit Quorum Quenching machen? Darauf aufbauend ergab sich die Frage "Welchen Effekt hat das Durchbrechen von Quorum Sensing auf die subklinische Mastitis bei Holstein-Friesian-Milchkühen, verursacht durch den AHV-Extra-Bolus, über einen Zeitraum von 6 Monaten". Hauptsächlich wurden die Auswirkungen auf die Milchproduktion, die Anzahl der klinischen Fälle von Mastitis und die Auswirkungen auf die somatische Zellzahl untersucht. Die Studie wurde in einem Milchviehbetrieb in Deutschland durchgeführt, der an der Grenze zwischen den Bundesländern Sachsen und Thüringen liegt. An der Studie waren 175 Tiere beteiligt. Von diesen Tieren wurden 31 Milchkühe im November 2020 mit dem AHV Extra Bolus behandelt.

Die Analyse der Milchproduktionsaufzeichnungen zeigte, dass in dieser Studie der AHV Extra Bolus keinen signifikanten Einfluss auf die Milchmenge hat. Hierbei gilt es jedoch einige Besonderheiten zu beachten, wie unter anderem die Berechnung, welche auf Durchschnittswerten basiert. Es wurde ein signifikanter Effekt auf die Anzahl der registrierten Mastitiden nachgewiesen. Die Mehrzahl der registrierten Mastitiden, 8 von 11, wurde bei Tieren in der Versuchsgruppe festgestellt. Auf der Literatur stützend bedeutet dies jedoch, dass die Wirkung von Quorum Quenching erfolgreich war. Die somatische Zellzahl wurde durch den AHV Extra Bolus deutlich reduziert. Die Versuchsgruppe startete im November mit einer durchschnittlichen somatischen Zellzahl von 3.331.000 Zellen pro Milliliter Milch. Nach der Behandlung mit dem Bolus konnte die somatische Zellzahl bis Mai auf durchschnittlich 345.000 Zellen gesenkt werden. Allerdings wurde dieser Durchschnitt im Mai durch eine Anzahl von Kühen verzerrt, für die keine erfolgreiche Behandlung diagnostiziert werden konnte.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass der Bolus einen starken positiven Effekt auf die Eutergesundheit hat. Auf Grundlage dieser Studie wird dringend empfohlen, diesen Bolus im Falle eines Anstiegs der somatischen Zellen einzusetzen. Hierdurch kann weiterer Antibiotikaeinsatz reduziert werden, um neben dem verbessern des Images der Milchviehhaltung in (West-)Europa auch die Tiergesundheit erhöht werden. Es besteht jedoch noch Forschungsbedarf, um die Wirkung des Quorum Quenching auf die verschiedenen Pathogene zu finden.

Samenvatting

In een veranderende Westerse maatschappij waarin dierenwelzijn en antibiotica gebruik in de landbouw een steeds belangrijker item worden, moet de melkveehouderij zich aan deze nieuwe en strengere eisen gaan aanpassen. Hierbij hoort ook ontwikkelen en toepassen van nieuwe ziekte behandelingsstrategieën. Echter is mastitis, subklinisch en klinisch, nog steeds een van de grootste afvoerredenen in de melkveehouderij. Alternatieve bestrijdingsmogelijkheden moeten daarom zorgvuldig worden onderzocht en toegepast. In de laatste jaren is de communicatie tussen bacteriën, Quorum Sensing, en de bestrijding daarvan, Quorum Quenching, een steeds belangrijker onderwerp. In wetenschappelijke literatuur is te lezen dat het onderbreken van Quorum Sensing voor een afbraak van biofilm zorgt. Door deze afbraak kunnen de veroorzakende bacteriën beter bestreden worden. Maar wat kan de melkveehouderij gericht ondernemen met Quorum Quenching? Op basis hiervan is de vraag *“Wat is het effect van doorbreken van Quorum Sensing op subklinische mastitis bij Holstein Frisian melkkoeien, veroorzaakt door de AHV Extra Bolus, gedurende een periode van 6 maanden”* ontstaan. Hierbij is voornamelijk gekeken naar het effect op de melkproductie, het aantal klinische mastitis gevallen en het effect op het celgetal. Het onderzoek is uitgevoerd op een melkveehouderij in Duitsland gelegen op de grens van de deelstaten Sachsen en Thüringen. Voor de proef waren 175 dieren van belang. Van deze dieren zijn 31 melkkoeien in november 2020 met de AHV Extra Bolus behandeld.

Uit de analyse van de melkproductieregistraties is naar voren gekomen, dat in dit onderzoek de AHV Extra Bolus geen significante invloed heeft op de melkproductie. Hier zitten echter een aantal kanttekeningen aan, zoals het berekenen op basis van gemiddeldes. Er is een significant effect op het aantal geregistreerde mastitisgevallen aangetoond. Het merendeel van de geregistreerde mastitisgevallen, 8 van 11, is aangetoond bij dieren die in de proefgroep zitten. Echter is op basis van de literatuur hierbij van een succesvolle behandeling te spreken. Het celgetal is doormiddel van de AHV Extra Bolus significant verlaagd. De proefgroep is met een gemiddeld celgetal van 3.331.000 cellen per milliliter melk in november gestart. Na de behandeling met de bolus is het gemiddelde celgetal naar mei op gemiddeld 345.000 cellen per milliliter melk verlaagd. Dit gemiddelde in mei is echter vertekend door een aantal koeien waarbij geen succesvolle behandeling geattesteerd kon worden.

Al met al kan geconcludeerd worden dat de bolus een sterk positief effect heeft op de uiergezondheid. Op basis van dit onderzoek wordt sterk geadviseerd deze bolus bij celgetal verhogingen in te zetten. Hierdoor kan het antibioticagebruik verder verlaagd worden om daarmee het imago van de melkveehouderij in de (West-Europese) maatschappij en de diergezondheid te verhogen. Echter zijn er nog wel onderzoeken noodzakelijk om het effect van Quorum Quenching op de verschillende verwekkers te zoeken.

1. Inleiding

De Europese Unie (EU) is in 1952, destijds onder de naam Europe Gemeenschap voor Kolen en Staal (EGKS), opgericht en zorgt tot op de dag van vandaag voor een stabiel Europa. In eerste instantie is de EU opgericht ter bevordering van vrede in Europa. Maar ook de voedselvoorziening in Europa was een belangrijk punt. Deze voedselvoorziening is mede veiliggesteld door een steeds efficiëntere landbouw. De efficiëntie is voornamelijk te zoeken in de specialisering van de landbouwbedrijven maar ook in het behalen van grotere producties per eenheid. Zo is de gemiddelde melkgift van een Duitse melkkoe van 1950 tot 2019 met ruim 230% gestegen van 2580 kg per koe per jaar naar 8250 kg per koe per jaar. Door onder andere deze stijging in productie is het mogelijk dat de hedendaagse boer 140 mensen kan voeden. In de jaren 1950 kon één boer 10 mensen voeden (Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft, November 2020). Pas later is dierenwelzijn een item geworden in de EU. Het verdrag van Lissabon, 2009, zorgde ervoor dat dierenwelzijn hoger op het vaandel van de EU is komen te staan. In dit verdrag staat geschreven dat dierenwelzijn middels het Artikel 13 vast in de EU geïmplementeerd is. Artikel 13 waarborgt dat EU-beleidsmakers dierenwelzijn in acht nemen bij het besluiten van nieuwe wetten en richtlijnen (dejure.org Rechtsinformationssysteme, z.d.). Naast het feit dat regeringen zich bezighouden met het dierenwelzijn, is dit vooral in West- Europese landen zoals Duitsland en Nederland ook een belangrijk punt in de maatschappelijke ontwikkeling. De burgers houden zich steeds meer bezig met wat onder andere de boeren doen en daarbij oefenen zij vooral druk op de landbouw uit via dierenwelzijnsnormen. Maar niet alleen de dierenwelzijnsnormen ook het gebruik van antibiotica in de landbouw wordt steeds meer een punt van aandacht bij de burgers. Medeverantwortelijk hiervoor is het steeds groter wordende aantal antibioticaresistenties en de daarmee verbonden sterfgevallen. Zonder vergaande veranderingen in het antibioticabeleid zullen naar verachting in 2050 10 miljoen mensen per jaar sterven aan antibioticaresistente infectie. Dit komt voort uit het O'Neil report die is opgesteld in opdracht van de Britse regering. (Hutchings, Truman, & Wilkinson, 2019). Deze factoren spelen allemaal mee in de hedendaagse "license to produce" (het bestaansrecht) voor de melkveehouderij. Iedere ondernemer heeft zijn eigen bestaansrecht en vult deze voor zichzelf in. De ontwikkeling van de laatste jaren gaat, mede gestimuleerd door Europees beleid, meer en meer richting vergroening en een hoger dierenwelzijn. Maar ook de melkveehouders zelf willen een beter dierenwelzijn. Immers een gezonde koe met veel comfort levert een hogere productie. Melkveehouders kijken daarom meer en meer naar alternatieven van antibiotica om zo de weerstand van het dier te verhogen. Met deze strategie proberen de veehouders de steeds hogere kosten voor te blijven met sterke en probleemloze koeien. Zo laat een analyse van Beratungsring Beverstedt e.V. zien dat de gemiddelde veehouder in Noord Duitsland die door hen financieel begeleid wordt in de afgelopen 10 jaar de melkproductie verdubbeld heeft, daarentegen is het eigenvermogen opbouw nagenoeg gelijk gebleven. De winst per liter melk is dus gedaald van 4,89 cent/kg in 2007/08 naar 2,89 cent/kg melk in 2017/18 (Redaktion Betriebsleitung, sd). De melkveehouders in West Europe staan dus voor vele uitdagingen in de toekomst. Op basis van de stijgende antibiotica resistenties zal er sterker naar alternatieven gekeken moeten worden. Door toenemende financiële druk moeten de dieren nog beter gaan presteren, waarbij de vraag gesteld mag worden of die nog door hogere producties haalbaar is. Toenemende maatschappelijke druk zorgt voor steeds groter belang van hoog dierenwelzijn waarbij mastitis en celgetal een van de grootste struikelblokken vormt.

Het celgetal is het totaal aantal cellen per milliliter melk. Het is een indicator voor de uiergezondheid van een veestal of individuele koe (Krömker, et al., 2018). Een gezonde melkveestapel heeft 70% van

de dieren met een celgetal onder 100.000 per milliliter melk. Het celgetal bestaat voor het merendeel uit witte bloedcellen. Verder heeft het aantal afgestorven epitheelcellen invloed op de hoogte van het celgetal (Liebe, 1996). Echter dient er bij de beoordeling van celgetal wel rekening gehouden te worden het verdunningseffect. Een koe met een zogenaamd gezond celgetal, van onder de 50.000 cellen per milliliter melk, kan dus alsnog een ontstoken kwartier hebben, door verdunningseffect. Dit verdunningseffect wordt versterkt door een hoge productie (Halasa, et al., 2009). Een verhoging van het celgetal is een aanwijzing voor een ontsteking binnen het uier, ook wel mastitis genoemd, waarop het immuunsysteem reageert. Bij mastitis wordt onderscheid gemaakt tussen acute mastitis (zichtbaar) en subklinische mastitis (niet zichtbaar) (Gezondheidsdienst voor Dieren, z.d.). Deze ontsteking ontstaat voornamelijk door een bacteriële infectie maar kan ook door gisten of schimmels veroorzaakt worden. Echter 30% van de klinische mastitisgevallen is geen oorzaak te vinden. Bij het ontstaan van mastitis spelen hier gerelateerde en omgevingsfactoren een rol (Newmiwaka, et al., sd). Verhoogd celgetal heeft een negatieve invloed op de melkproductie. Koeien in de eerste lactatie, wil zeggen na het eerste keer afkalven, vertoonden in een onderzoek van Halasa et. al. melkproductieverlaging van 0,3 kg/ dag bij een celgetal boven de 100.000 cellen per milliliter melk. Koeien vanaf de tweede lactatie laten hier een verlies van 0,58 kg/ dag zien (Halasa, et al., 2009) (Hadrach, Wolf, Lombard, & Dolak, 2018). Naast de verminderde opbrengst veroorzaken klinische en subklinische uierontstekingen kosten doordat betrokken runderen eerder afgevoerd moeten worden. In een rapport van de Duitse regering is te zien dat het na vruchtbaarheid de meest voorkomende afvoerende is in de Duitse melkveehouderij. In 2018 waren bij 13,8% van de geslachten koeien uierproblemen de oorzaak (Bundesregierung, 2019).

Naast het verbeteren van de uiergezondheid op koppelniveau doormiddel van afvoer (Gussmann, et al., 2019) van dieren speelt antibiotica een grote rol in de bestrijding van mastitis en verbetering van de uiergezondheid. In Duitsland wordt het gebruik van antibiotica in de veehouderij door §56 tot en met §61 van het "Arzneimittelgesetz (AMG)" geregeld. Het uitvoeren van dit beleid is in de "Verordnung über tierärztliche Hausapotheken" (TÄHAV) geregeld. Een behandeling van een rund met antibiotica mag alleen onder controle van een veearts gebeuren. De veearts moet fysiek contact met het dier gehad hebben voordat een antibiotische behandeling gestart kan worden. Normaliter moet hierbij ook eerst een antibiogram opgesteld worden waarbij de gevoeligheid van de ziekteverwekker op het antibiotica getest wordt. (Bundestierärztekammer e.V., 2018) In gevallen van gevaar voor het leven van het rund mag de veearts op basis van het fysieke onderzoek een therapie met antibiotica starten. Antibiotica kan in 2 werkingsmechanismen verdeeld worden. Er zijn bactericide antibiotica ook wel bacteriedodende antibiotica genoemd. De tweede groep behoort tot de bacteriostatische antibiotica. Deze remmen de bacteriegroei. Het afdoden van de ziekteverwekker moet alsnog door het lichaamseigen afweersysteem gebeuren. (Winter, 2008). Het succes van de behandeling met antibiotica hangt van vele factoren af. Een van de belangrijkste factoren is het vroegtijdig herkennen van de infectie en starten met behandelen. Daarnaast is de verwekker een zeer bepalende factor. Op deze moet gericht het antibiotica afgestemd worden. Verder spelen dosering, periode van behandeling en manier van toediening een belangrijke rol in het succes van de behandeling. Zo heeft een onderzoek in Finland aangetoond dat het genezingspercentage acute mastitis van een Staphylococcus Aureus infectie van 29%, bij 3-4 dagen behandeling, stijgt naar 42% bij 5 dagen behandeling. (Pyorala & Pyorala, 1998) In het geval van niet volledige genezing van een acute mastitis laat het onderzoek van Houben zien dat de waarschijnlijkheid op een herinfectie aanzienlijk stijgt (Houben, Dijkhuizen, Van Arendonk, & Huirne, 1993). Het is aannemelijk dat de genezingspercentages en het terug keren van de infectie in verband staan met de aanwezigheid van biofilmen. Een onderzoek van Olson in 2002 laat zien dat de bacteriën in biofilmen veel ongevoeliger zijn voor antibiotica in vergelijking met dezelfde bacteriën zonder

beschermende biofilm (Olson, Ceri, Morck, Buret, & Read, 2002). Biofilmen zijn resistent tegen antibiotica. Het bestrijden van biofilmen met antibiotica zorgt voor een stimulatie van de groei van de biofilm. Hierdoor daalt de waarschijnlijkheid van genezing van het celgetal probleem (Melchior, Vaarkamp, & Fink-Gremmels, 2006).

Biofilm opbouw is een resultaat van onderlinge communicatie door bacteriën. Deze communicatie wordt ook Quorum Sensing genoemd. Bacteriën communiceren via een hormoon dat geproduceerd wordt door enzymen. Dit hormoon fungeert dan als signaalmolecuul, ook autoinducer genoemd. Het is een continu proces waarbij met toenemende tijd meer autoinducer in de omgeving afgegeven wordt. Door stijgende concentratie van bacteriën en het continu afscheiden van autoinducer stijgt ook de concentratie signaalmoleculen in de omgeving. Bij het bereiken van een bepaalde concentratie autoinducer wordt dit teruggekoppeld naar de bacteriën door een receptor binnen de bacterie die de autoinducer opvangt. Door deze terugkoppeling beginnen alle bacteriën dan op hetzelfde moment een bepaald fysiologisch proces. Dit zijn bijvoorbeeld antibioticaproductie of symbiose die positief zijn voor de bacteriële gastheer, maar ook virulentie en biofilmvorming kunnen op gang gezet worden (Schipper, 2009).

Over het algemeen kunnen twee Quorum Sensing systemen van elkaar gescheiden worden "interspecies" en "intraspecies". Interspecies Quorum Sensing is de communicatie tussen verschillende bacteriëngroepen. Dit Quorum Sensing systeem wordt, tot zover onderzocht, bij alle bacteriën door hetzelfde signaalmolecuul autoinducer -2 gestuurd. De communicatie tussen dezelfde bacteriëngroepen, intraspecies Quorum Sensing, wordt gestuurd door verschillende autoinducer. Hierbij moet vooral onderscheid gemaakt worden tussen grampositieve en gramnegatieve bacteriën (Schipper, 2009) (LaSarre & Federle, 2013). Quorum Sensing systemen kunnen allemaal in dezelfde mechanisme opgedeeld worden: signaalproductie, signaalaccumulatie en signaaldetectie. Op basis hiervan kunnen Quorum Sensing remmers, ook wel Quorum Quenching genoemd, op werkwijze verdeeld worden. Onderbreken van detectie, afbraak of deactiveren van autoinducer -moleculen en remmer van autoinducer - molecuul productie (LaSarre & Federle, 2013). Door het toepassen van een van deze mechanisme wordt een terugkoppeling naar de bacteriën verhinderd waardoor het groepsgedrag niet op gang gezet kan worden. Hierbij is afbraak en inactiveren van Quorum Sensing signalen het meest onderzocht. Afbraak en inactiveren wordt doormiddel van enzymen gedaan. Deze kunnen zowel synthetisch geproduceerd als ook natuurlijk voorkomen. Gealkyleerde homoserine lactogene (autoinducer-1 moleculen) remmende enzymen zijn vooral te onderscheiden in lactase, acylase en oxidoreductase. Lactase is een breed werkend enzym wil zeggen dit kan autoinducer van vele verschillende bacteriën afbreken. Acylase is een enzym dat specifiek werkt dan lactase maar desalniettemin tot de afbrekende enzymen behoort. Daarentegen is oxidoreductase een enzym dat de autoinducer inactieveert (LaSarre & Federle, 2013). Naast het afbreken en inactiveren van autoinducer is er ook de mogelijkheid om de productie van autoinducer te reduceren of stoppen. Een onderzoek van Hentzer en Givskov toont aan dat voor gealkyleerde homoserine lactogene signaal productie de aanwezigheid van S-adenosylmethionine (SAM) een vereiste is. Door gericht manipulatie van het SAM-molecuul kan de productie van deze signalen geremd worden (Hentzer & Givskov, 2003). Blokkeren van autoinducer-detectie wordt met behulp van gemodificeerde moleculen gerealiseerd. Hierbij worden signaalmoleculen dusdanig gemodificeerd dat deze nog wel opgevangen worden door de receptoren van de bacteriën maar niet het groepsgedrag op gang kunnen zetten. Door toediening van een grote hoeveelheid moleculen van buitenaf wordt een deel van de receptoren door de gemodificeerde moleculen geblokkeerd en duurt het aanzienlijk langer voordat het groepsgedrag geactiveerd kan worden (Hentzer & Givskov, 2003).

Het is duidelijk dat (subklinische) mastitis een van de grootste oorzaken van afvoer van melkvee is. Er is aangetoond dat Quorum Sensing doormiddel van biofilmvorming hier een negatieve invloed heeft op het bestrijden van subklinische mastitis. Verder is aangetoond dat bestrijding van subklinische mastitis met antibiotica niet altijd de juiste aanpak is. Het is echter niet bekend in welke mate de AHV Extra Bolus met de werking van het Quorum Quenching principe het celgetal kan laten zaken.

Op basis hiervan is de volgende hoofdvraag voor het onderzoek geformuleerd:

“Wat is het effect van doorbreken van Quorum Sensing op subklinische mastitis bij Holstein Frisian melkkoeien, veroorzaakt door de AHV Extra Bolus, gedurende een periode van 6 maanden”

Ter bevordering van de structuur en duidelijkheid van dit vraagstuk zijn er een aantal deelvragen geformuleerd. De antwoorden op deze deelvragen zullen bijdragen aan de oplossing van het vraagstuk.

- A. Wat is het effect van de AHV Extra Bolus op de melkproductie van de behandelde dieren?
- B. Wat is het effect van de AHV Extra Bolus op het aantal geregistreeerde mastitis gevallen?
- C. Wat is het effect van de AHV Extra Bolus op het celgetal van de behandelde dieren?

Om deze deelvragen goed te kunnen beantwoorden zijn de volgende hypothesen opgesteld.

Er is geen verschil in verandering van de melkproductie tussen de twee groepen te constateren. (H_0) Binnen de behandelde groep is een significant verschil in melkproductie aantoonbaar ten opzichte van voor de behandeling, koeien in de controlegroep vertonen geen significant verschillende melkproductie in dezelfde periode. (H_1)

Er zit geen verschil in het aantal acute mastitisgevallen tussen de twee groepen. (H_0) Het aantal acute mastitisgevallen in de proefgroep zal, door het opschonen van het uier, hoger zijn dan het aantal in de controlegroep. (H_1)

Er is geen verschil in verandering van het celgetal tussen de twee groepen te constateren. (H_0) Melkkoeien uit de proefgroep hebben een significant verschillend celgetal ten opzichte van voor de behandeling. Koeien in de controlegroep laten geen significante veranderingen van het celgetal zien. (H_1)

Doormiddel van dit rapport wordt ernaar gestreefd alternatieve bestrijdingsmogelijkheden van subklinische mastitis aan te tonen ten opzichte van de gebruikelijke behandeling met antibiotica. Het streven is om de bewustwording van het verminderen van het antibiotica gebruik binnen de melkveehouderij te stimuleren. Het is de bedoeling om doormiddel van dit onderzoek een handvat aan de melkveehouders te verstrekken waardoor deze de “license to produce” veilig kunnen stellen. Dit doel wordt bereikt door de hoofd- en deelvragen te beantwoorden en zo aan te tonen dat een behandeling van verhoogd celgetal ook zonder antibiotica mogelijk is. Hierdoor zullen vooral de melkveehouders, maar ook andere personen binnen de agrarische sector, gestimuleerd worden het antibiotica gebruik verder kritisch te bekijken. Met dit rapport moet het belang van een sterk immuunsysteem van de melkkoe wederkeren bij de melkveehouders. Immers zorgt een sterk immuunsysteem voor minder problemen en een betere balans van de people, planet, profit. Uiteindelijk wordt er een rapport opgeleverd dat reeds bekende informatie met een onderzoek in de praktijk aan elkaar koppelt.

Aansluitend in hoofdstuk 2 wordt de onderzoeksmethode weergegeven en is per deelvraag een korte toelichting gegeven worden hoe deze vraag is onderzocht. In het derde hoofdstuk zijn de resultaten van de proef weergegeven met behulp van grafieken en tabellen. Aansluitend op de resultaten worden

deze in hoofdstuk 4 per deelvraag bediscussieerd doormiddel van vergelijkingen met reeds bekende literatuur. Er wordt een oordeel aan de resultaten gegeven en gekeken welke aspecten tijdens de proef beter hadden kunnen lopen. Op basis van de discussie kunnen gefundeerde conclusies (hoofdstuk 5) gegeven worden. Deze conclusies zijn de antwoorden op de deel- en hoofdvragen. In hetzelfde hoofdstuk zullen op basis van de conclusies aanbevelingen voor de doelgroep en voor een eventueel vervolgonderzoek gegeven worden. Het doel van deze aanbevelingen is de bewustmaking van het probleem in de praktijk en hoe de praktijk hiermee kan omgaan. Hierop aansluitend zullen de geraadpleegde bronnen weergegeven worden en in het laatste hoofdstuk zijn de bijlages waarin de resultaten van de toetsen zijn weergegeven.

2. Aanpak

Voor dit onderzoek wordt er gekozen voor een kwantitatief onderzoek, wil zeggen cijfermatig onderzoek en het analyseren van de resultaten hiervan.

Het melkveebedrijf waar het onderzoek is uitgevoerd, gelegen op de grens van de deelstaten Sachsen en Thüringen, melkt 500 stuks Holstein-Friesian koeien. In het najaar van 2020 kampte het bedrijf met een celgetal van boven de 400.000 cellen per milliliter melk. Op basis hiervan heeft de ondernemer naar een nieuwe strategie van behandelen gezocht, en is met AHV Deutschland GmbH gestart. Sinds dit moment worden de koeien op basis van de maandelijks melkproductieregistratie (MPR) uitslag en advies van AHV behandeld met de AHV Extra Bolus. Deze MPR wordt uitgevoerd door Landeskontrollverband e.V. Sachsen, een onafhankelijk onderzoekslaboratorium. Voor dit onderzoek wordt gewerkt met reeds bestaande gegevens. Er zijn door de student zelf geen gegevens verzameld. Alle data waren bekend en aan de student beschikbaar gesteld. Op basis hiervan was er dus geen invloed op welke dieren wel of niet zijn behandeld. Hierdoor was het van groot belang om de gegevens goed te bestuderen en zo nodig te splitsen om vergelijkbare groepen te laten ontstaan. De beschikbaar gestelde melkcontroles zijn met behulp van het computerprogramma ITB per maand geanalyseerd. Deze analyses zijn gesorteerd op oornummer en als Excelbestand per controlemaand geëxporteerd. In tegenstelling tot de gebruikelijke manier van werken op de boerderij, met halsbandnummers, is ervoor gekozen om met oornummers te werken. Oornummers is de meest specifieke dierherkenning. Hierop aansluitend zijn de Excelbestanden van de 6 controlemaanden in één Excelbestand samengevoegd. In dit Excelbestand zijn vervolgens met behulp van de documentatie van de ondernemer de met de AHV Extra Bolus behandelde dieren herkenbaar gemaakt door een kolom aan het Excelbestand toe te voegen. Aansluitend konden doormiddel van filters de gegevens voor de individuele deelvragen worden gesplitst.

Voor de betrouwbaarheid van de gegevens is er uitsluitend gewerkt met dieren die in iedere controle maand zijn gemolken. Hierdoor is het aantal koeien kleiner geworden dan de aanwezige melkkoeien. Er is dus met een voor de proef relevante groep koeien gewerkt en niet de totale veestapel. Doordat van deze relevante groep niet alle koeien behandeld zijn, is er binnen deze voor de proef relevante groep koeien een proefgroep (behandeld met AHV Extra Bolus,) en een controlegroep (alle niet behandelde dieren) ontstaan.

Het gefilterde Excelbestand, waarin alleen de relevante dieren zijn weergegeven, bevat alle belangrijke gegevens die zijn verwerkt. Het gaat hierbij voornamelijk om het oornummer van het dier, hoort het dier in proef- of controlegroep en per melkcontrolemaand dier individuele melkproductie en celgetal. Gefilterde secties van dit bestand, deelvraag afhankelijk, zijn vervolgens in SPSS ingelezen en getoetst.

Om de hoofdvraag *“Wat is het effect van doorbreken van Quorum Sensing op subklinische mastitis bij Holstein Frisian melkkoeien, veroorzaakt door de AHV Extra Bolus, gedurende een periode van 6 maanden.”* te kunnen beantwoorden is per deelvraag toegelicht hoe deze is beantwoord.

Wat is het effect van de AHV Extra Bolus op de melkproductie van de behandelde dieren?

Zoals eerder aangegeven is er gewerkt met proef- en controlegroep. Het gaat hierbij om “behandelde” en “niet behandelde” dieren.

De verandering van de melkproductie binnen de twee groepen is ten opzichte van de maand november getoetst. Hierbij is gerekend met gemiddeldes. Het productieverloop is voor iedere controlem aand bekeken, daarbij zijn voor beide groepen 5 paren ontstaan: november en december, november en februari, november en maart, november en april, november en mei.

De schaalvariabel “melkproductie” is tegenover de ordinale variabel “behandeld” (0=niet behandeld, 1= behandeld) getoetst. Daarvoor is de afhankelijke t-toets gebruikt. De afhankelijke t-toets wordt gebruikt bij het vergelijken van hetzelfde object, in dit geval dezelfde koe, op 2 verschillende tijdstippen. De t-toets geeft hierbij aan of er een significant verschil aanwezig is, de beoordeling van verhoging of verlaging is vervolgens gegeven uit de descriptieve statistiek, waarin de gemiddeldes van de twee momenten zijn weergegeven.

Op basis van aanwezigheid van koeien met een celgetal van boven 1.000.000 cellen per milliliter melk is de test opgesplitst en zijn er 2 analyses doorgevoerd, namelijk:

- Behandelde koeien met celgetal boven 1.000.000 cellen per milliliter melk ten opzichte van niet behandelde koeien met celgetal boven 1.000.000 cellen per milliliter melk
- Behandelde koeien met celgetal onder 1.000.000 cellen per milliliter melk ten opzichte van niet behandelde koeien met celgetal onder 1.000.000 cellen per milliliter melk

Hierdoor zijn de gegevens betrouwbaarder geworden omdat de proef- en controlegroepen kleinere standaarddeviatie hebben. Een grote standaarddeviatie, wil zeggen de spreiding ten opzichte van het gemiddelde, belemmert de duidelijke interpretatie van de uitkomsten.

Voor het statistische onderzoek van deze vraag waren de belangrijkste gegevens in het Excelbestand: koe-nummer, dier individuele melkproductie, proef- of controlegroep, dier individueel celgetal

Benodigde materialen waren: MPR-november 2020 - mei 2021, IBM SPSS versie 27, Managementprogramma veehouder, Analyseprogramma ITB dsp-agrosoft, Excel

Wat is het effect van de AHV Extra Bolus op het aantal geregistreerde mastitis gevallen?

Voor het beantwoorden van deze vraag zijn de behandelde koeien in de documentatie van de veehouder opgezocht. Hier is gekeken naar de vermeldingen van acute mastitis gevallen. Op basis van deze gegevens is daarna een apart Excelbestand gemaakt. Belangrijkste gegevens binnen dit Excelbestand waren: koe-nummer, proef- of controlegroep en per dier individueel mastitis geval ja of nee.

Bij deze proef is gewerkt met 2 groepen “behandeld” en “niet behandeld”.

Bij deze toets is de ordinale variabel “mastitis” (0= geen mastitis, 1= mastitis) tegenover de ordinaal variabel “groep” (0=controlegroep, 1= proefgroep) getoetst. Voor deze toets is de chikwadraattoets gebruikt. Ter bevordering van de duidelijkheid van de uitkomsten is eerst een kruistabel opgesteld, en vervolgens de uitkomsten hiervan getoetst.

Benodigde materialen zijn: IBM SPSS versie 27, documentatie veehouder, Excel

Wat is het effect van de AHV Extra Bolus op het celgetal van de behandelde dieren?

Voor het beantwoorden van deze vraag is nagenoeg dezelfde aanpak als voor deelvraag 1 toegepast. In tegenstelling tot melkproductie in deelvraag 1 is bij het beantwoorden van deze vraag het dierindividuele celgetal van belang.

De verandering van het celgetal binnen de twee groepen is ten opzichte van de maand november getoetst. Hierbij is gerekend met gemiddeldes. Verder is het celgetalverloop voor iedere controlemaand bekeken, daarbij zijn voor beide groepen 5 paren ontstaan: november en december, november en februari, november en maart, november en april, november en mei.

Voor deze proef is de schaalvariabel "celgetal" getoetst tegenover de ordinale variabel "behandeld" (0=niet behandeld, 1= behandeld). Daarvoor is wederom de afhankelijke t-toets gebruikt. De t-toets geeft hierbij aan of er een significant verschil aanwezig is, de beoordeling van verhoging of verlaging is vervolgens gegeven uit de descriptieve statistiek, waarin de gemiddeldes van de twee momenten zijn weergegeven.

Op basis van aanwezigheid van koeien met een celgetal van boven het miljoen is de test opgesplitst en zijn er 2 analyses doorgevoerd, namelijk:

- Behandelde koeien met celgetal boven 1 miljoen cellen per milliliter melk ten opzichte van niet behandelde koeien met celgetal boven 1 miljoen cellen
- Behandelde koeien met celgetal onder 1 miljoen cellen per milliliter melk ten opzichte van niet behandelde koeien met celgetal onder 1 miljoen cellen

Hierdoor zijn de gegevens betrouwbaarder geworden omdat de proef- en controlegroepen kleinere standaarddeviatie hebben. Een grote standaarddeviatie, wil zeggen de spreiding ten opzichte van het gemiddelde, belemmert de duidelijke interpretatie van de uitkomsten.

Voor het statistische onderzoek van deze vraag waren de belangrijkste gegevens in het bestand: koe-nummer, dier individueel celgetal, proef- of controlegroep.

Benodigde materialen waren: MPR-november 2020 - mei 2021, IBM SPSS versie 27, Managementprogramma veehouder, Analyseprogramma ITB dsp-agrosoft, Excel

Voor het behoud van de structuur en een duidelijk antwoord was een afbakening van het onderwerp van groot belang. Daarom is ervoor gekozen om het specifiek bij het onderzoeken van mastitis bij melkvee te houden. Verder is het onderzoek gericht op het ras Holstein Frisian om eventuele invloeden van weerbaarheid van verschillende rassen uit te kunnen sluiten. In tegenstelling tot in de literatuurstudie vermelde betere genezingskansen van jongere dieren, is er in het onderzoek geen rekening gehouden met de leeftijd van het melkvee en het lactatiestadium. De daadwerkelijk behandeling en het bepalen welke dieren behandeld worden, viel niet in de verantwoordelijkheid van de student. Het onderzoek was gericht op de in de hoofd- en deelvragen benoemde zaken. Voor het uitsluiten van omgevingsfactoren zijn voor dit onderzoek de gegevens van één melkveehouder geanalyseerd.

3. Resultaten

In dit hoofdstuk worden de resultaten van de proef beschreven. De antwoorden zijn per deelvraag weergegeven. Zoals eerder weergegeven zijn de antwoorden op basis van statistische analyse middels SPSS. De resultaten worden weergegeven doormiddel van grafieken en tabellen. Statistische berekeningen zijn in de bijlagen terug te vinden.

<u>overzicht</u>	
totaal aantal koeien MPR	541
koeien MPR november	385
koeien MPR december	358
koeien MPR februari	389
koeien MPR maart	397
koeien MPR april	418
koeien MPR mei	411
koeien relevant voor de proef	175
koeien beh. november (proefgroep)	31
controlegroep	144
Ø lactatie proefgroep	1,9
Ø lactatie controlegroep	2,0
Ø melkdag proefgroep	97
Ø melkdag controlegroep	112

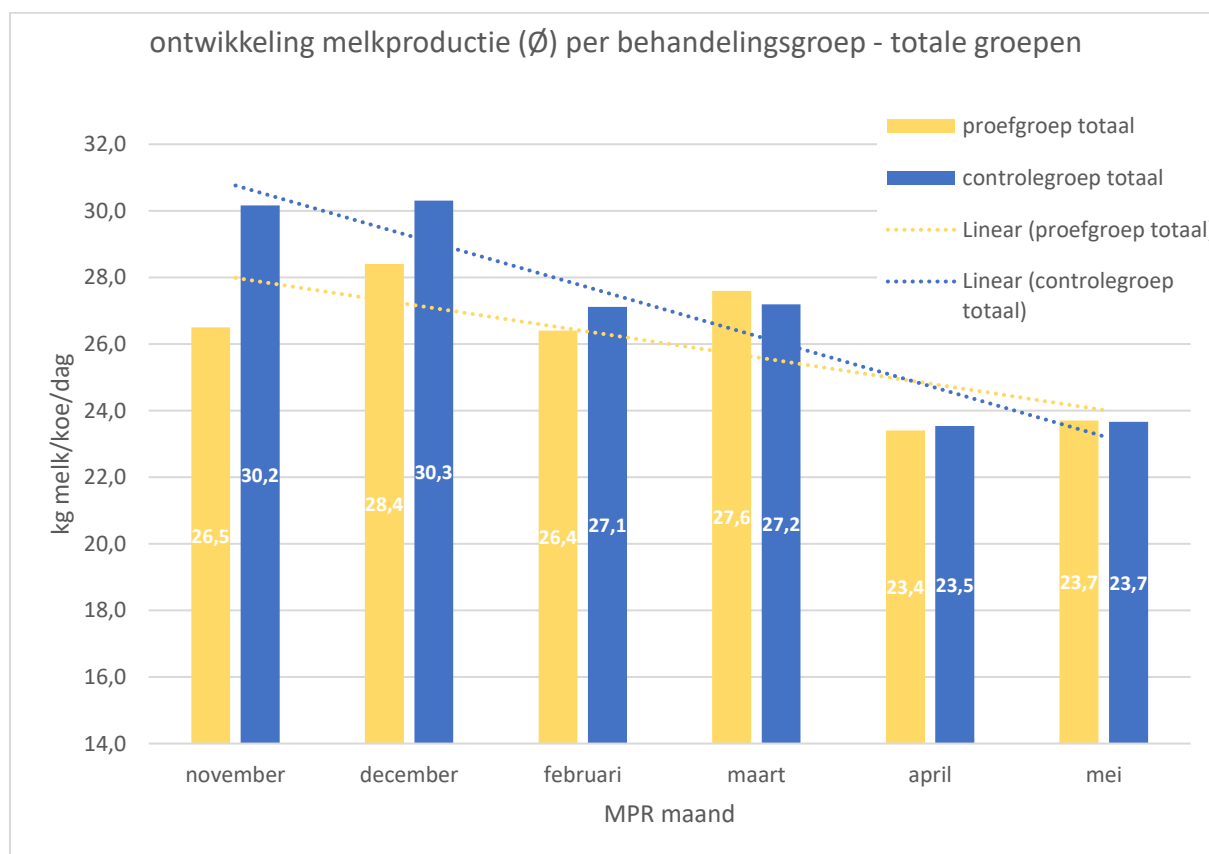
Tabel 1 - overzicht proefopzet

Zoals in tabel 1 te zien zijn gedurende de proefperiode november 2020 tot mei 2021 in totaal 541 getest in de MPR. Voor een betrouwbaar resultaat zijn de dieren eruit gefilterd die gedurende alle 6 controlemomenten gemolken zijn. In feiten komt dit neer op 208 dieren. Van deze 208 dieren zijn 31 behandeld met de AHV Extra Bolus. Dit zijn dieren die behandeld zijn in de maand november. Dieren die later zijn behandeld zijn ook buiten beschouwing gelaten zodat het effect van de bolus voor minimaal 6 maanden getoetst kon worden. Verder zijn ook dieren die een dubbele behandeling hebben gehad buiten de test gehouden. In totaal bestaat de proefgroep dus uit 31 dieren en de controlegroep uit 144 koeien. De overige 33

dieren zijn uit gesorteerd op grond van dubbelbehandelingen of behandelingen later dan november 2020. Op basis van de aangeleverde cijfers heeft de proefgroep een gemiddeld lactatie van 1,90. De controlegroep van deze proef had een gemiddelde lactatie van 2,00. De controlegroep is de proef gestart op gemiddeld 112 dagen in melk en de proefgroep had aan het begin gemiddeld 97 dagen in melk.

3.1 Invloed AHV Extra Bolus op de melkproductie

De totale controlegroep (144 dieren) is deze proef gestart met een gemiddelde melkproductie van 30,2 kg melk per koe per dag met een standaardafwijking (weergegeven in bijlage I.a.) van 8,0 kg melk per koe per dag. Daarentegen had de totale proefgroep (31 dieren) een gemiddelde melkproductie van 26,5 kg melk per koe per dag met een standaardafwijking van 8,8 kg melk per koe per dag. In verloop der tijd zijn beide groepen in de melkproductie gedaald naar 23,7 kg melk per koe per dag. Hierbij had de totale controlegroep in mei een standaardafwijking van 9,2 kg melk per koe per dag en de totale proefgroep een standaardafwijking van 6,8 kg melk per koe per dag. Het verloop van daling van de melkproductie is voor een beter overzicht in figuur 1 weergegeven.

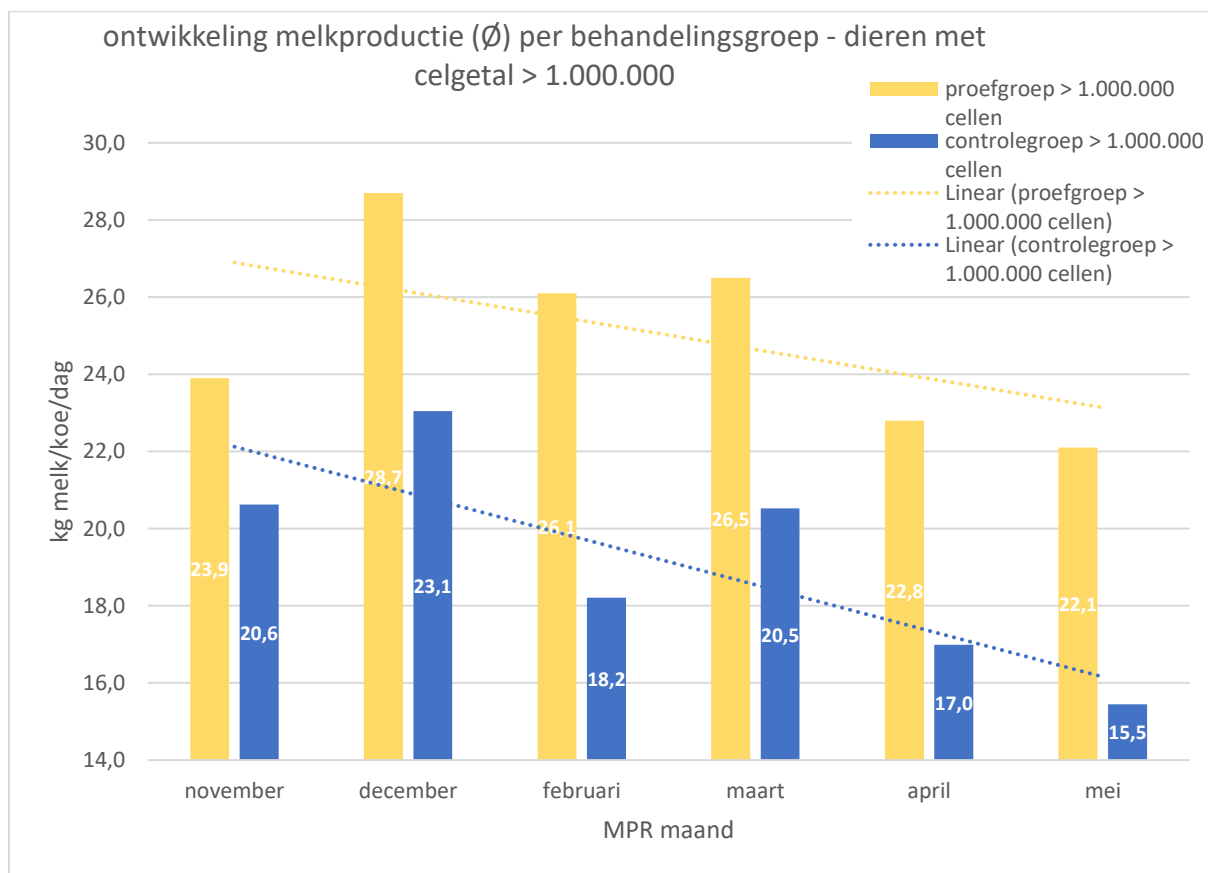


Figuur 1 – verloop van melkproductie gedurende de proef voor totale proef- en controlegroep

Op basis van de aanwezigheid van koeien met een celgetal van groter als 1.000.000 cellen per milliliter melk zijn de groepen gesplitst. Onderstaand is het verloop van de melkproductie van de verschillende groepen weergegeven.

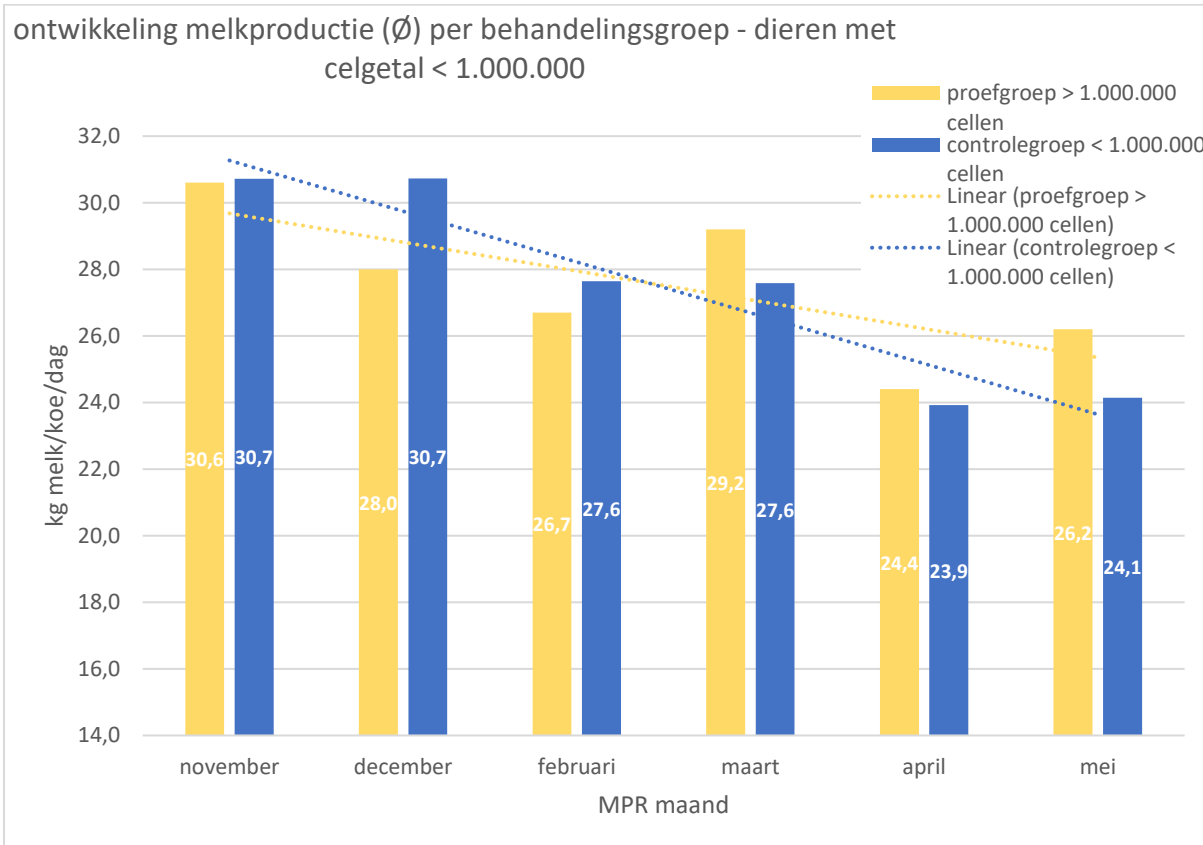
De koeien uit de proefgroep met een celgetal boven 1.000.000 cellen (19 dieren) starten de proef met een gemiddelde productie van 23,9 kg melk per koe per dag met een standaarddeviatie (weergegeven in bijlage I.b.) van 9,4 kg melk per koe per dag. De respectievelijke controlegroep (8 dieren) startte de proef met een gemiddelde productie van 20,6 kg melk per koe per dag en een standaardafwijking van 10,3 kg melk per koe per dag. Beide groepen zijn gedurende de proef in productie gedaald. De proefgroep eindigde de proef met een gemiddelde productie van 22,1 kg melk per koe per dag. De standaardafwijking hierbij was 6,8 kg melk per koe per dag. De bijbehorende controlegroep eindigde de proef met een gemiddelde productie van 15,5 kg melk per koe en dag. Hierbij was de

standaarddeviatie 12,8 kg melk per koe per dag. Het verloop van de melkproductie is in onderstaande figuur 2 weergegeven.



Figuur 2 - verloop van melkproductie gedurende proef voor dieren met celgetal boven 1.000.000 cellen

De tweede kudde dieren, waar zowel proef- en controlegroep onder 1.000.000 cellen per milliliter melk zitten, laat eveneens een daling in de melkproductie zien. Dit is in onderstaand figuur 3 weergegeven. De proefgroep, 12 dieren behandeld met de AHV Extra Bolus, is de proef gestart met een gemiddelde dagelijkse productie van 30,6 kg per koe. De standaardafwijking hiervan is 6,1 kg melk per koe per dag, weergegeven in bijlage I.c. De bijbehorende controlegroep, 136 dieren, startte de proef met 30,7 kg melk per koe per dag. Deze groep heeft een standaardafwijking van 7,5 kg melk per koe per dag. Gedurende de proef is de productie van de proefgroep gedaald naar 26,2 kg melk per koe en dag in mei met een standaardafwijking van 6,2 kg melk per koe per dag. De controlegroep is in deze periode gedaald naar 24,1 kg melk per koe en dag met een standaarddeviatie van 8,7 kg melk per koe per dag.

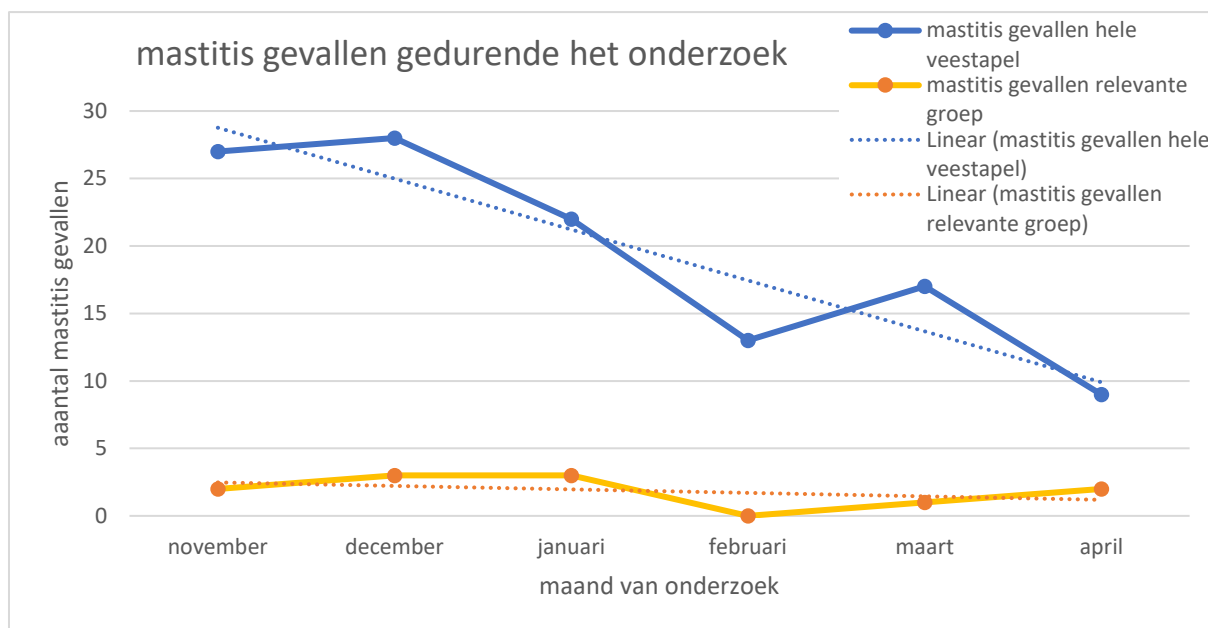


Figuur 3 - verloop van melkproductie gedurende proef voor dieren met celgetal onder 1.000.000 cellen

De uitkomsten van de proef zijn zoals eerder getoetst met de gepaarde t toets. Door de aanwezigheid van dieren met een celgetal boven 1.000.000 cellen per milliliter melk is deze toets voor 4 groepen uitgevoerd, proefgroep >1.000.000 cellen per milliliter melk, controlegroep > 1.000.000 cellen per milliliter melk en beide groepen onder 1.000.000 cellen per milliliter melk. De uitkomsten hiervan zijn in bijlage I.d. weergegeven. De berekende significantie voor de proefgroep boven 1.000.000 cellen per milliliter melk varieert van $p=0,007$ tot $p=0,670$. De uitslagen voor de bijbehorende controlegroep lopen uiteen van $p=0,167$ tot $p=0,965$. Er is voor de groepen boven 1.000.000 cellen per milliliter melk geen significant verschil in melkproductie aantoonbaar. Hetgeen van de groepen onder 1.000.000 cellen per milliliter melk verschilt hiervan. De proefgroep laat eveneens geen duidelijk significant verschil in melkproductie zien met waarden uiteenlopend van $p=0,021$ tot $p=0,584$. Daarentegen vertoont de controlegroep een duidelijk significant verschil in melkproductie. Buiten de maand december ($p=0,983$) is voor de overige 4 paren $p=0,000$ en daarmee sterk significant afwijkend.

3.2 Invloed AHV Extra Bolus op het aantal mastitis gevallen

In figuur 4 is de ontwikkeling van het aantal mastitisgevallen weergegeven. De totale veestapel vertoonde in de maand November 27 mastitisgevallen. Met verloop van de proef is het aantal mastitisgevallen binnen de gehele veestapel gedaald naar 9 in de maand april. Gedurende deze periode zijn in totaal 116 mastitis gevallen geconstateerd. Gegevens voor de maand mei waren niet aanwezig, overige gegevens zijn in bijlage II.a uitgebreid weergegeven. Binnen de voor de proef relevante groep koeien is het aantal mastitis gevallen gelijk gebleven. Al toont trendlijn een eveneens een lichte daling aan.



Figuur 4 - ontwikkeling mastitisgevallen

In tabel 2 is een overzicht gegeven van de mastitisgevallen. Uit dit overzicht blijkt dat 8 van de 11, dus 72,73%, mastitis gevallen die van belang zijn gedurende deze periode afkomstig zijn van dieren uit de proefgroep.

	mastitis gevallen hele veestapel	mastitis gevallen relevante groep	waarvan dieren uit proefgroep
november	27	2	1
december	28	3	3
januari	22	3	3
februari	13	0	0
maart	17	1	1
april	9	2	0
totaal	116	11	8

Tabel 2 - overzicht mastitis gevallen

Op basis van bovenstaand tabel 2 is een kruistabel gemaakt. In deze tabel 3 is te zien dat van de relevante groep (175) in totaal 11 dieren geregistreerd zijn met een klinische mastitis. Zoals eerder al vermeld zijn hiervan 8 afkomstig uit de proefgroep (31 dieren) en 3 uit de controlegroep (144 dieren). In bijlage II.b. is de statistische analyse van deze kruistabel te vinden.

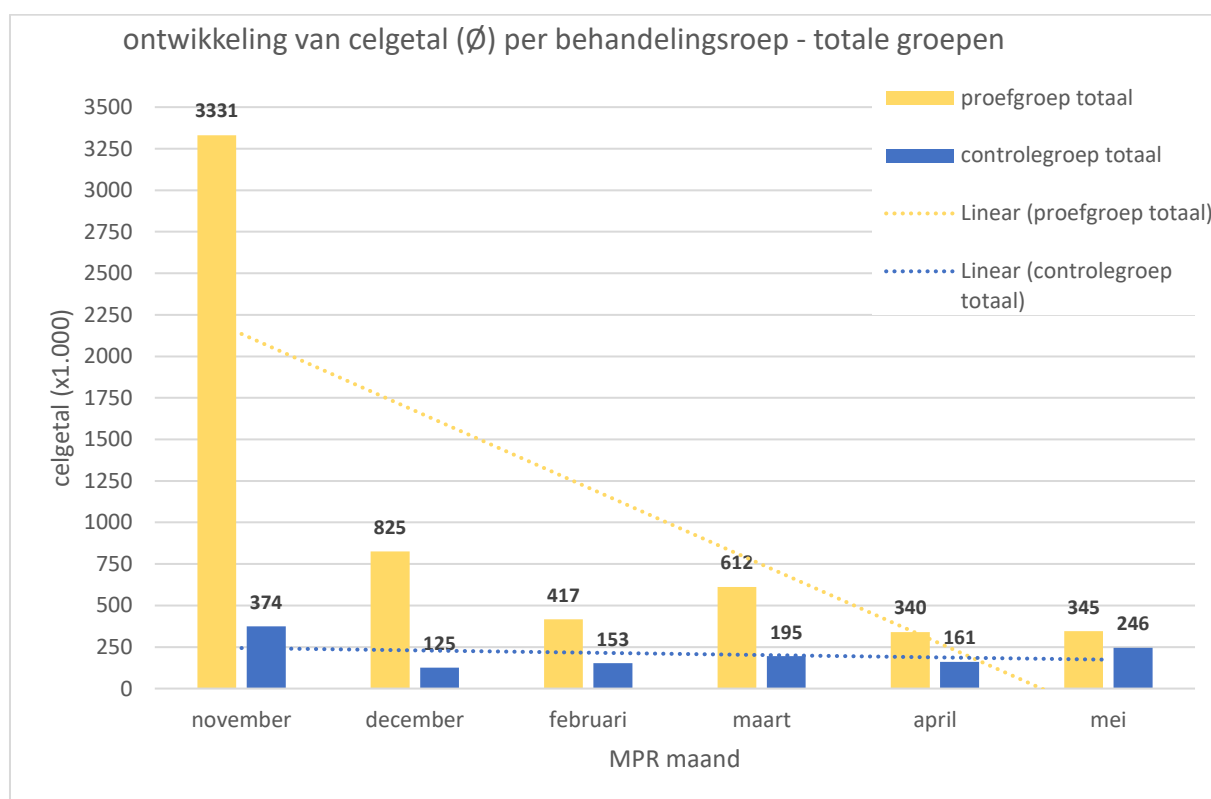
	klinische mastitis?		totaal
	nee	ja	
controlegroep	141	3	144
proefgroep	23	8	31
totaal	164	11	175

Tabel 3 - kruistabel mastitisgevallen

Doordat 2 nominale variabelen zijn getoetst, is ervoor gekozen om de Chikwadraattoets toe te passen. Voor het analyseren hiervan zijn eerst de verwachte waardes berekend. Hierbij is in bijlage II.b. te zien dat er op basis van de verkregen gegevens wordt verwacht dat van de proefgroep 2 dieren een klinische mastitis zouden krijgen. De controlegroep wordt voor 9 dieren een klinische mastitis voorspeld. Zoals in bijlage II.b. te zien wijken de gemeten waarden met $p=0,000$ sterk significant hiervan af. Om de effectgrote aan te kunnen geven is de phi-coëfficiënt berekend. De effectgrote hierbij is 0,373.

3.3 Invloed AHV Extra Bolus op het celgetal

Zoals in figuur 5 te zien is de totale controlegroep (144 dieren) in november gestart met een gemiddeld celgetal van 374.000 cellen per milliliter melk. De standaardafwijking hierbij was 1.208.000 cellen per milliliter melk zoals weergegeven in bijlage III.a. Gedurende de proefperiode is het celgetal gedaald naar 246.000 cellen per milliliter melk met een standaardafwijking van 705.000 cellen per milliliter melk. De totale met AHV Extra Bolus behandelde groep (31 dieren) is gestart met een celgetal van 3.331.000 cellen per milliliter melk met daar bijbehorend een standaardafwijking van 610.000 cellen per milliliter melk. Het celgetal in de proefgroep is na de behandeling gezakt naar 345.000 cellen per milliliter melk in mei. Hierbij is de standaardafwijking 535.000 cellen per milliliter melk. Het celgetal is na de behandeling binnen één maand met meer dan 50% gehalveerd. En vervolgens verder gedaald en stabiel laag gebleven binnen de proefgroep. De controlegroep laat eveneens schommelingen in het celgetal zien maar blijft op hetzelfde niveau hangen.

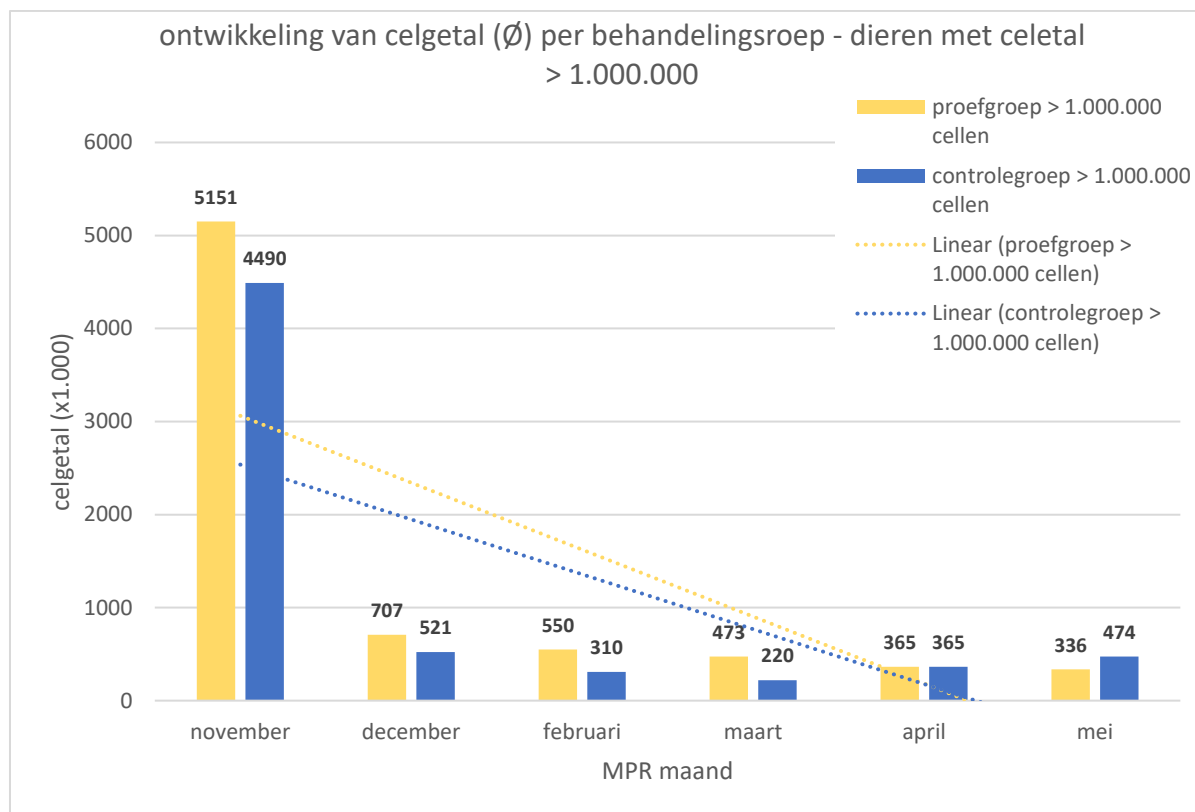


Figuur 5 - verloop van celgetal gedurende de proef voor totale proef- en controlegroep

Op basis van de aanwezigheid van koeien met een celgetal van groter als 1.000.000 cellen per milliliter melk zijn de groepen gesplitst. Onderstaand is het verloop van het celgetal van de verschillende groepen weergegeven.

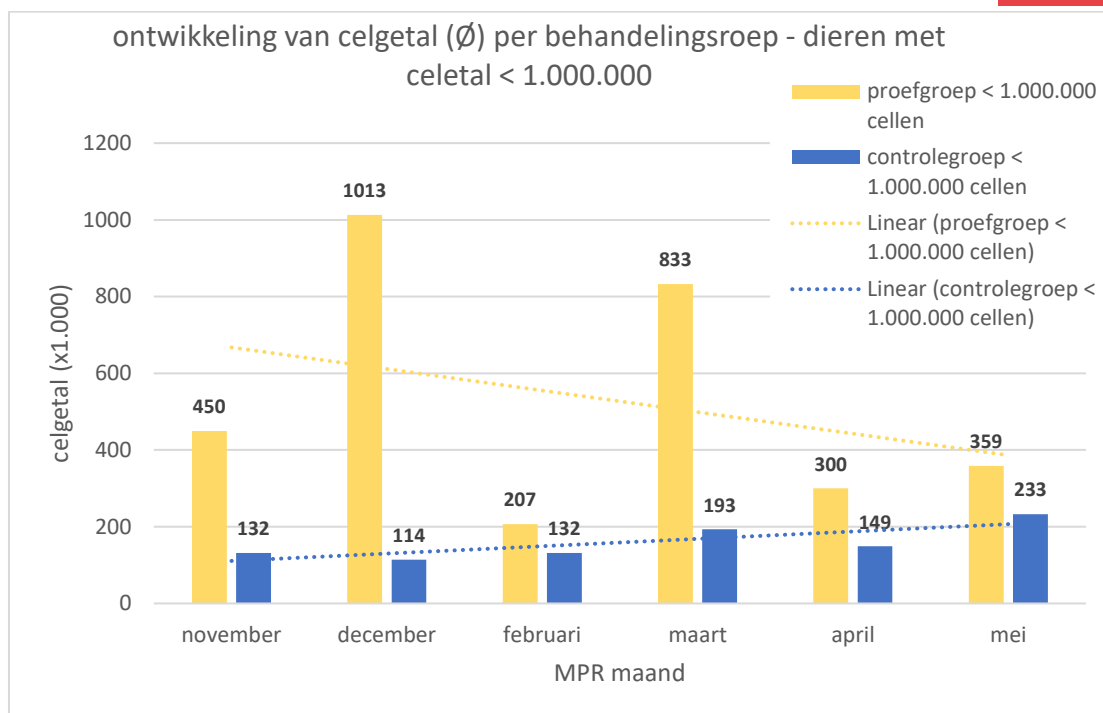
Voor de dieren met een celgetal boven 1.000.000 cellen per milliliter melk in proef- en controlegroep is het verloop overzichtelijk in figuur 6 weergegeven. De beschrijvende statistieken van deze 2 groepen zijn in bijlage III.b. weergegeven. Hierin is te zien dat de proefgroep (19 dieren) met een gemiddeld celgetal 5.151.000 cellen per milliliter melk in november is gestart. De standaarddeviatie hierbij was 3.189.000 cellen per milliliter melk. De controlegroep (8 dieren) startte de proef met een gemiddeld celgetal van 4.490.000 cellen per milliliter melk en een standaardafwijking van 2.975.000 cellen per milliliter melk. De proefgroep is binnen een maand verlaagd naar een gemiddeld celgetal van 707.000 cellen per milliliter melk en eindigde de proef met een celgetal van 336.000 cellen per milliliter melk.

Hierbij is een continue daling waar te nemen. De standaarddeviatie in de maand mei bedraagt 643.000 cellen per milliliter melk. De controlegroep laat eveneens een daling van het celgetal zien. Hierbij is tot de maand maart een daling naar 220.000 cellen per milliliter melk vast te stellen, echter in tegenstelling tot de proefgroep is daarna een stijging vanaf maart te herkennen. De controlegroep eindigde de proef met een gemiddeld celgetal van 474.000 cellen per milliliter melk in de maand mei en een bijbehorende standaarddeviatie van 715.000 cellen per milliliter melk.



Figuur 6 - verloop van celgetal gedurende proef voor dieren met celgetal boven 1.000.000 cellen

In figuur 7 is het verloop van de celgetal ontwikkeling voor beide groepen onder 1.000.000 cellen per milliliter melk te zien. In bijlage III.c. zijn de bijbehorende beschrijvende statistieken weergegeven. Hieruit is op te maken dat de controlegroep (136 dieren) de proef is gestart met een gemiddeld celgetal van 132.000 cellen per milliliter melk en de daarbij horende standaardafwijking bedraagt 157.000 cellen per milliliter melk. De proefgroep (12 dieren) start de proef met een gemiddeld celgetal van 450.000 cellen per milliliter melk. De standaarddeviatie hierbij is 301.000 cellen per milliliter melk. Gedurende de proef laat de proefgroep een sterk schommelend celgetal zien. In de maand na de behandeling, december, is het celgetal van de proefgroep gestegen naar 1.013.000 cellen per milliliter melk. Aansluitend is het gedaald naar 207.000 cellen per milliliter melk in februari en in maart wederom gestegen naar 833.000 cellen per milliliter melk. Al met al is voor de gehele periode een daling naar een gemiddeld celgetal van 359.000 cellen per milliliter melk in mei te constateren. De standaardafwijking in mei bedraagt 643.000 cellen per milliliter melk. In tegenstelling hiertoe laat het celgetal van de controlegroep een stabielere ontwikkeling zien. Hier wordt een stijgende tendens waargenomen naar 233.000 cellen per milliliter melk in de maand mei. De standaardafwijking van de controlegroep in de maand mei bedraagt 715.000 cellen per milliliter melk.



Figuur 7 - verloop van celgetal gedurende proef voor dieren met celgetal onder 1.000.000 cellen

In de in bijlage III.d. weergegeven tabel is een overzicht gegeven van de behandelde koeien. Daarin is te zien dat van de 31 behandelde koeien nog 2 dieren een celgetal boven de miljoen hebben. In tabel 3 is een overzicht gegeven van de resultaten opgesplitst naar lactatie.

	Kühe	Ø ZZ Start Versuch	Ø ZZ Ende Versuch	Anzahl ≤ 100.000 ZZ	Anzahl ≤ 100.000 ZZ (%)
1e Laktation	18	2668	98	13	72,22%
2e Laktation	3	6830	498	0	0,00%
3e + Laktation	10	3475	743	2	20,00%
Geamt	31	3331	345	15	48,39%

Tabel 4 - resultaten voor verschillende lactatie

In de tabel 3 is te zien dat dieren in de 1^e lactatie beginnen met een gemiddeld celgetal van 2.700.000 cellen per milliliter melk. Aan het einde van de proef hebben de dieren van de 1^e lactatie een gemiddeld celgetal van 98.000 cellen per milliliter melk. Dieren uit de 2^e lactatie starten de proef met een gemiddeld celgetal van 6.800.000 cellen per milliliter melk en dalen gedurende de proef naar 498.000 cellen per milliliter melk. In de derde groep, vanaf de 3^e lactatie, beginnen de dieren de proef met een gemiddeld celgetal van 3.500.000 cellen per milliliter melk en zakken naar gemiddeld 743.000 cellen per milliliter melk. In bijlage III.d. is te zien dat 2 van de 10 dieren uit deze groep boven 1.000.000 cellen per milliliter melk blijven hangen.

De resultaten van de MPR zijn voor deze deelvraag wederom getoetst met de gepaarde t-toets. Verder is hier ook onderscheid gemaakt bij de grens van 1.000.000 cellen per milliliter melk. Voor de dieren die erboven zitten zijn significante verschillen in zowel proef- als ook controlegroep vast te stellen. De proefgroep heeft in eenieder paar een p-waarde van $p=0,000$. Er is een sterk significant verschil aan te tonen. Voor de bijbehorende controlegroep is eveneens een significant verschil aantoonbaar met waarden van $p=0,005$ tot en met $p=0,013$. Beide groepen onder 1.000.000 cellen per milliliter melk

wijken hiervan af. Zowel de proefgroep met waarden van $p=0,042$ tot $p=0,641$ als ook de controlegroep met waarden van $p=0,105$ tot $p=0,991$ geven aan dat er geen significant verschil aantoonbaar is.

4. Discussie

Het onderzoek is uitgevoerd in de praktijk op 1 bedrijf. Voordelen hiervan zijn het zo ver mogelijk uitsluiten van onvoorziene omstandigheden en buitengewone invloedfactoren. Hierbij is onder anderen te denken aan eventuele rantsoenverschillen tussen meerdere bedrijven. Het uitvoeren van de proef op een bedrijf is dus aan de ene kant een voordeel maar hierdoor wordt de steekproefgrote ook beperkt. Het bedrijf melkt weliswaar 500 koeien, echter was de relevante proefgroep hier maar 175 koeien. Van deze 175 koeien zijn slechts 31 koeien in de proefgroep geweest (18%). Voor een hogere betrouwbaarheid was een grotere proefgroep beter geweest. Dit komt voort uit feit dat voor de betrouwbaarheid van de cijfers alleen dieren zijn beoordeeld die bij elke van de 6 melkcontroles gemolken zijn. Het onderzoek is uitgevoerd op aangeleverde data. Hierbij is niet uit te sluiten dat bijvoorbeeld invoerfouten zijn gemaakt bij het protocolleren van de behandelde koeien. Er is vooraf geen bacteriologisch onderzoek doorgevoerd bij de behandelde dieren. Hierdoor is het niet mogelijk om concrete gegevens voor de belangrijkste verwerkers te geven. Desalniettemin is de proef, gezien het resultaat goed verlopen. De aangevoerde gegevens, betreffend de MPR, kunnen als zeer betrouwbaar beschouwd worden, doordat deze van een onafhankelijk geaccrediteerd laboratorium zijn doorgevoerd. Een nadeel bij de MPR was een onregelmatig afstand met een gemiddelde van 36,6 dagen tussen de controle dagen. Ook is een MPR een momentopname. Vooral voor het beoordelen van het effect op de melkproductie is het werken met de dagproducties betrouwbaarder doordat ook meetfouten bij het melken kunnen ontstaan. Als een koe het melkstel aftrapt en deze niet nogmaals wordt onder gehangen, dan is de koe niet goed uitgemolken en is er een vertekend beeld betreffende de productie. Ondanks deze verbeterpunten van het onderzoek is de proef goed verlopen. De doelstelling is gezien het resultaat bereikt, doordat het merendeel van de behandelde dieren ook na 6 maanden een gezond celgetal van onder de 100.000 cellen per milliliter melk vertoond.

In het kort kunnen de resultaten van dit onderzoek als volgt worden weergegeven. De AHV Extra Bolus heeft een significant effect op het verlagen van het celgetal van dieren met een celgetal boven 1.000.000 cellen per milliliter melk. Dit effect is binnen een maand al duidelijk te zien en de verlaging zet voort met toenemende tijd. Ook na verloop van meerde maanden blijft het celgetal van de behandelde dieren, waarbij de behandeling is aangeslagen, op een laag niveau. Echter zijn er ook dieren die geen behandelingssucces vertonen. Vermoedelijk heeft dit te maken met verschillende verwerkkers. Op de melkproductie heeft de bolus volgens dit onderzoek geen significant effect. Daarentegen is er op het aantal mastitis gevallen een significant verschil aantoonbaar tussen statistisch verwachte waarden en gemeten waarden. Van het aantal waargenomen mastitisgevallen was 75% afkomstig uit de proefgroep. Hierbij is het de vraag of dit daadwerkelijk mastitis gevallen waren of dit misinterpretaties waren en hetgeen wat als mastitis is waargenomen slechts het effect van de bolus, het opschonen van het uier, was.

4.1 Invloed AHV Extra Bolus op de melkproductie

Zoals eerder benoemd vertoonden onderzoeken van Halasa et. al. melkproductieverlaging van 0,3 kg/dag bij een celgetal boven de 100.000 (Halasa, et al., 2009). Een onderzoek van R. J. Harmon vertoonde vergelijkbare resultaten in 1994. Dit onderzoek toonde aan dat dieren met een celgetal boven de 500.000 een productieverlies hebben van 6% ten opzichte van dieren met een celgetal onder de 200.000 cellen (Harmon, 1994). Tijdens het onderzoek kon statistisch niet aangetoond worden dat een verlaging van het celgetal bij individuele dieren een productieverhoging bij deze tot gevolg had. Dit is echter verklaarbaar doordat tussen twee metingen 36,6 dagen zaten en er gewerkt is met gemiddelden van de proef- en controlegroep. Hierdoor komen verschillende dieren met verschillende lactatiestadia en leeftijden bij elkaar. Zo ligt de gemiddelde melkdag bij proef- en controlegroep op 97 en respectievelijk 112 dagen. Dit ligt beide na het piekmoment van de melkproductie. Deze is over het algemeen rond de 60^e dag. Hierdoor is het van nature al niet mogelijk dat de gemiddelde productie weer gaat stijgen. Het grootste verschil is in de groep met een celgetal onder 1.000.000 cellen per milliliter melk vast te stellen. Hier laat de controlegroep, dus de niet behandelde groep, een significant verschil in melkproductie zien. Kijkend naar de trendlijn in figuur 3 is er sprake van een significante daling van de melkproductie gedurende de proefperiode. De vergelijkbare proefgroep, behandeld met de AHV Extra Bolus, laat weliswaar ook een dalende productie zien, deze is echter vlakker en niet statistisch aantoonbaar. Deze verhouding, een langzamere productieverlaging van de proefgroep ten opzichte van de controlegroepen, is zowel bij de totale groep als ook bij de groep boven 1.000.000 cellen per milliliter melk te zien. Een invloed van de AHV Extra Bolus is echter niet statistisch aantoonbaar.

Achteraf gezien moeten naar mijn mening enkele dingen veranderd worden om hier gefundeerd antwoord op te kunnen geven. Ten eerste moeten de dieren opgedeeld worden naar lactatiestadia en leeftijd en ten tweede is de beoordeling van de melkproductie beter op basis van dagproducties. Hierdoor wordt het natuurlijke verloop van afbouw van melkproductie tijdens de lactatie beter tegengewerkt. Verder kan een invloed van de bolus op de melkproductie op lange termijn gecontroleerd worden. Bij een start van een volgende lactatie moeten deze dieren, uitgaande van de literatuur, een hogere melkproductie moeten kunnen vertonen dan dieren die ondanks een hoog celgetal niet behandeld zijn.

4.2 Invloed AHV Extra Bolus op het aantal mastitisgevallen

Op het onderzoeksbedrijf wordt door meerdere personen gemolken. Door geen duidelijke afspraak te maken over de indicatie is de betrouwbaarheid van het aantal mastitis gevallen erg twijfelachtig. Desondanks kunnen er van de resultaten die er zijn wel tendenties afgeleid worden. Zo is te zien dat gedurende de proef het aantal acute mastitis gevallen daalt binnen de relevante groep (80%), maar ook binnen de gehele veestapel (66%). Dit duidt erop dat een verlaging van het koppelcelgetal een positieve invloed heeft op het aantal acute mastitis gevallen. Deze samenhang van subklinische en klinische mastitis is ook in een onderzoek van Harmon vastgesteld (Harmon, 1994). Verder is te zien dat van de acute mastitis gevallen binnen de relevante groep gedurende de gehele periode 8 van 11 gevallen voortkomen van dieren die behandeld zijn met de bolus. Ondanks deze lage steekproefgrote, is er statistisch onderzoek doorgevoerd. Er is een significant verschil aangetoond ten opzichte van de verwachte waardes. Naast deze toets is er nog gekeken naar de effectgrote. Volgens de indeling van Cohen kan er van een middelgroot effect van de Bolus op het aantal mastitisgevallen gesproken worden (Cohen, 1977). Hierbij is het de vraag of dit daadwerkelijk mastitis gevallen zijn. In mijn ogen is hetgeen dat als mastitis geconstateerd is, het klinisch zichtbaar resultaat is van de werking van de bolus. Het doel van de bolus is het opbreken van de biofilm binnen het uier, zodat het immuunsysteem

de bacteriën die daarin verborgen zitten kan bestrijden. Hierdoor is aannemelijk dat hetgeen wat als mastitis wordt waargenomen het succes is van de behandeling. Het uier is van binnen opgeschoond en de gedetecteerde mastitis is de afgebroken biofilm. Een andere indicatie hiervoor is dat de koeien die niet behandeld zijn en de koeien die niet binnen de proef vallen weinig mastitis gevallen vertonen. Uitgaande van de literatuur hangt dit nauw samen met een laag celgetal waardoor. Laag celgetal wederom is een indicator voor een laag stresslevel (Gussmann, et al., 2019). Door dit lage stresslevel blijven de bacteriën in de aanwezige biofilm en veroorzaken geen mastitis. Het is aannemelijk dat door gericht stressen van de veestapel het aantal mastitis gevallen van de niet behandelde groep zal gaan stijgen. Echter is dit uiteraard in een praktijkproef moeilijk door te voeren en ook vanuit het dierenwelzijn een discutabele aanpak.

De gekozen aanpak moet achteraf als kritisch beschouwd worden. Er is geen duidelijke afspraak over een mastitisgeval geformuleerd. Hierdoor zijn de aangeleverde gegevens als onnauwkeurig te beschouwen. Voor een betere beoordeling is het zinvol om de mastitisgevallen te classificeren. Hierbij zou gewerkt kunnen worden met 3 gradaties. Gradatie 1 = alleen vlokken zichtbaar in de melk, gradatie 2 = duidelijk waarneembare vlokken in de melk in combinatie met zichtbare veranderingen aan het uier, zoals zwelling of verharding. Gradatie 3 zou hierbij de ernstigste gevallen betreffen. Hierbij zijn duidelijk zichtbare vlokken in combinatie met zwellingen en verhardingen waarneembaar. In deze classificering vertoont het dier zichtbare pijn en verminderde vreetlust in combinatie koorts, lichaamstemperatuur boven 39,5 graden Celsius of ondertemperatuur, lichaamstemperatuur onder 38,0 graden Celsius.

4.3 Invloed AHV Extra Bolus op het celgetal

Er is tot op heden nog weinig literatuur beschikbaar over het directe effect van Quorum Sensing en Quorum Quenching op het celgetal. In dit onderzoek is gebleken dat de AHV Extra Bolus voornamelijk een invloed heeft op dieren met een celgetal boven 1.000.000 cellen per milliliter melk. Echter ook de controlegroep laat een verlaging van het celgetal in de periode zien. Hierbij heeft de proefgroep een sterker significant verschil. Daarnaast blijven de dieren uit de proefgroep in een dalende lijn en dieren uit de controlegroep laten tegen het einde van de proef een stijging zien. Voor beide groepen onder 1.000.000 cellen per milliliter melk is geen statistisch resultaat aantoonbaar. De dieren in de proefgroep zijn na de behandeling met 80% verlaagd in het gemiddelde celgetal. 50% van de behandelde dieren is onder de 100.000 cellen per milliliter melk gezakt. Deze dieren kunnen als gezond beschouwd worden. Opvallend is het verschil van genezing afhankelijk van de leeftijd (tabel 4). Dit komt overeen met hetgeen in de literatuur. Jongere dieren hebben een hogere kans op genezing. Dit is in een onderzoek van Olson Et. Al. aangetoond (Olson, Ceri, Morck, Buret, & Read, 2002). Hierbij gaat het echter om genezing met antibiotica. Het is op basis van de cijfers aannemelijk dat ook bij behandelingen met de AHV Extra Bolus betere resultaten gehaald worden bij jongere dieren. Echter in dit onderzoek zijn ook dieren aangetroffen waarbij de behandeling geen succes heeft gehad. Waarschijnlijk heeft dit te maken met de verwekker. Zoals eerder beschreven is Quorum Quenching afhankelijk van verschillende moleculen. Op basis van de resultaten kan ervan uit gegaan worden dat de bolus niet bij elke verwekker past. Wat betreft het vergaren van de gegevens is op dit punt van het onderzoek goed verlopen. Het ingeven van de bolus is een makkelijke handeling en het meetinterval is voldoende.

Naar mijn mening kan er basis van deze gegeven gesproken worden van een succes van de behandeling. Dit succes wordt vertekend doordat enkele dieren niet succesvol zijn behandeld. Hiervoor zijn mij inziens verwekkers verantwoordelijk die niet reageren op de bolus. Dit feit is naar mijn mening ook de verlaging van de dieren uit de controlegroep met een celgetal boven 1.000.000

cellen per milliliter melk te zoeken. Door een verlaging van het koppelcelgetal daalt het infectierisico en de stress binnen de kudde. Door het ontbreken van deze stress blijven bacteriën in de biofilm. Hierdoor kan geen celgetal verhoging aangetoond worden. Dit is een teken voor de aanwezigheid van staphylococcus aureus. Kijkend naar de uitkomsten van de deelvraag mastitis, is het aannemelijk dat bij een groot gedeelte van de proefgroep de behandeling heeft aangeslagen doordat het uier is opgeschoond. Deze dieren zouden in het vervolg bij uitbraak van stress geen verhoging van celgetal moeten laten zien. Daarentegen is het aannemelijk dat dieren uit de controlegroep wel weer een hoog celgetal zullen vertonen doordat de bacteriën uit de biofilm weer naar buiten kunnen treden.

5. Conclusie en aanbevelingen

Het onderzoek is doorgevoerd om inzichtelijk te krijgen of de AHV Extra Bolus een alternatief kan zijn op de bestrijding van subklinische mastitis bij melkvee ten opzichte van de tegenwoordige behandelingen met hoofdzakelijk antibiotica. Hierdoor zou het antibioticagebruik binnen de agrarische sector verder teruggedrongen kunnen worden en daarmee het imago en de license to produce voor de huidige melkveehouders verhoogd kunnen worden.

Voor de bepaling van het succes van de behandelingen is onderscheid gemaakt in melkproductie, mastitis gevallen en celgetalreductie. Hiervoor zijn verschillende hypothesen opgesteld. De uitkomsten van de proef worden in dit hoofdstuk gekoppeld aan de betreffende hypothesen.

Kijkend naar de invloed van de AHV Extra Bolus op de melkproductie kan geconcludeerd worden dat er geen significant verschil tussen de proef- en controlegroep is. Hierdoor wordt de hypothese H_0 van deze deelvraag aangenomen. Hierbij moet zoals eerder al beschreven meegerekend worden dat geen onderscheid in lactatiestadia en leeftijd gemaakt is. Voor een betrouwbaardere uitspraak hierover is in een mogelijk vervolgonderzoek de ontwikkeling van de melkproductie in de volgende lactatie te monitoren. Bij een vergelijkbaar onderzoek is aan te bevelen de groepen in gelijke lactatiestadia en leeftijd te toetsen. Hiervoor is het dan waarschijnlijk noodzakelijk om de proef op meerdere bedrijven door te voeren zodat de proef evengoed voldoende groot is. Verder is het van belang om hierbij met dagelijkse melkproducties te rekenen.

De invloed van de AHV Extra Bolus op het aantal mastitis gevallen is op basis van een kleine steekproefgrote statistisch getoetst. Er is een significant effect van de AHV Extra Bolus op het aantal geregistreerde mastitisgevallen aangetoond. Hierbij is aangetoond dat proefgroep meer geregistreerde mastitisgevallen vertoont, H_1 wordt hierdoor aangenomen. Door de inzet van de bolus is de algehele infectiedruk in de veestapel afgenomen door de verlaging van het koppelcelgetal. Hierdoor is het aantal mastitis gevallen met 66% gedaald. Verder kan geconcludeerd worden dat de bolus succesvol werkt doordat 80% van de dieren die behandeld zijn in de periode daarna als mastitis gedetecteerd zijn. Echter is er op basis van de werking van de bolus ervan uit te gaan dat dit geen mastitis gevallen zijn maar het opschonen van de uiers. Om deze uitspraak betrouwbaarder te maken is het noodzakelijk om de steekproefgrote te verhogen. Hiervoor is het noodzakelijk om een onderzoek op meerdere bedrijven door te voeren.

Het celgetal van de behandelde dieren, individueel en kudde, is significant verlaagd. Hierdoor kan de H_1 van deze deelvraag aangenomen worden. Er kan echter ook geconcludeerd worden dat de bolus niet bij alle dieren heeft gewerkt. Voor een vervolgonderzoek is het aan te bevelen de verwekkers van de subklinische mastitis vooraf door een bacteriologisch onderzoek te bepalen. Op basis daarvan zou gefundeerde antwoord gegeven kunnen worden bij welke verwekkers het eventueel niet werkt. Verder kan er geconcludeerd worden dat de beste werking van de bolus bij jonge dieren, oftewel dieren in de eerste lactatie, plaats vindt.

Terugkomend naar de hoofdvraag **“Wat is het effect van doorbreken van Quorum Sensing op subklinische mastitis bij Holstein Frisian melkkoeien, veroorzaakt door de AHV Extra Bolus, gedurende een periode van 6 maanden”** kan geconcludeerd worden dat de bolus een significant verlagend effect heeft op het celgetal. Met betrekking tot de melkproductie is er geen significant invloed van de AHV Extra Bolus binnen de proef aangetoond kunnen worden. Echter is de verwachting dat resultaten op de melkproductie in volgende lactatie zichtbaar worden.

Op basis van deze antwoorden wordt de melkveehouders sterk aangeraden celgetal verhoging bij dieren in de 1^e lactatie met behulp van de AHV Extra Bolus te behandelen. Het is een eenvoudige manier om snel en blijvend het celgetal te verlagen. Door Quorum Quenching wordt het uier blijvend opgeschoond en hebben bacteriën geen mogelijkheid om te overleven in het uier. Daarboven op kan op deze manier het antibiotica gebruik binnen het bedrijf verder verlaagd worden.

Voor een eventueel vervolgonderzoek is het sterke advies deze gedurende een hele lactatie door te voeren. Verder wordt de sterke aanbeveling gegeven de invloed van de bolus op verschillende verwekkers te onderzoeken. Door deze informatie kan aan de veehouders nog gericht advies gegeven worden.

Bronnenlijst

- Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft. (November 2020). *Landwirtschaft verstehen Fakten und Hintergründe*. Opgeroepen op 26 april 2021, van https://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/DE/Broschueren/Landwirtschaft-verstehen.pdf?__blob=publicationFile&v=12
- Bundesregierung. (2019). *Antwort der Bunderregierung auf die Kleine Anfrage der Abgeordneten Stephan Protschka, Thomas Ehrhorn, Peter Felser, weiterer Abgeordneter und der Fraktion AfD*. Opgeroepen op 29 april 2021, van <http://dip21.bundestag.de/dip21/btd/19/097/1909753.pdf>
- Bundestierärztekammer e.V. (2018). Die neue TÄHAV ist in Kraft. (B. e.V., Red.) *Deutsches Tierärzteblatt*(66). Opgeroepen op 30 april 2021, van <https://www.bundestieraerztekammer.de/tieraerzte/leitlinien/>
- Cohen, J. (1977). Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences. *Academic Press*, S. 215-271. doi:org/10.1016/B978-0-12-179060-8.50012-8
- dejure.org Rechtsinformationssysteme. (z.d.). *Vertrag über die Arbeitsweise der Europäischen Union*. Opgeroepen op 20 april 2021, van <https://dejure.org/gesetze/AEU/13.html>
- Gezondheidsdienst voor Dieren. (z.d.). *mastitis rund*. Opgeroepen op 29 april, 2021, van <https://www.gddiergezondheid.nl/diergezondheid/dierziekten/mastitis-rund>
- Gussmann, M., Steeneveld, W., Kirkeby, C., Hogeveen, H., Nielen, M., Farre, M., & Halasa, T. (2019). Economic and epidemiological impact of different intervention strategies for clinical contagious mastitis. *Journal of Dairy Science*, 102(2), pp. 1483-1493. doi:org/10.3168/jds.2018-14939
- Hadrich, J., Wolf, C., Lombard, J., & Dolak, T. (2018). Estimating milk yield and value losses from increased somatic cell count on US dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 101(4), pp. 3588-3596. doi:org/10.3168/jds.2017-13840
- Halasa, T., Nielen, M., De Roos, A., Van Hoorne, R., de Jong, G., Lam, T., . . . Hogeveen, H. (2009). Production loss due to new subclinical mastitis in Dutch dairy cows estimated with a test-day model. *Journal of Dairy Science*, 92(2), pp. 599-606. doi:10.3168/jds.2008-1564.
- Harmon, R. (1994). Physiology of Mastitis and Factors Affecting Somatic Cell Counts. *Journal of Dairy Science*, 77(7), S. Pages 2103-2112. Opgeroepen op 11 juni 2021, van <https://www-sciencedirect-com.aeres.idm.oclc.org/search?q=dairy&date=1994&authors=Harmon>
- Hentzer, M., & Givskov, M. (2003). Pharmacological inhibition of quorum sensing for the treatment of chronic bacterial infections. *The Journal of Clinical Investigation*, 112(9), pp. 1300-1307. doi:10.1172/JCI20074.
- Houben, E. H., Dijkhuizen, A. A., Van Arendonk, J. A., & Huirne, R. B. (1993). Short- and Long-Term Production Losses and Repeatability of Clinical Mastitis in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 76(9), pp. 2561-2578. doi:10.3168/jds.S0022-0302(93)77591-8.
- Hutchings, M., Truman, A., & Wilkinson, B. (2019, oktober). Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology*, 51, pp. 72-80. doi:10.1016/j.mib.2019.10.008

- Krömker, V., Klocke, D., Leimbach, S., Paduch, J.-H., tho Seeth, M., & Wente, N. (2018). *Leitfaden Eutergesundheit bei Stall- und Weidehaltung*. Hannover: Niedersächsisches Ministerium für Wissenschaft und Kultur. Opgeroepen op 04 mei 2021, van <https://www.lwk-niedersachsen.de/index.cfm/portal/1/nav/2043/article/32388.html>
- LaSarre, B., & Federle, M. (2013). Exploiting Quorum Sensing To Confuse Bacterial Pathogens. *Microbiology and molecular biology reviews*, 77(1), pp. 73-111. doi:10.1128/MMBR.00046-12
- Liebe, A. (1996). *Zusammenhänge zwischen Zellzahl und Wachstumsfaktorengesamtgehalt der Milch sowie Mastitis beim Rind unter besonderer Berücksichtigung von Haltungseinflüssen* (PhD Proefschrift). Technische Universität München, München. Opgeroepen op 25 april 2021, van <https://books.google.de/books?id=nO2MLeICy4UC&pg=PP3&lpg=PP3&dq=andrea+liebe+Zusammenh%C3%A4nge+zwischen+Zellzahl+und+Wachstumsfaktorengesamtgehalt+der+Milch+sowie+Mastitis+beim+Rind+unter+besonderer+Ber%C3%BCcksichtigung+von+Haltungseinfl%C3%BCssen&source=bl&o>
- Melchior, M., Vaarkamp, H., & Fink-Gremmels, J. (2006). Biofilms: a role in current mastitis infections? *Veterinary journal*, 171(3), pp. 398-407. doi:10.1016/j.tvjl.2005.01.006
- Newmiwaka, J., Baaken, M., Lobitz, R., Möbius, C., Mühlhausen, C., Planer, J., . . . Sontheimer, A. (sd). *praxis-agrar.de*. Opgeroepen op 29 april 2021, van eutererkrankungen-bei-milchkuehen: <https://www.praxis-agrar.de/tier/rinder/eutererkrankungen-bei-milchkuehen/>
- Olson, M. E., Ceri, H., Morck, D. W., Buret, A. G., & Read, R. R. (2002). Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. *Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire*, 66(2), pp. 86-92. Opgeroepen op 30 april 2021, van <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC226988/>
- Pyorala, S. H., & Pyorala, E. O. (1998). Efficacy of parenteral administration of three antimicrobial agents in treatment of clinical mastitis in lactating cows: 487 cases (1989–1995). *Journal of American Veterinary Medical Association*, 212(3), pp. 407-412. Opgeroepen op 30 april 2021, van https://www.researchgate.net/profile/Satu-Pyoeraelae/publication/13760944_Efficacy_of_parenteral_administration_of_three_antimicrobial_agents_in_treatment_of_clinical_mastitis_in_lactating_cows_487_cases_1989-1995/links/562f7b8508aea5dba8d36c37/Efficacy-o
- Redaktion Betriebsleitung, G. S. (sd). *top agrar online*. Opgeroepen op 09 april 2021, van rind: <https://www.topagrar.com/rind/news/die-margen-sind-bei-der-milch-extrem-eng-11569458.html>
- Schipper, C. (2009). *Quorum Quenching und Anti-Biofilm Strategien aus Metagenom - Isolierung und Charakterisierung Quorum Sensing inhibierender Proteine aus Genbanken direkt isolierter Umwelt-DNA*. PhD proefschrift, Universität Hamburg, Biologie, Hamburg. Opgeroepen op 04 mei, 2021, van https://ediss.sub.uni-hamburg.de/bitstream/ediss/2629/1/Dissertation_Christina_Schipper.pdf
- Winter, P. (met Burvenich, C., Hogeveen, H., Neijenhuis, F., Rasmussen, M.D., Schweigert, F.J., de Spiegeleer, B., & Zehle, H.H.). (2008). *Praktischer Leitfaden Mastitis*. Wien: MVS Medizinverlage Stuttgart.

Bijlagen

I. SPSS-uitslagen deelvraag 1 – Invloed AHV Extra Bolus op de melkproductie

a. Descriptieve statistiek totale groepen

Statistik bei gepaarten Stichproben

		Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Paaren 1	kg melk november	26,471	31	8,8484	1,5892
	kg melk december	28,429	31	6,8708	1,2340
Paaren 2	kg melk november	26,471	31	8,8484	1,5892
	kg melk februari	26,361	31	6,4227	1,1536
Paaren 3	kg melk november	26,471	31	8,8484	1,5892
	kg melk maart	27,561	31	7,5976	1,3646
Paaren 4	kg melk november	26,471	31	8,8484	1,5892
	kg melk april	23,435	31	4,7879	,8599
Paaren 5	kg melk november	26,471	31	8,8484	1,5892
	kg melk mei	23,690	31	6,7766	1,2171

Proefgroep

Statistik bei gepaarten Stichproben

		Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Paaren 1	kg Milch November	30,162	144	8,0021	,6668
	kg Milch Dezember	30,305	144	7,8479	,6540
Paaren 2	kg Milch November	30,162	144	8,0021	,6668
	kg Milch Februar	27,119	144	7,5635	,6303
Paaren 3	kg Milch November	30,162	144	8,0021	,6668
	kg Milch März	27,189	144	8,1642	,6804
Paaren 4	kg Milch November	30,162	144	8,0021	,6668
	kg Milch April	23,535	144	6,7749	,5646
Paaren 5	kg Milch November	30,162	144	8,0021	,6668
	kg Milch Mai	23,661	144	9,1771	,7648

Controlegroep

b. Descriptieve statistieken dieren celgetal > 1.000.000 cellen per milliliter melk

Statistik bei gepaarten Stichproben

		Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Paaren 1	Mkg Nov	23,770	20	9,1907	2,0551
	Mkg Dez	28,415	20	6,5698	1,4691
Paaren 2	Mkg Nov	23,770	20	9,1907	2,0551
	Mkg Feb	26,140	20	6,7520	1,5098
Paaren 3	Mkg Nov	23,770	20	9,1907	2,0551
	Mkg März	26,155	20	7,7649	1,7363
Paaren 4	Mkg Nov	23,770	20	9,1907	2,0551
	Mkg April	22,545	20	4,8270	1,0793
Paaren 5	Mkg Nov	23,770	20	9,1907	2,0551
	Mkg Mai	21,915	20	6,6921	1,4964

Proefgroep

Statistik bei gepaarten Stichproben

		Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Paaren 1	Mkg Nov	20,625	8	10,2593	3,6272
	Mkg Dez	23,050	8	9,5016	3,3593
Paaren 2	Mkg Nov	20,625	8	10,2593	3,6272
	Mkg Feb	18,213	8	7,2213	2,5531
Paaren 3	Mkg Nov	20,625	8	10,2593	3,6272
	Mkg März	20,525	8	9,8102	3,4684
Paaren 4	Mkg Nov	20,625	8	10,2593	3,6272
	Mkg April	16,987	8	8,3672	2,9582
Paaren 5	Mkg Nov	20,625	8	10,2593	3,6272
	Mkg Mai	15,450	8	12,7612	4,5118

Controlegroep

c. Descriptieve statistieken dieren celgetal < 1.000.000 cellen per
milliliter melk

Statistik bei gepaarten Stichproben

		Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Paaren 1	kg Milch November	31,218	22	6,2705	1,3369
	kg Milch Dezember	29,082	22	7,1736	1,5294
Paaren 2	kg Milch November	31,218	22	6,2705	1,3369
	kg Milch Februar	27,145	22	6,7256	1,4339
Paaren 3	kg Milch November	31,218	22	6,2705	1,3369
	kg Milch März	28,709	22	8,0863	1,7240
Paaren 4	kg Milch November	31,218	22	6,2705	1,3369
	kg Milch April	23,350	22	6,3375	1,3512
Paaren 5	kg Milch November	31,218	22	6,2705	1,3369
	kg Milch Mai	25,582	22	8,9772	1,9139

Proefgroep

Statistik bei gepaarten Stichproben

		Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Paaren 1	kg Milch November	30,723	136	7,5276	,6455
	kg Milch Dezember	30,732	136	7,5667	,6488
Paaren 2	kg Milch November	30,723	136	7,5276	,6455
	kg Milch Februar	27,643	136	7,2743	,6238
Paaren 3	kg Milch November	30,723	136	7,5276	,6455
	kg Milch März	27,581	136	7,9264	,6797
Paaren 4	kg Milch November	30,723	136	7,5276	,6455
	kg Milch April	23,920	136	6,5038	,5577
Paaren 5	kg Milch November	30,723	136	7,5276	,6455
	kg Milch Mai	24,144	136	8,7485	,7502

Controlegroep

d. Uitkomsten Gepaarde t-toets

Test bei gepaarten Stichproben

		Gepaarte Differenzen							
		Mittelwert	Standardabw eichung	Standardfehle r des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz		T	df	Sig. (2-seitig)
					Unterer Wert	Oberer Wert			
Paaren 1	kg melk november - kg melk december	-4,8263	6,8993	1,5828	-8,1517	-1,5010	-3,049	18	,007
Paaren 2	kg melk november - kg melk februari	-2,2947	8,0046	1,8364	-6,1528	1,5634	-1,250	18	,227
Paaren 3	kg melk november - kg melk maart	-2,6842	9,7501	2,2368	-7,3836	2,0152	-1,200	18	,246
Paaren 4	kg melk november - kg melk april	1,0158	10,2194	2,3445	-3,9098	5,9414	,433	18	,670
Paaren 5	kg melk november - kg melk mei	1,7474	9,1371	2,0962	-2,6566	6,1513	,834	18	,415

Proefgroep dieren celgetal > 1.000.000 cellen

Test bei gepaarten Stichproben

		Gepaarte Differenzen							
		Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz		T	df	Sig. (2-seitig)
					Unterer Wert	Oberer Wert			
Paaren 1	Mkg Nov - Mkg Dez	-2,4250	6,4449	2,2786	-7,8131	2,9631	-1,064	7	,323
Paaren 2	Mkg Nov - Mkg Feb	2,4125	4,8168	1,7030	-1,6144	6,4394	1,417	7	,200
Paaren 3	Mkg Nov - Mkg März	,1000	6,1912	2,1889	-5,0760	5,2760	,046	7	,965
Paaren 4	Mkg Nov - Mkg April	3,6375	6,6700	2,3582	-1,9387	9,2137	1,542	7	,167
Paaren 5	Mkg Nov - Mkg Mai	5,1750	10,1054	3,5728	-3,2733	13,6233	1,448	7	,191

Controlegroep dieren celgetal > 1.000.000 cellen

Test bei gepaarten Stichproben

		Gepaarte Differenzen							
		Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz		T	df	Sig. (2-seitig)
					Unterer Wert	Oberer Wert			
Paaren 1	kg melk november - kg melk december	2,5833	7,6460	2,2072	-2,2747	7,4414	1,170	11	,267
Paaren 2	kg melk november - kg melk feburari	3,9167	8,4946	2,4522	-1,4805	9,3139	1,597	11	,139
Paaren 3	kg melk november - kg melk maart	1,4333	8,8095	2,5431	-4,1640	7,0306	,564	11	,584
Paaren 4	kg melk november - kg melk april	6,2333	8,0080	2,3117	1,1453	11,3214	2,696	11	,021
Paaren 5	kg melk november - kg melk mei	4,4167	8,2073	2,3692	-,7980	9,6313	1,864	11	,089

Proefgroep dieren celgetal < 1.000.000 cellen

Test bei gepaarten Stichproben

			Gepaarte Differenzen						
			Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz		T	df	Sig. (2-seitig)
Mittelwert					Unterer Wert	Oberer Wert			
Paaren 1	kg Milch November - kg Milch Dezember	-,0088	4,9461	,4241	-,8476	,8300	-,021	135	,983
Paaren 2	kg Milch November - kg Milch Februar	3,0801	5,9311	,5086	2,0743	4,0860	6,056	135	,000
Paaren 3	kg Milch November - kg Milch März	3,1419	6,7345	,5775	1,9998	4,2840	5,441	135	,000
Paaren 4	kg Milch November - kg Milch April	6,8029	6,7808	,5815	5,6530	7,9529	11,700	135	,000
Paaren 5	kg Milch November - kg Milch Mai	6,5787	8,8126	,7557	5,0842	8,0732	8,706	135	,000

Controlegroep dieren celgetal < 1.000.000 cellen

II. Deelvraag 2 – Invloed AHV Extra Bolus op het aantal mastitis gevallen

a. Documentatie Mastitisbehandelingen

2	Behandlungen Mastitis Christgrün November - April					
3						
4	Stall NR	Datum	ZZ Behandlung	Viertel	in proef	Groep
5	9	20.11.2020		HL	ja	controle
6	12	30.11.2020		VL	nee	
7	12	19.12.2020		VL	nee	
8	21	22.04.2021		VR	nee	
9	26	27.03.2021		VL	nee	
10	27	18.11.2020		VL	nee	
11	31	12.11.2020	12.11.2020	VR	ja	proef
12	34	13.11.2020	13.11.2020	VL	ja	proef
13	34	11.12.2020		VL	ja	proef
14	36	06.11.2020	06.11.2020	HL	ja	proef
15	36	22.01.2021		VL	ja	
16	43	01.02.2021		HR HL	nee	
17	44	16.01.2021		HL	nee	
18	51	03.01.2021		HL	nee	
19	58	08.03.2021		HL	nee	
20	60	26.01.2021		4X	nee	
21	70	02.12.2020		HL	nee	
22	73	11.01.2021		VL	nee	
23	75	26.04.2021		HL	ja	
24	80	06.11.2020		HL	nee	
25	80	03.01.2021		HL	nee	
26	80	06.03.2021		VR	nee	proef
27	83	19.11.2020	19.11.2020	VL	ja	
28	85	24.11.2020		VL	nee	
29	87	05.03.2021		HR	nee	
30	91	06.11.2020		VR	nee	controle
31	92	18.11.2020		HR	nee	
32	96	12.11.2020		HR	nee	
33	101	08.04.2021		VL	ja	proef
34	103	01.01.2021		HL	nee	
35	103	21.01.2021		HL	nee	
36	114	20.02.2021		HR	nee	
37	114	15.03.2021		HR	nee	
38	115	23.12.2020		VL	nee	
39	120	11.01.2021		VL	nee	

2	Behandlungen Mastitis Christgrün November - April					
3						
4	Stall NR	Datum	ZZ Behandlung	Viertel	in proef	Groep
40	136	10.12.2020	10.12.2020	VR	nee	
41	141	01.03.2021		HR	nee	controle
42	144	20.11.2020	20.11.2020	HL	ja	proef
43	144	26.01.2021		HL	ja	
44	147	23.12.2020		HR	nee	
45	149	22.12.2020		HR VR	nee	
46	161	16.11.2020		HL	nee	
47	161	01.04.2021		VL	nee	proef
48	165	26.02.2021		VR	nee	
49	165	12.03.2021		VR	nee	
50	167	13.11.2020		VL	nee	proef
51	171	13.11.2020	13.11.2020	VL VR	ja	proef
52	171	05.12.2020		VL VR	ja	
53	175	01.12.2020		VL	nee	proef
54	177	23.11.2020	23.11.2020	4X	ja	
55	193	10.02.2021		HL	nee	
56	196	16.01.2021		HR	nee	
57	203	28.11.2020		VL	nee	
58	204	19.12.2020		VL VR	nee	proef
59	208	23.12.2020		VR	nee	
60	211	07.12.2020		VR	nee	
61	211	09.12.2020		VR	nee	
62	217	14.12.2020		HL	nee	
63	218	21.12.2020		HR	nee	
64	218	20.02.2021		HR	nee	
65	222	16.12.2020		VL HL	nee	
66	222	07.01.2021		VL HL	nee	
67	235	13.11.2020	13.11.2020	HL	ja	
68	239	09.12.2020		VR	nee	proef
69	239	04.01.2021		VR	nee	
70	239	07.02.2021		VR	nee	
71	241	11.12.2020		VR	nee	
72	241	04.03.2021		HR	nee	proef
73	243	22.11.2020		HL	nee	
74	245	17.11.2020	17.11.2020	HL VL	ja	proef

2	Behandlungen Mastitis Christgrün November - April					
3						
4	Stall NR	Datum	ZZ Behandlung	Viertel	in proef	Groep
75	247	01.03.2021		HR HL	nee	
76	252	20.02.2021		VL	nee	proef
77	253	16.11.2020	16.11.2020	VR HR	ja	
78	259	04.03.2021		HR	nee	
79	268	21.02.2021		HL	nee	
80	271	10.11.2020		VR	nee	proef
81	283	19.01.2021		VL	nee	
82	284	26.04.2021		HL	nee	
83	285	04.12.2020		VL	nee	proef
84	285	07.11.2020	07.11.2020	VL	ja	proef
85	289	06.11.2020		HR	nee	
86	289	07.02.2021		VL	nee	
87	289	25.02.2021		VL	nee	
88	297	17.12.2020		4X	nee	
89	301	05.12.2020		HR	nee	
90	301	09.01.2021		HL	nee	
91	303	13.11.2020	13.11.2020	3X	ja	proef
92	312	06.11.2020	06.11.2020	VL	ja	
93	312	22.11.2020		VL	ja	
94	322	09.11.2020		VR	nee	proef
95	325	04.12.2020		4X	nee	
96	327	27.03.2021		HL	nee	
97	332	01.03.2021		HL	nee	proef
98	333	26.02.2021		HR	nee	proef
99	336	22.11.2020	22.11.2020	HR	ja	
100	337	07.11.2020		VR	nee	
101	348	17.11.2020		VL	nee	
102	353	03.03.2021		VR	nee	
103	356	17.11.2020		HR VR	nee	
104	357	08.11.2020	08.11.2020	VR	ja	
105	361	15.03.2021		HL	nee	proef
106	361	22.03.2021		VL	nee	
107	361	03.04.2021		HL	nee	
108	363	13.11.2020	13.11.2020	VR	ja	
109	380	27.01.2021		HR	nee	

2	Behandlungen Mastitis Christgrün November - April					
3						
4	Stall NR	Datum	ZZ Behandlung	Viertel	in proef	Groep
110	380	15.03.2021		HR	nee	
111	393	06.01.2021		HL	nee	
112	394	21.11.2020		HL	nee	
113	399	23.11.2020		VR	nee	
114	399	11.12.2020		VR	nee	
115	401	06.11.2020	06.11.2020	VL	ja	
116	403	09.11.2020		VR	nee	
117	406	05.01.2021		VL	nee	
118	417	26.02.2021		VL	nee	
119	418	27.01.2021		VL	nee	
120	422	21.11.2020	21.11.2020	VR	ja	
121	422	31.12.2020		VR	ja	
122	423	27.01.2021		VR	nee	
123	424	19.04.2021		HR	nee	
124	425	20.04.2021		VL	nee	
125	427	10.12.2020		VR	nee	
126	427	02.02.2021		VR	nee	
127	436	19.12.2020		VL	nee	
128	440	22.11.2020	22.11.2020	VL	ja	
129	442	07.11.2020		HL	nee	proef
130	444	23.01.2021		HL	nee	
131	448	10.11.2020		VR	nee	
132	448	09.12.2020		VR	nee	
133	449	22.04.2021		VL	nee	
134	450	26.01.2021		VL	ja	proef
135	450	26.03.2021		VL	ja	
136	452	05.11.2020		HL	nee	
137	476	16.11.2020		HR VR	nee	
138	482	17.12.2020		VL	nee	
139	485	16.11.2020		HL VL	nee	proef
140	503	05.12.2020		VR	nee	

b. Uitkomsten Chikwadraattoets

proefgroep * mastitis geval ? Kreuztabelle

			mastitis geval ?		Gesamt
			geen mastitis	mastitis	
proefgroep	controlegroep	Anzahl	141	3	144
		Erwartete Anzahl	134,9	9,1	144,0
	proefgroep	Anzahl	23	8	31
		Erwartete Anzahl	29,1	1,9	31,0
Gesamt	Anzahl		164	11	175
	Erwartete Anzahl		164,0	11,0	175,0

Chi-Quadrat-Tests

	Wert	df	Asymptotisch e Signifikanz (zweiseitig)	Exakte Sig. (zweiseitig)	Exakte Sig. (einseitig)
Pearson-Chi-Quadrat	24,371 ^a	1	,000		
Kontinuitätskorrektur ^b	20,510	1	,000		
Likelihood-Quotient	17,598	1	,000		
Exakter Test nach Fisher				,000	,000
Zusammenhang linear- mit-linear	24,232	1	,000		
Anzahl der gültigen Fälle	175				

a. 1 Zellen (25,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 1,95.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

Symmetrische Maße

		Wert	Näherungsw eise Signifikanz
Nominal- bzgl. Nominalmaß	Phi	,373	,000
	Cramer-V	,373	,000
Anzahl der gültigen Fälle		175	

III. SPSS-uitslagen deelvraag 3 - Invloed AHV Extra Bolus op het celgetal

a. Descriptieve statistiek totale groepen

Statistik bei gepaarten Stichproben

		Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Paaren 1	celgetal november	3330,87	31	3398,743	610,432
	celgetal december	825,00	31	1981,998	355,977
Paaren 2	celgetal november	3330,87	31	3398,743	610,432
	celgetal februari	417,35	31	653,914	117,446
Paaren 3	celgetal november	3330,87	31	3398,743	610,432
	celgetal maart	612,26	31	1152,337	206,966
Paaren 4	celgetal november	3330,87	31	3398,743	610,432
	celgetal april	340,16	31	521,990	93,752
Paaren 5	celgetal november	3330,87	31	3398,743	610,432
	celgetal mei	344,68	31	535,296	96,142

Proefgroep

Statistik bei gepaarten Stichproben

		Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Paaren 1	ZZ november	374,13	144	1208,339	100,695
	ZZ december	125,03	144	219,798	18,316
Paaren 2	ZZ november	374,13	144	1208,339	100,695
	ZZ februari	153,28	144	332,970	27,748
Paaren 3	ZZ november	374,13	144	1208,339	100,695
	ZZ maart	194,51	144	474,089	39,507
Paaren 4	ZZ november	374,13	144	1208,339	100,695
	ZZ april	160,51	144	283,710	23,642
Paaren 5	ZZ november	374,13	144	1208,339	100,695
	ZZ mei	246,11	144	704,992	58,749

Controlegroep

b. Descriptieve statistieken dieren celgetal > 1.000.000 cellen per milliliter melk

Statistik bei gepaarten Stichproben

		Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Paaren 1	celgetal november	5150,53	19	3188,730	731,545
	celgetal december	706,58	19	1253,583	287,592
Paaren 2	celgetal november	5150,53	19	3188,730	731,545
	celgetal februari	550,26	19	776,719	178,192
Paaren 3	celgetal november	5150,53	19	3188,730	731,545
	celgetal maart	473,00	19	600,923	137,861
Paaren 4	celgetal november	5150,53	19	3188,730	731,545
	celgetal april	365,47	19	560,807	128,658
Paaren 5	celgetal november	5150,53	19	3188,730	731,545
	celgetal mei	335,79	19	474,415	108,838

Proefgroep

Statistik bei gepaarten Stichproben

		Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Paaren 1	ZZ november	4490,13	8	2975,491	1051,995
	ZZ december	321,00	8	232,491	82,198
Paaren 2	ZZ november	4490,13	8	2975,491	1051,995
	ZZ februari	510,38	8	941,412	332,840
Paaren 3	ZZ november	4490,13	8	2975,491	1051,995
	ZZ maart	219,63	8	189,161	66,879
Paaren 4	ZZ november	4490,13	8	2975,491	1051,995
	ZZ april	365,25	8	433,189	153,156
Paaren 5	ZZ november	4490,13	8	2975,491	1051,995
	ZZ mei	473,75	8	495,698	175,256

Controlegroep

c. Descriptieve statistieken dieren celgetal < 1.000.000 cellen per milliliter melk

Statistik bei gepaarten Stichproben

		Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Paaren 1	celgetal november	449,75	12	301,160	86,937
	celgetal december	1012,50	12	2842,448	820,544
Paaren 2	celgetal november	449,75	12	301,160	86,937
	celgetal februari	206,92	12	316,487	91,362
Paaren 3	celgetal november	449,75	12	301,160	86,937
	celgetal maart	832,75	12	1715,825	495,316
Paaren 4	celgetal november	449,75	12	301,160	86,937
	celgetal april	300,08	12	474,983	137,116
Paaren 5	celgetal november	449,75	12	301,160	86,937
	celgetal mei	358,75	12	642,518	185,479

Proefgroep

Statistik bei gepaarten Stichproben

		Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Paaren 1	ZZ november	132,01	136	156,667	13,434
	ZZ december	113,51	136	214,387	18,384
Paaren 2	ZZ november	132,01	136	156,667	13,434
	ZZ februari	132,27	136	251,960	21,605
Paaren 3	ZZ november	132,01	136	156,667	13,434
	ZZ maart	193,04	136	485,988	41,673
Paaren 4	ZZ november	132,01	136	156,667	13,434
	ZZ april	148,47	136	270,002	23,152
Paaren 5	ZZ november	132,01	136	156,667	13,434
	ZZ mei	232,72	136	714,475	61,266

Controlegroep

d. Overzicht behandelde koeien

Ohrnummer	Stallnummer	Behandelt	Lakt.	ZZ november	ZZ december	ZZ februari	ZZ maart	ZZ april	ZZ mei
14 057 90737	111	5. Nov. 2020	1	488	35	45	56	52	71
14 048 17126	401	6. Nov. 2020	5	2157	183	3087	319	302	191
14 053 50722	312	6. Nov. 2020	4	4325	92	72	159	72	83
14 057 90908	36	6. Nov. 2020	1	6169	121	387	170	349	151
14 055 83143	357	8. Nov. 2020	2	9999	73	51	1467	190	231
14 057 90710	370	12. Nov. 2020	1	3724	381	234	136	40	349
14 057 90621	31	12. Nov. 2020	1	4464	132	174	177	64	79
14 057 90720	263	12. Nov. 2020	1	9583	71	52	198	42	103
14 057 90768	171	13. Nov. 2020	1	813	892	135	132	192	73
12 695 12597	363	13. Nov. 2020	1	1027	79	513	60	61	44
14 055 83158	235	13. Nov. 2020	2	2291	2194	413	658	896	613
13 057 25819	303	13. Nov. 2020	1	2467	93	45	42	48	66
14 051 07205	34	13. Nov. 2020	3	9999	1319	772	1254	335	393
12 695 12982	253	14. Nov. 2020	1	4482	83	16	30	39	30
14 053 50618	245	17. Nov. 2020	3	3741	54	129	27	65	64
14 055 83355	272	18. Nov. 2020	2	8199	5186	1264	505	362	650
14 057 90885	83	19. Nov. 2020	1	21	35	19	12	10	14
14 046 18210	144	20. Nov. 2020	5	341	454	322	5860	274	366
14 057 90845	317	20. Nov. 2020	1	375	13	59	265	17	18
12 695 12868	387	20. Nov. 2020	1	509	97	126	100	120	111
14 053 50571	422	21. Nov. 2020	3	389	9999	108	877	1061	807
14 057 90734	471	21. Nov. 2020	1	857	33	60	65	81	82
14 057 90780	281	21. Nov. 2020	1	901	398	441	269	254	484
14 057 90912	336	22. Nov. 2020	1	120	22	18	19	26	18
14 053 50697	440	22. Nov. 2020	3	9999	933	770	295	471	324
14 057 90821	177	23. Nov. 2020	1	39	23	27	10	19	17
14 057 90717	355	25. Nov. 2020	1	3838	18	17	16	24	31
14 057 90749	481	25. Nov. 2020	1	8142	22	39	22	14	22
14 054 96904	450	28. Nov. 2020	3	544	149	1123	2328	1495	2244
14 053 50695	443	28. Nov. 2020	3	1458	783	632	1584	1408	980
14 051 07227	315	28. Nov. 2020	3	1796	1608	1788	1868	2162	1976

e. Uitkomsten Gepaarde t-toets

Test bei gepaarten Stichproben

		Gepaarte Differenzen							
		Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz		T	df	Sig. (2-seitig)
					Unterer Wert	Oberer Wert			
Paaren 1	celgetal november - celgetal december	4443,947	3242,375	743,852	2881,173	6006,722	5,974	18	,000
Paaren 2	celgetal november - celgetal februari	4600,263	3437,387	788,591	2943,496	6257,031	5,834	18	,000
Paaren 3	celgetal november - celgetal maart	4677,526	3220,087	738,739	3125,494	6229,559	6,332	18	,000
Paaren 4	celgetal november - celgetal april	4785,053	3406,434	781,490	3143,204	6426,901	6,123	18	,000
Paaren 5	celgetal november - celgetal mei	4814,737	3333,093	764,664	3208,237	6421,236	6,297	18	,000

Proefgroep dieren celgetal > 1.000.000 cellen per milliliter melk

Test bei gepaarten Stichproben

		Gepaarte Differenzen							
		Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz		T	df	Sig. (2-seitig)
					Unterer Wert	Oberer Wert			
Paaren 1	ZZ november - ZZ december	4169,125	3041,306	1075,264	1626,530	6711,720	3,877	7	,006
Paaren 2	ZZ november - ZZ februari	3979,750	3420,205	1209,225	1120,387	6839,113	3,291	7	,013
Paaren 3	ZZ november - ZZ maart	4270,500	2965,653	1048,517	1791,152	6749,848	4,073	7	,005
Paaren 4	ZZ november - ZZ april	4124,875	3110,270	1099,647	1524,624	6725,126	3,751	7	,007
Paaren 5	ZZ november - ZZ mei	4016,375	3307,151	1169,255	1251,527	6781,223	3,435	7	,011

Controlegroep dieren celgetal > 1.000.000 cellen per milliliter melk

Test bei gepaarten Stichproben

		Gepaarte Differenzen							
		Mittelwert	Standardabw eichung	Standardfehle r des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz		T	df	Sig. (2-seitig)
					Unterer Wert	Oberer Wert			
Paaren 1	celgetal november - celgetal december	-562,750	2863,166	826,525	-2381,919	1256,419	-,681	11	,510
Paaren 2	celgetal november - celgetal februari	242,833	365,163	105,414	10,820	474,847	2,304	11	,042
Paaren 3	celgetal november - celgetal maart	-383,000	1757,774	507,426	-1499,836	733,836	-,755	11	,466
Paaren 4	celgetal november - celgetal april	149,667	520,230	150,178	-180,872	480,205	,997	11	,340
Paaren 5	celgetal november - celgetal mei	91,000	657,735	189,872	-326,905	508,905	,479	11	,641

Proefgroep dieren celgetal < 1.000.000 cellen per milliliter melk

Test bei gepaarten Stichproben

		Gepaarte Differenzen							
		Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz		T	df	Sig. (2-seitig)
					Unterer Wert	Oberer Wert			
Paaren 1	ZZ november - ZZ december	18,507	213,815	18,334	-17,753	54,767	1,009	135	,315
Paaren 2	ZZ november - ZZ februari	-,257	261,167	22,395	-44,548	44,033	-,011	135	,991
Paaren 3	ZZ november - ZZ maart	-61,022	493,002	42,275	-144,628	22,584	-1,443	135	,151
Paaren 4	ZZ november - ZZ april	-16,456	272,779	23,391	-62,715	29,804	-,704	135	,483
Paaren 5	ZZ november - ZZ mei	-100,706	720,214	61,758	-222,844	21,432	-1,631	135	,105

Controlegroep dieren celgetal < 1.000.000 cellen per milliliter melk