



## INHOUD

*Kan het preventief toedienen van de Topro Calcium Bolus bij melkkoeien rondom het afkalven invloed hebben op een betere start van de lactatie?*

# PRAKTIJKONDERZOEK NAAR DE TOPRO CALCIUM BOLUS

AAFW Afstudeerwerkstuk

Auteur: Karin Kamphuis  
Opleiding: Dier- en veehouderij  
Afstudeerdocent: Dhr. H. Valk  
Plaats: Vroomshoop  
Datum: 7 november 2022



*Kan het preventief toedienen van de Topro Calcium Bolus bij melkkoeien rondom het afkalven invloed hebben op een betere start van de lactatie?*

# Praktijkgericht onderzoek naar de effectiviteit van de Topro Calcium Bolus

*Auteur:*

Karin Kamphuis 3022450  
[3022450@aeres.nl](mailto:3022450@aeres.nl) / [carinakarin@hotmail.com](mailto:carinakarin@hotmail.com)  
Studente aan de Aeres Hogeschool Dronten  
Opleiding Dier- en Veehouderij  
Module AAFW afstudeerwerkstuk

*In opdracht van:*

Bio-Enterprise B.V.  
T.a.v. Topro Animal Health  
begeleider: Dhr. J. van Mensvoort  
Sluiskolk 3 7681 KC Vroomshoop  
0546-666666  
[info@bio-enterprise.nl](mailto:info@bio-enterprise.nl)  
[www.bio-enterprise.nl](http://www.bio-enterprise.nl)  
[www.topro.nl](http://www.topro.nl)

*Contact hoge agrarische school:*

Aeres Hogeschool Dronten  
De Drieslag 4  
8251 JZ Dronten  
088-0206000  
[info.hogeschool.dronten@aeres.nl](mailto:info.hogeschool.dronten@aeres.nl)

*Begeleidende docent:*

Dhr. H. Valk  
[h.valk@aeres.nl](mailto:h.valk@aeres.nl)

## 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

Voor u ligt mijn scriptie ter afronding van mijn studie Dier- en Veehouderij aan de Aeres Hogeschool te Dronten. Dit onderzoek heeft plaatsgevonden tijdens mijn afstudeerstage bij Bio Enterprise te Vroomshoop. De opdracht is opgesteld door de afdeling Topro Animal Health, een gecertificeerd merk wat onder Bio Enterprise hoort met producten zoals voedingssupplementen en producten die betrekking hebben op levensduurverlenging van vee.

In dit rapport staat de Topro Calcium bolus centraal wat in de praktijk is getest bij 9 Lelybedrijven in Overijssel en Gelderland.

Ik heb mijn stageperiode ervaren als een zeer leuke en leerzame periode in mijn (school)carrière. Ik heb veel geleerd op het gebied van onderzoek doen, maar ook van de werking van een bedrijf en groothandel. Ik ben erg dankbaar voor dit hele proces en voor deze goede ervaring in het werkgebied.

Zonder iemand te kort te willen doen, zou ik graag een paar mensen in het specifiek willen bedanken voor het ondersteunen van het onderzoek en mijn persoonlijke ontwikkelingen.

Zo zou ik allereerst dhr. J. van Mensvoort van Bio Enterprise (Topro Animal Health) willen bedanken voor deze mogelijkheid en voor de begeleiding op alle fronten. Ook zou ik alle medewerkers van Bio Enterprise willen bedanken voor de gastvrijheid en het meedenken met mijn onderzoek.

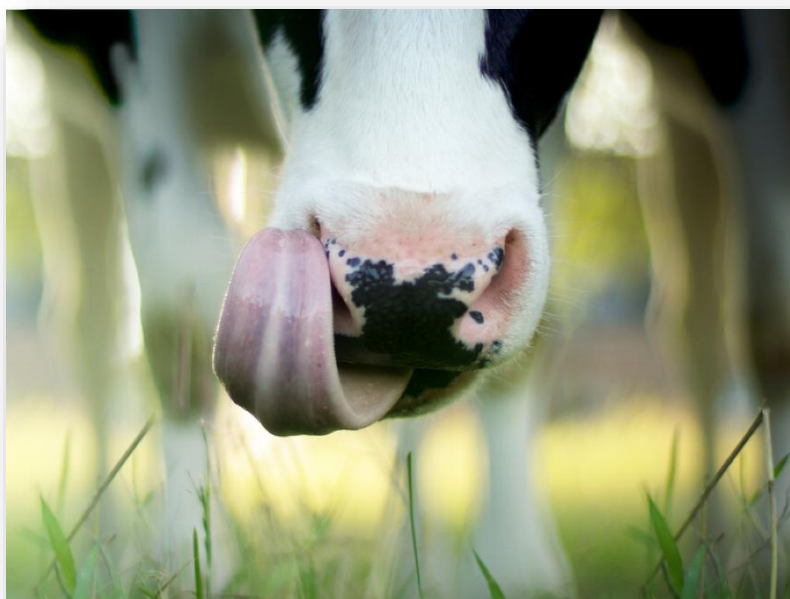
Daarnaast zou ik graag dhr. F. te Vruchte van Lely Center Zelhem en dhr. J. Lammers van ABZ Diervoeding willen bedanken voor het meewerken met het vinden van bedrijven die aan de criteria van het onderzoek voldeden. Ook wil ik alle testbedrijven van harte bedanken voor de gastvrijheid en voor het meewerken aan het onderzoek.

Als laatsten, maar zeker niet de minsten, zou ik dhr. Valk willen bedanken voor de goede begeleiding en steun die ik nodig had vanuit Aeres Hogeschool Dronten. Tevens zou ik mevr. G. Klop willen bedanken voor de persoonlijke betrokkenheid en mentale steun wat voor deze periode plaatsvond.

Veel plezier met het lezen van mijn afstudeerwerkstuk.

Karin Kamphuis

Vroomshoop, november 2022



## Inhoud

|                                                |    |
|------------------------------------------------|----|
| Samenvatting.....                              | 5  |
| Abstract .....                                 | 6  |
| 1. Inleiding .....                             | 7  |
| 1.1 Start van de lactatie.....                 | 7  |
| 1.2 Hypocalcemie .....                         | 8  |
| 1.3 Droogstandsrantsoen .....                  | 10 |
| 1.4 Bolussen .....                             | 13 |
| 1.5 Onderzoeksdoelstelling .....               | 14 |
| 1.6 Onderzoeksvraag.....                       | 15 |
| 2. Materiaal en methode.....                   | 16 |
| 2.1 Materialen .....                           | 16 |
| 2.1.1 Bedrijven.....                           | 16 |
| 2.1.2 Dieren .....                             | 16 |
| 2.1.3 Topro Calcium bolus .....                | 16 |
| 2.1.4 Overige materialen .....                 | 16 |
| 2.2 Methode .....                              | 17 |
| 2.2.1 Proefopzet .....                         | 17 |
| 2.2.2 Waarnemingen .....                       | 18 |
| 2.2.3 Statistische analyse .....               | 18 |
| 3. Resultaten.....                             | 19 |
| 3.1 Herkauwactiviteit .....                    | 19 |
| 3.2 Vreetactiviteit.....                       | 20 |
| 3.3 Melkgift .....                             | 21 |
| 3.4 Vitaliteit kalf en afkalfproces.....       | 22 |
| 3.5 Kwaliteit en kwantiteit eerste biest ..... | 23 |
| 4. Discussie .....                             | 24 |
| 4.1 Reflectie op de methode .....              | 24 |
| 4.2 Interpretatie van de resultaten .....      | 25 |
| 4.2.1 Herkauwactiviteit .....                  | 25 |
| 4.2.2 Vreetactiviteit.....                     | 26 |
| 4.2.3 Melkgift .....                           | 27 |
| 4.2.4 Afkalfproces en vitaliteit kalf .....    | 27 |
| 4.2.5 Brix-waarde en hoeveelheid biest.....    | 27 |
| 4.3 Betekenis voor de praktijk.....            | 28 |

|                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------|----|
| 5. Conclusie en aanbevelingen.....                               | 29 |
| 5.1 Conclusie .....                                              | 29 |
| 5.2 Aanbevelingen.....                                           | 30 |
| Literatuurlijst .....                                            | 31 |
| Bijlage 1. Kaart van ligging bedrijven .....                     | 35 |
| Bijlage 2. Productblad Topro Calcium Bolus.....                  | 36 |
| Bijlage 3. Invulformulier melkveehouder .....                    | 37 |
| Bijlage 4. P-waardes bij verschillende calciumbehandelingen..... | 38 |
| Bijlage 4.1 Herkauwactiviteit.....                               | 39 |
| Bijlage 4.2 Vreetactiviteit .....                                | 39 |
| Bijlage 4.3 Melkgift.....                                        | 39 |
| Bijlage 5. SPSS output – independent T-test.....                 | 40 |
| Bijlage 6. SPSS output – General Linear Model (Univariate).....  | 41 |
| Bijlage 7. SPSS output – Chi Square test.....                    | 42 |

## Samenvatting

Melkziekte is nog steeds een veelvoorkomende transitieziekte bij melkkoeien. Een calciumtekort bij melkkoeien kan meerdere oorzaken hebben, maar in de praktijk is het nog steeds een uitdaging om (sub)klinische melkziekte te voorkomen en daarna te handelen. Dit onderzoek geeft inzicht in het effect van calcium bolussen rondom het afkalven waardoor managementstrategieën op melkveebedrijven hierop aangepast worden.

Dit praktijkonderzoek is gericht op de Topro Calcium bolus om zo in kaart te kunnen brengen wat de effectiviteit is van 2 verschillende behandelingen in vergelijking met geen calciumbehandeling. De hoofdvraag is hierbij: *wat is het effect van 2 verschillende doseringen van de Topro Calcium bolus wat verstrekt is rondom het afkalven bij meerderkalfsmelkkoeien in de transitieperiode tot 8 weken in lactatie op Lely melkrobotbedrijven in Gelderland en Overijssel?*

Het onderzoek is uitgevoerd op 9 verschillende bedrijven in Overijssel en Gelderland van eind oktober tot en met begin december. 141 dieren zijn onderverdeeld in 3 groepen: controlegroep (geen calcium bolussen), testgroep-1 (1 calciumbehandeling 24 uur voor afkalven) en testgroep-2 (1 calciumbehandeling 24 uur voor afkalven en 1 calciumbehandeling 24 uur na afkalven) op basis van het lactatienummer. Er is gebruik gemaakt van de data afkomstig van melkrobots, zoals herkauw- en vreetactiviteit en melkgift. Vitaliteit van het kalf en afkalfproces en de hoeveelheid en kwaliteit van de eerste biest zijn verzameld door middel van invulformulieren voor de veehouders.

Op het gebied van herkauwactiviteit is er een verband waar te nemen tussen de verschillende calciumbehandelingen en het moment in lactatie. Zo herkauwen koeien minder zonder toegediende calcium bolus en is er te zien dat de testgroep-2 meer herkauwt vanaf 1 week in lactatie ten opzichte van testgroep-1 en de controlegroep. Het verband tussen de controlegroep en testgroep-2 wordt significant gemeten in week 1 ( $p = .040$ ), week 2 ( $p = .051$ ) en week 8 ( $p = .050$ ).

Bij vreetactiviteit is geen duidelijke trendlijn te zien. Dit komt niet overeen met de herkauwactiviteit, aangezien deze elementen een positieve associatie met elkaar hebben. Dat er geen trendlijn te zien is, heeft waarschijnlijk te maken met dat er minder koeien in de vreetactiviteit-groep zaten. Daarnaast kan het zijn dat de data niet voldoende met elkaar vergeleken kon worden: het effect *bedrijf* wordt wel significant gemeten ( $p \leq .022$ ).

De controlegroep produceerde minder melk en vergelijking met de testgroepen en worden er significante verbanden gevonden tussen de controlegroep en testgroep-1 (dag 2, dag 3 en week 1 in lactatie ( $p \leq .05$ )) en tussen de controlegroep en testgroep-2 (dag 2, dag 3 en week 1 tot en met week 8 in lactatie ( $p \leq .05$ )). De eerste dagen in lactatie produceren de testgroepen vergelijkbaar, maar vanaf week 1 in lactatie produceert de dubbele calciumbehandeling-groep de meeste melk. Deze trend is ook terug te zien in de herkauwactiviteit.

Op het gebied van vitaliteit kalf, afkalfproces en hoeveelheid eerste biest zijn er geen duidelijke trendlijnen waar te nemen. Wel is een significant verband gevonden tussen de calciumbehandelingen en de Brix-waarde ( $F(2,60) = 4.800$ ;  $p = .012$ ). Er waren wel minder aantal dieren in de controlegroep.

Dit onderzoek geeft aan dat de Topro Calcium bolus een positief effect heeft op de herkauwactiviteit en de melkgift. Een dubbele behandeling geeft betere resultaten vanaf week 1 in lactatie in vergelijking met een enkele behandeling. Een vervolgonderzoek zou nuttig kunnen zijn, met een verbetering op met name de dataverzameling en met minder bedrijven voor minimale bedrijfseffecten.

## Abstract

Milk fever is still a common transition disease in dairy cows. A calcium deficiency in dairy cows can have several causes, but in practice it is still a challenge to prevent (sub)clinical milk fever and to act preventive. This research provides insight into the effect of calcium boluses around calving, so that management strategies on dairy farms are adapted accordingly.

This field study focuses on the Topro Calcium bolus in order to map the effectiveness of 2 different treatments compared to no calcium treatment. The main question is: *what is the effect of 2 different doses of the Topro Calcium bolus that is provided around calving in multi-calf dairy cows in the transition period up to 8 weeks in lactation on Lely milking robot farms in The Netherlands (Gelderland and Overijssel)?*

The research was conducted at 9 different companies in The Netherlands from the end of October to the beginning of December. 141 animals were divided into 3 groups: control group (no calcium boluses), test group-1 (1 calcium treatment 24 hours before calving) and test group-2 (1 calcium treatment 24 hours before calving and 1 calcium treatment 24 hours after calving) based on the lactation number. Data from milking robots, such as rumination and feed intake activity and milk yield, were used. Vitality of the calf and calving process and the quantity and quality of the first colostrum were collected by means of fill-in forms for the farmers.

In terms of rumination activity, a relationship can be observed between the various calcium treatments and the moment in lactation. For example, cows ruminate less without an administered calcium bolus and it can be seen that the test group-2 ruminates more from 1 week in lactation compared to test group-1 and the control group. The differences between the control group and test group-2 were measured significantly at week 1 ( $p = .040$ ), week 2 ( $p = .051$ ) and week 8 ( $p = .050$ ).

No clear trend line can be observed for feed intake activity. This does not correspond to rumination activity, as these elements have a positive association with each other. The fact that no trend line can be seen is probably due to the fact that there were fewer cows in the feed intake activity group. In addition, it may be that the data could not be compared sufficiently: the effect of company is measured significantly ( $p \leq .022$ ).

The control group produced less milk and compared to the test groups, significant associations are found between the control group and test group-1 (day 2, day 3 and week 1 in lactation ( $p \leq .05$ )) and between the control group and test group-2 (day 2, day 3 and week 1 to week 8 in lactation ( $p \leq .05$ )). The test groups produce similar during the first days in lactation, but from week 1 in lactation the double calcium treatment group produces the most milk. This trend is also reflected in rumination activity.

No clear trend lines can be observed for calf vitality, calving process and amount of first colostrum. However, a significant relationship was found between the calcium treatments and the Brix value ( $F(2.60) = 4,800$ ;  $p = .012$ ). There were fewer animals in the control group.

This research indicates that the Topro Calcium bolus has a positive effect on rumination activity and milk yield. A double calcium treatment gives better results from week 1 in lactation compared to a single calcium treatment. A follow-up study could be useful, with an improvement in data collection in particular and with fewer companies for minimal farm effects.

## 1. Inleiding

De melkveehouderijsector is de grootste agrarische sector in Nederland, zo bedroeg het aantal graasdierbedrijven circa 50% van het totale aantal landbouwbedrijven in Nederland (Afrian et al., 2020). Ondanks dit percentage is het aantal melkveebedrijven gedaald met 2,6% en is het aantal dieren per bedrijf gedaald met circa 2,0% in 2021 ten opzichte van 2020 (CRV, 2021). Dit komt mede door het fosfaatreductieplan dat op 1 maart 2017 is ingesteld. Door deze maatregeling moesten melkveebedrijven terug naar het aantal dieren op 2 juli 2015 minus 4%, dit werd aangeduid met het aantal GVE's per melkveebedrijf (RVO, 2020). Als gevolg van deze regeling daalde van 2016 tot 2019 het aantal melk- en kalfkoeien met 10% en het aantal stuks jongvee met 29% (CLO, 2021).

Voor melkveehouders werd het belang van een verbeterde levensduur van het vee steeds crucialer doordat er met minder vee gestreefd moest worden naar een melkproductie dat kostendekkend is; het verhogen van de levensproductie per koe werd gewenst (Goselink, 2017). Om dit te realiseren zal de gezondheid van het vee steeds belangrijker worden. Dit begint met aandacht voor een goede jongveeopfok en aandacht voor de transitie- en lactatieperiode. Deze elementen zijn met elkaar verweven: een juiste transitieperiode draagt bij aan een optimale jongveeopfok en lactatieperiode (Goselink, 2017).

### 1.1 Start van de lactatie

De voorbereiding op een nieuwe lactatie is zeer van belang voor melkkoeien. De koe gaat droog na een presterende lactatie en bereidt zich voor op een nieuwe lactatie. De reden dat een koe droog gaat, is om de melkproductie in de volgende lactatie te optimaliseren (Kuhn et al., 2005). De transitieperiode is de periode van 3 weken voor het afkalven tot 3 weken na afkalven (Drackley, 1999). Deze periode is een risicomoment voor melkkoeien; ongeveer 80% van de aandoeningen bij melkvee wordt veroorzaakt in de transitieperiode, met name in de eerste weken na afkalven (CRV, 2020). Dit komt doordat de koe na het afkalven in een *negatieve energiebalans* (NEB) terecht komt; vrijwel alle koeien ervaren een NEB in het begin van de lactatie (Sovani et al., 2000). De NEB houdt in dat de energiebehoefte voor melkproductie onvoldoende gedekt kan worden met de energieopname via het voer. De energiebehoefte neemt na het afkalven toe door de opkomende melkproductie. De energiebehoefte is groter dan de orale energieopname en de koe gaat alternatieve energiebronnen gebruiken; de snelheid van vetafbraak (*lipolyse*) neemt toe (Bradford et al., 2015). Bij lipolyse worden triglyceriden afgebroken tot glycerol en NEFA's (Non Esterified Fatty Acids) wat in de lever omgezet wordt naar bruikbare energie (Goff & Horst, 1997). Er is echter wel een grens aan de hoeveelheid NEFA's wat geoxideerd kan worden. Als dit limiet bereikt is, worden NEFA's omgezet naar ketonlichamen, zoals acetoacetaat en  $\beta$ -hydroxybutyraat, die in het bloed terecht komen. *Ketose* treedt op bij een overmaat aan ketonlichamen in het bloed, hierdoor voelt de koe zich beroerd en de voeropname zal dalen (Goff & Horst, 1997).

Door de stijgende melkgift na afkalven kan de koe een tekort aan calcium in het bloed (*melkziekte*) ontwikkelen wat een cruciale rol speelt bij het in de hand werken van andere ziektes zoals ketose (*slepende melkziekte*) (Curtis et al., 1983). Volgens regionaal onderzoek van Pijs van De Oosthof Dierenartsen lijdt 77% van de melkkoeien aan een vorm van subklinische melkziekte rondom het afkalven (Van den Biggelaar, 2019). Deze hoeveelheid melkziektegevallen zorgt voor een hoger afvoerpercentage van koeien in de sector. Onlangs is er onderzoek gedaan naar het verband tussen stofwisselingsziektes in de transitieperiode en het risico op afvoeren in de eerste 120 dagen van de lactatie bij eerstekalfs- (*primiparous*) en meerderkalfskoeien (*multiparous*) (Probo et al., 2018). Hierbij werd gekeken naar meerdere factoren die een rol spelen bij transitieziektes, zoals melkziekte en ketose. De proef bestond uit 1946 koeien (primiparous N = 542, multiparous N = 1404) op één bedrijf in Duitsland die afkalften van april 2009 tot april 2010. Uit het onderzoek kwam naar voren



dat de aanwezigheid van stofwisselingsziekten tijdens de transitieperiode zorgde voor een verhoogd afvoerrisico in de eerste 120 dagen in lactatie van 35,2%. Ook viel op dat de aanwezigheid van melkziekte, naast ketose, zorgde voor een hoog afvoerpercentage bij melkkoeien: alleen bij meerderkalkskoeien is de kans op afvoer aanwezig ( $p < .001$ ). Dit wijst op een cruciaal melkziekte probleem bij meerderkalkskoeien in de transitieperiode wat leidt tot afvoer (Probo et al., 2018).

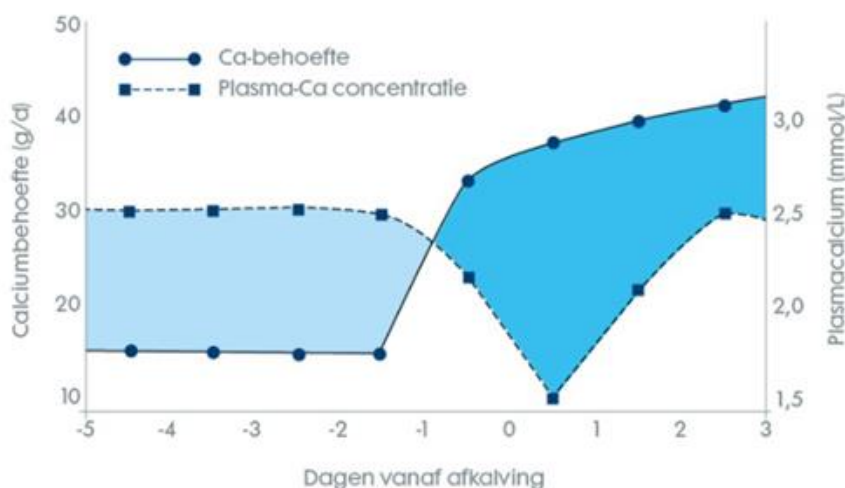
Melkziekte speelt een essentiële rol bij meerderkalkskoeien in de transitieperiode. Om deze reden is de levensduur niet optimaal voor melkvee in Nederland, de gemiddelde leeftijd per koe bedroeg in 2020 4 jaar en 9 maanden (CRV, 2021). Topro Animal Health zet zich in voor het verlengen van de levensduur door middel van preventief handelen op nutritioneel gebied. Als er gezorgd wordt dat de koe niet ziek of te laag in weerstand komt, zal de koe langer op het bedrijf kunnen blijven wat de levensduur op bedrijfsniveau bevordert (Topro, z.j.-a). Wanneer de levensduur van melkkoeien van 3 naar 5 lactaties gaat, dalen de opfokkosten met 2,5 cent per liter melk doordat er minder jongvee aangehouden hoeft te worden (Topro, 2020).

## 1.2 Hypocalcemie

Melkziekte wordt veroorzaakt door een te laag calciumgehalte in het bloed (*hypocalcemie*). Dit kan optreden 1 tot 2 dagen voor afkalven en een paar dagen na afkalven, met name rond de eerste dag is een cruciaal moment, zie figuur 1 (Friggens et al., 2004). Hierbij is de calciumbehoefte uitgezet tegen de plasma-calcium concentratie in het bloed. Opvallend aan het verloop van de grafiek is dat het tekort al begint circa een dag voor afkalven en het dieptepunt rond een halve dag na afkalven ligt. Door het op gang komen van de biestproductie wordt calcium uit het bloed onttrokken waardoor het calciumgehalte in het bloed laag wordt. Zo heeft een koe die 10 liter biest produceert 23 gram calcium nodig in de eerste melking, waar gemiddeld 9 keer meer calcium nodig is dan wat er beschikbaar is in de vorm van de plasma-calciumconcentratie in het bloed (Horst et al, 1997). De kwaliteit en de hoeveelheid biest in de eerste dagen varieert per dier, de calciumbehoefte zal dan per koe anders zijn. Er is geen onderzoek gevonden naar het effect van de *Brix-waarde* (hoeveelheid droge stof per liter melk) en de hoeveelheid biest op het voorkomen van melkziekte. Wel wordt er gestreefd naar een Brix-waarde van boven de 22% bij de eerste biest zodat biest genoeg *immunoglobulinen* (antistoffen) bevat wat van belang is voor de weerstand van het kalf (Van Drie, 2020).

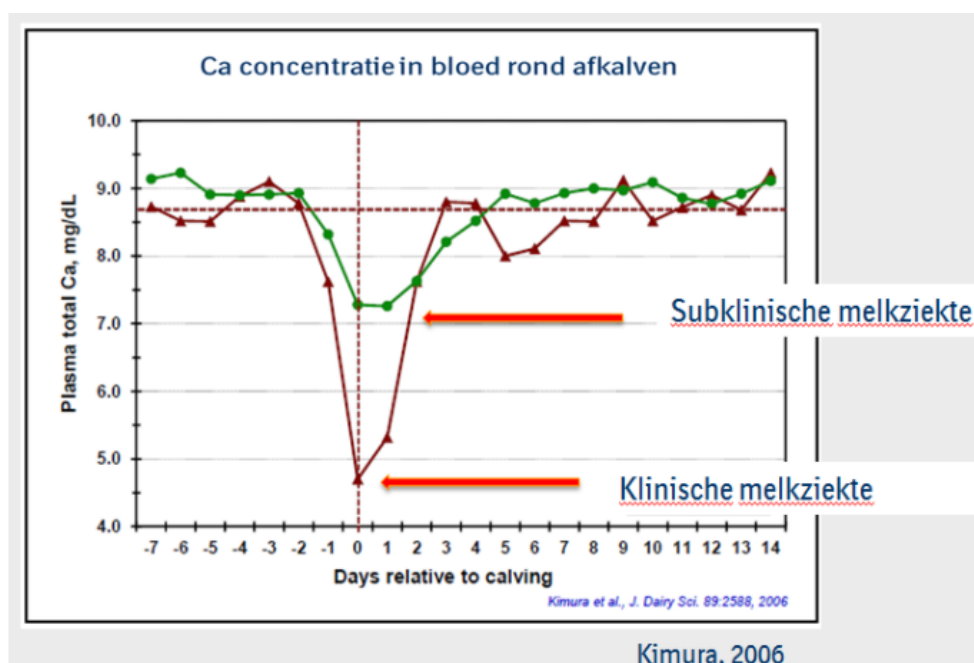
Als het calciumgehalte voor een langere tijd te laag blijft kan dodelijk zijn voor de koe, doordat de koe met name problemen krijgt met de spier- en zenuwfuncties en niet meer in staat is om te staan (Trouw Nutrition, 2021). Behalve de skeletspieren krijgen de orgaanspieren ook minimaal hoeveelheid calcium wat kan leiden tot problemen met het hart, maag-darmkanaal en baarmoeder (Jacobsen, 2020).

Figuur 1. Verloop van calciumbehoefte en plasma-calciumconcentratie (g/dL) in het bloed in dagen rondom afkalven (Trouw Nutrition, 2021), aangepast vanuit (Friggens et al., 2004).



Melkziekte komt voor in 2 vormen: een klinische vorm en een subklinische vorm. Bij klinisch zijn de symptomen zichtbaar op te merken; de koe heeft een lichaamstemperatuur van lager dan 38,2 graden Celsius, voelbaar koude oren, is niet meer in staat om te staan, is niet actief en heeft een verminderde eetlust (Phibro, z.j.). Klinische melkziekte komt voor bij 5 tot 10% van de melkkoeien en subklinische melkziekte komt voor bij 25 tot 50% van de melkkoeien rondom afkalven (Mulligan & Doherty, 2008). Subklinische melkziekte is alleen via bloedmonsters op te merken aangezien er minimale symptomen met het blote oog waar te nemen zijn (Bovikalc, z.j.). In de USA is er onderzoek gedaan naar de calciumconcentratie in het bloed rondom afkalven bij koeien die subklinische melkziekte en klinische melkziekten hadden van 1 week voor afkalven tot 2 weken na afkalven (Kimura et al., 2006). Bij 8 koeien werd klinische melkziekte geconstateerd en bij 19 koeien werd aangetoond dat ze leden aan subklinische melkziekte. In figuur 2 zijn de resultaten van het onderzoek weergegeven. In de grafiek is te zien dat de calciumconcentratie van de klinische melkziekte groep op dag 0 en 1 daalde naar een waarde van 4,7 en de subklinische groep daalde naar 7,3 mg/dL. Uit de grafiek is op te merken dat het terugkomen naar de normale calciumconcentratie langer duurt bij klinische melkziekte (circa dag 7) dan bij subklinische melkziekte (circa dag 4). Koeien met klinische melkziekte bereiken rond het afkalven een lagere plasma calciumconcentratie in het bloed dan koeien met subklinische melkziekte en hebben een langere periode van herstel van calciumgehalte in het bloed (Kimura et al., 2006).

*Figuur 2. Verloop van calciumconcentratie plasma calcium mg/dL bloed rondom afkalven bij koeien met klinische en subklinische melkziekte. De concentratie calcium in het bloed per dier is aangegeven door middel van het aantal calcium plasma in mg/dL bloed, de normale grens van calciumconcentratie in bloed is rond de 8,5 tot 9,5 mg/dL. De rode lijn geeft het verloop van de calciumconcentratie van de koeien met klinische melkziekte weer en de groene lijn geeft de calciumconcentratie van de koeien met subklinische melkziekte weer (Bovikalc, z.j.), aangepast vanuit (Kimura et al., 2006).*



Calciumtekort voor afkalven kan effect hebben op het afkalfproces. De baarmoeder is een spier dat in geval van hypocalcemie minder kan samentrekken, hierdoor gaat het geboorteprocess van het kalf moeizamer. Dit kan leiden tot een dood kalf, aan de nageboorte blijven staan en het onvoldoende opschonen van de baarmoeder wat de kans op baarmoederontsteking vergroot (Mons, 2018). Zo is in Spanje onderzoek gedaan naar de relatie tussen *subklinische hypocalcemie* (SCHC) en *postpartumstoornissen* (transitieziekten na het afkalven) bij ruim 700 melkkoeien van 9 verschillende

bedrijven (Rodríguez et al., 2017). De koeien werden onderscheiden in geen melkziekte (*normocalcémie*) en het hebben van SCHC, dit werd gedaan door middel van het calciumgehalte in het bloed 24 tot 48 uur na kalven te bepalen. De dieren werden beoordeeld op postpartumstoornissen, zoals lebmaagverdraaiing, baarmoederontsteking en aan de nageboorte blijven staan, in de eerste 30 dagen van de lactatie en het tijdstip van de eerste tocht werd bijgehouden. Uit dit onderzoek kwam naar voren dat meerderkalfs-SCHC koeien een grotere kans hebben om aan de nageboorte te blijven staan en baarmoederontsteking te krijgen dan normocalcémie koeien en eerstekalfs-SCHC koeien ( $p < .05$ ). Eveneens viel het onderdeel zichtbare tocht binnen 60 dagen in lactatie op; koeien met subklinische melkziekte toonden later de tocht dan normocalcémie koeien en eerstekalfs-SCHC koeien ( $p < .001$ ). Dit concludeert dat de koeien in dit onderzoek met subklinische melkziekte een grotere kans hebben op baarmoederontsteking, aan de nageboorte blijven staan en later zichtbare tocht, met name de meerderkalfskoeien. Dit kan komen doordat de immuunfunctie aangetast is door het calciumtekort en de spiercontractie (in het specifiek van de baarmoeder) vermindert (Rodríguez et al., 2017).

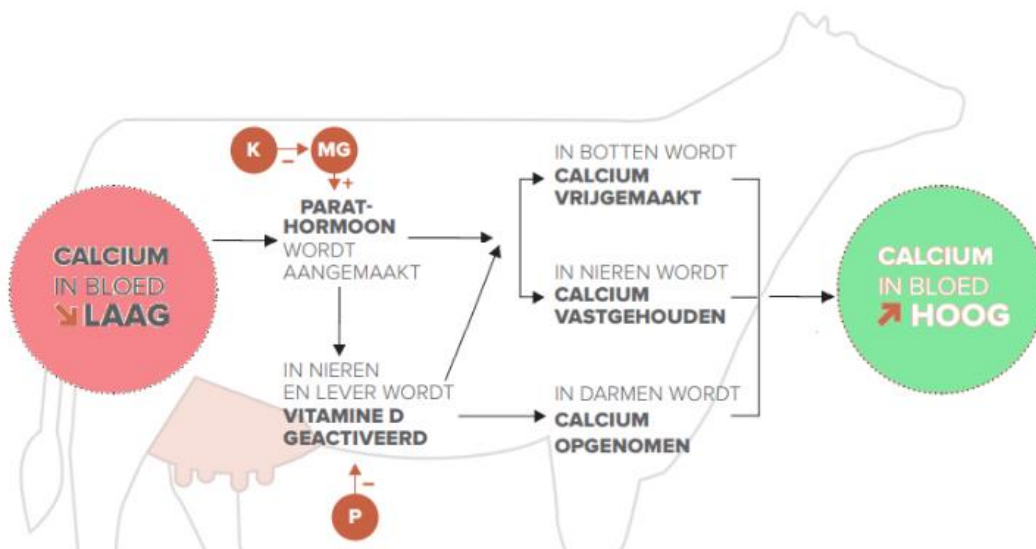
Een andere postpartumstoornis is lebmaagverdraaiing. In de literatuur zijn meerdere tegenstrijdige uitspraken en onderzoeken die aangeven dat er wel een verband is (Massey et al., 1993 ; Rodríguez et al., 2017) en dat er geen verband is (LeBlanc et al., 2005 ; Chamberlin et al., 2013) tussen lebmaagverdraaiingen en (sub)klinische melkziekte. In het eerder besproken onderzoek kwam naar voren dat koeien met subklinische melkziekte een grotere kans hebben op een lebmaagverdraaiing dan koeien zonder (sub)klinische melkziekte ( $p < .01$ ) (Rodríguez et al., 2017). In een ander onderzoek kwam naar voren dat een lebmaagverdraaiing niet komt door een tekort aan calcium, maar aan een tekort aan energie (*slepende melkziekte*): er is een verband aangetoond tussen de NEFA ( $p = .002$ ) en  $\beta$ -hydroxybutyraat ( $p < .0001$ ) enerzijds en het optreden van lebmaagverdraaiingen anderzijds (LeBlanc et al., 2005).

De gevolgen van hypocalcémie zijn langdurig, dit komt doordat de afweer van de koe is afgenomen en inwendige organen een verminderde activiteit hebben door het calciumtekort. Zo is de koe door de verlaagde weerstand en door een verminderde werking van de spieren (zoals de spieren in slotgaten en de baarmoeder) vatbaarder voor problemen zoals uierontsteking en baarmoederontsteking (Goff, 2008). Vruchtbaarheidsproblemen zijn tevens een gevolg van (sub)klinische melkziekte. Zo is het drachtpercentage lager bij koeien die hypocalcémie hadden in de eerste dagen van de lactatie dan bij normocalcémie koeien ( $p = .06$ ) (Martinez et al., 2012).

### 1.3 Droogstandsrantsoen

Vanuit het droogstandsrantsoen kan er gestuurd worden op de kans op melkziekte na afkalven. Dit heeft te maken met meerdere elementen waardoor er verschillende strategieën van droogstandsmanagement toegepast kunnen worden. Om te kunnen begrijpen waar op gelet moet worden in de droogstand en welke elementen een rol spelen bij de opmars naar melkziekte, zal eerst de calciumstofwisseling aan bod komen. Zo is de calciumstofwisseling schematisch weergegeven in figuur 3. Het is van belang dat er op het juiste moment van tijd genoeg calcium in het bloed kan komen om het calciumtekort op te kunnen vangen. Dit moment moet één tot twee dagen voor kalven in werking gezet worden omdat het calciumtekort op dat moment begint te spelen (zie figuur 1 en 2). Dit heeft te maken met hoe actief de *botmobilisatie* (het vrijmaken van calcium uit de botten) is, deze is bewerkbaar in de droogstand. Als er weinig stimulans is voor de botactiviteit, zal dit niet op tijd in gang gezet kunnen worden op het moment dat het calciumtekort zo dusdanig hoog is (De Vries, 2020). Het is dus van belang dat de botmobilisatie vanaf de droogstand gestimuleerd wordt om het calciumtekort dagen rondom afkalven te verkleinen.

Figuur 3. Schematische weergave van de calciumstofwisseling in geval van laag calciumgehalte in het bloed. PTH zorgt voor activatie van vitamine D en voor botmobilisatie en vasthouding van calcium in de nieren. Vitamine D zorgt voor betere calcium absorptie in de darmen. In combinatie met botmobilisatie, vasthouden van calcium in de nieren en gestimuleerde opname van Ca in de darmen, zal het calciumgehalte in het bloed stijgen. Kalium heeft een negatieve invloed op magnesium, magnesium stimuleert PTH. Fosfor heeft een negatieve invloed op de activatie van vitamine D (De Vries, 2020).



De botmobilisatie wordt direct en indirect aangestuurd door het hormoon *parathyreoïdhormoon* (PTH). PTH wordt geproduceerd in de bijnieren en stimuleert direct het vrijmaken van calcium uit de botten en het vasthouden van calcium uit de nieren (DeGaris & Lean, 2008). PTH stimuleert in de nieren de activiteit van vitamine D. Vitamine D bevordert de opname van calcium in de darmen, stimuleert de botmobilisatie en zorgt er voor dat er minder calcium via de urine wordt uitgescheiden via de nieren (De Vries, 2020). Vanuit het rantsoen zijn er bepaalde stimulansen en remmen in de calciumstofwisseling. Zo stimuleert magnesium de aanmaak van PTH; als tegenhanger verdringt kalium magnesium. Fosfor remt de activatie van vitamine D in de nieren en lever (DeGaris & Lean, 2008).

Een van de mogelijkheden om via droogstandsrantsoenen het risico op melkziekte te verlagen is het verlagen van de *kationen-anionen balans* (KAB), ook wel *metabole acidose* genoemd (Goff & Horst, 1997). Hierbij wordt er gekeken naar de balans tussen de positief geladen elementen (kalium en natrium) en negatief geladen elementen (zwavel en chloor) in het droogstandsrantsoen. De volgende formule is hierbij van toepassing:

$$\text{KAB (DCAD)} = (\text{kalium} + \text{natrium}) - (\text{zwavel} + \text{chloor}) \quad (\text{Ender et al., 1971})$$

Om de kans op melkziekte te verminderen is het meest ideaal om een KAB tussen de -50 en -150 te hebben in het droogstandsrantsoen (VCS, 2021). Dit kan gerealiseerd worden door het kalium- en natriumgehalte in het voer te beperken en extra anionen toe te voegen (Vagnoni & Oetzel, 1998). Dit wordt vaak gedaan door anionische zouten bij te voeren in de droogstand. Het verlagen van de kationen in de droogstandsvoeding heeft succesvol invloed op de KAB doordat koeien zelf al een hoge biologische beschikbaarheid hebben van kalium en natrium. Hierdoor zullen droogstaande koeien niet direct een tekort hebben op deze elementen (Speerstra, 2020). Voor het optimale droogstandsrantsoen zal er gestreefd moeten worden naar een kaliumgehalte van 15g/kg droge stof (VCS, 2021). Echter mag de KAB in het droogstandsrantsoen niet te laag worden. Als dit wel gebeurt, loopt de koe een risico op ernstige metabole acidose wat inhoudt dat de pH in het bloed te ver daalt wat een negatief effect heeft op de drogestofopname (DMI) (Vagnoni & Oetzel, 1998).

Er zijn verschillende theorieën die iets zeggen over het wel of niet toevoegen van calcium in het droogstandsrantsoen met een lage KAB. Zo geeft Ryan et al. (2020) aan dat het toevoegen van calcium aan een droogstandsrantsoen zorgt voor een betere vruchtbaarheid in de volgende lactatie. Volgens dit onderzoek zou dit komen doordat het toevoegen van calcium de immuunreactie verbeterd wordt en een verlichting geeft van oxidatieve stress bij het afkalven. Volgens het onderzoek van Glosson et al. (2020) heeft het toevoegen van calcium in droogstandsrantsoenen onvoldoende effect op melkproductie en gezondheid van de koe in de volgende lactatie.

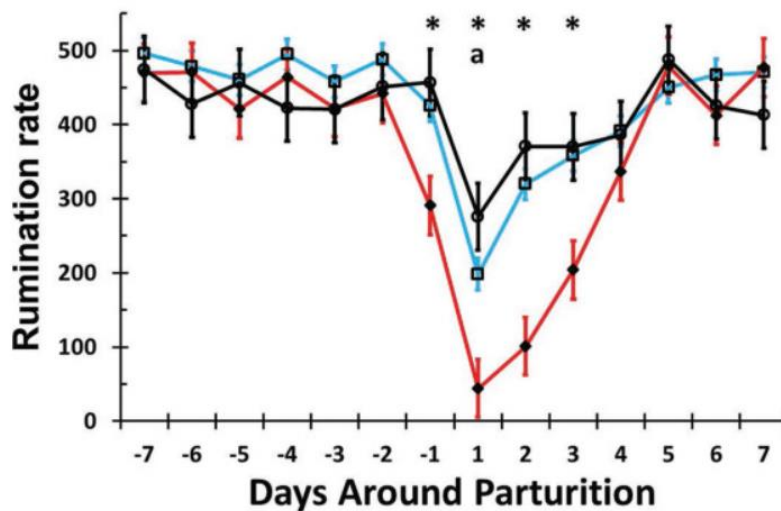
Er is een *meta-analyse* van 37 onderzoeken uitgevoerd over het effect van een lage KAB (-100) en een hoge KAB (+200) in droogstandsrantsoenen op het optreden van transitieziekten van de laatste 2 weken van de dracht tot en met 3 weken in lactatie (Santos et al., 2019). Zo werd de incidentie van transitieziekten, zoals melkziekte, aan de nageboorte blijven staan en baarmoederontsteking, van 1803 dieren gebundeld, gepoold en met elkaar vergeleken. Vanuit deze gegevens werd het verschil tussen een hoge en lage KAB bij koeien met een bepaalde transitieziekte in kaart gebracht. Uit het onderzoek kwam naar voren dat koeien die een droogstandsrantsoen met een KAB van -100 kregen minder kans hadden op melkziekte ( $p = .001$ ), aan de nageboorte blijven staan ( $p = .001$ ) en baarmoederontsteking ( $p = .02$ ) dan koeien die een droogstandsrantsoen met een KAB van +200 hebben gekregen (Santos et al., 2019).

Tevens werd in dezelfde meta-analyse gekeken naar de DMI van koeien voor afkalven en na afkalven en de melkopbrengst melkkoeien. Hierbij zijn eveneens de verschillen tussen droogstandsrantsoenen met een hoge en lage KAB en de kans op transitieziekten bij melkkoeien in kaart gebracht. Uit deze analyse kwam naar voren dat koeien met een lage KAB in het droogstandsrantsoen een verminderde DMI hadden in de droogstand vergeleken met koeien met een hoge KAB ( $p = .02$ ). Ook kan worden verondersteld dat koeien met een lage KAB een hogere DMI hadden na afkalven in vergelijking met koeien met een hoge KAB ( $p = .08$ ). Bovendien kwam naar voren dat koeien zichtbaar meer melk produceerden wanneer de koeien een laag KAB droogstandsrantsoen kregen (Santos et al., 2019).

Het is een uitdaging om een droogstandsrantsoen samen te stellen waarbij de drogestofopname optimaal is voor transitiekoeien. Door de anionische zouten is de smakelijkheid van het voer minder en door het risico op ernstige metabole acidose zal de drogestofopname lager zijn (Vagnoni & Oetzel, 1998). De drogestofopname in de transitieperiode is een belangrijke indicator voor het vaststellen van transitieziekten zoals melkziekte. Zo is herkauwactiviteit na afkalven ook gelinkt met subklinische melkziekte (Goff et al., 2020). Dit komt doordat een lage calciumconcentratie in het bloed zorgt voor minder samentrekkingen van de gladde spieren in de pens wat een negatieve invloed heeft op de voeropname en de herkauwactiviteit (Hansen et al., 2003). Er is onderzoek gedaan naar de herkauwactiviteit bij koeien zonder melkziekte ( $N = 4$ ), koeien met subklinische melkziekte ( $N = 17$ ) en koeien met klinische melkziekte ( $N = 4$ ) (Goff et al., 2020). Deze koeien hadden niet ieders hetzelfde droogstandsrantsoen, maar wel werd waargenomen dat de koeien die als normocalcemisch werden beschouwd een laag KAB rantsoen gehad hebben in de droogstand. Uit het onderzoek kwam naar voren dat normocalcemie koeien significant meer herkauwactiviteit hadden een dag voor afkalven tot 3 dagen na afkalven ( $p < .05$ ), zie figuur 4. Ook herkauwden normocalcemie koeien meer dan koeien met subklinische melkziekte op de dag van afkalven ( $p < .075$ ). De koeien in dit onderzoek met klinische melkziekte herkauwen significant minder dan de koeien zonder melkziekte een dag voor afkalven tot 3 dagen na afkalven (Goff et al., 2020).



Figuur 4. Resultaten onderzoek herkauwactiviteit (min/dag) bij koeien zonder melkziekte (zwarte lijn), subklinische melkziekte (blauwe lijn) en klinische melkziekte (rode lijn) in een week voor en een week na afkalven. \* geeft aan dat er een significant verschil is tussen normocalcemie koeien en klinische melkziekte koeien op dat tijdstip ( $P < 0,05$ ). 'a' geeft aan dat er een significant verschil is tussen koeien zonder melkziekte en subklinische melkziekte ( $P < 0,075$ ) (Goff et al., 2020).



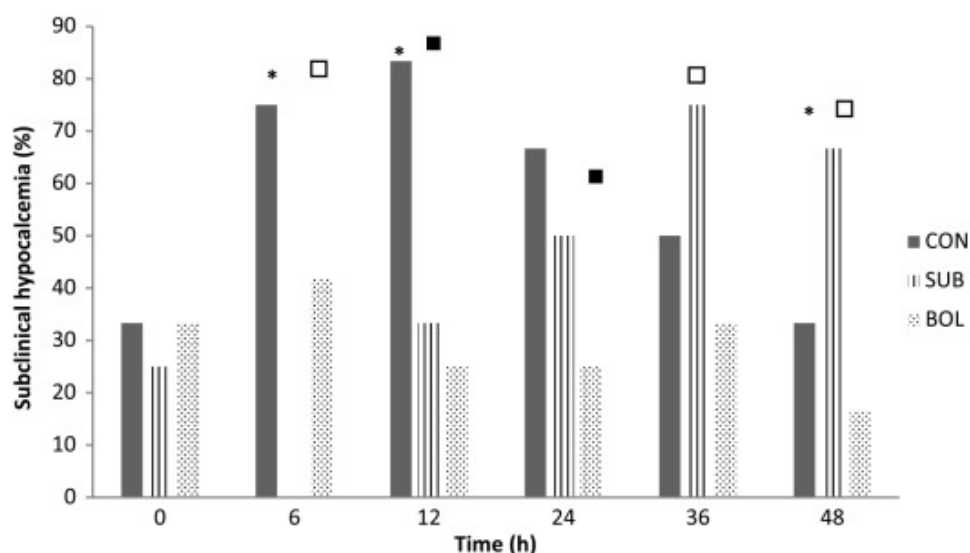
#### 1.4 Bolussen

Naast een corrigerend droogstandsrantsoen kan er ook gekozen worden om calciumsupplementen toe te dienen bij koeien rondom afkalven wat kan in de vorm van bolussen, drenches en koedranken (VIJ, 2021). Bolussen vallen onder orale geneesmiddelen en komen bij het inslikken terecht in het *reticulorumen* (het eerste gedeelte van de pens). Hier valt de bolus uit elkaar en kan het worden opgelost in de spijsverteringsinhoud. De losgekomen voedingsstoffen zullen voor een deel opgenomen worden in de pens en voor een deel zal het doorstromen via de boekmaag en lebmaag naar de dunne darm waar het verder opgenomen wordt (Mampaey, 2019). Calcium bolussen staan bekend om de snelle en langdurige afgifte door de combinatie van calciumbronnen, zoals calciumchloride wat een hoge beschikbaarheid van calcium bevat en het is een krachtiger zuurmiddel dan andere anionbronnen (Goff et al., 2004). Bolussen beschermen de bijtende vorm van calciumchloride en bevat een coating waardoor het makkelijk ingeslikt kan worden (VIJ, 2021). Er zijn diverse onderzoeken die aangeven dat orale calciumbolussupplementen positief werken ter preventie van melkziekte (Oetzel & Miller, 2012 ; Jahani-Moghadam et al., 2020).

Zo is in Iran een onderzoek uitgevoerd waar 36 lacterende koeien werden gevolgd om het korte- en langetermijneffect van twee bronnen van calciumsupplementen in kaart te brengen (Jahani-Moghadam et al., 2020). De koeien werden willekeurig op basis van melkgift van voorgaande lactaties en lactatienummer in één van de drie groepen geplaatst: controlegroep zonder calcium supplement (CON), subcutane injectie van calciumborogluconaat na afkalven (SUB) of een oraal supplement van calcium bolus onmiddellijk en 24 uur na afkalven (BOL). Hierbij werd gekeken naar de concentratie calcium in het bloed tot 48 uur na afkalven en de melkgift en melksamenstelling tot 3 maanden in lactatie. Uit het onderzoek komt naar voren dat SUB koeien meer calcium in het bloed hadden tot 24 uur na afkalven in vergelijking met de CON groep ( $p < .002$ ), maar na 24 uur had de BOL groep een hoger calciumgehalte in het bloed dan CON ( $p < .01$ ). Op basis van de calciumconcentraties in het bloed van de drie groepen kon gekeken worden of de koeien last hadden van subklinische melkziekte, deze gegevens zijn verwerkt in een staafgrafiek, zie figuur 5. Hier is te zien dat er geen SUB koeien waren die subklinische melkziekte hadden 6 uur na afkalven, maar na 12 uur had het minst aantal koeien in de BOL groep subklinische melkziekte. Hierbij werden significante verschillen gevonden tussen de groepen, zie figuur 5. Dit concludeert dat in dit onderzoek de calcium

bolussen kunnen zorgen voor minder subklinische melkziekte vanaf 36 uur na afkalven in vergelijking met subcutane calciuminjectie en zorgen voor minder subklinische melkziekte vanaf 48 uur na afkalven in vergelijking met koeien zonder calcium supplementen. Er waren overigens geen verschillen in melkproductie en melksamenstelling tot 3 maanden in lactatie waargenomen, maar de BOL groep kwam op meerdere punten bovenuit, dus het wordt wel aanbevolen om een calcium bolus te geven bij koeien in een dezelfde toestand als het experiment (Jahani-Moghadam et al., 2020). Orale calciumbolussupplementen kunnen een positieve bijdrage leveren tegen subklinische melkziekte vanaf 36 uur na afkalven (Jahani-Moghadam et al., 2020). Ook reageren kreupele koeien en koeien met een hogere melkproductie gunstig op calcium bolussen; het aanvullen met calcium bolussen op gerichte subpopulaties wordt aanbevolen, zelfs op bedrijven met een lage incidentie van melkziekte (Oetzel & Miller, 2012).

*Figuur 5. Percentage subklinische melkziekte gevallen bij de controlegroep (CON), subcutane injectie calcium groep (SUB) en calcium bolus groep (BOL) tot 48 uur na afkalven. \* geeft een significant verschil aan tussen CON en SUB groep, zwart vierkant geeft significant verschil aan tussen CON en BOL groep en wit vierkant geeft significant verschil aan tussen SUB en BOL groep (sign:  $P < 0,05$ ) (Jahani-Moghadam et al., 2020).*



## 1.5 Onderzoeksdoelstelling

Bij dit onderzoek staat de Calcium bolus van Topro Animal Health centraal. Het doel van dit onderzoek is om de effectiviteit van de Calcium bolus in kaart te brengen door 2 verschillende doseringen te testen op 2 groepen dieren in vergelijking met een groep dieren die geen dosis calcium krijgt. De eerste testgroep krijgt een behandeling van 2 bolussen 12 tot 24 uur voor afkalven en de tweede testgroep krijgt een behandeling van 2 bolussen 12 tot 24 uur voor afkalven én 2 bolussen 12 tot 24 uur na afkalven. Er is gekozen voor deze doseringen, om te analyseren of 1 behandeling voor afkalven voldoende is om het tekort voor te zijn of dat er nog een calciumbehandeling nodig is.

De probleemstelling is dat melkziekte, bij met name meerderkalkskoeien, nog steeds op melkveebedrijven voorkomt en nog steeds zorgt voor een hoog afvoerpercentage in de sector (Probo et al., 2018). Ondanks de aandacht voor droogstandsrantsoenen, calciumsupplementen en management op melkveebedrijven is het systeem waardoor melkziekte de kop wordt ingedrukt nog steeds niet gevonden. Dit is te merken aan de conclusies van voorgaande onderzoeken over melkziekte: de resultaten komen niet met elkaar overeen. Dit onderzoek draagt bij om een systeem te vinden waardoor melkziekte verminderd wordt op melkveebedrijven met Nederlandse omstandigheden.

De doelgroep van dit rapport zijn melkveehouders en Topro Animal Health. Voor melkveehouders is het interessant wat voor bijdrage extra calcium doet op melkvee in Nederlandse omstandigheden in het najaar van 2021. Voor Topro Animal Health is dit praktijkonderzoek interessant zodat er met cijfers aangetoond kan worden wat de effectiviteit van de Topro Calcium bolus is op standaard Nederlandse bedrijven in het najaar van 2021. Als er positieve resultaten uit de proef komen, kan dit onderzoek ter promotie van Topro en ondersteuning van verkoop van de producten dienen

## 1.6 Onderzoeksvraag

Op basis van het doel, knowledge gap en de doelgroep is de hoofdvraag opgesteld:

*Wat is het effect van 2 verschillende doseringen van de Topro Calcium bolus wat verstrekt is rondom het afkalven bij meerderkalfsmelkkoeien in de transitieperiode tot 8 weken in lactatie op Lely melkrobotbedrijven in Gelderland en Overijssel?*

Naar aanleiding van de hoofdvraag kunnen deelvragen opgesteld worden om het beantwoorden van de hoofdvraag te ondersteunen:

1. *Wat voor effect heeft het toedienen van de Topro Calcium bolus bij meerderkalfskoeien rondom het afkalven op de herkauwactiviteit tot 8 weken na afkalven?*
2. *Wat is de invloed van het toedienen van de Topro Calcium bolus rondom het afkalven bij meerderkalfskoeien rondom op de vreetactiviteit tot 8 weken in lactatie?*
3. *Wat voor invloed heeft het toedienen van de Topro Calcium bolus rondom het afkalven bij meerderkalfskoeien rondom op de melkgift in de eerste 8 weken na afkalven?*
4. *Wat voor effect heeft het vooraf toedienen van de Topro Calcium bolus bij meerderkalfskoeien rondom op het afkalfproces en de vitaliteit van het kalf?*
5. *Wat voor invloed heeft het vooraf toedienen van de Topro Calcium bolus bij meerderkalfskoeien met een verschillende Brix-waarde en hoeveelheid eerste biest?*

Op dit moment is er geen onderzoek gedaan naar de effectiviteit van de Topro Calcium bolus, wel wordt naast dit onderzoek de Topro Dry bolus onderzocht in dezelfde omgeving en proefbedrijven, deze onderzoeken hebben meerdere punten die met elkaar overeen komen.

Deze vragen zullen in de volgende hoofdstukken beantwoord worden. In hoofdstuk 2 zal de materialen en onderzoeksmethode aan bod komen. De resultaten zullen gegeven worden in hoofdstuk 3, zo zal de discussie in hoofdstuk 4 besproken worden. De conclusie met aanbevelingen zal in hoofdstuk 5 aan bod komen.



## 2. Materiaal en methode

In dit hoofdstuk worden de materialen en methode van het onderzoek behandeld. Bij de materialen zal met name het type dieren en de bolussen aan bod komen, bij de methode staan de groepen dieren en variabelen centraal.

### 2.1 Materialen

#### 2.1.1 Bedrijven

Het calciumonderzoek is uitgevoerd op 9 verschillende bedrijven die zich bevinden in Overijssel en Gelderland, zie bijlage 1 voor de kaart. Deze bedrijven zijn geselecteerd op basis van locatie en op robottype. Zo zijn er alleen bedrijven benaderd met een Lely melkrobot die specifiek herkauw- en vreetactiviteit kunnen meten. Ook is er gekeken naar hoeveel dieren er afkalven in de periode van eind oktober tot en met begin december, dit vanwege de tijdsduur van het onderzoek en de verwerking van de data. De bedrijven verschillen van elkaar, elk bedrijf heeft een eigen droogstands- en melkveerantsoen en voert ieders andere droogstandsmineralen en krachtvoer aan de dieren. Wel is bij de selectie van de bedrijven rekening gehouden met de hoeveelheid calcium die toegediend werd aan koeien rondom afkalven; de bedrijven dienen een beperkte hoeveelheid calcium toe aan de verse koeien. Alle extra ondersteunende middelen werden genoteerd door de melkveehouder, zie bijlage 3.

#### 2.1.2 Dieren

De dieren in de testgroep zijn koeien die afkalften in de periode van eind oktober tot en met begin december, vanwege de duur van het onderzoek. Het ras van de dieren is gelijk of meer dan 50% Holstein Friesian en zijn geselecteerd op lactatienummer, alleen dieren van 2 lactaties of hoger zijn meegenomen in het onderzoek. Dit vanwege de gevoeligheid voor melkziekte bij meerderkalfskoeien ten opzichte van eerstekalfskoeien (zie hoofdstuk 1.2).

De koeien van de controlegroep zijn koeien die onverwacht gekalfd hebben in de testperiode waarvan de ondernemers te laat waren met het toedienen van bolussen. Ook zijn voor de controlegroep dieren gebruikt die vlak voor de testperiode gekalfd hebben, deze data is uit de geschiedenis van de melkrobot gehaald. Dit wordt verder toegelicht in hoofdstuk 2.2.

#### 2.1.3 Topro Calcium bolus

Voor dit onderzoek zijn de Topro Calcium bolussen gebruikt. Deze calcium bolus bevat 20 gram zuivere calcium en komt onmiddellijk vrij in de pens. De samenstelling van de Topro Calcium bolus is: dicalciumfosfaat, magnesiumoxide, calciumstearaat, sorbitol, calciumformiaat, calciumpropionaat en vitamine D3, zie bijlage 2 (Topro, z.d.-b).

Voor het onderzoek zijn er 2 doseringen van de Calcium bolus onderzocht, namelijk: 2 bolussen 12 tot 24 uur voor afkalven en 2 bolussen 12 tot 24 uur voor afkalven én 2 bolussen 12 tot 24 uur na afkalven. Deze bolussen zijn relatief kleine bolussen waarvan er 2 in een bolusschieter passen. De bolussen worden toegediend via de bek richting de slokdarm en dienen ingebracht te worden in een staand dier.

#### 2.1.4 Overige materialen

De overige materialen zijn weergegeven in tabel 1. Elk bedrijf krijgt de juiste hoeveelheid Topro Calcium bolussen, een bolusschieter, refractometer (om de Brix-waarde te bepalen) en een invulformulier. Dit invulformulier is voor de melkveehouder om de datums van afkalven en datum van het inbrengen van de bolussen in bij te houden plus afkalfverloop, zie bijlage 3.

Tabel 1. Overige materialen.

| MATERIAAL                     | AANTAL                        |
|-------------------------------|-------------------------------|
| TOPRO CALCIUM BOLUS           | 30 dozen (12 stuks in 1 doos) |
| BOLUSSCHIETER                 | 9 stuks                       |
| REFRACTOMETER                 | 9 stuks                       |
| EXCEL SHEETS/INVULFORMULIEREN | 9 invulbladen en bestanden    |
| IBM SPSS STATISTICS 26        | -                             |

## 2.2 Methode

### 2.2.1 Proefopzet

In dit onderzoek wordt de effectiviteit van de Topro Calcium bolus onderzocht. Dit wordt gedaan door middel van 3 groepen: de 0, 1 en 2 groep. De controlegroep (0-GR) is de controlegroep, deze groep koeien kregen geen calcium bolus(sen) rondom afkalven. De testgroep-1 (1-GR) is de groep die 2 bolussen een dag voor afkalven krijgt. De testgroep-2 (2-GR) krijgt een dag voor afkalven 2 bolussen en een dag na afkalven 2 bolussen. Op deze manier wordt gemonitord welke groep en calcium bolus methode het meest effectief is voor koeien rondom afkalven. De variabelen waar de groepen op vergeleken zijn melkgift, herkauwactiviteit en vreetactiviteit, afkomstig uit de melkrobot. Er is gekozen voor met name vreet-gerelateerde indicatoren, omdat het vreetgedrag wat zegt over de gezondheid van de koe en de voeropname, zie hoofdstuk 1.3. De incidentie van melkziekte is niet eenvoudig te meten, aangezien deze niet gemeten wordt in de melkrobot of door de MPR en alleen met bloedmonsters. Daarom is gekozen om deze achterwege te laten als indicator. Wel is de hoeveelheid en de kwaliteit eerste biest meegenomen in het onderzoek, dit om te onderzoeken of er een verband is tussen het verstrekken van extra calcium in bolusvorm en de hoeveelheid en kwaliteit van de eerste biest.

Daarnaast zijn het afkalfproces en vitaliteit van de kalveren meegenomen inclusief de Brix-waarde van de eerste biest. De vitaliteit van het kalf en het afkalfproces zijn door de veehouder bijgehouden, vitaliteit is opgedeeld in vlug, normaal en slap en afkalfproces in vlot, normaal en zwaar. Omdat de controlegroep grotendeels teruggehaald is van een paar weken voor de proef, is de biestkwaliteit en afkalfverloop niet meegenomen, daarom is de biestkwaliteit van de koeien die ná begin december afkalven meegenomen ter vergelijking van de testgroep. In tabel 2 zijn de verschillen per groep weergegeven.

Tabel 2. Verschil tussen de controlegroep (0-GR), testgroep-1 (1-GR) en testgroep-2 (2-GR).

| Controlegroep (0-GR)                                                                                                                                                                                           | Testgroep-1 (1-GR)                                                 | Testgroep-2 (2-GR)                                                                                         |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Kalven af in de periode eind oktober tot begin december (gemiste koeien)<br>Of<br>hebben vlak voor de testperiode gekalfd                                                                                      | Kalven af in de periode eind oktober tot begin december            | Kalven af in de periode eind oktober tot begin december                                                    |
| Krijgen geen Topro Calcium bolus(sen)                                                                                                                                                                          | Krijgen 2 Topro Calcium bolussen 12-24 voor afkalven               | Krijgen 2 Topro Calcium bolussen 12-24 voor afkalven én krijgen 2 Topro Calcium bolussen 12-24 na afkalven |
| Data is heden/recent<br>Of<br>data wordt teruggelezen uit geschiedenis van de robot                                                                                                                            | Data is heden/recent                                               | Data is heden/recent                                                                                       |
| Melkgift, herkauw- en vreetactiviteit, afkalfproces en Brix-waarde<br>Of<br>Melkgift, herkauw- en vreetactiviteit. Het afkalfproces en Brix-waarde worden meegenomen van koeien die na de testperiode afkalven | Melkgift, herkauw- en vreetactiviteit, afkalfproces en Brix-waarde | Melkgift, herkauw- en vreetactiviteit, afkalfproces en Brix-waarde                                         |

### 2.2.2 Waarnemingen

Deze groepen zijn met elkaar vergeleken op basis van vreet- en herkauwactiviteit en melkgift. De melkgift is meegenomen vanaf het afkalven, dus van dag 1 tot en met 8 weken in lactatie. De herkauw- en vreetactiviteit zijn vanaf de laatste week van de droogstand tot en met 8 weken in lactatie meegenomen worden als gemiddelde van die desbetreffende dag per dier, rekening gehouden met 3 dagen na afkalven (zie tabel 3). Bij het verzamelen van de data zijn er dus maximaal 8 meetwaardes per koe verzameld. Dit is de waarde die de koe op precies dat tijdstip van haar eigen cyclus heeft. Alleen de eerste 3 dagen in lactatie zijn daggemiddelden in plaats van weekgemiddelden, vanwege een verwacht toenemend risico op melkziekte in deze eerste dagen.

Tabel 3. De meetmomenten de variabelen melkgift, vreetactiviteit en herkauwactiviteit verzameld worden.

|                             | Laatste week droogstand | Dag 1 in lactatie | Dag 2 in lactatie | Dag 3 in lactatie | 1 week in lactatie | 2 weken in lactatie | 4 weken in lactatie | 8 weken in lactatie |
|-----------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Melkgift (kg melk/dag)      |                         |                   |                   |                   |                    |                     |                     |                     |
| Vreetactiviteit (min/dag)   |                         |                   |                   |                   |                    |                     |                     |                     |
| Herkauwactiviteit (min/dag) |                         |                   |                   |                   |                    |                     |                     |                     |

De data is vervolgens om de circa 3 weken uit de Lely melkrobots gehaald met behulp van het software-systeem Time4Cows (*T4C*). Hierbij komt er per koe een lijngrafiek van activiteit uit, de activiteit per dag is op deze manier achterhaald. De melkproductie is in tabelvorm weergegeven in *T4C*. Om er voor te zorgen dat er een langere tijd teruggekeken kon worden op *T4C* is er gebruik gemaakt van een extra download document waar Lely over beschikt. Deze instelling is niet op alle bedrijven ingesteld, daarom is het van belang om te controleren of elk bedrijf beschikt over deze instelling op *T4C*.

### 2.2.3 Statistische analyse

Als de data uit de melkrobot gehaald is, is deze data in een Excel bestand verwerkt. Vanuit Excel werd het bestand overgezet naar het statistische programma *IBM SPSS Statistics 26*. In SPSS is gekeken naar verbanden tussen de bolusgroepen en de variabelen vreet- en herkauwactiviteit, (eerste biest)melkgift en Brix-waarde, dit wordt gedaan door middel van de *Independent T-test* en de *General Linear Model (ANOVA-test)*. Er is gekozen voor de *independent T-test* om een ruwere analyse uit te voeren over de variabelen en de momenten in lactatie; *independent T-test* laat het pure effect van bolusgroepen op de variabelen zien. Omdat het onderzoek uitgevoerd wordt op meerdere bedrijven, bestaat er kans dat de bedrijfseffecten aanwezig zullen zijn, hierom zal *General Linear Model (Univariate)* uitgevoerd worden ter verfijning. Om het effect van *bedrijf* en *bolus* apart in kaart te brengen, kan de data betrouwbaarder met elkaar vergeleken worden; hierbij is ook op te merken welke bedrijven of welke calciumgroepen afwijken. Voor de statistische verwerking van de vitaliteit van het kalf en het afkalfproces is er gebruik gemaakt van de *Chi-Square Test (Crosstabs)*. Er is gekozen voor Chi-Square test, vanwege 2 nominale variabelen die met elkaar vergeleken worden (beoordeling van de vitaliteit van het kalf vergeleken per groep en afkalfproces vergeleken per groep).

### 3. Resultaten

In dit hoofdstuk zullen de resultaten centraal staan, deze zijn gecategoriseerd per deelvraag. De deelvragen ondersteunen het beantwoorden van de hoofdvraag. De koeien in de test- en controlegroepen hebben afgekalfd van eind oktober 2021 tot eind december 2021. De gegevens van dit praktijkonderzoek zijn verzameld door middel van gegevens uit melkrobots, in het specifiek uit het softwareprogramma T4C. De data wat uit T4C komt zijn: herkauwactiviteit, vreetactiviteit en melkgift. De data wat betreft het afkalproces, vitaliteit kalf en Brix-waarde zijn genoteerd door de veehouders van de testbedrijven. De gegevens zijn verwerkt in Excel en in SPSS met behulp van Error bars en *independent T-test* en *General Linear Model (ANOVA-test)*.

in tabel 4 is de verdeling van de koeien per lactatie en per groep weergegeven. Hierin is te zien dat het totale aantal dieren in de proef 141 koeien zijn. Opvallend is dat er met name tweedekalkskoeien meegedaan hebben en dat de meeste dieren in de controlegroep zaten.

Tabel 4. Verdeling aantal koeien per lactatie en groep.

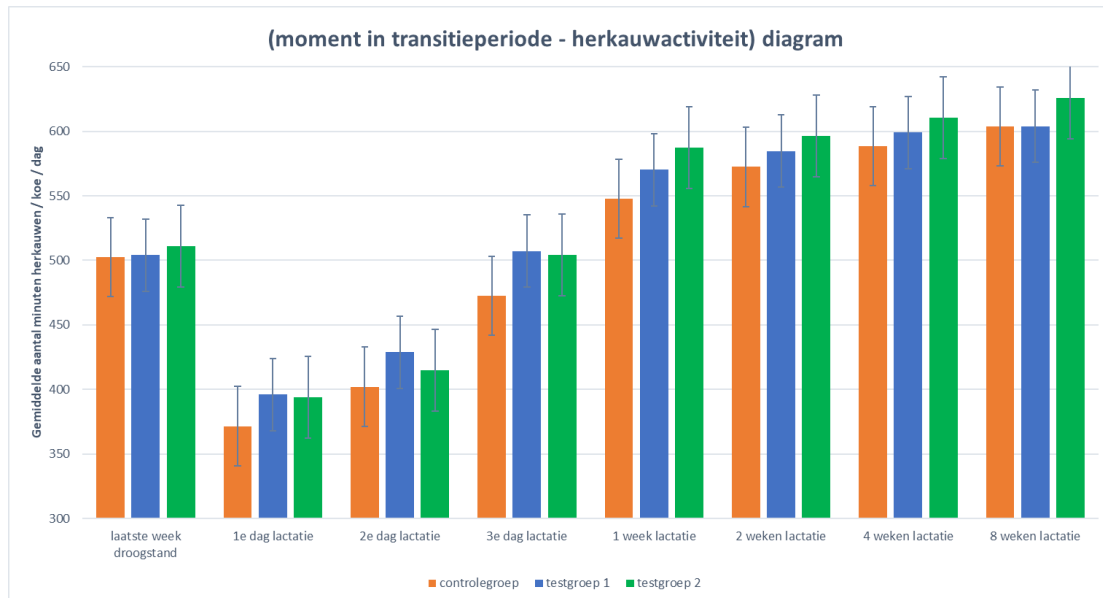
| GR / lactatie | 1        | 2         | 3         | 4         | 5         | 6        | 7        | 8        | 9        | Totaal     |
|---------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|----------|----------|------------|
| 0-GR          | 1        | 21        | 11        | 15        | 4         | 2        | 1        | 1        | 0        | 56         |
| 1-GR          | 1        | 18        | 16        | 8         | 3         | 0        | 1        | 0        | 0        | 47         |
| 2-GR          | 0        | 8         | 12        | 5         | 5         | 4        | 2        | 1        | 1        | 38         |
| <b>totaal</b> | <b>2</b> | <b>47</b> | <b>39</b> | <b>28</b> | <b>12</b> | <b>6</b> | <b>4</b> | <b>2</b> | <b>1</b> | <b>141</b> |

#### 3.1 Herkauwactiviteit

De resultaten van de herkauwactiviteit zijn weergegeven in figuur 6 (N = 96). Hierbij is het moment in de transitieperiode uitgezet tegen het gemiddelde aantal minuten herkauwen per koe per dag inclusief spreiding bij de controlegroep en de 2 testgroepen. Hierin is te zien dat de groepen vergelijkbare herkauwactiviteit hebben in de laatste week van de droogstand (0-GR (502 ± 78.7) 1-GR (504 ± 69.3) 2-GR (511 ± 74.2)) en de 0-GR de gehele testperiode de minste herkauwactiviteit heeft. De herkauwactiviteit bij 1-GR en 2-GR zijn in de eerste dagen in lactatie vergelijkbaar (dag 3: 1-GR (507 ± 78.2) 2-GR (504 ± 99.1)). Na een week splitsen de 2 testgroepen en heeft testgroep-2 de hoogste herkauwactiviteit (week 1: 0-GR (547 ± 99.8) 1-GR (570 ± 82.3) 2-GR (587 ± 87.7)). Dit verschil wordt niet significant gemeten in week 1 bij het effect van *bolus* ( $F(2,89) = 1.435$ ;  $p = .244$ ), maar wel tussen de controlegroep en testgroep-2 ( $p = .040$ ). Tot week 8 is waar te nemen dat 2-GR meer herkauwactiviteit heeft dan 1-GR en 0-GR en dat het verschil tussen 0-GR en 1-GR kleiner wordt; in week 2 is er geen significant verschil bij het effect *bolus* ( $F(2,89) = 1.154$ ;  $p = .320$ ) maar wel tussen de controlegroep en testgroep-2 ( $P = .050$ ), net als in week 8 ( $F(2,82) = .610$ ;  $p = .546$ ) ( $GLM$  0-GR – 2-GR:  $p = .050$ ). In week 4 wordt het verschil tussen 0-GR en 2-GR net niet significant gemeten ( $GLM$  0-GR – 2-GR:  $p = .113$ ).

Als er gekeken wordt naar omtrent het effect van *bolus* op de herkauwactiviteit, worden er geen significante verschillen aangetoond tussen 0-GR en 1-GR en  $t(T\text{-test}: p \geq .106)$ . Het bedrijfseffect is aanwezig bij alle resultaten in de testperiode (*bedrijf*:  $p \leq .068$ ). Zie bijlage 4.1 voor alle  $p$ -waardes omtrent herkauwactiviteit bij meerdere calciumbehandelingen.

Figuur 6. Herkauwactiviteit (gemiddelde aantal minuten/koe/dag) bij verschillende calciumbehandelingen van de laatste week droogstand tot 8 weken in lactatie.

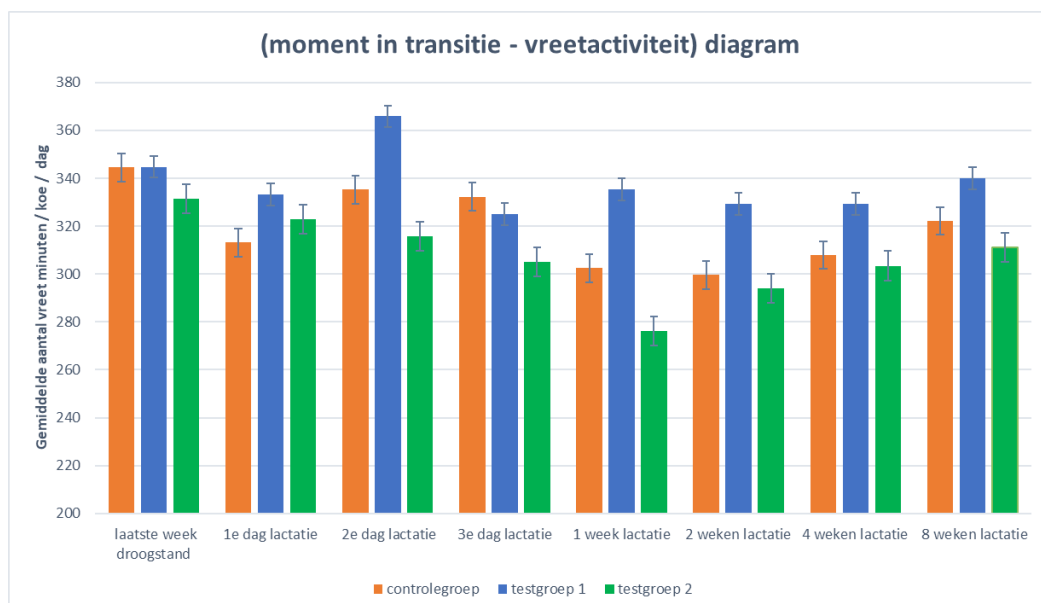


### 3.2 Vreetactiviteit

In figuur 7 is de vreetactiviteit te zien, hierbij is het moment in transitieperiode uitgezet tegen de gemiddelde aantal minuten vreten per koe per dag inclusief spreiding (N = 71). Er is te zien dat de gegevens uiteen lopen en geen duidelijke trendlijn waar te nemen is. Met name testgroep-1 heeft vanaf dag 1 de hoogste vreetactiviteit (dag 1: 0-GR (313 ± 115.1) 1-GR (333 ± 110.4) 2-GR (323 ± 112.5)). In vergelijking met testgroep-1 (340 ± 75.1) heeft testgroep-2 (311 ± 67.1) de laagste vreetactiviteit, dit tot 8 weken in lactatie.

Een *Independent T-test* en *GLM (Univariate)* zijn uitgevoerd om het verschil tussen het moment in lactatie en type calciumbehandeling in kaart te brengen, bij beide testen komt geen significant verschil naar voren (*T-test*:  $p \geq .179$  ; *GLM*:  $p \geq .149$ ). Het bedrijfseffect is aanwezig, zo wordt de factor *bedrijf* significant gemeten bij alle testresultaten ( $p \leq .022$ ). Zie bijlage 4.2 voor alle  $p$ -waarden omtrent vreetactiviteit bij meerdere calciumbehandelingen.

Figuur 7. Vreetactiviteit (aantal vreetminuten/koe/dag) bij verschillende calciumbehandelingen van de laatste week droogstand tot 8 weken in lactatie (controlegroep (0-GR), testgroep-1 (1-GR) en testgroep-2 (2-GR)).

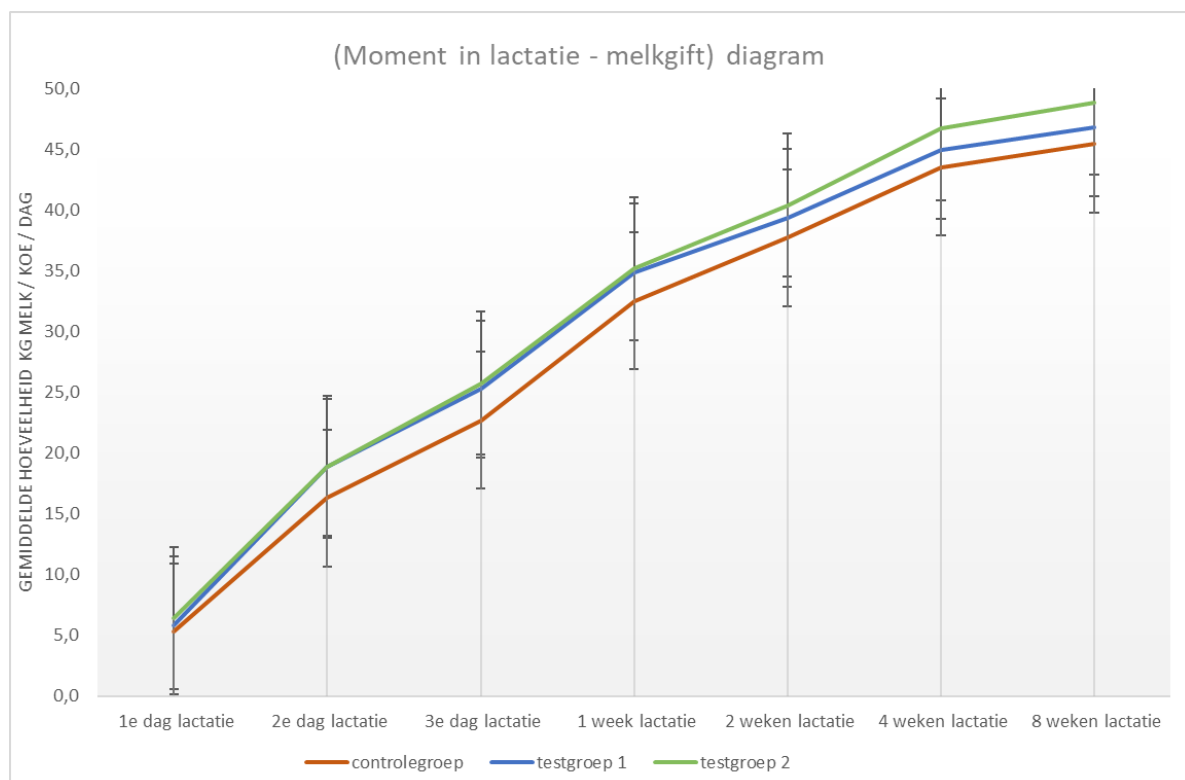


### 3.3 Melkgift

In figuur 8 is de melkgift weergegeven, hierbij is het moment in lactatie uitgezet tegen het aantal kg melk per koe per dag inclusief spreiding (N = 141). Hierbij is waar te nemen dat de controlegroep de gehele testperiode minder melk produceert dan de 2 testgroepen. Testgroep-1 en testgroep-2 produceren relatief dezelfde hoeveelheid melk tot een week in lactatie (1 week: 0-GR (32.5 ± 8.0) 1-GR (34.9 ± 6.2) 2-GR (35.2 ± 5.6)); de 2 testgroepen splitsen vanaf 2 weken in lactatie en testgroep-2 produceert meer melk dan testgroep-1 en de controlegroep (2 weken: 0-GR (37.7 ± 7.9) 1-GR (39.3 ± 5.7) 2-GR (40.4 ± 6.3)). Het verschil tussen testgroep-1 en testgroep-2 is in week 8 gemiddeld 2,0 kg melk/koe/dag en tussen 0-GR en 2-GR gemiddeld 3,4 kg melk/koe/dag (0 GR (45.4 ± 8.1) 1-GR (46.8 ± 6.7) 2-GR (48.8 ± 6.1)).

Een *Independent T-test en GLM (Univariate)* zijn uitgevoerd om het verband tussen de melkgift en moment in lactatie in kaart te brengen, bij dag 2 komt er een significant verschil naar voren tussen 0-GR en 2-GR bij de T-test ( $t(85) = -1.953$ ;  $p = .043$ ), zo ook bij dag 3 ( $t(86) = -2.199$ ;  $p = .031$ ) en bij de achtste week in lactatie ( $t(84) = -2.114$ ;  $p = .037$ ). Een *GLM (Univariate)* toont significantie aan bij het effect *bolus* van de tweede dag ( $F(2,120) = 2.931$ ;  $p = .050$ ) tot en met 8 weken in lactatie ( $F(2,121) = 3.078$ ;  $p = .050$ ). Daarnaast toont GLM significante verschillen tussen 0-GR en 1-GR op effect *bolus* op de tweede dag ( $p = .046$ ), derde dag ( $p = .039$ ) en 1 week in lactatie ( $p = .051$ ) en tussen 0-GR en 2-GR op effect *bolus* op de tweede dag ( $p = .051$ ) tot 8 weken in lactatie ( $p = .010$ ). Wel wordt de factor *bedrijf* bij op 1 moment na significant gemeten ( $p \leq .068$ ). Zie bijlage 4.3 voor alle  $p$ -waarden omtrent melkgift bij verschillende calciumbehandelingen.

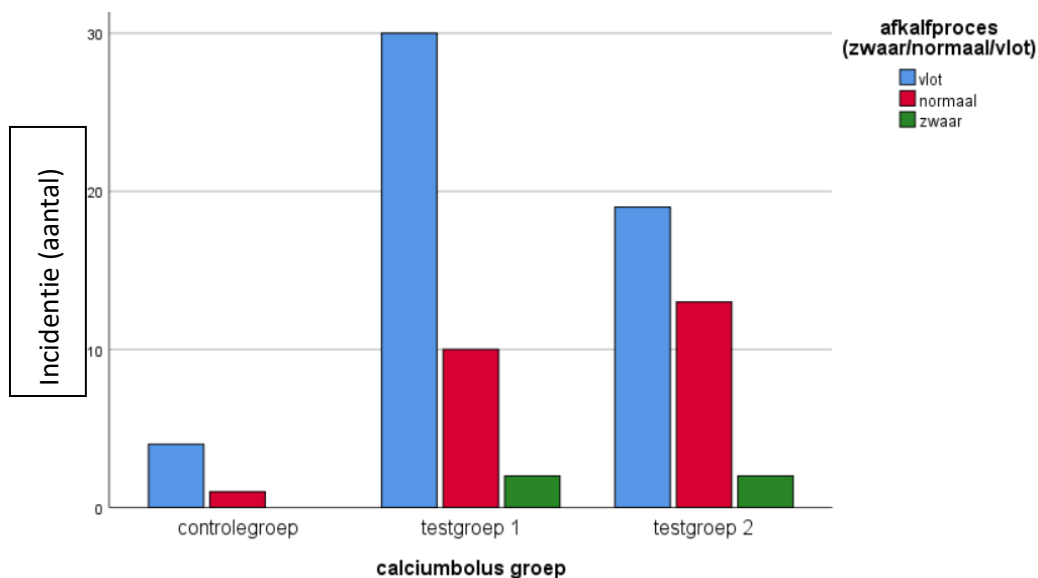
Figuur 8. Melkgift (kg melk/koe/dag) bij verschillende calciumbehandelingen van de eerste dag tot 8 weken in lactatie (controlegroep (0-GR), testgroep-1 (1-GR) en testgroep-2 (2-GR)).



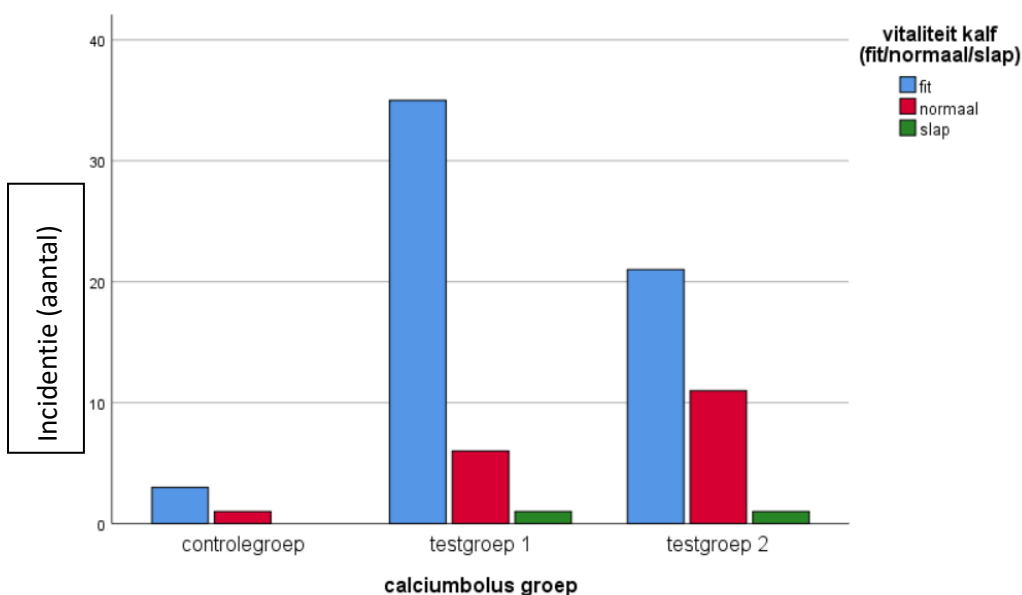
### 3.4 Vitaliteit kalf en afkalfproces

In figuur 9 zijn de resultaten van de vitaliteit van de pasgeboren kalveren weergegeven met spreiding (N = 79) en in figuur 10 zijn de resultaten van het afkalfproces weergegeven met spreiding (N = 81). Hierbij zijn in beide figuren waar te nemen dat er geen duidelijke trendlijn is tussen de testgroep-1, testgroep-2 en de controlegroep; in de controlegroep was het aantal dieren waar vergeleken werd (N = 3 en N = 4). Een *Chi-Square Test* is uitgevoerd om het verband tussen de groepen en de incidentie van verschillende beoordelingen van de vitaliteit van het kalf en het afkalfproces in kaart te brengen, hierbij kwam bij zowel vitaliteit kalf ( $\chi^2 (4,79) = 4.049$  ;  $p = .399$ ) als bij afkalfproces ( $\chi^2 (4,81) = 2.664$  ;  $p = .615$ ) geen significant verschil naar voren (zie bijlage 7).

Figuur 9. Incidentie van verschillende afkalfprocessen bij verschillende calciumbehandelingen. Bijgehouden door de veehouders.



Figuur 10. Incidentie van verschillende vitaliteit van het kalf beoordelingen bij verschillende calciumbehandelingen. Bijgehouden door de veehouders.

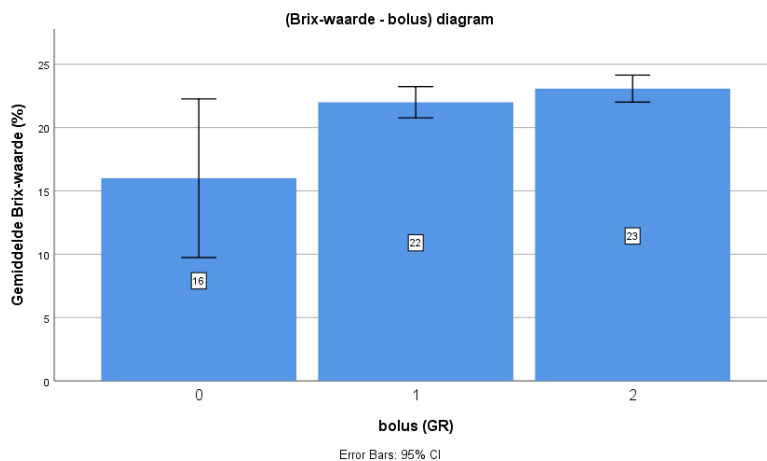




### 3.5 Kwaliteit en kwantiteit eerste biest

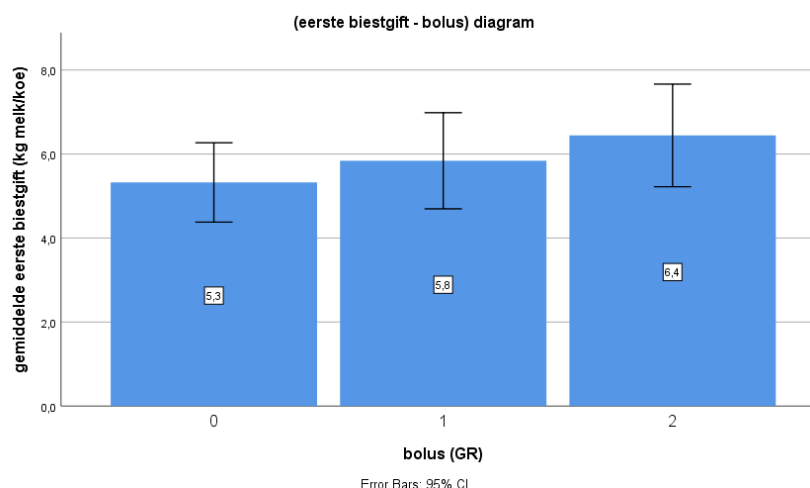
In figuur 11 zijn de verschillende calciumbehandelingen (bolusgroep) weergegeven ten opzichte van de gemiddelde Brix-waarde (%). Hierin is te zien dat er een trend is tussen de verschillende calciumbehandelingen en de gemiddelde Brix-waarde. Wel heeft de controlegroep (0-GR) een hoge spreiding ( $16 \pm 6,0$ ,  $N = 6$ ) in vergelijking met 1-GR ( $22 \pm 3,8$ ,  $N = 38$ ) en 2-GR ( $23,1 \pm 2,6$ ,  $N = 26$ ). Een *independent T-test* en een *GLM (univariate)* is uitgevoerd om het verband tussen de biestgift en het lactatienummer in kaart te brengen, hierbij kwam bij de T-test een significant verband naar voren tussen 0-GR en 1-GR ( $t(42) = -3.341$ ;  $p = .02$ ) en tussen 0-GR en 2-GR ( $t(5.5) = -4.563$ ;  $p = .033$ ). Daarnaast kwam met *GLM* de factor bolus een significant verschil naar voren ( $F(2,60) = 4.800$ ;  $p = .012$ ). Zo verschillen 0-GR in vergelijking met 1-GR en 2-GR significant ( $p = .001$ ), tussen 1-GR en 2-GR is geen significant verschil gemeten ( $p = .200$ ). De factor *bedrijf* wordt wel significant gemeten ( $F(7,60) = 3.145$ ;  $p = .007$ ).

Figuur 11. Brix-waarde (%) bij verschillende calciumbehandelingen (controlegroep (0-GR), testgroep-1 (1-GR) en testgroep-2 (2-GR)).



In figuur 12 is de bolusgroep ten opzichte van de gemiddelde eerste biestgift na afkalven weergegeven. Hierin is een trend te zien bij de verschillende calciumbehandelingen, de controlegroep produceerde de minste biest ( $5,3 \pm 3,4$ ) ( $N = 51$ ), daarna testgroep-1 ( $5,8 \pm 3,7$ ) ( $N = 43$ ) en testgroep-2 produceerde de meeste biest ( $6,4 \pm 3,6$ ) ( $N = 35$ ). Een *independent T-test* en een *GLM (Univariate)* zijn uitgevoerd om het verband tussen de biestgift en het type calciumbehandeling in kaart te brengen, hierbij kwam bij T-test geen significant verband uit (0-GR – 1-GR: ( $t(92) = -.706$ ;  $p = .482$ ) 0-GR – 2-GR: ( $t(84) = -1.482$ ;  $p = .142$ ). Bij GLM kwam ook geen significant verschil naar voren bij de factor *bolus* ( $F(2,119) = .627$ ;  $p = .536$ ). De factor *bedrijf* kwam wel significant naar voren ( $F(7,119) = 2.749$ ;  $p = .011$ ). 0-GR en 1-GR verschillen niet significant van elkaar ( $p = .462$ ), net als 0-GR en 2-GR ( $p = .134$ ). Zie bijlage 4.1 voor de  $p$ -waardes van de eerste biestgift.

Figuur 12. Eerste biestgift (kg melk/koe) bij verschillende calciumbehandelingen (controlegroep (0-GR), testgroep-1 (1-GR) en testgroep-2 (2-GR)).



## 4. Discussie

In dit hoofdstuk wordt de discussie besproken. Hierbij wordt de methode gereflecteerd, wordt de interpretatie van de resultaten behandeld en wat de betekenis is voor de praktijk/maatschappij.

Het doel van dit onderzoek is om de effectiviteit van de Topro Calcium bolus in kaart te brengen door 2 verschillende doseringen te testen op 2 groepen dieren in vergelijking met een groep dieren die geen dosis calcium krijgt. De eerste testgroep krijgt een behandeling van 2 bolussen 12 tot 24 uur voor afkalven en de tweede testgroep krijgt een behandeling van 2 bolussen 12 tot 24 uur voor afkalven én 2 bolussen 12 tot 24 uur na afkalven.

De hoofdvraag behorend bij het onderzoek luidt:

*Wat is het effect van 2 doseringen van de Topro Calcium bolus wat verstrekt is rondom het afkalven bij meerderkalfsmelkkoeien in de transitieperiode tot 8 weken in lactatie op Lely melkrobotbedrijven in Gelderland en Overijssel?*

De methode om antwoord te geven op de onderzoeksvraag is om de vreet- en herkauwactiviteit, melkgift, de biestkwantiteit en -kwaliteit, de vitaliteit van het kalf en het afkalfproces te analyseren Door middel van data afkomstig van de Lely melkrobot en invulformulieren voor de veehouders. Dit onderzoek is uitgevoerd van eind oktober 2021 tot eind december 2021 op 9 verschillende melkveebedrijven in Overijssel en Gelderland.

### 4.1 Reflectie op de methode

Er waren meerdere punten waarop de bedrijven verschilden. Zo verschilden de bedrijven in onder andere droogstandsrantsoenen, doelen wat betreft fokkerij en producties en management. Ook waren er verschillen in melkrobots. Elke melkrobot is anders gekalibreerd en anders ingesteld. Een groot verschil in melkrobot was onder andere het meten van vreet- en herkauwactiviteit. Zo konden niet alle bedrijven de combinatie van vreet- en herkauwactiviteit meten, dit heeft invloed op de manier waarop het ene element wel werd gemeten door de software. Daarnaast zijn de dieren gegroepeerd op basis van lactatienummer, er is niet meegenomen of de dieren gevoelig zijn voor melkziekte. Wel is rekening gehouden dat er op elk bedrijf evenveel dieren van de desbetreffende lactatienummers in de testgroepen als controlegroep gecategoriseerd waren zodat de groepen betrouwbaarder met elkaar vergeleken konden worden.

De veehouders hadden ieders een andere manier van toedienen van noteren van gegevens en toedienen van de bolussen. De ene veehouder was meer secuur met het noteren van het invulblad dan de ander. Ook kregen niet alle dieren op tijd de bolussen een dag voor afkalven. Dit is een uitdaging voor de veehouder, maar de ene veehouder kon beter inschatten wanneer dieren een dag voor afkalven bevonden dan de andere veehouder. Dit brengt ook mee dat de variatie van het geven van de bolussen voor het afkalven 5 dagen voor afkalven en 15 minuten voor afkalven was. Daarnaast kan er nog bekritiseerd worden of wat de veehouders hadden ingevuld naar waarheid is ingevuld. Zo werden de veehouders niet individueel gecontroleerd op het werk. Grote fouten kunnen op deze manier zijn meegenomen in de dataset.

De lactatienummers waren in de 3 groepen niet gelijk verdeeld. Bij het selecteren van de groepen op basis van de stallijst is gekeken naar lactatienummer, maar uiteindelijk zijn er meer dieren in de controlegroep gekomen. Dit heeft te maken met dat als er koeien al gekalfd hadden, deze koeien automatisch in de controlegroep kwamen. De praktijk heeft hierbij bewezen dat het weerbarstig is en dat het lastig is om koeien in te schatten op afkalfmoment.

De dieren in de proef waren niet op hetzelfde moment getest. De dieren waren getest op hetzelfde moment van hun eigen cyclus en niet op dezelfde datum. Zo was de data van de controlegroep opgevraagd uit T4C voor het onderzoek begon: de koeien in de controlegroep hadden afgekalfd in augustus, september en begin oktober terwijl de koeien in de testgroepen afkalfden in de maanden daarna. Ook waren er verschillen binnen de groepen: zo moet de ene koe kalven in de eerste week van het onderzoek en de andere koe kalft af in de laatste week van het onderzoek. Hierdoor waren er diverse externe factoren die de betrouwbaarheid van de gegevens vermindert, zoals rantsoen, weersomstandigheden en stresssituaties. Tijdens de praktijkproef konden de testbedrijven kiezen om extra ondersteunende middelen te gebruiken. Zo zijn er tijdens het onderzoek testdieren die onder andere een Kexxstone, calcium-magnesium infuus, propyleenglycol en droogstandsbolus toegediend hebben gekregen. Dit beïnvloedt de betrouwbaarheid van de testresultaten.

De vreet- en herkauwactiviteit waren weergegeven in grafieken. Bij het analyseren van deze lijngrafieken is het middelpunt genomen van die desbetreffende dag of week. Hierdoor is de betrouwbaarheid lager door de verminderde nauwkeurigheid van het middelpunt bepalen. Daarnaast is er gewerkt met daggemiddelden na afkalven en weekgemiddeldes. Deze worden in de vergelijkingscurve meegenomen en met elkaar vergeleken. Daarnaast varieerde het tijdstip van afkalven op dag 0 per koe. De grafieken zijn gecategoriseerd in tijdsblokken van 2 uur, hierdoor ontstaat er een verschil in gemiddelde herkauw- en vreetactiviteit op dag 0 tussen de dieren. Voorbeeld: de ene koe kalft in de nacht af en de andere koe later in de middag.

Er waren meerdere *missing values* in het databestand. Dit heeft te maken met dat het onderzoek afgerond was en er koeien waren die nog niet 8 weken in lactatie waren waardoor de database niet compleet was. Ook waren niet alle gegevens compleet door meerdere factoren die op de testbedrijven plaatsvonden. Zo waren er bedrijven die geen gegevens konden ophalen van een periode vlak voor het onderzoek of de sensor kon de koeien in de testperiode niet de herkauw- of vreetactiviteit meten. Daarnaast waren er koeien die ziek werden of waren (vroeg)tijdig afgevoerd, deze koeien zijn uit de data base gehaald. Hierdoor waren er minder waardes in de data base wat de betrouwbaarheid van de resultaten beïnvloeden.

Daarnaast is er gekozen voor andere statistische toetsen dan dat er van tevoren werd verwacht. Zo is er gebruik gemaakt van *Independent T-test* en de *General Linear Model* (ANOVA-test) om zo een ruwe analyse en een specifieke analyse op te stellen. Dit om beter te kunnen bepalen waar de kritische punten (effect *bolus* en effect *bedrijf*) liggen in de data.

## 4.2 Interpretatie van de resultaten

In de volgende punten worden de interpretaties van de resultaten apart benoemd. Hierbij wordt gekeken mogelijke vergelijkingen tussen de waargenomen resultaten en de literatuur. In de literatuur wordt vaak gebruik gemaakt van bloedwaardes om exact te kunnen bepalen of een dier lijdt aan (sub)klinische melkziekte. In het huidige onderzoek is gekeken naar andere elementen om in kaart te brengen of een koe lijdt aan een eventueel calciumtekort.

### 4.2.1 Herkauwactiviteit

In het onderzoek kwam naar voren dat de testgroepen een hogere herkauwactiviteit hebben vanaf de eerste dag tot 8 weken in lactatie. Deze verschillen worden niet significant gemeten door de onafhankelijke T-toets (0-GR vs. 1-GR:  $p \geq .201$  ; 0-GR vs. 2-GR:  $p \geq .084$ ). Overigens worden er wel significante verschillen gevonden bij GLM analyse bij factor *bolus* tussen de controlegroep en testgroep-2 bij 1 week ( $p = .040$ ), 2 weken ( $p = .051$ ) en 8 weken ( $p = .050$ ) in lactatie. Tussen

controlegroep en testgroep-1 worden geen significante verschillen aangetoond bij GLM factor *bolus* ( $p \geq .161$ ). Wel is de factor *bedrijf* bij alle onderzoeksresultaten significant gemeten ( $p \leq .003$ ).

De resultaten kunnen te verklaren zijn door middel van de resultaten van het onderzoek van Goff et al. (2020). Hieruit kwam naar voren dat koeien met (sub)klinische melkziekte minder herkauwen dan normocalcemie koeien. Wel was het verschil met name te meten in de eerste dagen na afkalven, terwijl in dit huidige onderzoek de verschillen zichtbaar werden na een paar weken in lactatie. De data van het onderzoek van Goff et al. (2020) ging niet verder dan 7 dagen na afkalven.

Opvallend aan de resultaten is dat in de laatste week droogstand de herkauwactiviteit van de 3 groepen nagenoeg gelijk is en het verschil tussen testgroep-1 en testgroep-2 zichtbaar wordt na dag 4 in lactatie. Dag 1 tot en met dag 3 meet vergelijkbare resultaten tussen de 2 testgroepen, terwijl het weekgemiddelde van de eerste week verschillen meet tussen de testgroepen. Aangezien de eerste bolussen circa een dag voor afkalven gegeven zijn en vergelijkbaar zijn bij de testgroepen, is het effect van de extra bolussen een dag na afkalven waar te nemen na een week in lactatie.

Wel moet de betrouwbaarheid van de onderzoeksresultaten bekritiseerd worden. Zo waren er 96 dieren in de groep, deze waren afkomstig van meerdere bedrijven. Vanwege de significantie van de factor *bedrijf* ( $p \leq .003$ ) is er kans dat de gegevens niet volledig betrouwbaar zijn. De factor *bedrijf* geeft aan dat de bedrijven significant van elkaar verschillen. Dit heeft te maken met managementfactoren, maar ook met factoren rondom sensoren van de melkrobot (dit beschreven in 4.1).

#### 4.2.2 Vreetactiviteit

In de resultaten is te zien dat de gegevens uiteen lopen en geen duidelijke trendlijn waar te nemen is. Zo kwam naar voren dat testgroep-1 meer vreetactiviteit heeft vanaf dag 1 tot en met 8 weken in lactatie en dat testgroep-2 de laagste vreetactiviteit heeft ten opzichte van testgroep-1 en de controlegroep. Bij deze resultaten komen geen significante verbanden naar voren (T-test:  $p \geq .179$  ; GLM:  $p \geq .149$ ). Wel was de factor *bedrijf* significant gemeten bij alle testresultaten ( $p \leq .022$ ).

Over vreetactiviteit is nog weinig onderzoek naar gedaan, maar Schirmann et al. (2012) en Leiber et al. (2016) geven aan dat zowel herkauwtijd (herkauwactiviteit) en eettijd (vreetactiviteit) positief gerelateerd zijn aan drogestofopname. De drogestofopname daalt vlak voor afkalven en vlak na afkalven door een overmaat aan ketogene en lipogene verbindingen en lange ketens van vetzuren wat de DMI negatief beïnvloed (Drackley, 1999). Martinez et al. (2014) gaven aan dat koeien met SCHC een verlaagde DMI hebben tot 3 dagen na afkalven.

De gemeten waarnemingen in het huidige onderzoek komen niet overeen met de literatuur. Er werd verwacht dat de vreetactiviteit hoger zou zijn bij de testgroepen, omdat het risico op melkziekte minder zou zijn. Daarnaast is het tegenstrijdig met de gemeten herkauwactiviteit, aangezien koeien met SCHC ook minder penscontracties hebben wat een negatief effect had op de herkauwactiviteit en de passagesnelheid (Martinez et al., 2014). Dit is overigens niet waar te nemen bij de herkauwactiviteit (zie 4.2.1).

De betrouwbaarheid van de gegevens kunnen minder zijn dan de data van de herkauwactiviteit. Dit komt doordat er minder dieren in de vreetactiviteit-groep ( $N = 71$ ) waren dan in de herkauwactiviteit-groep ( $N = 96$ ). Daarnaast kwam het voor dat op bedrijven waar alleen vreetactiviteit gemeten kon worden, de data niet vergeleken kon worden met data afkomstig van bedrijven die vreet- én herkauwactiviteit konden meten. Dit is ook te zien in dat de significantie van de factor *bedrijf* ( $p \leq .022$ ).

#### 4.2.3 Melkgift

In dit onderzoek komt naar voren dat de testgroepen een hogere melkgift hebben dan de controlegroep. Het verschil tussen testgroep-1 en de controlegroep wordt niet significant gemeten door de onafhankelijke T-toets, maar wel door GLM bij het effect *bolus*. Deze significanties zijn gevonden tussen 0-GR en 1-GR op dag 2, dag 3 en week 1 in lactatie ( $p \leq .05$ ). Tussen de controlegroep en testgroep-2 worden significanties aangetoond door de onafhankelijke T-toets op dag 2, dag 3 en in week 8 ( $p \leq .043$ ), maar ook door GLM (effect *bolus*) op dag 2, dag 3 en week 1 tot en met week 8 in lactatie ( $p \leq .05$ ).

In de resultaten is te zien dat de melkproductie van de testgroepen vergelijkbaar zijn met elkaar tot en met week 1 in lactatie, daarna produceren de koeien in testgroep-2 meer melk dan testgroep-1, dit verschil loopt op tot gemiddeld 2,0 kg melk/koe/dag en tussen de controlegroep en testgroep-2 tot gemiddeld 3,4 kg melk/koe/dag (0 GR ( $45.4 \pm 8.1$ ) 1-GR ( $46.8 \pm 6.7$ ) 2-GR ( $48.8 \pm 6.1$ )) in lactatieweek 8. De hypothese was dat de melkproductie hoger is bij de testgroepen dan de controlegroep. Dit is te verklaren omdat normocalcemie koeien een hogere voeropname en een meer geschikte metabole status hebben dan koeien met melkziekte; dit is terug te vertalen in een hogere melkproductie bij koeien die niet lijden aan melkziekte (Seely et al., 2021).

Op basis van de gegevens van de herkauwactiviteit (wat gerelateerd is aan drogestofopname), Kan het beredeneerd worden dat de hogere melkgift komt door de verhoogde voeropname bij de 2 testgroepen. Dat testgroep-2 uiteindelijk een hogere melkgift heeft dan testgroep-1, is ook terug te zien in de herkauwactiviteit. In de herkauwactiviteit is te zien dat de 2 testgroepen splitsen rond week 1 in lactatie, dit is ook terug te zien in de melkgift na 1 week in lactatie. Dit kan worden verklaard dat koeien die een dubbele behandeling krijgen na een week meer melk produceren dan koeien met een enkele behandeling doordat deze koeien mogelijk minder in een melkziekte bevinden.

#### 4.2.4 Afkalfproces en vitaliteit kalf

In de resultaten van het afkalfproces en vitaliteit kalf zijn geen duidelijk trendlijnen waar te nemen, hierdoor waren ook geen significante verbanden waar te nemen (vitaliteit kalf ( $X^2 (4,79) = 4.049$  ;  $p = .399$ ) ; afkalfproces ( $X^2 (4,81) = 2.664$  ;  $p = .615$ )).

Verwacht werd koeien makkelijker afkalften en dat de kalveren vitaler geboren werden bij één of meerdere calciumbehandelingen. Dit komt doordat in geval van hypocalcemie de baarmoeder minder goed kan samentrekken en het geboorteprocés en indirect de vitaliteit van het kalf negatief beïnvloedt (Mons, 2018). Daarnaast werd in het onderzoek van Dallago et al. (2022) geconcludeerd dat kalveren die zwaar geboren worden 1,7x meer de kans hebben om eerder afgevoerd te worden dan kalveren die een beter afkalfproces hebben: het afkalfproces kan bijdragen aan de levensduur van het dier.

Dat er in het onderzoek geen duidelijke trendlijn waar te nemen, is te verklaren door het lage aantal dieren in de controlegroep ( $N = 3$  en  $N = 4$ ). Vanwege het ophalen van data voor de testperiode voor de controlegroep, was het afkalfproces en de vitaliteit van het kalf niet meer terug te herleiden. Vanwege het feit dat testgroep-1 en testgroep-2 beide dezelfde behandeling hebben gehad voor het afkalven, werd verwacht dat er geen verschillen tussen de 2 testgroepen waar te nemen was: de verhoudingen komen vergelijkbaar met elkaar overeen.

#### 4.2.5 Brix-waarde en hoeveelheid biest

In de resultaten kwam naar voren dat er een trend te zien is in de Brix-waarde van de eerste biest en de eerste melkgift. Wel heeft de controlegroep (0-GR) een hoge spreiding bij de Brix-waarde ( $16 \pm$

6,0, N = 6) in vergelijking met 1-GR ( $22 \pm 3,8$ , N = 38) en 2-GR ( $23,1 \pm 2,6$ , N = 26). Wel kwam er een significant verband naar voren bij de Brix-waarde als er gekeken wordt naar de factor *bolus* ( $F(2,60) = 4.800$  ;  $p = .012$ ). Zo verschillen 0-GR in vergelijking met 1-GR en 2-GR significant ( $p = .001$ ). Bij de eerste biestgift is geen significant verband gevonden ( $F(2,119) = .627$  ;  $p = .536$ ). Wel was de factor *bedrijf* bij zowel de Brix-waarde als de hoeveelheid eerste biest significant ( $p \leq 0.134$ ).

Indien een koe een hoge eerste biestproductie heeft met een hoge Brix-waarde verbruikt de koe meer calcium (Horst et al, 1997). Zo was de hypothese dat een extra calciumbehandeling kan bijdragen aan een goede eerste biesthoeveelheid, wat ten koste zal gaan van de Brix-waarde. Dit is onderbouwd vanuit de bevindingen van Immler et al. (2021) die concludeerden dat er een negatieve associatie was met afnemende Brix-waarde als de serum Ca-concentratie in het bloed steeg. Omdat kwaliteit ten koste gaat van kwantiteit, werd er daarom verwacht dat de hoeveelheid af zou nemen bij de testgroepen in vergelijking met de controlegroep. De resultaten zijn tegenstrijdig met de gevonden literatuur, zo was de Brix-waarde als de hoeveelheid biest lager bij de controlegroep en hoger bij de testgroepen. Dit zou komen doordat de controlegroep minder Brix-waardes had dan de testgroepen. Daarnaast is de hoeveelheid biest ook afhankelijk van het droogstandsrantsoen, zo is het aandeel ruw eiwit in het droogstandsrantsoen bepalend voor de biestproductie (Inagro, z.j.). Vanwege de verschillende droogstandsrantsoenen op de verschillende bedrijven, kan er verwacht worden dat de gegevens minder betrouwbaar worden.

#### 4.3 Betekenis voor de praktijk

Vanuit dit onderzoek komen meerdere verbanden naar voren tussen het wel en niet geven van calcium bolussen op de herkauwactiviteit, melkgift en biestproductie. Er is al literatuur en kennis bekend over melkziekte en calciumsupplementen, maar dit onderzoek dient eventueel ter bevestiging op de kennis en de weerbarstige praktijk. Ieder melkveebedrijf is anders, maar wel is bekend dat droogstandsrantsoenen nog niet optimaal genoeg zijn, waardoor melkziekte snel kan voorkomen. Door het bewust worden van de voordelen van calcium bolussen kunnen managementstrategieën op melkveebedrijven hierop aangepast worden. Hiermee kunnen adviserende bedrijven melkveebedrijven verder begeleiden.

## 5. Conclusie en aanbevelingen

In dit hoofdstuk zal er antwoord gegeven worden op de deelvragen en vervolgens op de hoofdvraag. Tot slot zullen er nog aanbevelingen gegeven worden voor een eventueel vervolgonderzoek.

### 5.1 Conclusie

Melkziekte is nog steeds een veelvoorkomende transitieziekte bij melkkoeien. Er zijn al meerdere onderzoeken gedaan omtrent melkziekte, maar in de praktijk is het nog steeds een uitdaging om (sub)klinische melkziekte te voorkomen en daarna te handelen. Dit praktijkonderzoek is gericht op de Topro Calcium bolus, met als doel om de effectiviteit van de Calcium bolus in kaart te brengen door middel van data afkomstig van melkrobots. Hierbij is gebruik gemaakt van herkauw- en vreetactiviteit en melkgift, afkomstig van de melkrobots. Daarnaast zijn vitaliteit van het kalf en afkalfproces meegenomen, net als hoeveelheid eerste biest en de kwaliteit van de biest, deze gegevens zijn verzameld door middel van invulformulieren voor de veehouders. 141 dieren zijn onderverdeeld in 3 groepen: controlegroep (geen calcium bolussen), testgroep-1 (1 calciumbehandeling 24 uur voor afkalven) en testgroep-2 (1 calciumbehandeling 24 voor afkalven en 1 calciumbehandeling 24 uur na afkalven).

Op het gebied van herkauwactiviteit is er een verband waar te nemen tussen de verschillende calciumbehandelingen en het moment in lactatie. Zo herkauwen koeien minder zonder toegediende calcium bolus en is er te zien dat de testgroep-2 meer herkauwt vanaf 1 week in lactatie ten opzichte van testgroep-1 en de controlegroep (week 1: 0-GR ( $547 \pm 99.8$ ) 1-GR ( $570 \pm 82.3$ ) 2-GR ( $587 \pm 87.7$ )). Er wordt met behulp van *GLM* effect *bolus* significante verschillen waargenomen tussen de controlegroep en testgroep-2 in week 1 ( $p = .040$ ), week 2 ( $p = .051$ ) en week 8 ( $p = .050$ ). Vanuit deze resultaten kan geconcludeerd worden dat koeien die een dubbele behandeling gehad hebben meer herkauwen. Het geven van 1 calciumbehandeling laat voordelen zien ten opzichte van geen calciumbehandeling geven, maar 2 calciumbehandelingen laat hogere herkauwactiviteit zien vanaf 1 week in lactatie tot en met 8 weken in lactatie in vergelijking met een enkele en zonder een calciumbehandeling.

Bij vreetactiviteit is geen duidelijke trendlijn te zien. Dit komt niet overeen met de herkauwactiviteit, aangezien deze elementen een positieve associatie met elkaar hebben (Schirmann et al., 2012 ; Leiber et al., 2016). Dat er geen trendlijn te zien is, heeft waarschijnlijk te maken met dat er minder koeien in de vreetactiviteit-groep zaten ten opzichte van de herkauwactiviteit- en melkgift-groep. Daarnaast kwam het voor dat op bedrijven waar alleen vreetactiviteit gemeten kon worden, de data niet vergeleken kon worden met data afkomstig van bedrijven die vreet- én herkauwactiviteit konden meten. Dit is ook terug te zien in de significanties van het effect *bedrijf* ( $p \leq .022$ ).

Als er gekeken wordt naar melkgift, vertaalt dat de resultaten van de herkauwactiviteit. Zo produceerde de controlegroep minder melk en vergelijking met de testgroepen en worden er significante verbanden gevonden tussen de controlegroep en testgroep-1 (dag 2, dag 3 en week 1 in lactatie ( $p \leq .05$ )) en significante verbanden tussen de controlegroep en testgroep-2 (dag 2, dag 3 en week 1 tot en met week 8 in lactatie ( $p \leq .05$ )). De eerste dagen in lactatie produceren de testgroepen vergelijkbaar, maar vanaf week 1 in lactatie produceert de dubbele calciumbehandeling-groep het meeste melk. Dit is terug te zien in de herkauwactiviteit, aangezien herkauwactiviteit gelinkt is aan voeropname. Koeien die meer voer opnemen, krijgen meer voedingsstoffen binnen waardoor ze meer melk kunnen produceren (Santos et al., 2019).

Op het gebied van vitaliteit kalf en afkalfproces zijn er geen duidelijke trendlijnen waar te nemen. Wel zijn de verhoudingen tussen de testgroep-1 en testgroep-2 nagenoeg vergelijkbaar. Dat er in het



onderzoek geen duidelijke trendlijn is waar te nemen, is te verklaren door het lage aantal dieren in de controlegroep ( $N = 3$  en  $N = 4$ ). Vanwege het ophalen van data voor de testperiode voor de controlegroep, was het afkalfproces en de vitaliteit van het kalf niet meer terug te herleiden. Hierdoor worden de gegevens van de controlegroep minder betrouwbaar en kan er onvoldoende vergeleken worden.

Er zijn significante verbanden gevonden tussen de calciumbehandelingen en de Brix-waarde van de eerste biest ( $F(2,60) = 4.800$  ;  $p = .012$ ). Zo is te zien dat de controlegroep een lagere kwaliteit biest heeft dan de testgroepen. Wel heeft de controlegroep een grote spreiding en waren er minder dieren in de controlegroep: dit beïnvloedt de betrouwbaarheid van deze significantie. De hoeveelheid eerste biest is een lichte trend waar te nemen, zo produceert de controlegroep ( $5,3 \pm 3,4$ ) minder biest in vergelijking met de testgroepen (testgroep-1 ( $5,8 \pm 3,7$ ), testgroep-2 ( $6,4 \pm 3,6$ )). Deze verschillen worden overigens niet significant gemeten ( $F(2,119) = .627$  ;  $p = .536$ ). Dit heeft te maken met de verschillende droogstandsrantsoenen van de verschillende bedrijven.

Om antwoord te geven op de hoofdvraag: *Wat is het effect van 2 verschillende doseringen van de Topro Calcium bolus wat verstrekt is rondom het afkalven bij meerderkalfsmelkkoeien in de transitieperiode tot 8 weken in lactatie op Lely melkrobotbedrijven in Gelderland en Overijssel?* Koeien starten beter op in de nieuwe lactatie bij de Topro Calcium bolus, dit resulteert in meer herkauwactiviteit (wat gelinkt is aan voeropname) en een hogere melkgift. Ondanks dat de gegevens van vreetactiviteit niet volledig betrouwbaar zijn, kan deze conclusie getrokken worden. Daarnaast is er een verschil tussen een enkele behandeling en een dubbele behandeling; zo produceren de koeien met een dubbele behandeling vanaf lactatieweek 1 meer melk dan de koeien met een enkele behandeling wat uiteindelijk leidt tot gemiddeld 2,0 kg melk/koe/dag meer melk in lactatieweek 8. Dit is terug te zien in de herkauwactiviteit waarbij de koeien met een dubbele behandeling meer herkauwen dan de koeien met een enkele behandeling vanaf lactatieweek 1. Vanuit de vitaliteit van het kalf, afkalfproces, Brix-waarde van de eerste biest en de eerste biestgift zal meer onderzoek gedaan moeten worden om te onderzoeken of calciumbehandelingen deze variaties positief kunnen beïnvloeden.

## 5.2 Aanbevelingen

Voor een vervolgonderzoek wordt aangeraden om de testgroepen en controlegroep in dezelfde periode mee te laten draaien. Hierdoor is het niet nodig om data op te halen vanuit de geschiedenis van de robot en kunnen er meer betrouwbare gegevens verzameld worden. Daarnaast kunnen de eerste dagen (dag 1 tot en met 7) apart meegenomen worden in de analyse, maar ook de dag voor afkalven (dag -1). Hierdoor hoeven daggemiddelden niet vergeleken worden met weekgemiddelden. Om het effect *bedrijf* minder significant te hebben, zal er gekeken worden naar minder bedrijven en meer dieren van hetzelfde bedrijf om toch genoeg dieren in de proef te hebben. Voor de selectie van de groepen zal er ook gekeken kunnen worden naar gevoeligheid voor melkziekte. Dit kan met behulp van gegevens van eerdere lactaties, maar ook individuele fysieke beoordelingen of bloedmonsters. Daarnaast zal er gekeken kunnen worden naar een andere methode van dataverzameling, door gelijk de juiste gegevens te kunnen krijgen in een apart tabblad waardoor er meer secuur data verzameld kan worden. Tot slot kunnen bedrijven die alleen vreetactiviteit kunnen meten en bedrijven die vreet- én herkauwactiviteit meten apart meegenomen worden. Hierdoor wordt de betrouwbaarheid van vreetactiviteit verhoogd.

## Literatuurlijst

- Afriani, K., Van der Wal & R., Hoeksma, L. (2020, 7 mei). De landbouw in de Nederlandse economie. CBS. Geraadpleegd op 21 oktober 2021, van <https://www.cbs.nl/nl-nl/longread/de-nederlandse-economie/2020/de-landbouw-in-de-nederlandse-economie?onpage=true>
- Bovikalc (z.d.). *Wat is melkziekte (Melkziekte is voor elke melkveehouder een bekend fenomeen)*. Geraadpleegd op 1 november 2021, van <https://bovikalc.nl/melkziekte/wat-is-melkziekte/>
- Bradford, B.J., Yuan, K., Farney, F.K., Mamedova, L.K. & Carpenter, A.J. (2015). Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame. *Journal of Dairy Science*, 98(10), 6631-6650.
- Chamberlin, W.G., Middleton, J.R., Spain, J.N., Johnson, G.C., Ellersieck, M.R. & Pithua, P. (2013). Subclinical hypocalcemia, plasma biochemical parameters, lipid metabolism, postpartum disease, and fertility in postparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96(11), 7001-7013.
- CLO (2021, 8 juli). Ontwikkeling veestapel op landbouwbedrijven, 1980-2020. Compendium voor de Leefomgeving. Geraadpleegd op 21 oktober 2021, van <https://www.clo.nl/indicatoren/nl2124-ontwikkeling-veestapel-op-landbouwbedrijven->
- CRV (2020). De kwetsbare 100 dagen. In B. Kleiboer, A. Booij & B. Popkema (Reds.), *Beslissen van kalf tot koe* (pp. 153-165).
- CRV (2021). *Bedrijven en koeien in cijfers – Nederland*. CRV. Geraadpleegd op 1 november 2021, van <https://www.cooperatie-crv.nl/downloads/stamboek/bedrijven-en-koeien-in-cijfers/>
- Curtis, C.R., Erb, H.N., Sniffen, C.J., Smith, R.D., Powers, P.A., Smith, M.C., White, M.E., Hillman, R.B. & Pearson, E.J. (1983). Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 183(5), 559-561.
- Dallago, G.M., Cue, R.I., Wade, K.M., Lacroix, R. & Vasseur, E. (2022). Birth conditions affect the longevity of Holstein offspring. *Journal of Dairy Science*, 105(2), 1255-1264.
- Degaris, P.J. & Lean, I.J. (2008). Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. *The Veterinary Journal*, 176(1), 58-69.
- De Vries, G. (2020). Meerdere elementen cruciaal bij opstarten. *Veeteelt*, maart(1), 34-35. Geraadpleegd op 8 november 2021, van <https://edepot.wur.nl/517864>
- Drackley, J.K. (1999). Biology of Dairy Cows During the Transition Period: the Final Frontier? *Journal of Dairy Science*, 82(11), 2259-2273.
- Ender, F., Dishington, I.W. & Helgebostad, A. (1971). Calcium balance studies in dairy cows under experimental induction and prevention of hypocalcaemic paresis puerperalis. The solution of the aetiology and the prevention of milk fever by dietary means. *Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde*, 28(5), 233-256.
- Friggens, N.C., Andersen, J.B., Larsen, T., Aares, O. & Dewhurst, R.J. (2004). Priming the dairy cow for lactation: a review of dry cow feeding strategies. *Animal Research*, 53(6), 453-473.
- Goff, J.P. (2008). The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy heifers. *The veterinary Journal*, 176(1), 50-57.

- Goff, J.P. & Horst, L. (1997). Physiological Changes at Parturition and Their Relationship to Metabolic Disorders 1,2, *Journal of Dairy Science*, 80(7), 1260-1268.
- Goff, J.P., Hohman, A. & Timms, L.L. (2020). Effect of subclinical and clinical hypocalcemia and dietary cation-anion difference on rumination activity in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 103(3), 2591-2601.
- Goff, J.P., Ruiz, R. & Horst, R.L. (2004). Relative Acidifying Activity of Anionic Salts Commonly Used to Prevent Milk Fever, *Journal of Dairy Science*, 87(5), 1245-1255.
- Glosson, K.M., Zhang, X., Bascom, S.S., Rowson, A.D., Wang, Z. & Drackley, J.K. (2020). Negative dietary cation-anion difference and amount of calcium in prepartum diets: Effects on milk production, blood calcium, and health. *Journal of Dairy Science*, 103(8), 7039-7054.
- Goselink, R. (2017). Levensduur melkvee (de nieuwste ontwikkelingen voor de oudste koeien). Wageningen UR Livestock Research. Geraadpleegd op 21 oktober 2021, van [https://www.dairycampus.nl/upload\\_mm/8/2/5/3258b76a-5f7f-41ef-8409-365b0cdcda76\\_8412101420%20-%20CS\\_ASG\\_ASLR\\_P17\\_Levensduur\\_2.pdf](https://www.dairycampus.nl/upload_mm/8/2/5/3258b76a-5f7f-41ef-8409-365b0cdcda76_8412101420%20-%20CS_ASG_ASLR_P17_Levensduur_2.pdf)
- Hansen, S.S., Norgaard, P., Pedersen, C., Jorgensen, R.J., Mellau, L.S.B. & Enemark, J.D. (2003). The Effect of Subclinical Hypocalcaemia Induced by Na<sub>2</sub>EDTA on the Feed Intake and Chewing Activity of Dairy Cows. *Veterinary Research Communications*, 27(3), 193–205.
- Horst, R.L., Goff, J.P., Reinhardt, T.A. & Buxton, D.R. (1997). Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 80(7), 1269-1280.
- Immler, M., Failing, K., Gärtner, T., Wehrend, A. & Donat, K. (2021). Associations between the metabolic status of the cow and colostrum quality as determined by Brix refractometry, *Journal of Dairy Science*, 104(9), 10131-10142.
- Inagro (z.j.). Hoe kan ik mijn biestmanagement verbeteren?. Geraadpleegd op 2 maart 2022, van <https://inagro.be/teelt-en-dier/dieren/melkvee/management-bij-melkvee/hoe-kan-ik-mijn-biestmanagement-verbeteren/>
- Jahani-Moghadam, M., Teimouri Yansari, A., Chashnidel, Y., Dirandeh, E. & Mahjoubi, E. (2020). Short- and long-term effects of postpartum oral bolusv.subcutaneous Ca supplements on blood metabolites and productivity of Holstein cows fed a prepartum anionic diet. *Animal*, 14(5), 983-990.
- Jacobsen, S. (2020, 2 oktober). *Veel melkuitliggers? Let op aandeel calcium in rantsoen*. Melkvee. Geraadpleegd op 1 november 2021, van <https://www.melkvee.nl/artikel/367792-veel-melkuitliggers-let-op-aandeel-calcium-in-rantsoen/>
- Kimura, K., Reinhardt, T.A. & Goff, J.P. (2006). Parturition and Hypocalcemia Blunts Calcium Signals in Immune Cells of Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 89(7), 2588-2595.
- Kuhn, T.M., Hutchison, J.L. & Norman, H.D. (2005). Minimum days dry to maximize milk yield in subsequent lactation. *EDP Sciences*, 54(5), 351-367.
- LeBlanc, S.J., Leslie, K.E. & Duffield, T.F. (2005). Metabolic Predictors of Displaced Abomasum in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 88(1), 159-170.
- Leiber, F., Holinger, M., Zehner, N., Dorn, K., Probst, J.K. & Spengler Neff, A. (2016). Intake estimation in dairy cows fed roughage-based diets: An approach based on chewing behaviour measurements. *Applied Animal Behaviour Science*, 185, 9-14.

Mampaey, L. (2019). *Mogelijke farmaceutische vormen voor het toedienen van geneesmiddelen in de pens van het rund* [master thesis]. Universiteit Gent.

Martinez, N., Risco, C.A., Lima, F.S., Bisinotto, R.S., Greco, L.F., Ribeiro, E.S., Maunsell, F., Galvao, K. & Santos, J.E.P. (2012). Evaluation of periparturient calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *Journal of Dairy Science*, 95(12), 7158-7172.

Martinez, N., Sinedino, L.D.P., Bisinotto, R.S., Ribeiro, E.S., Gomes, G.C., Lima, F.S., Greco, L.F., Risco, C.A., Galvao, K.N., Taylor-Rodriguez, D., Driver, J.P., Thatcher, W.W. & Santos, J.E.P. (2014). Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97(2), 874-887.

Massey, C.D., Wang, C., Donovan, G.A. & Beede, D.K. (1993). Hypocalcemia at parturition as a risk factor for left displacement of the abomasums in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 203(6), 852-853.

Mons, G. (2018, 7 september). 'Belang melkziekte herdefiniëren als gateway disease'. Melkvee. Geraadpleegd op 3 november 2021, van <https://www.melkvee.nl/artikel/137868-melkziekte-herdefiniëren-als-gateway-disease/>

Mulligan, F.J. & Doherty, M.L. (2008). Production diseases of the transition cow. *The Veterinary Journal*, 176(1), 3-9.

Oetzel, G.R. & Miller, B.E. (2012). Effect of oral calcium bolus supplementation on early-lactation health and milk yield in commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 95(12), 7051-7065.

Probo, M., Bogado Pascottini, O., LeBlanc, S., Opsomer, G. & Hostens, M. (2018). Association between metabolic diseases and the culling risk of high-yielding dairy cows in a transition management facility using survival and decision tree analysis. *Journal of Dairy Science*, 101(10), 9419-9429.

Rodríguez, E.M., Arís, A. & Bach, A. (2017). Associations between subclinical hypocalcemia and postparturient diseases in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(9), 7427-7434.

RVO (2020). Fosfaatreductiemaatregelen 2017 (brochure versie 1.0). geraadpleegd op 21 oktober 2021, van <https://www.rvo.nl/onderwerpen/agrarisch-ondernemen/mest/fosfaatreductie-melkvee>

Ryan, K.T., Guadagnin, A.R., Glosson, K.M., Bascom, S.S., Rowson, A.D., Steelman, A.J. & Cardoso, F.C. (2020). Increased dietary calcium inclusion in fully acidified prepartum diets improved postpartum uterine health and fertility when fed to Holstein cows. *Theriogenology*, 142, 338-347.

Santos, J.E.P., Lean, I.J., Golder, H. & Blok, E. (2019). Meta-analysis of the effects of prepartum dietary cation-anion difference on performance and health of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 102(3), 2134-2154.

Seely, C.R., Leno, B.M., Kerwin, A.L., Overton, T.R. & McArts, J.A.A. (2021). Association of subclinical hypocalcemia dynamics with dry matter intake, milk yield, and blood minerals during the periparturient period. *Journal of Dairy Science*, 104(4), 4692-4702.

Schirmann, K., Chapinal, N., Weary, D.M., Heuwieser, W. & von Keyserlingk, M.A.G. (2012). Rumination and its relationship to feeding and lying behavior in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95(6), 3212-3217.

Speerstra (2020, 22 april). *De waarde van een lagere Kation Anion Balans*. Elite. Geraadpleegd op 5 november 2021, van <https://www.vakbladelite.nl/partner/de-waarde-van-een-lagere-kation-anion-balans/>

Sovani, S., Heuer, C., VanStraalen, W.M. & Noordhuizen, J.P.T.M. (2000). Disease in high producing dairy cows following post parturient negative energy balance. *The Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine*(2000), 33-50.

Topro (2020, 17 januari). *Ga voor 2 lactaties extra: Verdien 10 duizenden euro's per jaar!*. Melkvee. Geraadpleegd op 1 november 2021, van <https://www.melkvee.nl/artikel/233196-ga-voor-twee-lactaties-extra/>

Topro (z.d.-a). *Calciumtekort bij koeien, enorme kostenpost*. Topro Kennisbank. Geraadpleegd op 1 november 2021, van <https://www.topro.nl/topro-kennisbank/rundvee/calciumtekort-bij-koeien-enorme-kostenpost/>

Topro (z.d.-b). *Calcium bolus (improved)*. Topro Animal health. Geraadpleegd op 25 oktober 2021, van <https://www.topro.nl/product/calciumhuishouding/rundvee-calciumhuishouding/topro-calcium-bolus/>

Topro, (2021, 20 mei). *Biest managen; belangrijk?* Geraadpleegd op 4 juli 2022, van <https://www.topro.nl/topro-kennisbank/biest-managen-belangrijk/>

Trouw Nutrition (2021, 13 juli). *De impact van transitie op levensdagproductie*. Melkveebedrijf. Geraadpleegd op 1 november 2021, van <https://www.melkveebedrijf.nl/fokkerij-melkvee/droogstand/de-impact-van-transitie-op-levensdagproductie/>

Vagnoni, D.B. & Oetzel, G.R. (1998). Effects of Dietary Cation-Anion Difference on the Acid-Base Status of Dry Cows. *Journal of Dairy Science*, 81(6), 1643-1652.

Van den Biggelaar, G. (2019, 20 maart). *Subklinische melkziekte bij 77 procent van de melkkoeien*. Melkvee. Geraadpleegd op 21 oktober 2021, van <https://www.melkvee.nl/artikel/189273-subklinische-melkziekte-bij-77-procent-van-de-melkkoeien/>

Van Drie, I. (2020). Niet alle biest krijgt stempel 'vloeibaar goud'. *Veeteelt* (juni 1/2), 20-25. Geraadpleegd op 2 december 2021, van <https://edepot.wur.nl/525280>

VCS (2021). *Nieuwsbrief Rundvee* (januari 2021). Veterinair Centrum Someren. Geraadpleegd op 5 november 2021, van <https://www.vc-someren.nl/wp-content/uploads/nieuwsbrief-januari-2021.pdf>

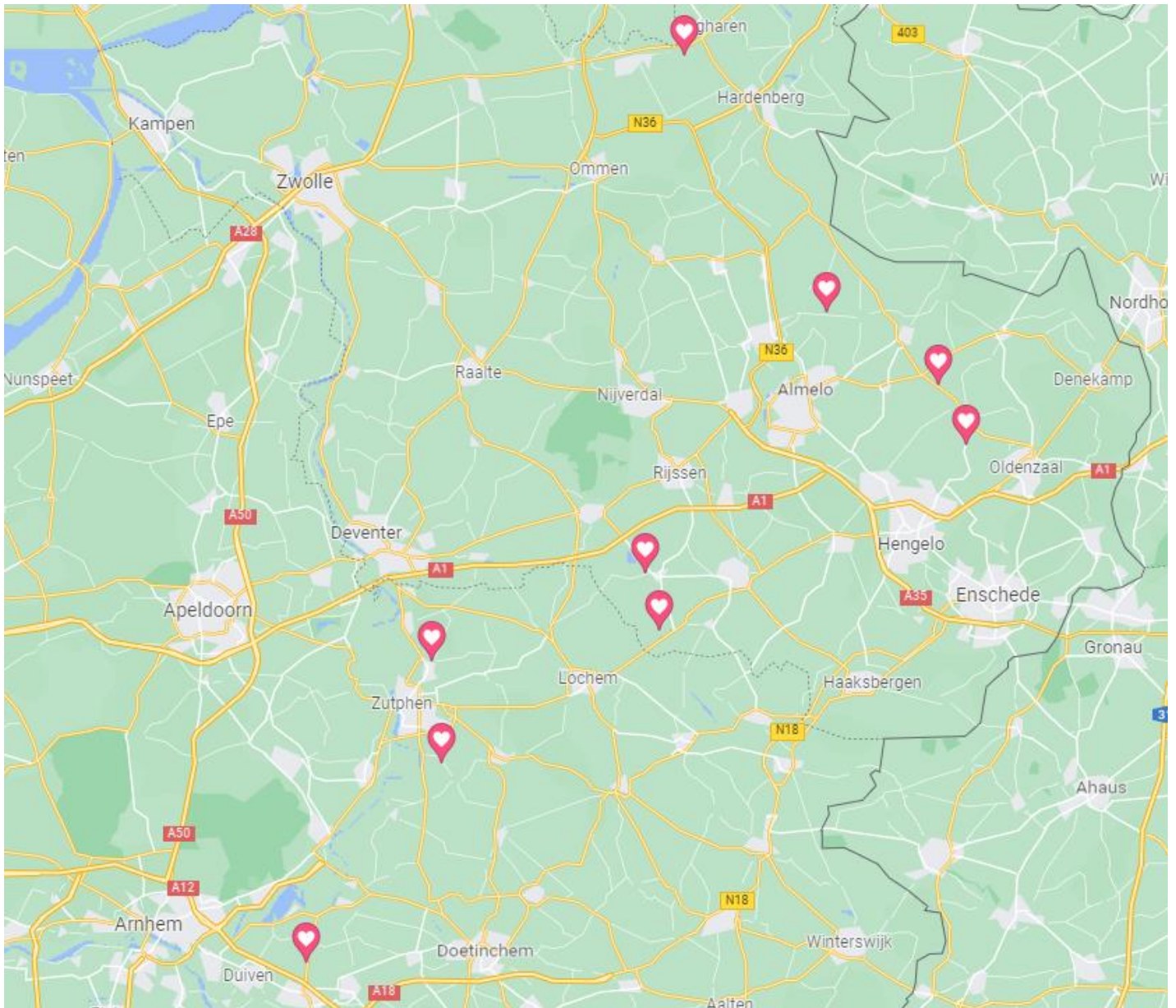
VIJ (2021). The latest thinking and practices in milk-fever mitigation. *Veterinary Ireland Journal*, 11(3), 178-182. Geraadpleegd op 25 november 2021, van [http://www.veterinaryirelandjournal.com/images/pdf/large/la\\_march\\_2021.pdf](http://www.veterinaryirelandjournal.com/images/pdf/large/la_march_2021.pdf)



## Bijlage 1. Kaart van ligging bedrijven

Opgesteld in Google Maps, 2021.

Rode puntjes zijn de bedrijven, aantal: 9.



## Bijlage 2. Productblad Topro Calcium Bolus



**Artikelnummer**  
102140

**Mineraal dietvoeder**

**Diersoort**  
rundvee

**Inhoud**  
12 stuks x 90 g

GMP+ FSA-geborgd  
GMO controlled  
PDV103322

### Calciumbehoefte

Calcium is één van de meest besproken mineralen. Dit geeft ook direct het belang van dit mineraal aan. Vrijwel alle calcium in het lichaam bevindt zich in het bot, maar de kleine hoeveelheid calcium die zich buiten het bot bevindt, is voor het dier van levensbelang. Calcium is bijvoorbeeld nodig voor de bloedstolling, voor het samentrekken van spieren en voor het regelen van meerdere celfuncties. Calciumtekorten na het afkalven kunnen leiden tot melkziekte. In de meeste gevallen van calciumtekort worden de koeien er niet ziek van (subklinische melkziekte) maar het leidt wel tot verlaagde voeropname en melkproductie. Daarom is het aan te raden er voor te zorgen dat de calciumhuishouding van melkvee op orde is.

### Topro Calcium bolus

De Topro Calcium bolus is ontwikkeld ter vermindering van het risico op melkziekte en subklinische melkziekte. Iedere calcium bolus bevat 20 gram zuiver calcium en komt onmiddellijk vrij in de pens. Hiermee wordt een tekort direct aangevuld. Naast calcium is er ook vitamine D aan deze bolus toegevoegd. Een goede vitamine D voorziening is een voorwaarde voor een goede calciumhuishouding. Ook is aan deze bolus (6 gram) fosfor toegevoegd, omdat fosfor nodig is voor de vastlegging van calcium in het bloed en omdat bij een calciumtekort ook vaak een fosfortekort wordt geconstateerd.

### Samenstelling

Dicalciumfosfaat, magnesiumoxide, calciumstearaat, sorbitol.

### Toevoegingsmiddelen

Nutritionele toevoegingsmiddelen  
3a671 Vitamine D3.....200.000 IE/kg  
Technologische toevoegingsmiddelen  
E238 Calciumformaat  
E282 Calcium propionaat

### Bewaaraadvies

Koel, droog en buiten het bereik van kinderen bewaren. Beschermen tegen vorst.

### Dosering

- 12 tot 24 uur voor het afkalven: 2 bolussen.
- Onmiddellijk na het afkalven: 2 bolussen.
- 10-12 uur na het afkalven: 1 of 2 bolussen.
- 24 uur na het afkalven: 1 of 2 bolussen.

### Dosering na een calciuminfuus

- 2 bolussen 2 uur na het infuus.
- 2 bolussen 12 uur na het infuus.



### Gebruiksaanwijzing

- Toedienen met een geschikte bolusschiet (folie verwijderen). Niet toedienen aan een liggend dier.
- Aanbevolen wordt om voor het gebruik het advies van een diervoedingsdeskundige in te winnen.





### Bijlage 3. Invulformulier melkveehouder

Bedrijf:

**CALCIUM BOLUS**

| Nr | Koe nummer | Lactatie-nummer | Calcium bolus groep | Datum 1 <sup>e</sup> bolus | Afkalf-datum | Evt datum 2 <sup>e</sup> bolus | Brix-waarde | Evt extra ondersteunend middel | Afkalfproces       | Vitaliteit kalf  | Overig (ziekte, kreupel, nageboorte, etc.) |
|----|------------|-----------------|---------------------|----------------------------|--------------|--------------------------------|-------------|--------------------------------|--------------------|------------------|--------------------------------------------|
| 1  |            |                 |                     |                            |              |                                |             |                                | Vlot/normaal/zwaar | Fit/normaal/slap |                                            |
| 2  |            |                 |                     |                            |              |                                |             |                                | Vlot/normaal/zwaar | Fit/normaal/slap |                                            |
| 3  |            |                 |                     |                            |              |                                |             |                                | Vlot/normaal/zwaar | Fit/normaal/slap |                                            |
| 4  |            |                 |                     |                            |              |                                |             |                                | Vlot/normaal/zwaar | Fit/normaal/slap |                                            |
| 5  |            |                 |                     |                            |              |                                |             |                                | Vlot/normaal/zwaar | Fit/normaal/slap |                                            |
| 6  |            |                 |                     |                            |              |                                |             |                                | Vlot/normaal/zwaar | Fit/normaal/slap |                                            |
| 7  |            |                 |                     |                            |              |                                |             |                                | Vlot/normaal/zwaar | Fit/normaal/slap |                                            |
| 8  |            |                 |                     |                            |              |                                |             |                                | Vlot/normaal/zwaar | Fit/normaal/slap |                                            |
| 9  |            |                 |                     |                            |              |                                |             |                                | Vlot/normaal/zwaar | Fit/normaal/slap |                                            |
| 10 |            |                 |                     |                            |              |                                |             |                                | Vlot/normaal/zwaar | Fit/normaal/slap |                                            |
| 11 |            |                 |                     |                            |              |                                |             |                                | Vlot/normaal/zwaar | Fit/normaal/slap |                                            |
| 12 |            |                 |                     |                            |              |                                |             |                                | Vlot/normaal/zwaar | Fit/normaal/slap |                                            |
| 13 |            |                 |                     |                            |              |                                |             |                                | Vlot/normaal/zwaar | Fit/normaal/slap |                                            |
| 14 |            |                 |                     |                            |              |                                |             |                                | Vlot/normaal/zwaar | Fit/normaal/slap |                                            |
| 15 |            |                 |                     |                            |              |                                |             |                                | Vlot/normaal/zwaar | Fit/normaal/slap |                                            |
| 16 |            |                 |                     |                            |              |                                |             |                                | Vlot/normaal/zwaar | Fit/normaal/slap |                                            |

**Bolus groep 1 = 2 bolussen 12-24 uur vóór kalven**

**Bolus groep 2 = 2 bolussen 12-24 uur vóór kalven en 2 bolussen 12-24 uur ná kalven**

## Bijlage 4. P-waardes bij verschillende calciumbehandelingen

### Bijlage 4.1 Herkauwactiviteit

| Item                        | behandeling |            |             | P-waarde           |               |                  |                      |                      |       |         |
|-----------------------------|-------------|------------|-------------|--------------------|---------------|------------------|----------------------|----------------------|-------|---------|
|                             |             |            |             | Independent T-test |               | GLM (Univariate) |                      |                      |       |         |
| Herkauwactiviteit           | 0-GR        | 1-GR       | 2-GR        | 0-GR vs. 1-GR      | 0-GR vs. 2-GR | Corrected model  | Bolus: 0-GR vs. 1-GR | Bolus: 0-GR vs. 2-GR | Bolus | Bedrijf |
| 1 <sup>e</sup> dag lactatie | 372 ± 76.2  | 396 ± 80.5 | 394 ± 105.6 | .201               | .329          | .001*            | .202                 | .270                 | .404  | .001*   |
| 2 <sup>e</sup> dag lactatie | 402 ± 111.8 | 429 ± 92.9 | 415 ± 119.0 | .287               | .670          | .003*            | .267                 | .622                 | .333  | .001*   |
| 3 <sup>e</sup> dag lactatie | 473 ± 134.3 | 507 ± 78.2 | 504 ± 99.1  | .204               | .308          | .005*            | .161                 | .223                 | .291  | .003*   |
| 1 week lactatie             | 548 ± 99.8  | 570 ± 82.3 | 587 ± 87.7  | .315               | .106          | <.001*           | .216                 | .040*                | .244  | <.001*  |
| 2 weken lactatie            | 572 ± 82.7  | 585 ± 59.9 | 596 ± 66.2  | .490               | .220          | <.001*           | .317                 | .051*                | .320  | <.001*  |
| 4 weken lactatie            | 588 ± 64.1  | 599 ± 58.0 | 610 ± 55.3  | .482               | .165          | <.001*           | .417                 | .113                 | .505  | <.001*  |
| 8 weken lactatie            | 604 ± 51.3  | 604 ± 46.7 | 626 ± 40.9  | .979               | .084          | <.001*           | .975                 | .050*                | .546  | <.001*  |

### Bijlage 4.2 Vreetactiviteit

| Item                        | behandeling |             |             | P-waarde           |               |                  |                      |                      |       |         |
|-----------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------------|---------------|------------------|----------------------|----------------------|-------|---------|
|                             |             |             |             | Independent T-test |               | GLM (Univariate) |                      |                      |       |         |
| Vreetactiviteit             | 0-GR        | 1-GR        | 2-GR        | 0-GR vs. 1-GR      | 0-GR vs. 2-GR | Corrected model  | Bolus: 0-GR vs. 1-GR | Bolus: 0-GR vs. 2-GR | Bolus | Bedrijf |
| 1 <sup>e</sup> dag lactatie | 313 ± 115.1 | 333 ± 110.4 | 323 ± 115.6 | .539               | .770          | <.001*           | .440                 | .708                 | .647  | <.001*  |
| 2 <sup>e</sup> dag lactatie | 335 ± 125.6 | 366 ± 107.1 | 316 ± 132.7 | .369               | .603          | <.001*           | .296                 | .508                 | .250  | <.001*  |
| 3 <sup>e</sup> dag lactatie | 332 ± 114.0 | 325 ± 95.6  | 305 ± 138.9 | .815               | .459          | <.001*           | .800                 | .343                 | .680  | <.001*  |
| 1 week lactatie             | 302 ± 102.9 | 335 ± 78.7  | 276 ± 111.6 | .225               | .405          | <.001*           | .184                 | .295                 | .065  | <.001*  |
| 2 weken lactatie            | 300 ± 69.5  | 329 ± 83.1  | 294 ± 81.0  | .179               | .804          | .007*            | .149                 | .794                 | .172  | .005*   |
| 4 weken lactatie            | 308 ± 69.5  | 329 ± 74.2  | 303 ± 73.8  | .310               | .835          | .041*            | .284                 | .827                 | .312  | .022*   |
| 8 weken lactatie            | 322 ± 66.1  | 340 ± 75.1  | 311 ± 67.1  | .396               | .583          | .012*            | .348                 | .566                 | .292  | .006*   |

### Bijlage 4.3 Melkgift

| Item                        | behandeling |            |            | P-waarde           |               |                  |                      |                      |       |         |
|-----------------------------|-------------|------------|------------|--------------------|---------------|------------------|----------------------|----------------------|-------|---------|
|                             |             |            |            | Independent T-test |               | GLM (Univariate) |                      |                      |       |         |
| Melkgift                    | 0-GR        | 1-GR       | 2-GR       | 0-GR vs. 1-GR      | 0-GR vs. 2-GR | Corrected model  | Bolus: 0-GR vs. 1-GR | Bolus: 0-GR vs. 2-GR | Bolus | Bedrijf |
| 1 <sup>e</sup> dag lactatie | 5.3 ± 3.4   | 5.8 ± 3.7  | 6.4 ± 3.6  | .482               | .142          | .016*            | .462                 | .134                 | .536  | .011*   |
| 2 <sup>e</sup> dag lactatie | 16.3 ± 6.6  | 18.8 ± 6.8 | 18.9 ± 5.1 | .067               | .043*         | .033*            | .046*                | .051*                | .050* | .068    |
| 3 <sup>e</sup> dag lactatie | 22.8 ± 7.1  | 25.3 ± 6.2 | 25.8 ± 5.4 | .064               | .031*         | .002*            | .039*                | .020*                | .024* | .004*   |
| 1 week lactatie             | 32.5 ± 8.0  | 34.9 ± 6.2 | 35.2 ± 5.6 | .100               | .077          | <.001*           | .052*                | .040*                | .050* | <.001*  |
| 2 weken lactatie            | 37.7 ± 7.9  | 39.3 ± 5.7 | 40.4 ± 6.3 | .246               | .085          | <.001*           | .163                 | .030*                | .051* | <.001*  |
| 4 weken lactatie            | 43.5 ± 8.5  | 44.9 ± 6.4 | 46.7 ± 7.3 | .365               | .070          | <.001*           | .292                 | .026*                | .054* | <.001*  |
| 8 weken lactatie            | 45.4 ± 8.1  | 46.8 ± 6.7 | 48.8 ± 6.1 | .364               | .031*         | <.001*           | .252                 | .010*                | .050* | <.001*  |

## Bijlage 5. SPSS output – independent T-test

### Group Statistics

|                     | bolus | N  | Mean   | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|---------------------|-------|----|--------|----------------|-----------------|
| HK 1e dag lactatie  | 0     | 38 | 371,53 | 76,214         | 12,364          |
|                     | 1     | 32 | 395,91 | 80,505         | 14,231          |
| HK 2e dag lactatie  | 0     | 38 | 402,11 | 111,754        | 18,129          |
|                     | 1     | 32 | 428,75 | 92,886         | 16,420          |
| HK 3e dag lactatie  | 0     | 38 | 472,58 | 134,288        | 21,784          |
|                     | 1     | 32 | 507,09 | 78,194         | 13,823          |
| HK 1 week lactatie  | 0     | 38 | 547,74 | 99,831         | 16,195          |
|                     | 1     | 32 | 570,13 | 82,306         | 14,550          |
| HK 2 weken lactatie | 0     | 38 | 572,37 | 82,687         | 13,414          |
|                     | 1     | 32 | 584,56 | 59,880         | 10,585          |
| HK 4 weken lactatie | 0     | 34 | 588,38 | 64,105         | 10,994          |
|                     | 1     | 31 | 599,13 | 57,957         | 10,409          |
| HK 8 weken lactatie | 0     | 33 | 603,58 | 51,309         | 8,932           |
|                     | 1     | 31 | 603,90 | 46,736         | 8,394           |

### Independent Samples Test

|                     |                             | Levene's Test for Equality of Variances |      | t-test for Equality of Means |        |                 |                 |                       |                                           |        |
|---------------------|-----------------------------|-----------------------------------------|------|------------------------------|--------|-----------------|-----------------|-----------------------|-------------------------------------------|--------|
|                     |                             | F                                       | Sig. | t                            | df     | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference |        |
| HK 1e dag lactatie  | Equal variances assumed     | ,041                                    | ,839 | -1,299                       | 68     | ,198            | -24,380         | 18,762                | -61,820                                   | 13,060 |
|                     | Equal variances not assumed |                                         |      | -1,293                       | 64,614 | ,201            | -24,380         | 18,852                | -62,034                                   | 13,274 |
| HK 2e dag lactatie  | Equal variances assumed     | ,240                                    | ,626 | -1,072                       | 68     | ,287            | -26,645         | 24,852                | -76,235                                   | 22,946 |
|                     | Equal variances not assumed |                                         |      | -1,089                       | 67,993 | ,280            | -26,645         | 24,460                | -75,453                                   | 22,164 |
| HK 3e dag lactatie  | Equal variances assumed     | 3,173                                   | ,079 | -1,282                       | 68     | ,204            | -34,515         | 26,932                | -88,256                                   | 19,226 |
|                     | Equal variances not assumed |                                         |      | -1,338                       | 60,992 | ,186            | -34,515         | 25,800                | -86,105                                   | 17,075 |
| HK 1 week lactatie  | Equal variances assumed     | ,568                                    | ,454 | -1,011                       | 68     | ,315            | -22,388         | 22,135                | -66,557                                   | 21,781 |
|                     | Equal variances not assumed |                                         |      | -1,028                       | 67,977 | ,307            | -22,388         | 21,771                | -65,831                                   | 21,055 |
| HK 2 weken lactatie | Equal variances assumed     | 1,984                                   | ,164 | -,695                        | 68     | ,490            | -12,194         | 17,557                | -47,229                                   | 22,841 |
|                     | Equal variances not assumed |                                         |      | -,714                        | 66,604 | ,478            | -12,194         | 17,087                | -46,304                                   | 21,916 |
| HK 4 weken lactatie | Equal variances assumed     | ,275                                    | ,602 | -,706                        | 63     | ,482            | -10,747         | 15,212                | -41,144                                   | 19,651 |
|                     | Equal variances not assumed |                                         |      | -,710                        | 62,997 | ,480            | -10,747         | 15,140                | -41,002                                   | 19,508 |
| HK 8 weken lactatie | Equal variances assumed     | ,103                                    | ,749 | -,027                        | 62     | ,979            | -,327           | 12,293                | -24,902                                   | 24,247 |
|                     | Equal variances not assumed |                                         |      | -,027                        | 61,945 | ,979            | -,327           | 12,257                | -24,829                                   | 24,174 |

## Bijlage 6. SPSS output – General Linear Model (Univariate)

### Descriptive Statistics

Dependent Variable: HK 1 week lactatie

| bedrijf | bolus | Mean   | Std. Deviation | N  |
|---------|-------|--------|----------------|----|
| 1       | 0     | 549,00 | 52,891         | 5  |
|         | 1     | 580,80 | 85,815         | 5  |
|         | 2     | 621,00 | 55,394         | 5  |
|         | Total | 583,60 | 68,629         | 15 |
| 5       | 0     | 433,44 | 92,551         | 9  |
|         | 1     | 511,11 | 75,433         | 9  |
|         | 2     | 445,00 | 64,133         | 3  |
|         | Total | 468,38 | 86,986         | 21 |
| 6       | 0     | 590,90 | 62,733         | 10 |
|         | 1     | 594,50 | 32,080         | 6  |
|         | 2     | 643,80 | 41,985         | 5  |
|         | Total | 604,52 | 53,753         | 21 |
| 8       | 0     | 615,89 | 52,795         | 9  |
|         | 1     | 589,33 | 100,547        | 9  |
|         | 2     | 615,11 | 70,572         | 9  |
|         | Total | 606,78 | 75,225         | 27 |
| 10      | 0     | 543,20 | 115,337        | 5  |
|         | 1     | 623,00 | 30,116         | 3  |
|         | 2     | 519,75 | 76,264         | 4  |
|         | Total | 555,33 | 91,458         | 12 |
| Total   | 0     | 547,74 | 99,831         | 38 |
|         | 1     | 570,13 | 82,306         | 32 |
|         | 2     | 587,46 | 87,737         | 26 |
|         | Total | 565,96 | 91,559         | 96 |

### Between-Subjects Factors

|         |   | N  |
|---------|---|----|
| bedrijf | 1 | 15 |
|         | 5 | 21 |
|         | 6 | 21 |
|         | 8 | 27 |
| bolus   | 0 | 38 |
|         | 1 | 32 |
|         | 2 | 26 |
|         |   |    |

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: HK 1 week lactatie

| Source          | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F        | Sig. |
|-----------------|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Corrected Model | 298253,461 <sup>a</sup> | 6  | 49708,910   | 8,881    | ,000 |
| Intercept       | 27718311,32             | 1  | 27718311,32 | 4952,298 | ,000 |
| bedrijf         | 273058,957              | 4  | 68264,739   | 12,197   | ,000 |
| bolus           | 16060,751               | 2  | 8030,376    | 1,435    | ,244 |
| Error           | 498138,373              | 89 | 5597,060    |          |      |
| Total           | 31546040,00             | 96 |             |          |      |
| Corrected Total | 796391,833              | 95 |             |          |      |

a. R Squared = ,375 (Adjusted R Squared = ,332)

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: HK 1 week lactatie

LSD

| (I) bolus | (J) bolus | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval |             |
|-----------|-----------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
|           |           |                       |            |      | Lower Bound             | Upper Bound |
| 0         | 1         | -22,39                | 17,950     | ,216 | -58,05                  | 13,28       |
|           | 2         | -39,72*               | 19,041     | ,040 | -77,56                  | -1,89       |
| 1         | 0         | 22,39                 | 17,950     | ,216 | -13,28                  | 58,05       |
|           | 2         | -17,34                | 19,753     | ,382 | -56,59                  | 21,91       |
| 2         | 0         | 39,72*                | 19,041     | ,040 | 1,89                    | 77,56       |
|           | 1         | 17,34                 | 19,753     | ,382 | -21,91                  | 56,59       |

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 5597,060.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

## Bijlage 7. SPSS output – Chi Square test

### Crosstabs

#### Case Processing Summary

|                                                        | Valid |         | Cases Missing |         | Total |         |
|--------------------------------------------------------|-------|---------|---------------|---------|-------|---------|
|                                                        | N     | Percent | N             | Percent | N     | Percent |
| calciumbolus groep * afkalfproces (zwaar/normaal/vlot) | 81    | 53,3%   | 71            | 46,7%   | 152   | 100,0%  |

#### calciumbolus groep \* afkalfproces (zwaar/normaal/vlot) Crosstabulation

Count

|                    |               | afkalfproces (zwaar/normaal/vlot) |         |       | Total |
|--------------------|---------------|-----------------------------------|---------|-------|-------|
|                    |               | vlot                              | normaal | zwaar |       |
| calciumbolus groep | controlegroep | 4                                 | 1       | 0     | 5     |
|                    | testgroep 1   | 30                                | 10      | 2     | 42    |
|                    | testgroep 2   | 19                                | 13      | 2     | 34    |
| Total              |               | 53                                | 24      | 4     | 81    |

#### Chi-Square Tests

|                              | Value              | df | Asymptotic Significance (2-sided) |
|------------------------------|--------------------|----|-----------------------------------|
| Pearson Chi-Square           | 2,664 <sup>a</sup> | 4  | ,615                              |
| Likelihood Ratio             | 2,898              | 4  | ,575                              |
| Linear-by-Linear Association | 2,109              | 1  | ,146                              |
| N of Valid Cases             | 81                 |    |                                   |

a. 5 cells (55,6%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,25.

### Crosstabs

#### Case Processing Summary

|                                                         | Valid |         | Cases Missing |         | Total |         |
|---------------------------------------------------------|-------|---------|---------------|---------|-------|---------|
|                                                         | N     | Percent | N             | Percent | N     | Percent |
| calciumbolus groep * vitaliteit kalf (fit/normaal/slap) | 79    | 52,0%   | 73            | 48,0%   | 152   | 100,0%  |

#### calciumbolus groep \* vitaliteit kalf (fit/normaal/slap) Crosstabulation

Count

|                    |               | vitaliteit kalf (fit/normaal/slap) |         |      | Total |
|--------------------|---------------|------------------------------------|---------|------|-------|
|                    |               | fit                                | normaal | slap |       |
| calciumbolus groep | controlegroep | 3                                  | 1       | 0    | 4     |
|                    | testgroep 1   | 35                                 | 6       | 1    | 42    |
|                    | testgroep 2   | 21                                 | 11      | 1    | 33    |
| Total              |               | 59                                 | 18      | 2    | 79    |

#### Chi-Square Tests

|                              | Value              | df | Asymptotic Significance (2-sided) |
|------------------------------|--------------------|----|-----------------------------------|
| Pearson Chi-Square           | 4,049 <sup>a</sup> | 4  | ,399                              |
| Likelihood Ratio             | 4,164              | 4  | ,384                              |
| Linear-by-Linear Association | 2,293              | 1  | ,130                              |
| N of Valid Cases             | 79                 |    |                                   |

a. 5 cells (55,6%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,10.