

Forschungsbericht

Nr. 190

**„Analyse des Prüfparameters β -Hydroxybutyrat in
Milch in der Frühlaktation: Entwicklung einer Strategie
zur Verbesserung des Herdenmanagements mittels
Data-Mining“**

Verfasser:

Dr. agr. Ute Müller

MSc. Julia Kesser

MSc. Katharina Blang

Institut für Tierwissenschaften
Abteilung Physiologie & Hygiene

Herausgeber: Lehr- und Forschungsschwerpunkt „Umweltverträgliche und Standortgerechte Landwirtschaft“, Landwirtschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Meckenheimer Allee 172 15, 53115 Bonn
Tel.: 0228 – 73 2285; Fax.: 0228 – 73 1776
www.usl.uni-bonn.de

Forschungsvorhaben im Auftrag des Ministeriums für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen
Bonn, Januar 2015

ISSN 1610-2460

Projektleitung: AOR Dr. agr. Ute Müller

Projektbearbeiter: Julia Kesser
Katharina Blang geb. Elsen

Institut für Tierwissenschaften
Abteilung Physiologie und Hygiene
Katzenburgweg 7-9
53115 Bonn

Zitiervorschlag:

MÜLLER, U. UND J. KESSER (2016): Analyse des Prüfparameters β -Hydroxybutyrat in Milch in der Früh lactation: Entwicklung einer Strategie zur Verbesserung des Herdenmanagements mittels Data-Mining, Landwirtschaftliche Fakultät der Universität Bonn, Schriftenreihe des Lehr- und Forschungsschwerpunktes USL, 190, 46 Seiten

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Abkürzungsverzeichnis	4
1 Einleitung	5
1.1 Energie- und Fettstoffwechsel der Milchkuh in der Frühlaktation	5
1.2 Pathogenese und Diagnose der Ketose	6
1.2.1 Klinische Ketose	8
1.2.2 Subklinische Ketose	8
1.3 β -Hydroxybutyrat (BHB) zur Beurteilung des Energiestoffwechsels in der Frühlaktation	9
1.3.1 BHB-Grenzwerte in Serum	10
1.3.2 BHB-Grenzwerte in Milch	11
1.4 Weitere Parameter zur Beurteilung des Energiestatus in der Frühlaktation	11
1.4.1 Schätzung der Energiebilanz	11
1.4.2 MilCHFett-Milcheiweiß-Quotient (FEQ) als Parameter aus der Milchleistungsprüfung	12
1.5 Fourier Transform Infrarot-Spektroskopie (FTIR) Methode	13
1.6 Zielsetzung der Studie	14
2 Material und Methoden	15
2.1 Versuchsbetrieb	15
2.2 Probenentnahme und -aufbereitung	16
2.3 Milch- und Blutprobenanalyse	17
2.4 Energiebilanzberechnung	17
2.5 Statistische Auswertung	18
3 Ergebnisse	22
3.1 Simple Berechnung der Energiebilanz für Färsen und Kühe	23
3.2 Simple Screening einzelner Kühe mit dem Risiko einer erhöhten BHB-Konzentration im Blut	25
3.3 Validität der Regressionsmodelle	26
3.4 Vergleich mit dem etablierten Fett-Eiweiß-Quotient	29
4 Diskussion	30
5 Zusammenfassung	36
6 Schlussfolgerungen für die Umsetzung der Ergebnisse in die Praxis	39
7 Literaturverzeichnis	40
8 Konsequenzen für evtl. weitere Forschungsaktivitäten	45
9 Liste über Veröffentlichungen	46
10 Liste über Posterpräsentationen	46

Abkürzungsverzeichnis

BHB	β-Hydroxybutyrat
BW ^{0,75}	metabolische Körpergröße
d	Tag
EB	Energiebilanz
FEQ	Fett-Eiweiß-Quotient
IR	Infrarot
LKV	Landeskontrollverband
LM	Lebendmasse
LUFA	Landwirtschaftliche Untersuchungs-und Forschungsanstalt
LW	Laktationswoche
MIR	Mittleres Infrarot
MJ	Megajoule
MLP	Milchleistungsprüfung
NEFA	Nicht veresterte Fettsäuren
NEL	Netto Energie Laktation
NIR	Nahes Infrarot
NPN	Nicht-Protein-Stickstoff
nXP	nutzbares Rohprotein
p.p	post partum
SEM	Standardfehler
Sen	Sensitivität
SFA	Segmented-Flow-Analyse
RNB	Ruminale Stickstoffbilanz
Spez	Spezifität
TM	Trockenmasse
TMR	Totale Mischration
TS	Trockensubstanz
XF	Rohfaser
XP	Rohprotein

1 Einleitung

1.1 Energie- und Fettstoffwechsel der Milchkuh in der Frühlaktation

Für eine auf Hochleistung gezüchtete Milchkuh stellen die ersten Wochen der Laktation einen unvermeidlichen Kompromiss zwischen begrenzter Trockensubstanzaufnahme und spontan steigendem Energiebedarf für Leistung und Erhaltung dar (Butler & Smith, 1989). Eine Übersicht über den Energiebedarf und die Energieaufnahme gibt Abbildung 1. Die Stoffwechsellpriorität fixiert ihren Schwerpunkt der energetischen Versorgung auf die Milchbildung zu Ungunsten anderer Organe, wie z. B. Skelettmuskulatur. Die Milchdrüse benötigt Energie für ihren basalen Stoffwechsel, synthetische Vorgänge sowie den Austausch und Transport von Substanzen. Demnach laufen in der Milchdrüse anabole und in anderen Organen katabole Stoffwechselprozesse (z.B. Muskulatur, Fettgewebe) ab (Blum, 2004).

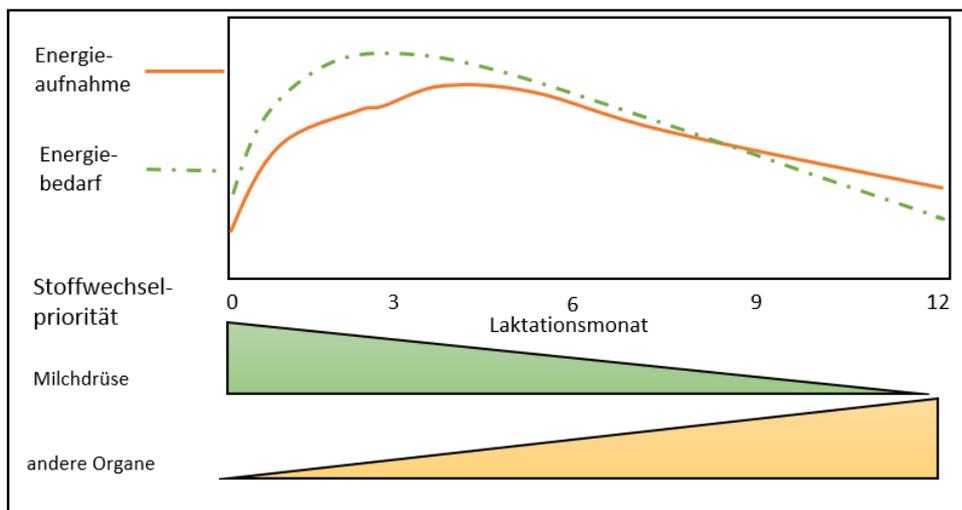


Abb. 1: Schematische Darstellung von Energieaufnahme und -bedarf, sowie deren Bereitstellung für Milchdrüse und andere Organe im Laktationsverlauf (Blum, 2004).

Für eine tägliche Milchbildung von z. B. 35 kg benötigt der Organismus dreimal mehr Energie als für die Erhaltung (Butler & Smith, 1989). Bei hochleistenden Kühen wird es problematisch, wenn der Milchleistungsgipfel vor der maximalen Futteraufnahme erreicht wird (Lucy et al. 1991). Zusätzlich zu dem Energiebedarf für die Milchproduktion benötigt eine Kuh Energie für die Fruchtbarkeitsleistungen, wie zum Beispiel die Regeneration der Gebärmutter, das Wiedereinfließen in der zyklischen Ovarfunktion sowie die erneute Trächtigkeit nach der Besamung (Butler & Smith, 1989). Bei Jungkühen ist der zusätzliche Energiebedarf für das Wachstum zu beachten. Berücksichtigt werden muss zudem, dass die Kalbung und das Einsetzen der Laktation mit einer verringerten Aufnahme von Energie, Protein, Mineralstoffen und Vitaminen einhergeht (Rossow, 2003). In der Frühlaktation ergänzt der Organismus die Energielücke durch die Mobilisierung von körpereigenen Energiereserven. Dazu zählen Fett, Körperprotein und Glykogen (Rodehutsord & Petry,

2010). Diese energetische Defizitsituation führt zu einer kompensatorischen Reaktion, welche als Homöorhese bezeichnet wird (Staples et al. 1990). Beteiligt daran ist das Fettgewebe durch verstärkte Lipolyse, die Leber durch ausgiebige Glukoneogenese (Blum, 2004), die Mobilisierung von Proteinreserven in der Muskulatur, Freisetzung von Mineralstoffen in den Knochen und der Gastrointestinaltrakt durch vermehrte Kapazität und Aktivität (Lucy et al. 1991). Das Fettgewebe kristallisiert sich quantitativ als das wichtigste Energiespeichersystem heraus (Pedron et al. 1993).

Häufig geraten Milchkühe bereits im antepartalen Zeitraum in eine negative Energiebilanz, wodurch extreme Anpassungsprozesse nach der Kalbung erforderlich sind. Sowohl biochemische Prozesse als auch ausgedehnte Neuorganisationen der zellulären Struktur und Funktion der Fettgewebszellen sind davon betroffen. Die Lipogenese mit Veresterung von Fettsäuren geht zurück, wohingegen die Lipolyse mit der Freisetzung von Glycerol und freien Fettsäuren ansteigt (Pedron et al. 1993). Zahlreiche Hormone, sogenannte Mediatoren wie z.B. Insulin, Adrenalin, Östrogen, Prolaktin regulieren diese Prozesse. Die Vielschichtigkeit dieser Regulation verdeutlicht, dass der Fettstoffwechsel zwischen 30 und 180 Tagen nach der Kalbung enorm von der Energieaufnahme und -abgabe abhängig und zudem sehr variabel ist (Mc Namara, 1991).

1.2 Pathogenese und Diagnose der Ketose

Die Ketose, auch bekannt als Azetonämie oder Hyperketonämie ist eine subakut bis chronisch verlaufende Störung des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels der Milchkuh. Diese Stoffwechselerkrankung entsteht infolge einer Energieunterversorgung, da die Tiere in der Phase der Frühaktation eine relativ niedrige Futteraufnahme haben und dadurch weniger Energie aufnehmen, als sie für die bereits einsetzende Milchbildung benötigen. Diese kritische Situation tritt vermehrt in der ersten bis sechsten Laktationswochen nach der Kalbung auf (Rosenberger, 1978). Das Energiedefizit entsteht aus einer erhöhten Mobilisation von Körperfettreserven, wodurch die Ketonkörper Aceton, Acetoacetat und Betahydroxybutyrat (BHB) entstehen.

Triglyceride werden gespalten und die daraus entstehenden nicht-veresterten Fettsäuren werden in die Leber transportiert (Gröhn et al. 1983). Die Fettsäuren werden im Rahmen der intramitochondrialen β -Oxidation nur unvollständig gespalten und nach Einschleusung über Acetyl-CoA, das an Oxalacetat gebunden ist, im Citratzyklus vollständig oxidiert und zur Energiegewinnung genutzt. Da Oxalacetat aber zudem zur Laktose-Synthese benötigt wird, steht es bei steigender Milchleistung dem Organismus nicht ausreichend zur Verfügung. Daher kann Acetyl-CoA nicht umgebaut werden (Freitag, 1995) und es folgt ein Prozess, in dem Monoglyceride wieder zu Triglyceriden verestert werden. Aufgrund der Tatsache, dass die zur Ausschleusung der Triglyceride notwendigen VLDL (Very Low Density Lipoproteine) in begrenzter Menge zur Verfügung stehen, verbleiben sie teilweise in der Leber. Durch die

Anhäufung der Triglyceride in den Hepatozyten kommt es zur Entstehung einer Fettleber. Bei intensiver Depotfettmobilisation werden nicht veresterte Fettsäuren (NEFA) zusätzlich zu Ketonkörpern oxidiert (Stangassinger & Sallmann, 2004). Die Ketonkörper werden zum Teil von peripheren Geweben als Substrat genutzt (Veenhuizen et al. 1991) oder bei übermäßiger Konzentration über die Milch, Harn und Atemluft ausgeschieden (Lotthammer & Wittkowski, 1994).

Ein negativer Effekt der Hyperketonämie ist die Unterdrückung der hepatischen Glukoneogenese. Daraus ergibt sich ein Absinken der Glukosekonzentration im Blut, was zur Folge hat, dass die Tiere inappetent werden. Eine Überfütterung im antepartalen Zeitraum mit starker Körperfettentwicklung und geringer Futteraufnahme zu Laktationsbeginn bei hoch einsetzender Milchproduktion gilt als prädisponierender Faktor für die Entwicklung einer Ketose (Veenhuizen, 1991). Kühe, die mit einem überhöhten Körperfettanteil in die Laktation starten, haben eine verstärkte Lipolyse und eine verminderte Kapazität, freigesetzte Fettsäuren zu verestern. Dies hat eine erhöhte NEFA-Konzentration im Blut und schließlich eine Fettleber zur Folge (Rukkwamsuk et al. 1999). Damit verbunden erhöhen niedrige Glykogenmengen und ein erhöhter Triglyceridgehalt in der Leber die Wahrscheinlichkeit im postpartalen Zeitraum an Ketose zu erkranken (Veenhuizen et al. 1991). Die nachfolgende Abbildung verdeutlicht die Entstehung und Zusammenhänge einer Ketose.

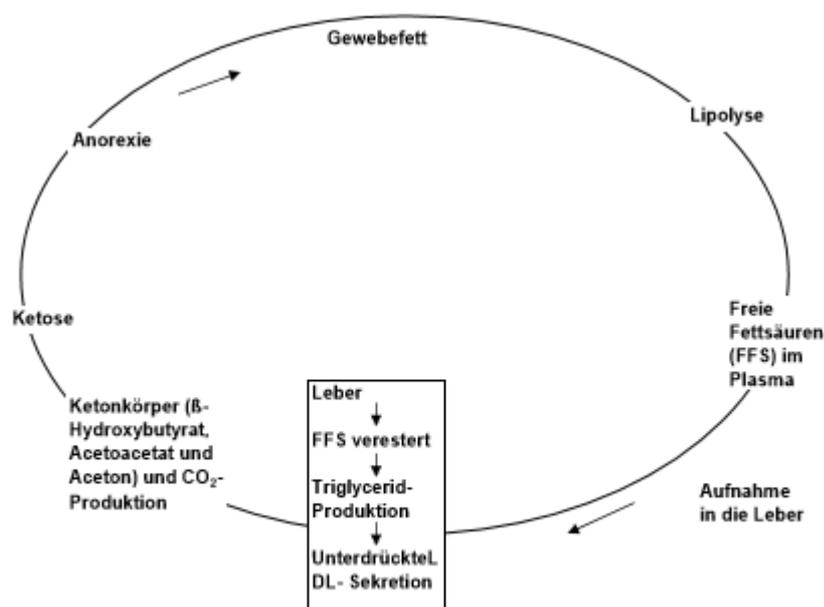


Abb. 2: Ketose Kreis (Michel, 2002)

1.2.1 Klinische Ketose

Die klinische Ketose lässt sich in eine primäre und eine sekundäre Form unterteilen. Die primäre Ketose versteht sich auch als selbstständige Ketose, welche als eine direkte Folge der negativen Energiebilanz zu verstehen ist (Drackley, 1999). Sie tritt häufig zwischen der zweiten und siebten Laktationswoche auf (Rosenberger, 1978). Als Grund hierfür lässt sich die Veränderung des Stoffwechsels in der Transitphase der Kuh aufführen (Drackley, 1999). Klinisch lassen sich dabei Appetitlosigkeit, verminderte Wiederkautätigkeit und reduzierte Darmmobilität feststellen (Hofmann, 2007). Häufig wird diese Form auch als „digestive Form“ bezeichnet (Rosenberger, 1978). Die digestive Form zeichnet sich durch die toxische Wirkung des Ketonkörperüberschusses aus. Symptome sind: plötzliche Abmagerung, Hypophagie und ein progressiv degenerierter Prozess in der Leber, welcher mit fettiger Infiltration der Leber startet und mit Nekrosen und Leberzirrhose endet (Bauer, 1996). Kommt es im weiteren Verlauf zu einem Rückgang der Milchleistung, Hypoglycämie und in seltenen Fällen zu nervösen Symptomen, spricht man von der „nervösen Form“ der Ketose (Baird, 1982; Andersson, 1984). Bei der nervösen Form ergänzen zentralnervöse bis hin zu komatösen Erscheinungen den Zustand der Tiere. Symptomatisch erkennbar ist dies an übertriebenen Kaubewegungen, exzessivem Speichelfluss und Muskelzittern. Diese Zeichen können kurzweilig auftreten und wieder verschwinden (Wootton, 1992). Eine weitere Unterscheidungsform ist die spontane Ketose, welche bei Tieren mit hoher Milcheinsatzleistung und des beherrschenden Energiedefizits in den ersten Monaten p. p. entsteht (Baird, 1982; Freitag, 1995). Baird (1982) stellte fest, dass diese Form nur selten bei Erstkalbskühen auftritt. Bedingt wird sie durch den im Vergleich zur Futteraufnahme schnelleren Anstieg der Milchproduktion zu Beginn der Laktation. Die Überlegung, die Energiedichte dieser Situation anzupassen und dementsprechend zu steigern, gestaltet sich schwierig, da eine wiederkäuergerechte Rationsgestaltung einen Rohfasergehalt von 18 % abverlangt (Freitag, 1995). Die Milchdrüse verfügt hinsichtlich der Energieversorgung zu Beginn der Laktation über eine dominierende Rolle, denn sie hat die metabolische Priorität gegenüber allen anderen Organen. Dadurch ist eine kontinuierliche Milchproduktion möglich, was sich jedoch negativ auf andere metabolische Prozesse auswirkt (Baird, 1982).

Die sekundäre Form tritt in Kombination mit anderen Krankheiten wie beispielsweise linksseitige Labmagenverlagerung oder Nachgeburtsverhalten auf. Die sekundäre Ketose ist erkennbar an übertriebener Kaubewegung und exzessivem Speichelfluss (Rosenberger, 1978).

1.2.2 Subklinische Ketose

Die subklinische Ketose lässt sich zur klinischen Ketose darin unterscheiden, dass keine Störung des Allgemeinbefindens vorliegt. Vielmehr lässt sich die subklinische Ketose an verminderter Futteraufnahme und daraus folglich hohe Lebendmasseabnahmen und Fertilitätsstörungen erkennen (Baird, 1982). Auch sind erhöhte Milchfettgehalte, welche

durch Körperfetteinschmelzung entstehen (Lotthammer & Wittkowski, 1994) und ein Rückgang der Milchleistung ein Hinweis für diese Ketose. Zudem ist der Gehalt an Ketonkörpern im Blut und Urin erhöht. Diese können toxisch auf den Organismus wirken und längerfristig zu der Ausbildung einer Fettleber führen (Hofmann, 2007). Der Zustand der subklinischen Ketose bleibt häufig unentdeckt und birgt ohne Behandlung gesundheitliche Risiken (Baird, 1982). Da diese Stoffwechselerkrankung negative Einflüsse auf Milchleistung und Fruchtbarkeit hat, verbergen sich ökonomische Verluste dahinter. Die Wahrscheinlichkeit, dass eine subklinische Ketose während der ersten Monate der Früh lactation in einer Hochleistungsherde auftritt, liegt zwischen 9 und 34% (Dohoo & Martin, 1984).

1.3 β -Hydroxybutyrat zur Beurteilung des Energiestoffwechsels in der Früh lactation

Beta-Hydroxybutyrat (BHB) oder auch Beta-Hydroxybuttersäure zählt wie Aceton und Acetoacetat zu den Ketonkörpern, welche zum Nachweis von klinischer oder subklinischer Ketose herangezogen werden können (Andersson, 1984). Hauptbildungsort der Ketonkörper ist die Leber. Beim Wiederkäuer kann BHB allerdings auch in der Milchdrüse und der Pansenwand aus Buttersäure synthetisiert werden. Unter physiologischen Stoffwechselbedingungen ist die Entstehung von Ketonkörpern kein krankhafter Vorgang. In einer energetischen Mangelsituation verfügt die Leber durch Bildung von Ketonkörpern über die Fähigkeit andere Gewebe rasch mit Energie zu versorgen (Gasteiner, 2000). Die aus Körperfettreserven entstehenden freien Fettsäuren werden durch die β -Oxidation zu Acetyl-CoA abgebaut. Im Citratzyklus wird Acetyl-CoA mit Hilfe von Oxalacetat zur Energiegewinnung umgewandelt (Suriyasathaporn et al. 2000). Oxalacetat spielt jedoch auch eine große Rolle in der Laktose-Synthese (s.o.). Demnach steht dem Organismus bei steigender Milchleistung unzureichend Oxalacetat zur Verfügung. Das Acetyl-CoA kann somit nicht verstoffwechselt werden (Freitag, 1995). Bei der Ketogenese wird Acetyl-CoA zu Acetoacetat umgebaut, woraus dann Aceton oder unter Einfluss des Enzyms Betahydroxybutyratdehydrogenase BHB entsteht (Schlerka & Filar, 1981). In der Leber gebildete Ketonkörper können teilweise in Herz- und Skelettmuskulatur zur Glukosebildung genutzt werden. Besteht keine weitere Verwertung, werden diese über Milch, Harn und Atemluft ausgeschieden (Suriyasathaporn et al. 2000). Die nachfolgende Abbildung verdeutlicht den Fettstoffwechsel bei negativer Energiebilanz.

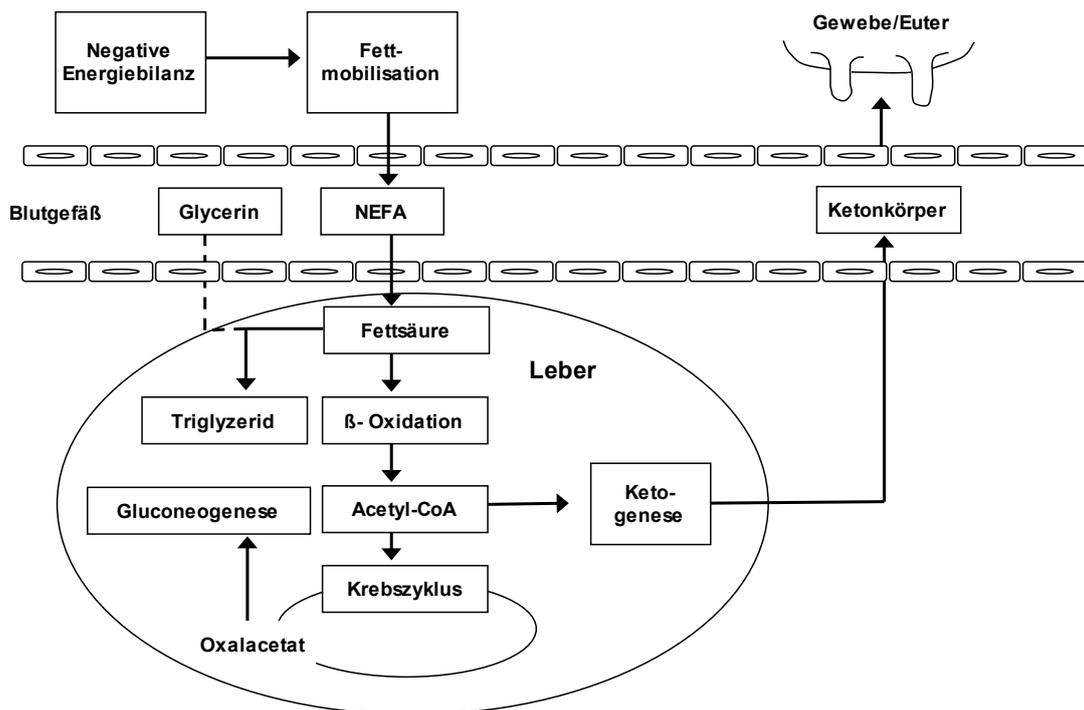


Abb. 3: Stoffwechselwege der Ketogenese in den Blutkreislauf und das Euter modifiziert nach Suriyasathaporn et al. (2000)

BHB hat an der Gesamtketonkörper-Konzentration beim Wiederkäuer einen Anteil von ca. 81% und ist somit der Hauptbestandteil (Schlerka & Filar, 1981), wobei Aceton und Acetoacetat in nur sehr geringen Anteilen vorkommen.

1.3.1 BHB-Grenzwerte in Serum

Zur Feststellung von Ketonkörpern im Blut wird im Regelfall der Parameter BHB und seltener Acetoacetat im Serum analysiert. Die Autoren Duffield et al. (1997) stellten in ihren Untersuchungen zur BHB-Konzentration in 93 Betrieben einen Grenzwert für subklinische Ketose von 1,2 mmol/l fest. Weitere Autoren kristallisierten bislang in ihren Untersuchungen die Grenzwerte der Tabelle 1 für eine subklinische Ketose heraus.

Tab. 1: Übersicht zu Grenzwerten von BHB im Serum bei Milchkühen in der Früh-laktation

Autor	Grenzwerte
Whitaker et al. (1999)	≥ 1,0 mmol/l
Duffield et al. (1997)	≥ 1,2 mmol/l
de Roos et al. (2007)	≥ 1,2 mmol/l
Enjalbert et al. (2001)	≥ 1,2 mmol/l
Geishauer et al. (2000)	≥ 1,4 mmol/l
Carrier et al. (2004)	≥ 1,4 mmol/l

1.3.2 BHB-Grenzwerte in Milch

Von den flüssigen Körpersubstanzen der Kuh ist die Milch das jederzeit am einfachsten zu gewinnende Medium. Die bereits beim Melken erfasste Milchmenge, deren Temperatur sowie makroskopische Beschaffenheit liefern interessante Aufschlüsse. Die Milchuntersuchung bietet durch ihre regelmäßige Analysen der Inhaltsstoffe, wie der Gehalt an Fett, Eiweiß, Laktose, Harnstoff und Zellzahl Rückschlüsse auf die Milchqualität, die Eutergesundheit, den Stoffwechselstatus und die Tiergesundheit insgesamt (Fürl, 2013). Bereits 1995 wurden Untersuchungen durchgeführt, ob mittels semiquantitativen Tests die BHB- Konzentration in Milch als Indikator zur Stoffwechselüberwachung eingesetzt werden kann. Mit Hilfe von Teststreifen („Ketolac® BHB strip“) sollte eine kontinuierliche Überwachung der Frühlaktierenden ermöglicht werden. Dirksen et al. (1995) führten eine Studie darüber und stellten fest, dass die BHB-Konzentration in den ersten drei Laktationswochen (LW) am höchsten ist. Die Autoren setzten über die physiologische BHB-Konzentration in Milch einen Wert von 100 $\mu\text{mol/L}$ fest. Tiere mit einer Konzentration zwischen 100 und 200 $\mu\text{mol/L}$ befinden sich im Risikobereich für eine klinische Ketoseerkrankung. Bei Ergebnissen über 200 $\mu\text{mol/L}$, tritt eine klinische Ketose auf. Die Autoren bewerteten den Bereich von 50 bis 100 $\mu\text{mol/L}$ in Milch als kritisch zu betrachtende Konzentration für eine subklinische Ketose. Grabowski (2000) ermittelte in seiner Studie für den BHB-Gehalt in der Milch einen physiologischen Referenzwert von 35 – 47 $\mu\text{mol/L}$. Jorritsma et al. (1998) prüften ebenfalls eine Methode zur regelmäßigen Überwachung eines Milchviehbestandes. Dabei ermittelten sie bei einer Konzentration von 100 $\mu\text{mol/L}$ BHB in Milch eine wünschenswerte Kombination aus Sensitivität (62 %) und Spezifität (86 %), wodurch der Einsatz dieser Testmethode bestätigt wurde. Auch die Autoren de Roos et al (2007) erreichten bei der BHB-Konzentration in der Milch von 100 $\mu\text{mol/L}$ die aussagekräftigsten Ergebnisse. Enjalbert et al. (2001) nennen zusätzlich einen BHB- Grenzwert von 70 $\mu\text{mol/L}$.

1.4 Weitere Parameter zur Beurteilung der Energieversorgung in der Frühlaktation

1.4.1 Schätzung der Energiebilanz

Mit Hilfe der Energiebilanzschätzung lässt sich die Versorgungssituation über einen definierten Zeitraum genauer darstellen. Die Energiebilanz (EB) beschreibt die auf der Einheit Netto Energie Laktation (NEL) basierende Differenz zwischen der aufgenommenen Energie über das Futter und der abgegebenen Energie für das Wachstum, Erhaltung, Milchleistung und Gravidität (Lucy et al. 1991). Zu Beginn der Laktation unterliegen Milchkühe einer Phase der negativen EB. Dabei wird der notwendige Bedarf an Energie nicht durch die Energieaufnahme abgedeckt. Die Energieaufnahme und damit die Trockensubstanzaufnahme haben in dieser Situation den stärksten Einfluss auf den Bilanzwert (Mc Namara, 1991). Der Einfluss durch die Milchbildung ist dabei zunächst für die Wirkung auf den Bilanzwert zu

vernachlässigen (Lucy et al. 1991). Autoren stellten heraus, dass jedes Hochleistungstier zu Beginn der Laktation einen negativen Energiestatus erfährt, jedoch die Intensität sehr unterschiedlich sein kann (Butler et al. 1981). Grummer (1995) beschreibt, dass ein energetisches Defizit bereits vor der Kalbung beginnt und ihren Höhepunkt in der ersten Laktationswoche erreicht. Denn durch exzessiv angelegte Körperfettreserven starten die Tiere mit einem verminderten Futteraufnahmevermögen in die Früh-laktation (Grummer, 1995). Nach den Erkenntnissen von Lucy et al. (1991) kann das energetische Defizit eine Höhe von minus 63 MJ NEL pro Tag erreichen.

Neben der Futteraufnahme und dem Energiebedarf beeinflussen viele Faktoren die energetische Situation einer Milchkuh. In der folgenden Darstellung sind beeinflussende Parameter abgebildet.

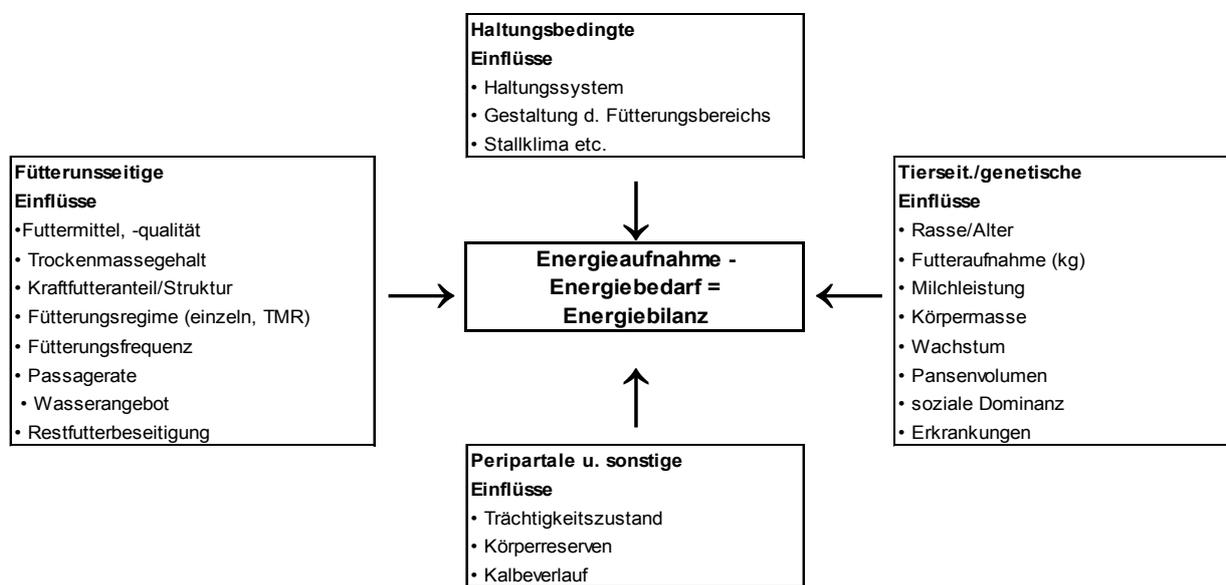


Abb.4: Einflussgrößen auf die EB von Milchkühen (Brade & Brade,2013)

1.4.2 MilCHFett-Milcheiweiß-Quotient (FEQ) als Parameter der Milchleistungsprüfung

Die Milchleistungsprüfung (MLP) stellt monatlich die Parameter Milchmenge, Fett-, Eiweiß- und Harnstoffgehalt zur Beurteilung der Stoffwechsel- und Fütterungssituation zur Verfügung. Durch einfache Verknüpfungen der Analysewerte aus der Milch lassen sich Aussagen unter anderem über die Energieversorgung treffen. Einige Parameter eignen sich zur alleinigen Bewertung, andere empfiehlt es sich in Kombination zu betrachten um Fehlinterpretationen zu verhindern. In Bezug auf die Bewertung der Energiebilanz eignet sich die Verwendung des Quotienten aus MilCHFett und Milcheiweiß (Spohr & Wiesner, 1991). Die Zusammensetzung von MilCHFett- und Milcheiweißgehalt lässt sich hinsichtlich energetischer Situation der Milchkuh wie folgt beschreiben: In einer energetisch prekären Lage der Milchkuh erfolgt ein erhöhter Abbau des körpereigenen Depotfetts (Lipolyse), dabei steigt der Anteil von unveresterten freien Fettsäuren und AcetylCoA im Blut, woraufhin die

Fettsynthese im Euter ansteigt und damit auch der Milchfettgehalt (Dirksen, 1994). Die Milcheiweißzusammensetzung entsteht durch im Futter befindliche Eiweiß- und Nicht-Protein-Stickstoff(NPN)-Verbindungen. Diese werden zu Ammoniak abgebaut und zum Teil von den Pansenmikroben zu wertvollem mikrobiellem Protein umgewandelt (Farries, 1983). Eine zu Laktationsbeginn häufig stattfindende ungenügende Kohlenhydrataufnahme führt zu einer verminderten Proteinsynthese im Pansen. Demzufolge werden der Milchproduktion weniger Aminosäuren zur Verfügung gestellt, wodurch der Eiweißgehalt in der Milch absinkt (Dirksen, 1994). Mit Hilfe des FEQ werden durch die gegenläufige Veränderung der Parameter energetischen Mangelerscheinungen deutlich (Farries, 1983).

In der Literatur wurde bereits vermehrt die Aussagekräftigkeit des FEQ hinsichtlich der Stoffwechselgefährdung bewertet. Die Autoren ermittelten verschiedene Schwellenwerte. Kümel-Möllering und Rossow (1994) stellten heraus, dass der FEQ aus dem ersten Laktationsmonat, somit der ersten Milchkontrolle, hinsichtlich der Stoffwechsellage die höchste Bedeutung hat. Die Autoren definierten den Grenzwert für eine Gefährdung mit $\geq 1,3$. Spohr & Wiesner (1991) definierten den FEQ zwischen 1 und 1,25 als Optimalbereich. Wobei sich der Bereich zwischen 1 und 1,5 als normal bewerten lässt. Den Schwellenwert von 1,5 stellten Duffield et al. (1997) in ihrer Studie heraus, wobei die Autoren die Kombination dieser Parameter aufgrund der geringen Sensitivität (58%) und der Spezifität (69%) als kein nützliches Instrument für die Identifikation von Tieren mit subklinischer Ketose sehen. Dirksen et al. (1997) setzen den kritischen Wert für eine Stoffwechselgefährdung auf $FEQ > 1,4$. Nach Füll, (2013) steigt der Informationswert des FEQ erst ab der dritten bis fünften Woche deutlich an. Hintergrund ist die besonders in den ersten Tagen der Frühaktation vorliegende große Flexibilität der lipolyseabhängigen Milchfettsynthese und das sich die Konzentrationen von Milchfett und -eiweiß zu unterschiedlichen Zeiten im Laktationsverlauf stabilisieren. Die Autoren Grieve et al. (1986) beschreiben einen signifikanten Zusammenhang zwischen einem energetischen Defizit und dem FEQ. Ergänzend fügen Heuer et al. (2000) hinzu, dass diese Interaktion sich in der dritten bis siebten Laktationswoche ausgeprägter im Vergleich zur restlichen Laktation zeigt.

1.5 Fourier Transform Infrarot-Spektroskopie (FTIR) Methode

Zu den modernen instrumentellen Methode innerhalb der quantitativen chemischen Analytik zählt die Infrarot(IR)-Spektroskopie (eine Molekülspektroskopie). Im infraroten Bereich werden mittels der Fourier Transform Infrarot-Spektroskopie (FTIR) Methode Strahlen absorbiert, welche mit der Anregung von Molekülschwingungen verbunden sind (Lutterbeck & Winkel, 2009). Das FTIR-Spektrometer ist eine spezielle Variante eines Spektrometers (Messgerät für die Infrarotspektroskopie).

In der IR-Spektroskopie werden im Allgemeinen die folgenden drei Bereiche unterteilt.

- Nahes Infrarot (NIR): Wellenlängen 12500 – 4000
- Mittleres Infrarot (MIR): Wellenlängen 4000 – 250
- Fernes Infrarot: Wellenlängen 250 – 10

Anders als bei dispersiven Messgeräten wird das im Folgenden genutzte MIR-Spektrum der FTIR-Methode nicht durch schrittweises Ändern der Wellenlänge aufgenommen. Stattdessen wird ein gemessenes Interferogramm berechnet. Vorteile im Vergleich zur herkömmlichen dispersiven Infrarotspektroskopie sind nach Gerlach (2005):

- erhebliche Zeitersparnis,
- parallele Messung aller Frequenzen,
- höhere Lichtintensität, weil der Strahl nicht durch Spalte eingeeengt werden muss, was sich in einem besseren Signal–Rausch–Verhältnis ausdrückt und
- hohe Genauigkeit der Wellenlängenbestimmung wegen der Kontrolle der Spiegelposition durch einen Laser.

Auf Basis der FTIR-Analysetechnologie erfolgt die Bestimmung der Milchezusammensetzung. Dabei wird ein Lichtstrahl des mittleren Infrarotlichtes durch die zu untersuchende Milch gesendet. Mehr als 1.000 Absorptionswerte (AW) entstehen bei jeder analysierten Milchprobe (je nach Fabrikat) (Foss, 2011; Foss, 2013). Die Spektren werden in Relation gesetzt zu den „wahren“ Milchinhaltsstoffen, z.B. dem Fettgehalt in der Milchprobe. D.h. durch entsprechende Kalibrationsgleichungen werden aus Spektren Milchinhaltsstoffe. Da die FTIR-Technologie eine physikalische Methode ist, werden keine Chemikalien benötigt. Die Methode ist exakt, schnell und preiswert.

1.6 Zielsetzung der Studie

Vor dem Hintergrund der beschriebenen Notwendigkeit, eine energetische Stoffwechselbelastung bei der Milchkuh in der Früh-laktation sobald als möglich zu erkennen, sowie der Motivation, das Vorhersage-/Schätzungspotential der MIR-Spektral-daten im Rahmen der monatlichen MLP weiter zu nutzen, hatte das vorliegende Projekt zum Ziel, Vorhersagemodelle für Energiedefizite und/oder Stoffwechselbelastungen aus den MIR-Spektral-daten in Kombination mit verschiedenen tierindividuellen Daten mit höchstmöglicher Genauigkeit zu entwickeln. Die Ergebnisse aus diesen Modellen werden im Rahmen der kontinuierlichen, monatlichen MLP das Angebot der Landeskontrollverbände um zusätzliche Daten/Informationen erweitern können. Des Weiteren sollten aufgrund der gewonnenen Erkenntnisse aus den Auswertungsschritten Strategieempfehlungen ausgegeben werden.

2 Material und Methoden

2.1 Versuchsbetrieb

Der vorliegende Versuch wurde in dem Milchviehstall der Lehr- und Versuchsanstalt des Dienstleistungszentrums Ländlicher Raum Rheinland-Pfalz „Hofgut Neumühle“ (Münchweiler a.d. Alsenz) durchgeführt. Die Planung und Durchführung wurde vorab von der entsprechenden Institution, dem Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz (Koblenz, Germany) genehmigt (Versuchsvorhaben 23 177-07/G 12-20-074). Von Juli 2013 bis April 2014 konnten wie geplant 65 Milchkühe (20 Färsen (PC) und 45 mehrkalbige Kühe (MC, Lakationsnummer 2-8)) der Rasse Holstein Frisian in den ersten 10 Wochen post partum (p.p.) beprobt und untersucht werden.

Die Kühe wurden in einem vierreihigen Boxenlaufstall mit Stroheinstreu gehalten und zweimal täglich (ab 5:00 Uhr morgens und ab 15:30 Uhr nachmittags) in einem Fischgrätenmelkstand gemolken. Sie erhielten eine totale Mischration (TMR) ad libitum und freien Zugang zur Wassertränken. Die Fütterung erfolgte entsprechend den Vorgaben der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (GfE, 2001). Die Total-Misch-Ration (TMR) setzte sich aus den in Tabelle 2 aufgeführten Bestandteilen zusammen.

Tab. 2: Zusammensetzung der TMR

Rationsbestandteile	Rationsanteile (% der TM)
Grassilage (1. Schnitt)	22,7
Maissilage	18,0
Pressschnitzel	12,7
Weizen Stroh und Heu	4,9
Gerste	10,5
Aufgebrochene Maiskörner Corn grain, cracked	10,5
Sojabohnenmehl	5,6
Rapsmehl	13,1
Weizenkleie	1,0
Vitamin- und Mineralstoffmischung	0,8
Harnstoff	0,2

In regelmäßigen Abständen erfolgte die Analyse der TMR im Labor des Verbandes der Deutschen Landwirtschaftlichen Untersuchungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA) in Speyer. In der folgenden Tabelle werden die entsprechenden Inhaltsstoffe aufgeführt.

Tab. 3 : Inhaltsstoffe der TMR

	TS	Energie MJ NEL	Rohprotein (XP)	nutzbares Rohprotein (nXP)	Ruminale Stickstoff- bilanz (RNB)	Rohfase (XF)
	g/kg FM	g/kg TS	g/kg TS	g/kg TS	g/kg TS	g/kg TS
TMR	471	6,84	152,9	149,9	0,37	172,2

Von den beprobten Tieren standen (ab dem 5. Laktationstag) die tägliche Milchmenge, die tägliche Futteraufnahme (Futterwiegesystem von Insentec B.V., Marknesse, Niederlande), das tägliche Lebendgewicht (Mittelwert aus zwei Wiegungen pro Tag jeweils nach dem Melken) sowie die Tierbehandlungen in dem Beprobungszeitraum zur Verfügung.

Durch eine im Rücktreibegang aus dem Melkstand installierte Waage (Firma GEA Farm Technologies GmbH, Bönen) konnte die Erfassung der Lebendmasse jeder einzelnen Kuh zweimal täglich gewährleistet werden. Alle Angaben bezüglich der Lebendmasse beziehen sich auf Durchschnittswerte, die aus den Gewichtsdaten im Versuchszeitraum errechnet wurden. Die Tiererkennung erfolgte über einen Transponder am Bein der Tiere.

Die Kontrolle des Gesundheitsstatus der Tiere ist täglich objektiv durch fachkundiges Stallpersonal durchgeführt worden. Zudem wurde die Körpertemperatur der frischlaktierenden Kühe täglich bis zum zehnten Tag p.p. gemessen. Alle Erkrankungen und durchgeführte Behandlungen wurden während des Versuchszeitraums unter Verwendung eines Krankheitsschlüssels dokumentiert.

2.2 Probenentnahme und -aufbereitung

Die Milchproben wurden einmal wöchentlich an einem feststehenden Wochentag während des nachmittäglichen Melkens und während des nächsten morgendlichen Melkens entnommen. Die erste Milchprobe wurde erst ab dem 5. Tag in Milch aus analysetechnischen Gründen gezogen. Das Protokoll der Milchprobenentnahme entsprach dem Verfahren der Landeskontrollverbände für die monatliche Milchleistungsprüfung. Die Milchproben wurden anschließend am gleichen Tag gekühlt an das LKV-Labor (LKV Nordrhein-Westfalen, Krefeld) per Post verschickt. Die Proben trafen in der Regel am darauffolgenden Tag im LKV-Labor ein und wurden am gleichen Tag analysiert.

Die Blutproben wurden einmal wöchentlich nach dem morgendlichen Melken aus der Schwanzvene (Vena coccygealis) unter Verwendung der Vacutainer tubes (Sarstedt AG & Co., Nümbrecht) entnommen. Die Blutproben wurden innerhalb einer Stunde bei 3.500 x g für 10 Minuten bei Raumtemperatur zentrifugiert. Das Serum wurde anschließend entnommen und eingefroren (-20°C).

2.3 Milch- und Blutprobenanalyse

Insgesamt wurden 585 Milchproben und Blutproben analysiert. In dem LKV-Labor NRW erfolgte die Analyse der Milchproben mit dem MilkoScanTM FT+/6000 (FOSS, Hillerød, Denmark). Mit dem Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) System (Messung im mittleren Infrarotspektrum) wurden Milchfett und -proteingehalt sowie weitere Milchinhaltstoffe mit Hilfe von Kalibrationsalgorithmen, welche auch im Rahmen der monatlichen Milchleistungsprüfung angewendet werden, bestimmt. Für die vorliegende Studie wurden des Weiteren mit entsprechenden Algorithmen von FOSS (FOSS GmbH, Rellingen) der BHB-Gehalt sowie der Gehalt an den folgenden Fettsäuren berechnet: Myristinsäure, Palmitinsäure, Stearinsäure, Ölsäure, einfach ungesättigte Fettsäuren (MUFA), mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFA), langkettige Fettsäuren, mittelkettige Fettsäuren und kurzkettige Fettsäuren, Transfettsäuren und ungesättigte Fettsäuren (Gesamt). Da die letztgenannten Inhaltstoffe noch nicht im Rahmen der monatlichen Milchleistungsprüfung des LKV NRW ausgegeben werden, werden sie im Folgenden mit MIR (Mittleres InfraRotspektrum) gekennzeichnet. Neben den durch die Algorithmen berechneten Milchinhaltstoffen standen pro Milchprobe sämtliche Spektraldaten (Absorptionswerte (AW)) in dem Wellenlängenbereich von 240 bis 1.299 zur Verfügung

Zur Analyse des BHB-Gehaltes in der Milch wurden die Proben in das Labor des LKV Rheinland-Pfalz (Thalfang) geschickt. Das LKV-Labor verfügt über einen Segmented-Flow-Analyse (SFA)-Automaten zur nasschemischen (photometrischen) Analyse. Diese Methode gilt als Standardmethode in Milch.

Die eingefrorenen Blutserumproben wurden in regelmäßigen Abständen an die Firma Synlab® (Leverkusen) per Kurier versandt. Zur Analyse des BHB-Gehaltes in Blut, wurden die Serumproben von dem Labor mit Kits von Randox© (Antrim, Ireland, kit-Nr. RB 1008) analysiert.

2.4 Energiebilanzberechnung

Neben den täglichen Angaben der Milchleistung, der Milchinhaltstoffe, des Lebendgewichtes und der Futteraufnahme werden die Trockensubstanzgehalte (TS) der TMR zur Berechnung der Energiebilanz benötigt. In dem Versuchszeitraum erfolgt zweimal pro Woche die Messung der Trockensubstanz aus einer Mischprobe des vorgelegten Mischfutters mit Hilfe des Trockensubstanz-Analysators Q-Dry® (Fa. hcs-products GmbH & Co. KG, Hofheim). Mit Hilfe dieser Analysen konnte die Berechnung der täglichen Energiebilanz pro Kuh mittels folgender Gleichung geschätzt werden (GfE 2001, KIRCHGESSNER et al. 2008):

EB (MJ NEL/d) = Energieaufnahme – Energieabgabe

Energieaufnahme = über Futter aufgenommene Frischmasse (kg) x
Trockenmassegehalt des Futters (TM/kg Frischmasse) x
Energiegehalt der TM (MJ NEL /kg TS)

Energieabgabe = $0,293 \times BW^{0,75} + \text{Milchleistung (kg)} \times (0,39 \times \text{Fett (\%)} + 0,24 \times$
 $\text{Eiweiß (\%)} + 0,17 \times \text{Laktose (\%)} + 0,1)$

TM = Trockenmasse

$BW^{0,75}$ = metabolische Körpergröße.

2.5 Statistische Auswertung

Die Datenerfassung und statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm Microsoft Excel 2013 und dem Statistikprogramm von IBM SPSS Statistics Version 22.

Die Auswertung erfolgte in zwei Zeitabschnitten:

A. Der erste Auswertungsabschnitt wurde mit Ende des Jahres 2015 abgeschlossen. Diese Phase beinhaltete den umfangreiche Datenzusammenstellung und den Aufbau der Datenbank sowie folgende Auswertungsbereiche:

- Verlauf der verschiedenen Variablen in dem Beobachtungszeitraum 1. bis 9. (oder zum Teil 10.) Laktationswoche (LW)
- Vergleich der BHB-Werte in Milch (nasschemische Ergebnisse mit den berechneten MIR-Werte) mit den Werten im Serum
- Erstellung von Einzeltiergrafiken als Vorbereitung der Mustererkennungsanalyse
- Entwicklung von Vorhersagemodellen pro Tier zur Vorhersage verschiedener Zielgrößen
 - Klinische Ketosen,
 - Blut-BHB in ersten 9 Wochen p.p. mind. 1 Mal verschiedene Grenzwerte überschritten,
 - Energiebilanz in den ersten 5 bzw. 9 Wochen p.p. nicht bei -10 MJ NEL/Tag und höher,
 - Krankheiten als Folge einer Energiestoffwechselstörung (Mastitis, Endometritis, Klauenrehe, Phlegmone, Nachgeburtverhalten, etc.) oder
 - Verminderte Fruchtbarkeit in der Folgelaktation.
- Auswertung der Datenverläufe sowohl mit Wahrscheinlichkeitsberechnungen als auch logistischer Regression

Die Ergebnisse dieses Auswertungsabschnittes wurden im Rahmen der Präsentation im Ministerium im Dezember 2014 vorgestellt. Da die Ergebnisse nicht zufriedenstellend waren im Hinblick auf das angestrebte Ziel, ob BHB in der Milch (mit FTIR gemessen) geeignet ist, im postpartalen Zeitraum Energiestoffwechselstörungen verschiedener Ausprägungsmöglichkeiten vorherzusagen, werden diese Ergebnisse nicht nochmal im Folgenden erläutert.

B. In dem zweiten Auswertungsabschnitt wurden die einzelnen Daten nicht mehr als Messwiederholungen pro Tier betrachtet, sondern jeder Datensatz pro Woche und pro Tier für sich. D.h. es lagen 585 Datensätze mit entsprechenden Milch-, Blutinhaltsstoffen, Fütterungsdaten und weiteren tierindividuellen Daten zur Verfügung. Als ersten Auswertungsschritt wurden die Zielgrößen definiert, die mit entsprechenden Modellen vorhergesagt werden sollten.

Da die Variablen „BHB-Gehalt im Blut“ und „Energiebilanz“ nur unter bestimmten Bedingungen (Futterwiegeeinrichtungen) oder mit zusätzlichem Aufwand (Blutentnahme) erhoben werden können, wurden diese beiden Variablen als Zielgrößen definiert, für die im Weiteren Vorhersagemodelle entwickelt wurden. Als Methode zur Entwicklung der Modelle wurde die multivariable lineare Regressionsanalyse gewählt, da sie gegenüber der von Friggens et al. (2007) und McParland et al. (2011, 2012, 2014, 2015) angewandten Partial Least Squares (PLS) Methode (zur Auswertung von Spektraldaten) die Vorteile hat, dass

- in der finalen Regressionsgleichung die relevanten Einzelprädiktoren wiederzufinden sind, welche zuvor in die Analyse mit eingegangen sind (und keine errechnete, nicht zuzuordnen bare Faktoren wie bei der PLS-Methode). Damit ist die Bedeutung einzelner Milchinhaltstoffe, Tierdaten und/oder Spektren interpretierbar und
- eine inferenzstatistische Absicherung möglich ist.

Im ersten Schritt wurden Korrelationen zwischen den beiden Zielgrößen und sämtlichen weiteren Variablen (Milchinhaltstoffe, Spektraldaten pro Probe und den tierindividuellen Daten) mit Hilfe des Spearman-Korrelationsanalyse berechnet, da die beiden Zielgrößen sowie auch teilweise die übrigen Variablen nicht normalverteilt waren. Die Normalverteilung wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test getestet ($p > 0,10$). Variablen, die signifikant mit den Zielgrößen ab $r = 0,10$ korrelierten, wurden mit in die linearen Regressionsmodellansätze aufgenommen.

Im Folgenden wurden mehrere Regressionsmodelle zur Vorhersage/Schätzung der beiden Zielgrößen angesetzt. Dafür wurden neben den tierindividuellen Daten sowohl die reinen Spektraldaten in die Modelle integriert/kombiniert, als auch die (mit Hilfe von Algorithmen) berechneten Milchinhaltstoffe aus den Spektraldaten (insgesamt mehr als 100 Modelle mit mehr als 1.000 Variablen pro Model). Innerhalb der Regressionsmodellanalyse wurde zunächst die „Schrittweise-Methode“ und zur Überprüfung der finalen Modelle die

„Einschlussmethode“ verwendet. Mit Hilfe der Multikollinearitätsstatistik von SPSS konnte ausgeschlossen werden, dass bei den finalen Regressionsmodellen eine Multikollinearität vorlag, da entsprechend der Empfehlung von Urban & Mayerl (2006) jeweils der Toleranzwert unter 0,25 und der Variance Inflation Factor (VIF) nicht über 5,0 lag.

Zusammen mit den Gleichungen der finalen Regressionsmodelle werden im Ergebnisteil auch die standardisierten Regressionskoeffizienten β (Beta) der einzelnen unabhängig Variablen aufgezeigt. Die β -Koeffizienten kompensieren den Einfluss der unterschiedlichen Einheiten und Wertebereiche der unabhängigen Variablen und zeigen somit die Bedeutung der jeweiligen unabhängigen Variablen zur Erklärung/Vorhersage der Zielgröße auf. Wenn ihr Wert zwischen -1 und 1 liegt – bei den finalen Regressionsgleichungen der vorliegenden Studie gegeben – ist das ein weiterer Indikator dafür, dass eine Multikollinearität zwischen unabhängigen Variablen ausgeschlossen werden kann.

Die Bestimmtheitsmaße R^2 waren das entscheidende Kriterium, die finalen Regressionsmodelle zur Vorhersage der beiden Zielgrößen festzulegen. Die Gleichungen der finalen Modelle werden wie folgt dargestellt:

$$Y = a_0 + a_1 x_1 + a_2 x_2 + a_3 x_3 + \dots + a_i x_i$$

Y: Zielgröße (unabhängige Variable)

a_0 : Konstante

a_1 bis a_i : Regressionskoeffizient mit i = Nummer der abhängigen/erklärenden Variablen

x_1 bis x_i : erklärende Variablen

Zur Erklärung/Schätzung der Zielgröße EB wurde der Untersuchungszeitraum nach der Kalbung in zwei Zeitabschnitte eingeteilt: 1. – 4. Laktationswoche (LW) und 5. - 10. LW. Aus physiologischen Gründen wurden zur Schätzung der Zielgröße BHB im Serum nur die Daten der 1. – 4. LW zugrundegelegt, da ketotische Zustände in der Regel in diesen Wochen nach der Kalbung zu erwarten sind und nicht in späteren Laktationswochen.

Um gegebenenfalls für Färsen und mehrkalbige Kühe verschiedene Regressionsmodelle zu ermitteln, wurde zunächst mittels einem Gemischten Modell (bei einer gegebenen Varianzhomogenität, mit Levene-Test getestet) der Einfluss dieser Paritätsunterscheidung, dem zeitlichen Verlauf in den betrachteten Zeitabschnitten sowie deren Wechselwirkungen als fixe Effekte und dem Einzeltier als zufälliger Effekt untersucht.

Das Signifikanzniveau lag bei $p \leq 0,05$. Die grafische Darstellung erfolgte mit Mittelwerten und Standardfehlern.

Im nächsten Auswertungsschritt wurden die Qualität und die Validität der finalen Regressionsmodelle im Hinblick auf die Integration in den monatlichen MLP-Bericht überprüft. Dafür wurden die Kenngrößen Sensitivität, Spezifität, Youden-Index (= Sensitivität

+ Spezifität – 1), positiver und negativer Vorhersagewert mit den gegebenen Daten, d.h. bei der in dieser Herde vorliegenden Auftretungshäufigkeit der Grenzwertüberschreitungen des BHB-Gehaltes im Blut in den ersten vier Laktationswochen und der Grenzwertunterschreitung der EB in den ersten vier sowie der 5. bis 10. Laktationswoche, ermittelt. Für diese Berechnung müssen Grenzwerte für BHB im Blut und EB herangezogen werden. Für BHB im Blut wurde der Grenzwert 1.200 $\mu\text{mol/L}$ angesetzt (siehe Kapitel 1.3.1), Für die EB liegen aus der Literatur keine vergleichbaren Grenzwerte vor. Aus diesem Grund wurden Grenzwerte aus dem eigenen Datensatz ermittelt, da ausreichend Daten/Informationen über den Fütterungs- und Energiestatus der Tiere vorlagen. Wie von Kraft & Dürr (1999) empfohlen, werden die mathematisch errechneten Referenzbereiche im Allgemeinen von „gesunden“ Probanden berechnet, in dem (bei nicht-normalverteilten Daten) der Cut-Off-Wert oberhalb des 5 %-Perzentils gezogen wird. Dadurch werden immer einige (5 %) „gesunde“ Tiere mit einkalkuliert, deren Werte in dem Wertebereich der „kranken“ Tiere liegen. Zur Berechnung eines Referenzwertes für die EB (bzw. die negative EB) wurden nur die nicht-ketotischen Tiere zugrundegelegt. Eine Kuh wurde als ketotisch eingestuft, wenn sie gegen Ketose behandelt wurde ($n = 2$) und/oder mindestens einmal der BHB-Gehalt über 1.400 $\mu\text{mol/L}$ im Serum lag. Die für EB ermittelten Grenzwerte sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tab. 4: Aus den eigenen Daten ermittelte EB-Grenzwerte für Färsen und mehrkalbige Kühe

		n	Mittelwert (SEM) (MJ NEL)	Grenzwert (MJ NEL)
Färsen	≤ 4 LW	47	- 25,3 (22,2)	-46,9
	5 - 10 LW	91	- 4,2 (19,0)	-24,2
Mehrkalbige Kühe	≤ 4 LW	106	- 48,5 (35,2)	-82,4
	5 - 10 LW	194	- 16,5 (26,1)	-40,4

3 Ergebnisse

Für die statistischen Analysen standen 585 auswertbare wöchentliche Milch- und Blutproben von 65 Milchkühen in ersten 10 Wochen p.p. zur Verfügung. Zunächst wurden von verschiedenen Leistungsdaten und Milchinhaltsstoffe die Mittelwerte und Standardfehler (SEM) berechnet, die in der folgenden Tabelle 5 aufgeführt sind.

Tab. 5: Leistungsdaten und Milchinhaltsstoffe der Versuchstiere (Mittelwerte \pm Standardfehler) der Färsen oder Kühe sowie der Tiere die im Versuchszeitraum beim BHB-Gehalt im Serum unter oder mindestens einmal 1.200 $\mu\text{mol/L}$ BHB lagen.

		Färsen	Kühe	Serum BHB < 1.200 $\mu\text{mol/L}$	Serum BHB ≥ 1.200 $\mu\text{mol/L}$
Kühe (n)	65	20	45	48	17
Anzahl (n)	585	180	405	432	153
Laktationsnummer	2,9 (0,1)	1 ^a	3,8 (0,08) ^b	2,9 (0,2) ^a	3,2 (0,1) ^b
Milchmenge (kg)	37,6 (0,5)	29,6 (0,5) ^a	41,2 (0,3) ^b	37,0 (0,4) ^a	39,4 (0,7) ^b
Vorlaktationsleistung (kg)	31,1 (0,2)	-	31,1 (0,2)	30,3 (0,4) ^a	32,8 (0,3) ^b
Blut BHB ($\mu\text{mol/L}$)	600,9 (15,8)	579,2 (33,5)	610,5 (17,3)	541,38 (9,2) ^a	892,79 (75,5) ^b
Fett (%)	4,1 (0,03)	3,9 (0,05) ^a	4,2 (0,04) ^b	4,0 (0,03) ^a	4,4 (0,1) ^b
Protein (%)	3,2 (0,02)	3,1 (0,02) ^a	3,2 (0,02) ^b	3,2 (0,02) ^a	3,0 (0,03) ^b
Fett-Eiweiß Quotient (FEQ)	1,3 (0,01)	1,3 (0,02) ^a	1,3 (0,01) ^b	1,3 (0,01) ^a	1,5 (0,03) ^b
MIR BHB (mmol/L)	0,03 (0,002)	0,03 (0,004)	0,03 (0,003)	0,03 (0,002) ^a	0,05 (0,008) ^b
MIR Myristinsäure (C14:0/100g Milch)	0,36 (0,004)	0,33 (0,005) ^a	0,37 (0,004) ^b	0,36 (0,004)	0,36 (0,006)
MIR Palmitinsäure (C16:0/100g Milch)	1,1 (0,01)	1,04 (0,01) ^a	1,1 (0,01) ^b	1,07 (0,01)	1,1 (0,02)
MIR Stearinsäure (C18:0/100g Milch)	0,56 (0,01)	0,55 (0,01)	0,56 (0,01)	0,54 (0,01) ^a	0,61 (0,01) ^b
MIR Ölsäure (C18:1/100g Milch)	1,1 (0,01)	1,04 (0,02)	1,06 (0,02)	1,01 (0,01) ^a	1,2 (0,03) ^b
TMR (kg TM/Tag)	18,1 (0,2)	15,7 (0,2) ^a	19,3 (0,2) ^b	18,2 (0,2)	17,8 (0,4)
Energieaufnahme (MJ)	133,6 (1,3)	114,9 (2,0) ^a	142,7 (1,5) ^b	134,7 (1,4)	130,3 (3,02)
Energiebilanz (MJ NE _L)	-25,6 (1,4)	-13,2 (1,8) ^a	-31,4 (1,8) ^b	-22,4 (1,6) ^a	-36,9 (3,02) ^b

^{a, b} Innerhalb einer Zeile weisen unterschiedliche Hochbuchstaben auf signifikante Unterschiede hin ($P < 0.05$).

3.1 Simple Berechnung der Energiebilanz für Färsen und Kühe

Entsprechend der energetischen Stoffwechselsituation in der ersten Laktationswochen verlief die EB der beprobten Färsen und Kühe wie in der folgenden Abbildung mit Mittelwerten und Standardfehler dargestellt. Die Ergebnisse des linearen gemischten Modells zeigten, dass sich die EB der Färsen über den gesamten Untersuchungszeitraum signifikant höher lag als die der mehrkalbigen Kühe, wie auch in der Abbildung 5 erkennbar ist. Aus diesem Grund wurden im Folgenden für die beiden Altergruppen unterschiedliche Regressionsmodelle berechnet. Des Weiteren wurden der Zeitraum 1.-4. Laktationswoche und der Zeitraum 5.-10. Laktationswoche getrennt betrachtet, da sich der Verlauf der EB in diesen beiden Abschnitten deutlich voneinander unterscheidet (insgesamt hatte die Zeit einen signifikanten Einfluss). In den ersten vier Laktationswochen hatte jedes Tier einmal eine reguläre monatliche Milchleistungsprüfung.

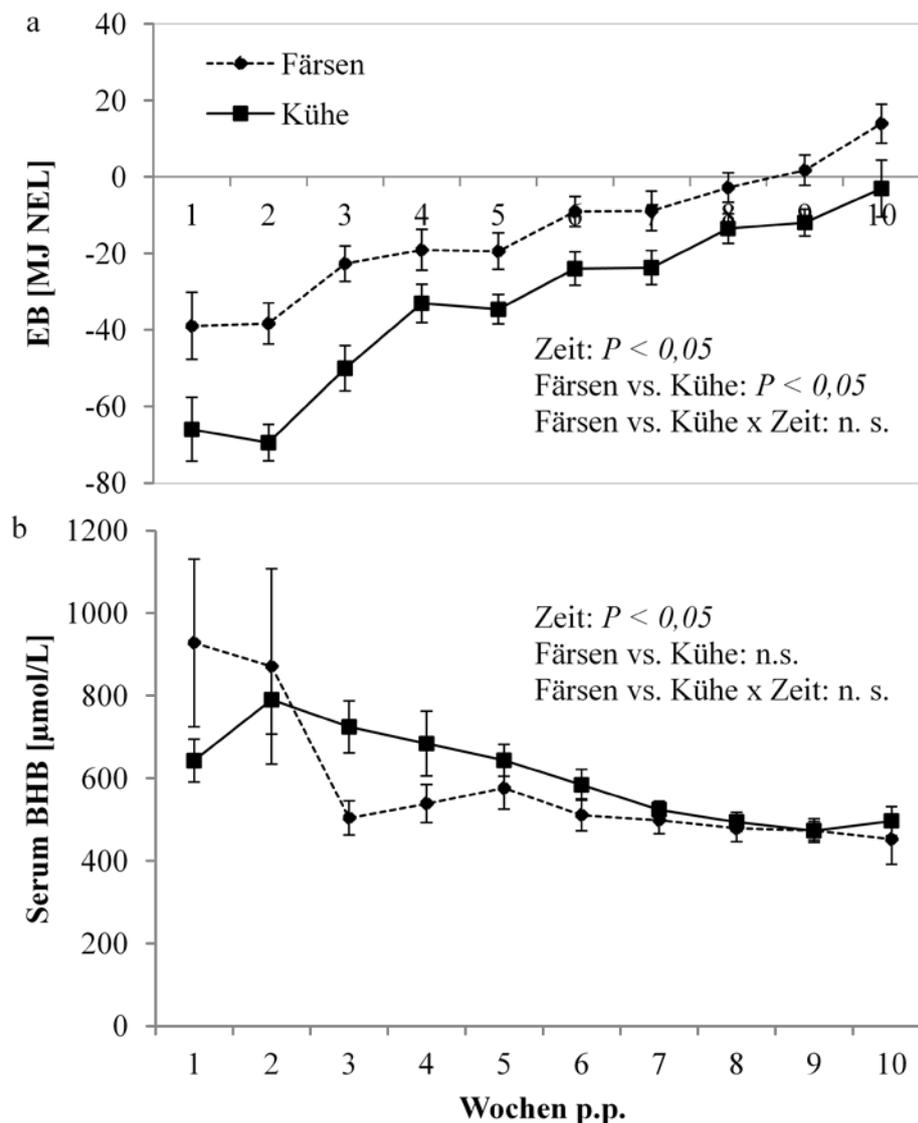


Abb. 5: Verlauf der Serum EB (a) und der BHB-Gehalte im Serum (b) (Mittelwert \pm Standardfehler), Vergleich der Färsen ($n = 20$) mit den Kühen ($n = 45$).

Mit der ersten finalen Regressionsgleichung wurde die Energiebilanz für die Färsen in den ersten vier Laktationswochen geschätzt. Die Regressionsgleichung MIR BHB-Gehalt, die Tagesmilchleistung, den Laktationstag sowie die Extinktionswerte von vier Wellenlängen.

$$EB_{\text{Färsen 1-4 LW}} = 133,916 - 1,823 * \text{Tagesmilchleistung (kg/d)} - 177,424 * \text{MIR BHB-Gehalt (mmol/L)} + 0,975 * \text{Laktationstag} - 98,578 * \text{AW bei Wellenlänge 417} + 7,53 * \text{AW bei Wellenlänge 843} - 4,869 * \text{AW bei Wellenlänge 864} + 100,529 * \text{AW bei Wellenlänge 915} - 96,693 * \text{AW bei Wellenlänge 933}$$

Das Bestimmtheitsmaß dieses Regressionsmodells lag bei $R^2 = 0,826$ ($P < 0,001$). Der standardisierte Regressionskoeffizient β zeigte, dass die Tagesmilchleistung den höchsten Einfluss auf die Zielvariable "EB_{Färsen 1-4 LW}" hat ($\beta = -0,517$), gefolgt von dem AW der Wellenlänge 915 ($\beta = 0,434$), dem MIR BHB-Gehalt ($\beta = -0,326$), dem Laktationstag ($\beta = 0,313$) und den AW der übrigen vier Wellenlängen.

Zur Vorhersage der EB bei den Färsen im zweiten untersuchten Laktationsabschnitt (5.-10. LW) waren hingegen die MIR Ölsäure-Gehalt (18:1) und die Tagesmilchleistung sowie die Extinktionswerte von sechs Wellenlängen Bestandteile des finalen Modells ($R^2 = 0,713$, $P < 0,001$):

$$EB_{\text{Färsen 5-10 LW}} = 45,516 - 77,392 * \text{MIR Ölsäure-Gehalt (g/100 g Milchfett)} - 0,669 * \text{Tagesmilchleistung (kg/d)} - 8,367 * \text{AW bei Wellenlänge 833} + 5,84 * \text{AW bei Wellenlänge 845} - 9,117 * \text{AW bei Wellenlänge 849} + 4,281 * \text{AW bei Wellenlänge 875} - 35,659 * \text{AW bei Wellenlänge 904} + 73,123 * \text{AW bei Wellenlänge 915}$$

Im Vergleich zu allen anderen finale Modellen hatte die MIR Ölsäure-Gehalt in diesem Modell den höchsten β -Wert ($\beta = -0,762$), d.h. den höchsten Einfluss auf die Zielvariable, gefolgt von dem AW der Wellenlänge 915 ($\beta = 0,331$) und den weiteren übrigen fünf Wellenlängen. Der Einfluss der Tagesmilchleistung war bei diesem Modell gering ($\beta = -0,177$).

Die Regressionsgleichungen zur Schätzung der EB bei den mehrkalbigen Kühen in den ersten vier Laktationswochen enthielt – im Gegensatz zu der Gleichung für die Färsen – den MIR Ölsäure. Sie bestand des Weiteren aus den Komponenten: Tagesmilchleistung, Laktationstag sowie dem AW der Wellenlänge 613 ($R^2 = 0,547$, $P < 0,001$):

$$EB_{\text{Kühe 1-4 LW}} = 1.490,989 - 53,515 * \text{MIR Ölsäure-Gehalt (g/100 g Milchfett)} - 1,696 * \text{Tagesmilchleistung (kg/d)} + 1,214 * \text{Laktationstag} - 1.380,838 * \text{AW bei Wellenlänge 613}$$

Der standardisierte Regressionskoeffizient β zeigte, dass der MIR Ölsäure-Gehalt den höchsten Einfluss auf die Zielvariable "EB_{Kühe 1-4 LW}" hat ($\beta = -0,517$), gefolgt von der

Tagesmilchleistung ($\beta = -0,290$), dem Laktationstag ($\beta = 0,238$) und dem AW der Wellenlänge 613 ($\beta = -0,186$).

Das Regressionsmodell für die mehrkalbigen Kühe in der 5.-10. Laktationswoche enthielt ebenfalls die MIR Ölsäure, außerdem die Tagesmilchleistung sowie die Extinktionswerte von fünf verschiedenen Wellenlängen (aber anderen als in dem entsprechenden Modell für die Färsen) ($R^2 = 0,565$, $P < 0,001$):

$$EB_{\text{Kühe 5-10 LW}} = 534,551 - 50,492 * \text{MIR Ölsäure-Gehalt (g/100 g Milchfett)} - 1,768 * \text{Tagesmilchleistung (kg/d)} - 330,047 * \text{AW bei Wellenlänge 389} + 42,14 * \text{AW bei Wellenlänge 902} - 91,58 * \text{AW bei Wellenlänge 923} + 81,639 * \text{AW bei Wellenlänge 939} - 103,67 * \text{AW bei Wellenlänge 950}$$

Auch bei diesem Modell hatte der MIR Ölsäure-Gehalt den höchsten Einfluss auf die Zielvariable, wobei der standardisierte Regressionskoeffizient ($\beta = -0,406$) geringer war als bei Gleichung 1, gefolgt von der Tagesmilchleistung ($\beta = -0,363$) und den AW der Wellenlängen.

3.2 Simplex Screening einzelner Kühe mit dem Risiko einer erhöhten BHB-Konzentration im Blut

Wie in Abbildung 6 erkennbar, zeigte sich kein Unterschied in dem Verlauf des Serum BHB-Gehaltes von Färsen und Kühen. Aus diesem Grund konnte für alle Altersgruppen ein gemeinsames Regressionsmodell für die ersten vier Laktationswochen, dem Risikozeitraum für Ketosen, entwickelt werden. Das finale Regressionsmodell enthielt die Komponenten MIR BHB, MIR Stearinsäure (18:0) und die Extinktionswerte von zwei Wellenlängen ($R^2 = 0,418$, $P < 0,001$):

$$BHB_{1-4 LW} = - 4.432,886 + 1.111,16 * \text{MIR Stearinsäure-Gehalt (g/100 g Milchfett)} + 2.018,58 * \text{MIR BHB-Gehalt (mmol/L)} + 24,3 * \text{Laktationsnummer} + 4.937,554 * \text{AW bei Wellenlänge 773} - 75,378 * \text{AW bei Wellenlänge 870}$$

Der MIR Stearinsäure-Gehalt hatte in diesem Model die höchsten Einfluss die Zielvariable $BHB_{1-4 LW}$ vorherzusagen ($\beta = 0,34$), gefolgt von MIR BHB-Gehalt ($\beta = 0,316$) und den AW der beiden Wellenlängen.

In der folgenden Abbildung 6 werden die Verläufe der tatsächlichen und der mit den Regressionsgleichungen geschätzten EB für die Färsen und die mehrkalbigen Kühe von der 1.-10. Laktationswoche sowie der mit den Regressionsgleichungen geschätzte BHB-Gehalt im Serum von der 1.-4. Laktationswoche mit einander verglichen.

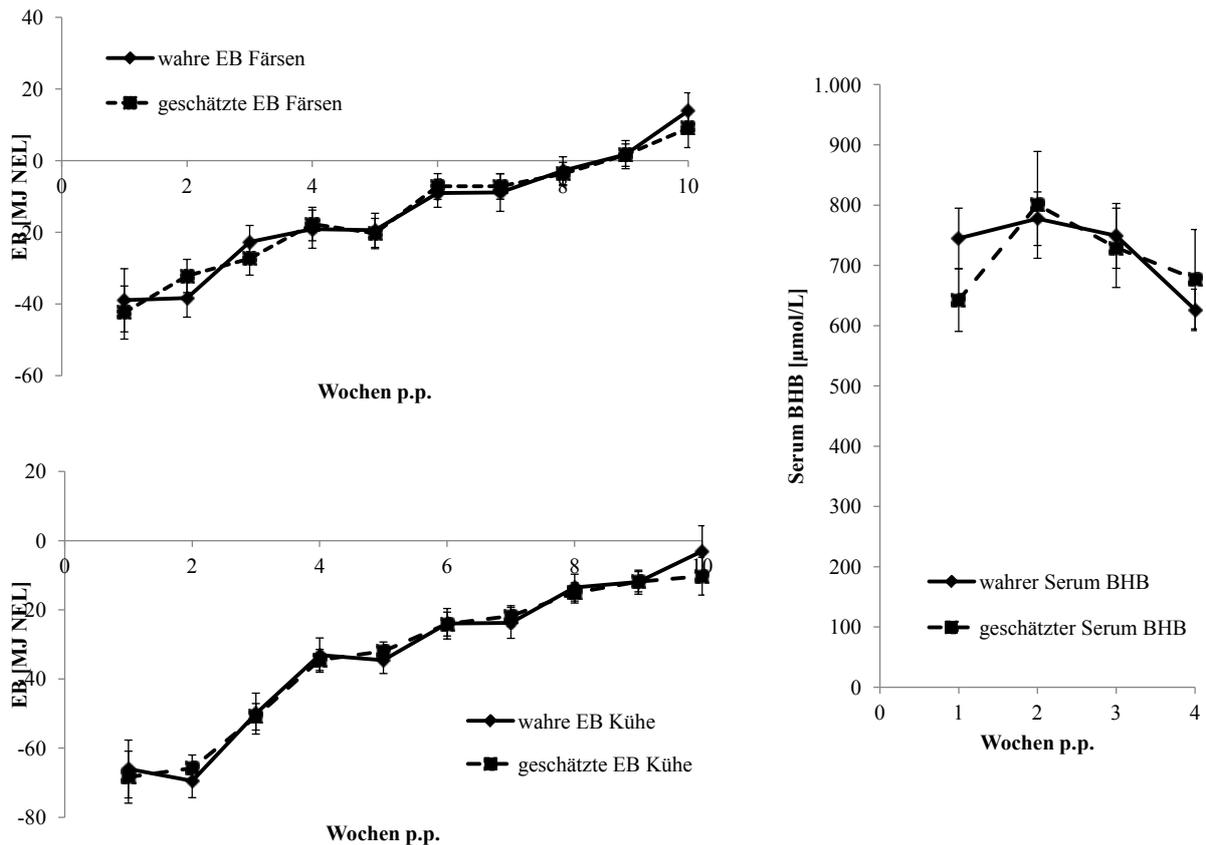


Abb. 6: Vergleich der tatsächlichen und der mit den Regressionsgleichungen geschätzten EB für die Färsen (a) und die mehrkalbigen Kühe (b) von der 1.-10. Laktationswoche sowie der mit den Regressionsgleichungen geschätzte BHB-Gehalt im Serum (c) von der 1.-4. Laktationswoche (Mittelwert \pm Standardfehler).

Der Korrelationskoeffizient für die EB der Färsen lag bei $r = 0,89$ ($P < 0,01$), für die Energiebilanz der mehrkalbigen Kühe bei $r = 0,83$ ($P < 0,01$) und für den Serum BHB-Gehalt bei $r = 0,56$ ($P < 0,01$)

3.3 Validität der Regressionsmodelle

Die zu den fünf Regressionsgleichungen gehörenden Kenngrößen Sensitivität und Spezifität sowie die beiden von der Auftretenshäufigkeit abhängigen Vorhersagewerte sind in der folgenden Tabelle dargestellt. Die Kenngrößen sind von den jeweiligen Grenzwerten, die für die vorherzusagende EB und den vorherzusagenden Serum BHB-Gehalt angenommen oder gegeben sind, abhängig. Mit Hilfe der Grenzwerte wird der Wertebereich eines Messwertes (in der eigenen Studie der EB und des Serum-BHB-Gehaltes) definiert, ab dem eine Maßnahme (z.B. durch den Betriebsleiter) erforderlich ist, um wieder den Zustand des Normalbereichs zu erreichen. Die für die eigene Studie angenommenen bzw. aus der Literatur gegebenen Grenzwerte sind in Tabelle 4 (Kapitel 2.5) definiert. Von dem Grenzwert ist dann auch die jeweilige Auftretenshäufigkeit des Ereignisses, dass der „Normalbereich“ nicht erreicht wird, abhängig. Die folgenden beiden Abbildungen zeigen die jeweiligen

Streudiagramme zu den fünf Regressionmodellen (Abbildung 7 die Streudiagramme zu den vier EB-Regressionmodellen, Abbildung 8 das Streudiagramm zu dem BHB-Serum-Modell). Innerhalb eines jeden Streudiagramms sind durch das Einzeichnen der jeweiligen Grenzwerte die Felder der richtig positiven und richtig negativen sowie die der falsch positiven und der falsch negativen Fälle zu erkennen.

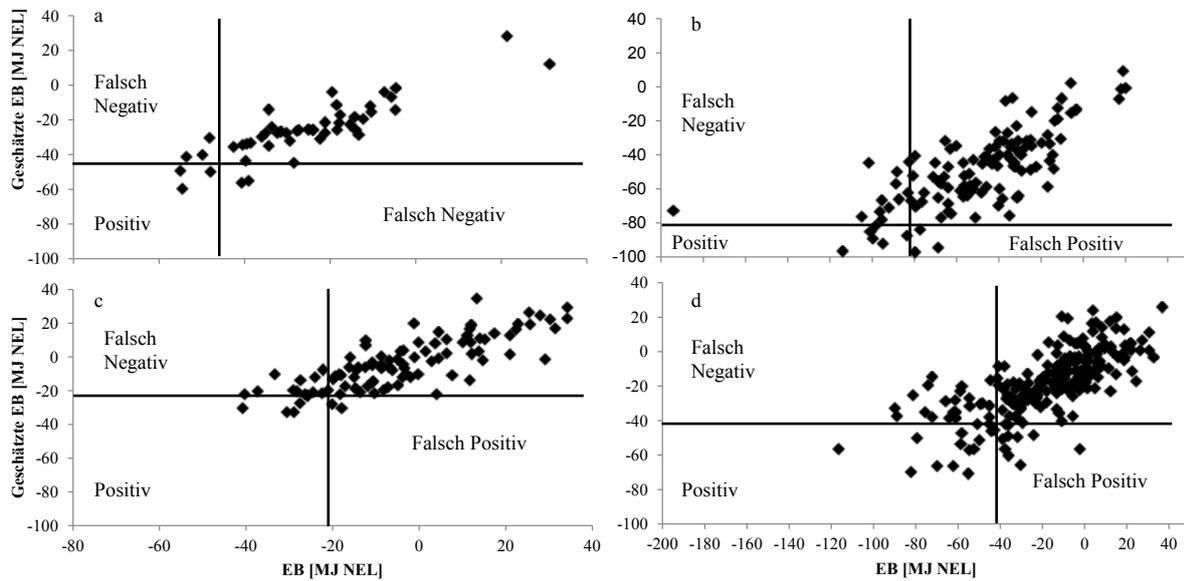


Abb. 7: Streudiagramme mit der vorhergesagten (falsch negativen, negativen, positiven und falsch positiven) EB-Werte im Vergleich zu berechneten EB (a) Färsen in der 1.-4. LW mit dem Grenzwert -46,9 MJ NEL, (b) Kühe in der 1.-4. LW mit dem Grenzwert 82,4 MJ NEL, (c) Färsen in der 5.-10. LW mit dem Grenzwert 20,4 MJ NEL, (d) Kühe in der 1.-4. LW mit dem Grenzwert -40,4 MJ NEL

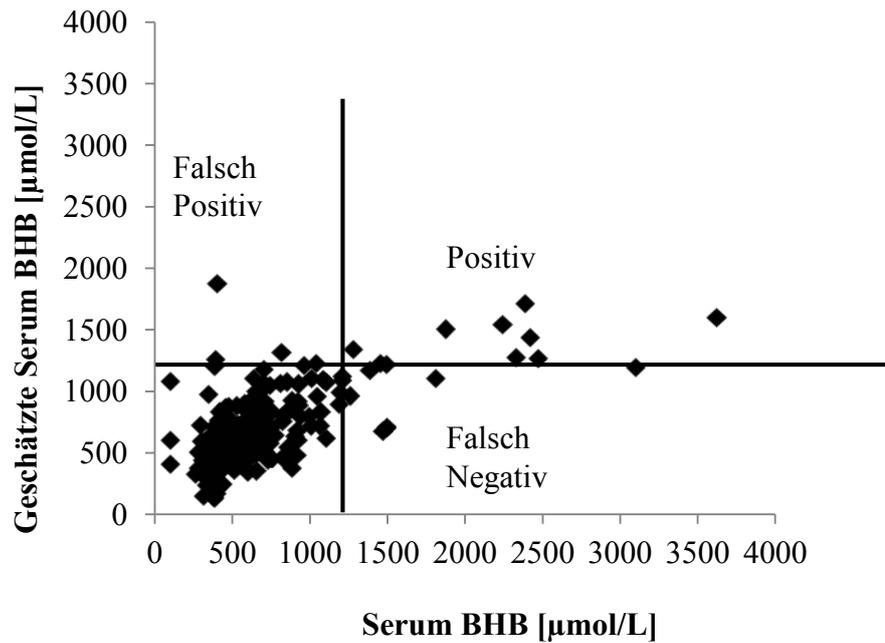


Abb. 8: Streudiagramm mit der vorhergesagten (falsch negativen, negativen, positiven und falsch positiven) Blut-BHB-Konzentration im Vergleich zu den analysierten Blut-BHB-Konzentrationen bei dem Grenzwert 1.200 µmol/L

Aus den Verteilungen in den Streudiagrammen ergeben sich die in der folgenden Tabelle 6 dargestellten Auftretenshäufigkeiten und Kenngrößen der fünf Regressionsgleichungen bei den jeweiligen Grenzwerten.

Tab. 6: Validität der fünf Regressionsmodelle

	Laktations- woche	R ² *	Grenz- wert	Auftretens- häufigkeit in der Herde	Sensitivität	Spezifität	Pos. Vorher- sagewert	Neg. Vorher- sagewert
EB Färsen	1.-4. LW	0,83	-46,9 MJ NEL	17 %	67 %	95 %	75 %	93 %
	5.-10. LW	0,71	-20,4 MJ NEL	23 %	75 %	94 %	78 %	93 %
EB Kühe	1.-4. LW	0,55	-82,4 MJ NEL	19 %	46 %	97 %	79 %	88 %
	5.-10. LW	0,57	-40,4 MJ NEL	20 %	44 %	93 %	61 %	87 %
BHB Serum	1.-4. LW	0,42	1.200 µmol/L	8 %	56 %	97 %	63 %	96 %

*R² des jeweiligen Regressionsmodells

3.4 Vergleich mit dem etablierten Fett-Eiweiß-Quotient (FEQ)

Zur Beschreibung der energetischen Stoffwechselsituation des Einzeltieres stand bisher nur der FEQ im Rahmen der Milchleistungsprüfung zur Verfügung. Im Folgenden wurden die Sensitivitäten und Spezifitäten innerhalb der betrachteten Populationen (Färsen oder Kühe, 1.-4. LW oder 5.-10. LW) bei den jeweiligen Grenzwerten von den eigenen Regressionsmodellen mit dem „klassischen“ FEQ bei dem Grenzwert 1,5 gegenübergestellt und verglichen (siehe Tabelle 7).

Tab. 7: Vergleich der Validitätskenngrößen der eigenen Regressionsmodelle mit dem „klassischen“ FEQ

	Regressionsmodelle				FTP (Grenzwert 1,5)		
	Grenzwert	Sensitivität	Spezifität	Youden-Index*	Sensitivität	Spezifität	Youden-Index*
EB _{Färsen 1-4 LW}	-46,9 MJ NEL	67 %	95 %	0,62	36 %	89 %	0,25
EB _{Färsen 5-10 LW}	-20,4 MJ NEL	75 %	94 %	0,70	9 %	95 %	0,04
EB _{Kühe 1-4 LW}	-82,4 MJ NEL	46 %	97 %	0,43	40 %	94 %	0,34
EB _{Kühe 5-10 LW}	-40,4 MJ NEL	44 %	93 %	0,37	27 %	92 %	0,19
BHB _{1-4 LW}	1.200 μmol/L	56 %	97 %	0,53	43 %	89 %	0,31

* Youden-Index = Sensitivität + Spezifität – 1

Der bei den eigenen Regressionsmodellen höhere Youden-Index, welcher die beiden Kenngrößen zusammenfasst, aber auch jeweils die meist höheren Sensitivitäten und Spezifitäten machen deutlich, dass die eigenen EB- und BHB-Serum-Vorhersagewerte mehr von den energetisch belasteten Tieren im Vergleich zu dem FEQ aufzeigen können.

4 Diskussion

Ziel der vorliegenden Studie war es, lineare Regressionsmodelle zu entwickeln, mit deren Hilfe im Rahmen der monatlichen Milchleistungsprüfung (MLP) ein Monitoring des Energiestatus der Kühe mittels der EB sowie des BHB-Gehaltes im Blut in der ersten (entscheidenden) Laktationswochen möglich ist. Die Motivation für diese Monitoringmethode bestand darin, das Potential der MIR Spektraldaten (pro Milchprobe über 1.200 Einzelwerte, so dass – im Hinblick auf die Anzahl täglicher MLP-Proben pro LKV-Labor – die Bezeichnung einer BigData-Datenbank gerechtfertigt erscheint) weiter zu nutzen zur Vorhersage des Energiestatus der Milchkuh in den ersten, entscheidenden Laktationswochen nach der Kalbung. Die Ursachen für einen belastenden Energiestoffwechsel in dieser Zeit wären zwar in erster Linie in der Zeit vor und während des Trockenstehens, d.h. vor der Kalbung zu suchen, aber in den ersten Wochen kann entweder durch Fütterungs- oder spezielle Einzeltiermaßnahmen (z.B. durch eine zusätzliche Verabreichung von Glycerin oder Propylenglycol) die Belastung abgefangen/gemildert und damit ggfs. eine Ketose und weitere Stoffwechsel- und der Folgekrankheiten verhindert werden.

Mit den in Kapitel 3.1 gezeigten vier Regressiongleichungen kann die EB der Färsen und der mehrkalbigen Kühe in den beiden Abschnitten 1.-4. und 5.-10. Laktationswoche vorhergesagt werden.

Die Trennung der Zeitabschnitte zwischen der 4. und 5. Laktationswoche wurde von Friggens et al. (2007) empfohlen. Sie entwickelten ein Modell zur Vorhersage der EB in den ersten vier Laktationswochen mit Hilfe der PLS-Methode. Auch McParland et al. (2011) empfehlen eine Unterteilung der Vorhersage des Energiestatus in unterschiedlichen Laktationsabschnitten. Da sie aber in größeren Zeitabständen Proben analysiert haben, empfehlen sie die erste Erhebung des Energiestatus innerhalb der ersten 61 Tage post partum. Ihr PLS-Modell für den frühen Laktationsabschnitt benötigt weniger Faktoren ($n = 12$) für eine maximale Genauigkeit als die Modelle der späteren Laktationsabschnitte mit einem R-Wert (accuracy of prediction) von maximal 0,73 (d.h. $R^2 = 0,53$) zur Vorhersage der EB. Ein Energiedefizit in der ersten Laktationswochen spiegelt sich in einer steigenden Fettmobilisation und damit unter anderem einem erhöhten Fettgehalt in der Milch wieder (Komaragiri et al., 1998), welcher wiederum die (negative) EB weiter verringert.

Nach neun Wochen p.p. erreichten die Färsen in der eigenen Studie eine positive EB ($1.7 \text{ MJ NEL} \pm 3.9$). Im Gegensatz dazu erreichten die meisten Kühe nur knapp den Bereich der positiven EB am Ende der Studie, d.h. in der 10. Laktationswoche ($-3.0 \text{ MJ NEL} \pm 7.4$). Auch andere Studien kamen zu einem vergleichbaren Unterschied zwischen Färsen und Kühen (Canfield et al., 1990; Grummer & Rastani, 2003). Ein größerer Körperfettabbau aufgrund einer höheren Milchleistung bei den mehrkalbigen Kühen im Vergleich zu den Färsen wurde als Grund für das spätere Erreichen einer positiven EB aufgeführt (Lean et al., 1991; Waltner et al., 1993; Ruegg & Milton, 1995; Duffield et al., 1997).

Modelle zur Vorhersage der energetischen Stoffwechselsituation mit Hilfe von Milchinhaltsstoffen wurden bereits zuvor in mehreren Studien entwickelt (Grieve et al., 1986; Heuer et al., 2000; Friggens et al., 2007; McParland et al., 2012; McParland et al., 2011; McParland et al., 2012; McParland et al., 2015; McParland et al., 2014). In der Vergangenheit spielte dabei besonders der FEQ eine Rolle, da er im engen Zusammenhang zum Körperfettabbau bei einer negativen EB steht und die Inhaltsstoffe Fett und Eiweiß im Rahmen der monatlichen Milchleistungsprüfung zur Verfügung stehen (Grieve et al., 1986; Duffield et al., 1997; Cejna & Chládek, 2005). Grieve et al. (1986) Grieve et al. ermittelten bereits 1986, dass der FEQ mit der EB negativ korrelierte ($r = -0,36$ bis $-0,74$; $P < 0,05$), wobei die Korrelationen besser waren als nur jeweils mit Fett oder Protein an sich. In der eigenen Studie wurden vergleichbare Korrelationen wöchentlich in den ersten 10 Wochen p.p. gefunden ($-0,38$ bis $-0,85$; $P < 0,05$). Kühe mit einem FEQ über 1.5 haben ein höheres Risiko an Ketose und damit auch an Mastitis oder Lahmheiten zu erkranken (Heuer et al., 1999). In der eigenen Studie wurden die Tiere mit einem $FEQ \geq 1,5$ 1,8-mal häufiger gegen eine Lahmheits- oder Reproduktionserkrankung behandelt, als Tiere mit einem $FEQ < 1,5$ (Daten wurden nicht im Ergebnisteil gezeigt). In einer Studie von Heuer et al. (2000) wurde ein Regressionsmodell zur Vorhersage der EB (mit einem Grenzwert von $< -20,5$ MJ NEL) eine Sensitivität von 51 % und eine Spezifität von 87 % berechnet. Der FEQ war eine der Variablen für die multiple Regression (mit dem Grenzwert $> 1,5$) (Heuer et al. (2000). Denis-Robichaud et al. (2014) entwickelten ein multivariates logistisches Regressionsmodell zur Vorhersage einer Ketose (Hyperketonämie), die dann vorlag, wenn der Blut-BHB-Gehalt über dem Grenzwert 1.400 $\mu\text{mol/L}$ lag. Der FEQ stellte eine der erforderlichen Variablen des Modells dar (mit dem Grenzwert $\geq 1,3$). Die Sensitivität lag bei 69 %. In der eigenen Studie war der FEQ nicht Bestandteil in den Vorhersagemodellen für die EB. Ein Vergleich der Sensitivitäten und Spezifitäten der eigenen Modelle mit denen des FEQ (mit dem Grenzwert $> 1,5$) zur Erkennung der Über- oder Unterschreitens der EB-Grenzwerte ergab, dass die Validitätskriterien der eigenen Modelle zum Teil deutlich über denen des FEQ lagen (Sensitivitäten 9% - 40 % vs. 44% -75 %, Spezifitäten 89 % -95 % vs. 93 % -97%).

Van Knegsel et al. (2010) und van der Drift et al. (2012) ermittelten ebenfalls höhere Sensitivitäten für ihre Modelle zur Vorhersage einer Hyperketonämie (bei einem Blut-BHB-Gehalt ≥ 1.200 $\mu\text{mol/L}$) im Vergleich zu den FEQ-Werte (80 % und 82,4% vs. 66 % (mit dem FEQ-Grenzwert $> 1,5$) and 64 % (mit dem FEQ-Grenzwert $> 1,43$). Die Sensitivitäten der eigenen Studie lagen bei 56 % mit dem Regressionsmodell und bei 43 % mit dem FEQ-Wert zur Vorhersage des Blut-BHB-Gehaltes. Die Spezifitäten im Vergleich zu den FEQ-Werten lagen bei dem Modell von van der Drift et al. (2012) ebenfalls höher (83 % vs. 76 %), bei van Knegsel et al. (2010) waren sie gleich (71 %), In der eigenen Studie lagen die Spezifitäten bei 97 % (mit dem Regressionsmodell) und 89 % (mit dem FEQ). Eine Erhöhung der Sensitivität (bei gleichzeitiger Verringerung der Spezifität) kann durch eine Anpassung des Grenzwertes erfolgen. Dieses sollte bei der Verifizierung der eigenen Regressionsmodelle in zukünftigen Untersuchungen mit in Betracht gezogen werden.

Um die Validitätskriterien mit der EB-Vorhersagemodelle mit denen des FEQ zu vergleichen, war die Ermittlung von Grenzwerten für die EB erforderlich. In der eigenen Studie wurden diese entsprechend der Vorgaben von Kraft & Dürr (1999) mit dem 5 %-Perzentil für nicht-ketotische Färsen und mehrkalbige Kühe berechnet. Da die mehrkalbigen Kühe über den gesamten Untersuchungszeitraum eine signifikant geringere EB aufwiesen als die Färsen, wurden verschiedene Grenzwerte definiert. Des Weiteren wurden Grenzwerte für die beiden Abschnitte 1.-4. LW sowie 5.-10. LW aufgrund des Verlaufs ermittelt. Heuer et al. (2000) berechneten ebenfalls Grenzwerte mit Perzentilen. Für den Zeitraum der ersten 21 Laktationswochen p.p. definierten sie letztendlich mit Hilfe des 10 %-Perzentils einen EB-Grenzwert von -20,5 MJ NEL (für die 1.-11. Laktation). Sie trafen – entgegen verschiedener physiologischer Erkenntnisse – keine Unterscheidung innerhalb der Früh-laktation sowie zwischen den Altersgruppen. Der eigene Grenzwert für die Färsen von der 5.-10. LW (-20,4 MJ NEL) entspricht dem von Heuer et al. (2000). Die übrigen Grenzwerte lagen deutlich unter dem von Heuer et al. (2000). Würde man für die eigenen Daten für alle Tiere und den gesamten Zeitraum einen höheren Grenzwert annehmen, würde dadurch zwar die Sensitivität erhöhte, aber im Vergleich dazu der positive Vorhersagewert (das entscheidende Kriterium für die Anwendung eines Vorhersagemodells) verringert werden.

Als Methode zur Entwicklung der eigenen Modelle wurde die multivariable lineare Regressionsanalyse gewählt, da sie gegenüber der von Friggens et al. (2007) und McParland et al. (2011, 2012, 2014, 2015) angewandten Partial Least Squares (PLS) Methode (zur Auswertung von Spektraldaten) die Vorteile hat, dass in der finalen Regressionsgleichung die relevanten Einzelprädiktoren wiederzufinden sind, welche zuvor in die Analyse mit eingegangen sind (und keine errechnete, nicht zuordnenbare Faktoren wie bei der PLS-Methode). Damit ist die Bedeutung einzelner Milchinhaltsstoffe, Tierdaten und/oder Spektren interpretierbar und eine inferenzstatistische Absicherung möglich. Dadurch konnten zum einen bei den eigenen Modellen abgesicherte Bestimmtheitsmaße zum Vergleich mit anderen Modellen ausgegeben werden, und zum anderen können im Folgenden die einzelnen Prädiktoren zur Vorhersage der Zielvariablen diskutiert werden:

- Für die EB-Vorhersage:
 - der MIR Ölsäure-Gehalt,
 - der MIR BHB-Gehalt,
 - die tägliche Milchleistung,
 - der Laktationstag und
 - die AW einzelner Wellenlängen (einzelne MIR Spektraldaten).
- Für die Blut-BHB-Vorhersage:
 - der MIR Stearin-Gehalt
 - der MIR BHB-Gehalt,
 - die Laktationsnummer
 - die AW einzelner Wellenlängen.

Die MIR Ölsäure (langkettig einfach ungesättigt, 18:1) spielt in den finale Regressionsmodellen eine entscheidende Rolle. Sie ist in drei der vier Vorhersagemodelle für die EB (beide Zeiträume für die mehrkalbigen Kühe und ein Zeitraum für die Färsen) nicht nur einer der Prädiktoren, sondern auch jeweils der mit dem höchsten β -Koeffizienten mit einem negativen Vorzeichen. D.h. je höher der Anteil der MIR Ölsäure in der Milch ist, umso geringer ist die vorhergesagte EB. Dieses Ergebnis entspricht den Untersuchungen von Gross et al. (2011). Ein zunehmender Anteil an Ölsäure in der Milch im Vergleich zu den anderen langkettigen Fettsäuren (C14-C18:3) zeigt eine negative EB an (Gross et al., 2011), da die Ölsäure vorrangig während der Lipolyse aufgrund des Energiedefizits freigesetzt wird (Rukkamsuk et al., 2000), und sie die höchste Transferrate vom Plasma in die Milch aufweist (Tyburczy et al. 2008). In einer vorangegangenen Studie wurde bei Färsen, bei denen eine subklinische Ketose (BHB im Serum $\geq 1,200 \mu\text{mol/L}$) diagnostiziert wurde, festgestellt, dass der Anteil der Ölsäure in der Milch zwei Wochen vorher angestiegen war (Van Haelst et al., 2008). Dieses Erkenntnisse werden durch die eigene Studie bekräftigt, da die MIR Ölsäure den größten Einfluss (d.h. den höchsten β -Wert) auf die vorherzusagende EB von drei der vier Regressionsmodelle hat.

Der MIR-BHB-Gehalt in der Milch spielte sowohl in der Regressionsgleichung zur Schätzung der EB der Färsen in der 1.-4. Laktationswoche als auch zur Schätzung des Blut-BHB-Gehaltes der Kühe und Färsen ebenfalls in der 1.-4. Laktationswoche eine Rolle als Prädiktor. Denis-Robichaud et al. (2014) berechneten Korrelationen zwischen dem Blut-BHB-Gehalt und dem Milch-BHB-Gehalt von $r = 0,89$. Zur Vorhersage einer Ketose (bei einem Blut-BHB-Grenzwert von $\geq 1.400 \mu\text{mol/L}$) ergab sich in ihrer Studie eine Sensitivität von 84 % und eine Spezifität von 96 % für den Milch-BHB-Gehalt bei einem Grenzwert von $\geq 200 \mu\text{mol/L}$. Hingegen haben Sie den BHB-Gehalt in Milch mit einem Flowanalyser gemessen und nicht mit der FTIR-Spektroskopie (Denis-Robichaud et al. (2014). De Roos et al. (2007) entwickelten eine Kalibration für BHB für die FTIR-Spektroskopie. Sie fanden Korrelationen zwischen dem gemessenen Milch-BHB-Gehalt und dem MIR BHB-Gehalt von 0,79. Sie entwickelten gaben zur Vorhersage einer subklinischen Ketose ($\geq 1.200 \mu\text{mol/L}$) einen Milch-BHB-Grenzwert von $180 \mu\text{mol/L}$ und dem entsprechend einen infrarot-gemessenen Milch-BHB-Grenzwert von $100 \mu\text{mol/L}$ an. Damit erreichten Sie eine Sensitivität von 69 % und eine Spezifität von 95 % im Vergleich zu der chemischen Analyse des BHB-Gehaltes in Milch (De Roos et al., 2007).

Die Milchleistung ist ein Prädiktor in den vier finalen Regressionsmodellen zur Vorhersage EB. Sie ist ein wesentlicher Bestandteil zur Berechnung der EB (siehe Kapitel 2.4). In der Literatur enthalten einige Modelle zur EB-Vorhersage die Milchleistung als Covariate (Heuer et al., 2000; Friggens et al., 2007; McParland et al., 2011, 2012, 2014).

Die Anzahl der Laktationstage sind in den beiden finalen Regressionsmodellen zur Vorhersage der EB in den ersten vier Laktationswochen (sowohl bei den Färsen, als auch bei den Kühen) eine der erklärenden Variablen. Das bestätigt die Differenzierung in die zwei

Abschnitte innerhalb der ersten zehn Laktationswochen. In den ersten vier Wochen verändert sich die Milchleistung, die Futteraufnahmen und die EB täglich. In der eigenen Studie bestanden positive Korrelationen zwischen der EB und dem Laktationstag: Färsen mit $r = 0,52$ ($P < 0,01$) und Kühe mit $r = 0,53$ ($P < 0,01$).

McParland et al. (2012, 2015) ermittelten ebenfalls Vorhersagemodelle für die EB aus den MIR-Spektraldaten und weiteren tierindividuellen Daten. Aufgrund des zuvor erläuterten Unterschiedes zwischen den statistischen Analysemethoden haben McParland et al. als Kennziffer zur Evaluation ihrer Modell den Korrelationskoeffizienten in R angegeben. Zu dem jüngeren EB-Vorhersage-Modell gaben sie $R = 0,54$ an (McParland et al., 2015). Die Korrelationen (Wurzel aus dem Bestimmtheitsmaß) der eigenen vier EB-Vorhersagemodelle lagen bei 0,74 bis 0,91.

Der Blut-BHB-Gehalt ist ein wichtiger Indikator und auch ein wichtiger Diagnoseparameter zu Beurteilung einer Störung des Energiestoffwechsels, resultierend und/oder einhergehend mit einem zu hohen Energiedefizit. Zur Bestimmung des BHB-Gehalts im Blut müssen Blutentnahmen (durch den Tierarzt oder bei den neueren Screening-Methoden mittels Kapillarblut durch den Herdenmanager) am jeweiligen Einzeltier erfolgen. Um eine Vorauswahl (ein Screening) mit Hilfe der regelmäßigen MLP treffen zu können, wurde in der vorliegenden Studie ein finales Regressionsmodell zur Schätzung der Blut-BHB-Gehaltes ermittelt. Neben dem MIR BHB-Gehalt waren auch die langkettige gesättigte Stearinsäure, die Laktationsnummer und die EW einiger Wellenlängen Prädiktoren des Modells. Bei dem Blut-BHB-Gehalt von $> 1.200 \mu\text{mol/L}$ ergab sich eine Sensitivität von 56 % und Spezifität von 97 %. Im Gegensatz zu van der Drift et al. (2012), die als statistische Analysemethode die logistische Regressionsanalyse angewandt haben und dafür die beprobten Tiere in „krank“ und „nicht krank“ aufgrund des Blut-BHB-Gehaltes einteilten, werden mit dem eigenen Modell intervallskalierte Blut-BHB-Gehalte geschätzt/vorhergesagt. Wie oben bereits diskutiert, ist der MIR BHB-Gehalt ein wichtiger Prädiktor für das finale Blut-BHB-Regressionsmodell.

Ein weitere Prädiktor des finalen Serum-BHB-Modells ist die MIR Stearinsäure. Die Stearinsäure kann zur Ölsäure durch Dehydrogenation umgebaut werden (Bernhard et al 1959). Gross et al. (2011) ermittelten einen abnehmenden Stearinsäuregehalt in der Milch (gemessen mit einem Gas-Chromatographen) während der ersten 21 Wochen nach der Kalbung: 1. Woche p.p.: 12,88 g/100 g Fettsäuremethylester (FAME = fatty acid methyl esters) ($\pm 0,33$) bis 21. Woche p.p. 8,54 g/100 g FAME ($\pm 0,17$); $P < 0,05$), bei gleichzeitigem Anstieg der EB (1. Woche p.p.: -45,0 MJ NEL ($\pm 3,9$) bis 21. Woche: 12,2 MJ NEL ($\pm 3,1$)). Das entspricht den eigenen Beobachtungen in den ersten zehn Wochen p.p. In dem eigenen Modell zur Vorhersage des Blut-BHB-Gehaltes hatte der MIR Stearinsäure-Gehalt den höchsten β -Koeffizienten.

Ein weiterer Prädiktor in dem Blut-BHB-Vorhersagemodell ist die Laktationsnummer, die keine erklärende Variable bei den finalen EB-Vorsagemodellen darstellte. In der zuvor erwähnten Studie von van der Drift et al. (2012) ist die Laktationsnummer ebenfalls ein Bestandteil ihres logistischen Modells. Sie unterschieden zwischen der 1., 2., 3. und ≥ 4 . Laktation (van der Drift et al., 2012).

Die Ergebnisse haben gezeigt, dass die Vorhersage der EB und des Blut-BHB-Gehaltes in den ersten Laktationswochen dem Herdenmanager im Rahmen der monatlichen Milchleistungsprüfung ermöglichen würden, den aktuellen Energieversorgungsstatus der Tiere in diesem Laktationsabschnitt kontinuierlich zu erfahren. Sowohl bei dem EB-Vorhersagemodell als auch dem Blut-BHB-Vorhersagemodell ist im Vergleich zu dem „klassischen“ FEQ mit einer höheren Genauigkeit zu rechnen. Wie bei den übrigen stoffwechselbedingten Milchinhaltsstoffen (Fett, Eiweiß, FEQ und Harnstoff) ermöglicht diese monatliche Information über die tierindividuelle EB eine Beurteilung der Fütterung, woraufhin der Herdenmanager gegebenenfalls weitere Untersuchungen und/oder korrigierende Maßnahmen an Einzeltieren oder in (Fütterungs-)Gruppen einleiten kann. Das Regressionsmodell zur Vorhersage des Blut-BHB-Gehaltes im Rahmen der monatlichen Milchleistungsprüfung kann dem Herdenmanager in den ersten vier Laktationswochen einen deutlichen Hinweis geben, bei welchem Tier ein Ketoserisiko besteht, so dass er frühzeitig tierindividuell weitere Maßnahmen zur Untersuchung und Bekämpfung einer möglichen Ketose einleiten kann.

Als Ausblick aus der vorliegenden Studie ist eine Verifizierung des beschriebenen Ansatzes sowie der Regressionsmodelle an anderen Populationen, von denen die entsprechenden Informationen (wie die mit Hilfe von Futterwiegetrögen berechnete EB und/oder der im Blut gemessene BHB-Gehalt) zur Verfügung stehen, im Weiteren erforderlich. Diese Verifizierung ist ratsam, da letztendlich die Vorhersagemodelle eine weitere Verwertung der umfangreichen MIR-Spektraldaten pro Milchprobe ermöglichen und damit zur Optimierung der BigData-Datenbank im Rahmen der Milchleistungsprüfung beitragen.

5 Zusammenfassung

Da die Futtermittelaufnahme unter Praxisbedingungen nicht erfasst wird, besteht für den Landwirt keine Möglichkeit die Energiebilanz (EB) seiner Tiere abzuschätzen. Auch der Gehalt an β -Hydroxybutyrat (BHB) im Blut zur Diagnose einer Ketose ist nur mit zusätzlichen Einzeltieruntersuchungen zu bestimmen. Das Ziel dieser Studie war daher, die Entwicklung von Vorhersagemodellen mit hohem Bestimmtheitsmaß zur Schätzung der EB und des Blut-BHB-Gehaltes aus den monatlichen Spektraldaten in Kombination mit tierindividuellen Daten, die ebenfalls mit der Milchleistungsprüfung (MLP) zur Verfügung stehen – mit dem Ausblick, mit diesen Modellen das Angebot der Landkontrollverbände (LKV) erweitern zu können.

Im Rahmen der monatlichen MLP werden die „klassischen“ und weiteren Milch Inhaltsstoffe mit der Fourier Transform-Infrarot-Spektroskopie im mittleren Infrarot-Bereich (MIR) gemessen und pro Milchprobe die Absorptionswerte (AW) von mehr als 1.000 Wellenlängen gespeichert. Im Hinblick auf die Anzahl täglicher MLP-Proben pro LKV-Labor können diese Datenbanken als BigData-Datenbanken bezeichnet werden. Die Motivation für die Entwicklung der eigenen Modelle bestand darin, das Potential der MIR-Spektraldaten zur Vorhersage des Energiestatus der Milchkuh in den ersten, entscheidenden Laktationswochen nach der Kalbung nutzen zu können.

Von 65 Holstein Kühen (20 Färsen, 45 mehrkalbige Kühe) wurden in den ersten zehn Laktationswochen wöchentlich Milch- und Blutproben gezogen. Von den Milchproben wurden die MIR-Spektraldaten (d.h. die AW bei den entsprechenden Wellenlängen) und die daraus zu berechnenden Milch Inhaltsstoffe ermittelt, sowie in den Blutproben der BHB-Gehalt. Zur Berechnung der tatsächlichen EB standen neben der Milchleistung, die Futtermittelaufnahme und das Körpergewicht zur Verfügung. Die statistische Auswertung erfolgte mit SPSS. Das Signifikanzniveau lag bei $p \leq 0,05$.

Da die Färsen höhere negative EB als mehrkalbige Kühe aufwiesen ($P < 0,05$) und der Verlauf der EB innerhalb des Untersuchungszeitraums sich signifikant ($P < 0,05$) veränderte, wurden insgesamt vier verschiedene Regressionsmodelle, d.h. sowohl für die Färsen als auch für die Kühe sowie für die 1.-4. und die 5.-10. Laktationswoche (LW) berechnet.

Als Methode zur Entwicklung der eigenen Modelle wurde die multivariable lineare Regressionsanalyse gewählt, da sie gegenüber der in der jüngeren Literatur häufig angewandten Partial Least Squares (PLS) Methode (zur Auswertung von Spektraldaten) die Vorteile hat, dass in der finalen Regressionsgleichung die relevanten Einzelprädiktoren wiederzufinden sind, welche zuvor in die Analyse mit eingegangen sind (und keine errechnete, nicht zuordnenbare Faktoren wie bei der PLS-Methode). Damit ist die Bedeutung einzelner Milch Inhaltsstoffe, Tierdaten und/oder Spektren interpretierbar und eine inferenzstatistische Absicherung möglich.

Das finale Regressionsmodell für die EB Färsen ($R^2 = 0,83$, $P < 0,001$) von der 1. bis 4. LW beinhaltet neben der täglichen Milchmenge, dem MIR Ölsäure-Gehalt in der Milch und den Absorptionswerte (AW) verschiedener Wellenlänge auch aus dem Laktationstag als weiterer Prädiktor. Das EB-Vorhersagemodell der Färsen für die 5. bis 10. LW ($R^2 = 0,71$, $P < 0,001$) bestand neben dem MIR Ölsäure-Gehalt aus den AW einzelner Wellenlängen und der täglichen Milchmenge. Das finale Regressionmodell für die EB der mehrkalbigen Kühe von der 1.- 4. LW mit dem Bestimmtheitsmaß $R^2 = 0,55$ ($P < 0,001$) enthielt ebenfalls die MIR Ölsäure-Gehalt, die tägliche Milchmenge, den Laktationstag und den AW bei der Wellenlänge 613, das Modell für die 5-10. LW für die EB der mehrkalbigen Kühe ($R^2 = 0,57$, $P < 0,001$) auch den MIR Ölsäure-Gehalt, die tägliche Milchmenge sowie die AW verschiedener Wellenlängen. Zur Validität der EB-Vorhersagemodelle wurden zunächst EB-Grenzwerte (mit dem 5 %-Perzentil) berechnet und anschließend die entsprechenden Sensitivitäten (Sen) und Spezifitäten (Spez) ermittelt:

Färsen_{1-4.LW}: -47 MJ NEL (Sen = 67 %, Spez = 95 %);

Färsen_{5-10.LW}: -20 MJ NEL (Sen = 75 %, Spez = 94 %);

Kühe_{1-4.LW}: -82 MJ NEL (Sen = 46 %, Spez = 97 %);

Kühe_{5-10.LW}: -40 MJ NEL (Sen = 44 %, Spez = 97 %).

Für das finale Regressionsmodell zur Vorhersage des Blut-BHB-Gehaltes wurde der aus anderen Studien bekannte Grenzwert von 1.200 $\mu\text{mol/L}$ angenommen (Sen = 56 % und Spez = 97 %).

Im Vergleich mit der Literatur zeigen die Ergebnisse, dass zum einen die EB-Vorhersagemodelle eine höhere Genauigkeit der Erkennung des Energiedefizits aufweisen als mit dem „klassischen“ Fett-Eiweiß-Quotienten (FEQ) und dass zum anderen durch die Anwendung der linearen Regressionsmethode die Modelle (sowohl zur Vorhersage der EB, als auch des Blut-BHB-Gehaltes) transparenter und nachvollziehbarer sind.

Mit Hilfe der EB-Vorhersagemodelle in den ersten zehn Laktationswochen im Rahmen der monatlichen Milchleistungsprüfung ist es dem Herdenmanager möglich, den aktuellen Energieversorgungsstatus der Tiere in diesem Laktationsabschnitt kontinuierlich zu erfahren. Wie bei den übrigen stoffwechselbedingten Milchinhaltsstoffen (Fett, Eiweiß, FEQ und Harnstoff) dienen diese monatlichen Werte – neben der EB pro Tier – im Wesentlichen der Fütterungsbeurteilung. Auf der Basis dieser Informationen kann der Herdenmanager gegebenenfalls weitere Untersuchungen und/oder korrigierende Maßnahmen einleiten.

Das Regressionsmodell zur Vorhersage des Blut-BHB-Gehaltes im Rahmen der monatlichen Milchleistungsprüfung kann dem Herdenmanager in den ersten vier Laktationswochen darüber hinaus einen deutlichen Hinweis geben, bei welchem Tier ein Ketoserisiko besteht, so dass er frühzeitig tierindividuell weitere Maßnahmen zur Untersuchung und Bekämpfung einer möglichen Ketose einleiten kann.

Im Folgenden ist eine Verifizierung dieses Ansatzes und der Modelle an weiteren Herden/Populationen, von denen die entsprechenden Daten (Futteraufnahme mit Hilfe von Futterwiegetrögen zu Berechnung der EB und/oder Blutuntersuchungen auf den BHB-Gehalt) in den ersten Wochen nach der Kalbung zur Verfügung stehen, erforderlich. Letztendlich ermöglichen diese Modelle eine erweiterte Verwertung der MIR-Spektraldaten pro Milchprobe und tragen damit zur weiteren Nutzung und Optimierung der BigData-Datenbank im Rahmen der Milchleistungsprüfung bei.

6 Schlussfolgerungen für die Umsetzung der Ergebnisse in die Praxis

A) Schlussfolgerungen zu den Regressionsmodellen

- Die Ergebnisse der eigenen Regressionsmodelle ermöglichen im Rahmen der monatlichen Milchleistungsprüfung eine genauere Erkennung und Vorhersage der energetischen Stoffwechselsituation (mittels Energiebilanz (EB) und dem Gehalt an β -Hydroxybutyrat (BHB) im Blut) als der „klassische“ Fett-Eiweiß-Quotient bisher.
- Der Vergleich der Färsen und der mehrkalbigen Kühe sowie der beiden Laktationsabschnitte macht deutlich, dass eine getrennte Analyse und Ausgabe der Ergebnisse im Rahmen der Milchleistungsprüfung erforderlich wäre.
- Die Regressionsmodelle zur Vorhersage der EB machen ebenfalls deutlich, dass einzelne langkettige Fettsäuren wie die Öl- und die Stearinsäure in Milch entscheidende Prädiktoren zur Vorhersage der energetischen Stoffwechselsituation sind. Sie wurden bisher nicht für Screeningtests in der Praxis herangezogen.
- Die eigene Methode (der linearen Regressionsanalyse) ist im Vergleich zu der in der Literatur häufig zu findenden Partial Least Squares (PLS) Methode einfacher zu vermitteln, von den Prädiktoren (den einzelnen Variablen) her transparenter und kann inferenzstatistisch abgesichert werden.

B) Schlussfolgerungen zu dem Nutzungspotential der Ergebnisse

- Diese Studie liefert nicht nur die Möglichkeit des einfachen Monitorings der EB, sondern auch erste Grenzwerte für die EB bei Färsen und mehrkalbigen Kühen sowie in unterschiedlichen Laktationsabschnitten innerhalb der Frühaktation.
- Die Landeskontrollverbände haben mit diesem Ansatz eine Möglichkeit, ihr Informationsangebot im Rahmen des Milchleistungsprüfungsberichtes zu erweitern (z. B. mit Hilfe von Streudiagrammen, welche die Grenzwerte für die EB enthalten, oder die Markierung der Tiere, die den Blut-BHB-Grenzwert in den ersten vier Laktationswochen überschreiben).
- Aufgrund dieser kontinuierlichen Informationen über die energetische Stoffwechselsituation der Tiere in der Frühaktation kann der Herdenmanager gegebenenfalls weitere Untersuchungen und/oder korrigierende Maßnahmen einleiten.

Im Weiteren ist eine Verifizierung dieses Ansatzes und der Modelle an anderen Populationen, von denen die entsprechenden Informationen zur Verfügung stehen, erforderlich. Letztendlich ermöglichen diese Modelle eine weitere Verwertung der MIR-Spektraldaten pro Milchprobe und tragen damit zur Optimierung der BigData-Datenbank im Rahmen der Milchleistungsprüfung bei.

7 Literaturverzeichnis

- Andersson, L. (1984): Concentration of blood and milk ketone bodies, blood isopropanol and plasma glucose in dairy cows in relation to the degree of hyperketonemia and clinical signs. In: Zentralblatt Veterinärmedizin A (31): 683–693
- Baird, G. D. (1982): Primary ketosis in the high-producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention and outlook. In: Journal of Dairy Science (65): 1–10
- Bauer, M. (1996): Zur Untersuchung des Blutzuckerspiegels bei gesunden ketotischen Milchkühen. In: Tierärztliche Umschau: 481-487
- Blum, J. W. (2004): Stoffwechsellistung der Milchdrüse des Rindes. In: Übers. Tierernährung (32): 183–201
- Bernard, K.; von Bülow-Köster, J. & Wagner H. (1959): Die enzymatische Dehydrierung der Stearinsäure zu Ölsäure. In Helvetica Chimica Acta (XLII): 152- 155
- Brade, W. & Brade, E. (2013). Die negative Energiebilanz hoch leistender Milchkühe. Risikofaktor im ersten Laktationsdrittel. In: Milchpraxis (4): 43-46
- Butler, W. R.; Everett, R. W. & Coppock, C. E. (1981). The relationship between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. In: Journal of Animal Science (53): 742 - 748
- Butler, W. R. & Smith, R. D. (1989): Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. In: Journal of Dairy Science (72): 767–783
- Canfield, R.W.; Sniffen, C.J. & Butler, W.R. (1990): Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. In: Journal of Dairy Science (73): 2342-2349
- Carrier, J.; Stewart, S.; Godden, S.; Fetrow, J. & Rapnicki, P. (2004): Evaluation and use of three cowside tests for detection of subclinical ketosis in early postpartum cows. In: Journal of Dairy Science (87): 3725–3735
- Čejna, V. & Chládek, G. (2005): The importance of monitoring changes in milk fat to milk protein ratio in holstein cows during lactation. In: Journal of Central European Agriculture (6): 539–546
- de Roos, A. P. W.; van den Bijgaart, H. J. C. M.; Hørlyk, J. & Jong, G. de (2007): Screening for subclinical ketosis in dairy cattle by Fourier transform infrared spectrometry. In: Journal of Dairy Science (90): 1761–1766
- Denis-Robichaud, J.; Dubuc, J.; Lefebvre, D. & DesCôteaux L. (2014): Accuracy of milk ketone bodies from flow-injection analysis for the diagnosis of hyperketonemia in dairy cows. In: Journal of Dairy Science (97): 3364-3370
- Dirksen, G. (1994). Kontrolle von Stoffwechselstörungen bei Milchkühen an Hand von Milchparametern. http://www.buiatria.it/file_26/volume_1/Pages%20from%20volumeXXVI-6.pdf (18.09.2013)
- Dirksen, G.; Breitner, W. & Berger, A. (1995). Ketosediagnostik: Semiquantitative Bestimmung von Beta-Hydroxybuttersäure in Kuhmilch mit einem neuen Trockentest. In: Tierärztliche Umschau (50): 239-244
- Dirksen, G.; Hagert-Theen, C.; Alexander-Katz, M. & Berger, A. (1997). Stoffwechselüberwachung bei Kühen in der Hochlaktation anhand von Milchparametern. In: Tierärztliche Umschau (52): 319-324

- Dohoo, I. R. & Martin, S. W. (1984): Subclinical ketosis: prevalence and associations with production and disease. In: Canadian Journal of Veterinary Research (48): 1–5
- Drackley, J. K. (1999): Biology of dairy cows during transition period: the final frontier? In: Journal of Dairy Science (82): 2259–2273
- Duffield, T. F.; Kelton, D. F.; Leslie, K. E.; Lissemore, K. D. & Lumsden, J. H. (1997): Use of test day milk fat and milk protein to detect subclinical ketosis in dairy cattle in Ontario. In: The Canadian Veterinary Journal (38): 713–718
- Enjalbert, F.; Nicot, M. C.; Bayourthe, C. & Moncoulon, R. (2001): Ketone bodies in milk and blood of dairy cows: relationship between concentrations and utilization for detection of subclinical ketosis. In: Journal of Dairy Science (84): 583–589
- Farries, E. (1983). Die Milchezusammensetzung als Hinweis auf Stoffwechselbelastungen und Fortpflanzungsstörungen. In: Welt der Milch (39): 1207-1213
- FOSS (2011). MilkoScanTMFT. Milchstandardisierung und Screening auf Abnormitäten. FOSS Analytical A/S, Denmark
- FOSS (2013). Application note. MilkoScanTMFT+/6000. Ketosis prediction models: acetone and BHB. FOSS Analytical A/S, Denmark
- Freitag, M. (1995): Stoffwechselstörungen frühzeitig erkennen. Vorbeugen ist besser als Heilen. In: Milchpraxis (33): 166–167
- Friggens, N. C.; Ridder, C. & Løvendahl, P. (2007): On the use of milk composition measures to predict the energy balance of dairy cows. In: Journal of Dairy Science (90): 5453–5467
- Fürll, M. (2013). Spezielle Untersuchungen beim Wiederkäuer. In Moritz A. (Hrsg.) Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 7. Auflage. Schattauer Verlag, Stuttgart
- Gasteiner, R. J. (2000). Ketose, die bedeutendste Stoffwechselerkrankung der Milchkuh. In: 27. Viehwirtschaftliche Fachtagung, Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft Gumpenstein
- GfE (Gesellschaft für Ernährungsphysiologie) (2001): Empfehlungen zur Energie und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchtrinder. DLG Verlag, Frankfurt
- Geishauer, T.; Leslie, K. E.; Kelton, D. F. & Duffield, T. F. (1998): Evaluation of five cow-side tests for use with milk to detect subclinical ketosis in dairy cows. In: Journal of Dairy Science (81): 438–443
- Grabowski, N. T. (2000). Körpergewichtsentwicklung, Milchinhaltsstoffe und Milchmengenleistung als Kriterien zur laktationsbegleitenden Beurteilung des Gesundheitszustandes hochleistender DSB-Kühe in Laufstallhaltung, Diss. vet. Med., Tierärztliche Hochschule, Hannover
- Grieve, D.G.; Korver, S.; Rijpkema, Y.S. & Hof, G. (1986): Relationship between milk composition and some nutritional parameters in early lactation. In: Livestock Production Science (14): 239–254
- Gröhn, Y. T.; Lindberg, A. L.; Bruss, M. L. & Farver, T. (1983): Fatty infiltration of liver in spontaneously ketotic dairy cows. In: Journal of Dairy Science (66): 2320–2328
- Gross, J.; van Dorland, H. A.; Bruckmaier, R. M. & Schwarz, F. J. (2011): Milk fatty acid profile related to energy balance in dairy cows. In: The Journal of dairy research (78): 479–488
- Grummer, R. R. (1995). Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. In: Journal of Animal Science (73): 2820-2833
- Grummer, R. R. & Rastani R.R. (2003): Review: when should lactating dairy cows reach positive energy balance? In: The Professional Animal Scientist (19): 197–203

- Heuer, C.; Luinge, H. J.; Lutz, E.T.G.; Schukken, Y. H.; van der Maas, J. H.; Wilmink, H. & Noordhuizen, J.P.T.M. (2001): Determination of Acetone in cow milk by Fourier transform infrared spectroscopy for the detection of subclinical Ketosis. In: *Journal of Dairy Science* (84): 575–582
- Heuer, C.; Schukken, Y. H. & Dobbelaar, P. (1999): Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. In: *Journal of Dairy Science* (82): 295–304
- Heuer, C.; van Straalen, W. M.; Schukken, Y. H.; Dirkzwager, A. & Noordhuizen, J.P.T.M. (2000): Prediction of energy balance in a high yielding dairy herd in early lactation: model development and precision. In: *Livestock Production Science* (65): 91–105
- Hofmann, W. (2007): *Farbatlas Rinderkrankheiten*. Stuttgart: Eugen Ulmer Verlag
- Jorritsma, R.; Baldée, S. J.; Schukken, Y. H.; Wensing, T. & Wentink, G. H. (1998): Evaluation of a milk test for detection of subclinical ketosis. In: *The Veterinary quarterly* (20): 108–110
- Komaragiri, M.V.S.; Casper, D.P. & Erdman, R.A. (1998): Factors affecting body tissue mobilization in early lactation dairy cows. 2. Effect of dietary fat on mobilization of body fat and protein: In: *Journal of Dairy Science* (81): 169-175
- Kraft, W. & Dürr, U.M. (1999): *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. Schattauer Verlag, Stuttgart
- Kümel-Möllering, M. & Rossow, N. (1994). Einsatz von Daten der Milchleistungsprüfung zur indirekten Beurteilung des Stoffwechselstatus von Milchkühen. In: *Monatsheft Veterinärmedizin* (49): 115-119
- Lean, I.J.; Bruss, M.L.; Baldwin, R.L. & Troutt, H.F. (1991): Bovine ketosis: a review. I. Epidemiology and pathogenesis. In: *Veterinary Bulletin* (61): 1209-1218
- Lotthammer, K. H. & Wittkowski, G. (1994): *Fruchtbarkeit und Gesundheit der Rinder*. Eugen Ulmer Verlag ,Stuttgart
- Lucy, M. C.; Staples, C. R.; Michel, F. M. & Thatcher, W. W. (1991): Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. In: *Journal of Dairy Science* (74): 473–482
- Lutterbeck, K. & Winkel, H. (2009). *Infrarot-Spektroskopie*. Fachhochschule Köln, Campus Gummersbach
- McNamara, J. P. (1991): Regulation of adipose tissue metabolism in support of lactation I. In: *Journal of Dairy Science* (74): 706–719
- McParland, S.; Banos, G.; Wall, E.; Coffey, M. P.; Soyeurt, H.; Veerkamp, R. F. & Berry, D. P. (2011): The use of mid-infrared spectrometry to predict body energy status of Holstein cows. In: *Journal of Dairy Science* (94): 3651–3661
- McParland, S.; Banos, G.; McCarthy, B.; Lewis, E.; Coffey, M. P.; O'Neill, B. ; O'Donovan, M.; Wall, E. & Berry, D.P. (2012): Validation of mid-infrared spectrometry in milk for predicting body energy status in Holstein-Friesian cows. In: *Journal of Dairy Science* (95): 7225–7235
- McParland, S.; Lewis, E.; Kennedy, E.; Moore, S. G.; McCarthy, B.; O'Donovan, M.; Butler, S.T.; Pryce, J.E. & Berry, D.P. (2014): Mid-infrared spectrometry of milk as a predictor of energy intake and efficiency in lactating dairy cows. In: *Journal of Dairy Science* (97): 5863–5871
- McParland, S.; Kennedy, E.; Lewis, E.; Moore, S. G.; McCarthy, B.; O'Donovan, M. & Berry, D. P. (2015): Genetic parameters of dairy cow energy intake and body energy status predicted using mid-infrared spectrometry of milk. In: *Journal of Dairy Science* (98): 1310–1320

- Michel, G., (2002). Untersuchung von Hochleistungsmilchviehherden mit der Milchacetonbestimmung. Dissertation, Freie Universität Berlin
- Pedron, O.; Cheli, F.; Senatore, E.; Baroli, D. & Rizzi, R. (1993): Effect of body condition score at calving on performance, some blood parameters, and milk fatty acid composition in dairy cows. In: *Journal of Dairy Science* (76): 2528–2535
- Rodehutschord, M. & Petry, H. (2010): Energiehaushalt. In: *Physiologie der Haustiere*. Enke Verlag, Stuttgart
- Rosenberger, G. (1978): *Krankheiten des Rindes*. Parey Verlag, Berlin
- Rossow, N. (2003): Der peripartale Krankheitskomplex der Milchkuh. <http://portal-rind.de/index.php?name=News&file=article&sid=60> (29.07.2014)
- Ruegg, P. L. & Milton, R. L. (1995): Body condition scores of Holstein cows on Prince Edward Island, Canada: relationships with yield, reproductive performance, and disease. In: *Journal of Dairy Science* (78): 552–564
- Rukkamsuk T.; Wensing, T. & Geelen M.J.H. (1999): Effect of overfeeding during the dry period on the rate of esterification in adipose tissue of dairy cows during the periparturient period. In: *Journal of Dairy Science* (82): 1164–1169
- Schlerka, G. & Filar, J. (1981). Der Einfluss einer experimentell ausgelösten Ketose auf das klinische Bild, den Säure-Basen- und Elektrolythaushalt, den Ketonkörpergehalt sowie auf zellige Bestandteile im Blut bei Kühen. In: *Wiener tierärztliche Monatsschrift* (12): 436-441
- Spohr, M. & Wiesner, H.-U. (1991). Kontrolle der Herdengesundheit und Milchproduktion mit Hilfe der erweiterten Milchleistungsprüfung. In: *Milchpraxis* (29): 231-237
- Staples, C. R.; Thatcher, W. W. & Clark, J. H. (1990). Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. In: *Journal of Dairy Science* (73): 938-947
- Stangassinger, M. & Sallmann, H. P. (2004): The molecular basis of lactation - metabolism in liver cells. In: *Proceedings of the Society of Nutrition* (13): 162–171
- Suriyasathaporn, W.; Heuer C.; Noordhuizen-Stassen, E. N. & Schukken, Y. H. (2000). Hyperketonemia and the impairment of udder defense: a review. In: *Veterinarian Research* (31): 397-412
- Urban, D. & Mayerl, J. (2006): *Regressionsanalysen: Theorie, Technik & Anwendung*. VS Verlag, Wiesbaden
- van der Drift, S. G. A.; Jorritsma, R.; Schonewille, J. T.; Knijn, H. M. & Stegeman, J. A. (2012): Routine detection of hyperketonemia in dairy cows using Fourier transform infrared spectroscopy analysis of β -hydroxybutyrate and acetone in milk in combination with test-day information. In: *Journal of Dairy Science* (95): 4886–4898
- van Haelst, Y. N. T.; Beeckman, A.; Van Knegsel, A. T. M. & Fievez, V. (2008): Short communication: elevated concentrations of oleic acid and long-chain fatty acids in milk fat of multiparous subclinical ketotic cows. In: *Journal of Dairy Science* (91): 4683–4686
- van Knegsel, A. T. M.; van der Drift, S. G. A.; Horneman, M.; de Roos, A P W; Kemp, B. & Graat, E. A. M. (2010): Short communication: ketone body concentration in milk determined by Fourier transform infrared spectroscopy: value for the detection of hyperketonemia in dairy cows. In: *Journal of Dairy Science* (93): 3065–3069

Veenhuizen, J. J.; Drackley, J. K.; Richard, M. J.; Sanderson, T. P.; Miller, L. D. & Young, J. W. (1991): Metabolic changes in blood and liver during development and early treatment of experimental fatty liver and ketosis in cows¹. In: *Journal of Dairy Science* (74): 4238–4253

Waltner, S. S.; McNamara, J. P. & Hillers, J. K. (1993): Relationships of body condition score to production variables in high producing Holstein dairy cattle. In: *Journal of Dairy Science* (76): 3410-3419

Whitaker, D. A.; Goddger, W. J.; Garcia, M.; Perera, B. M A. O. & Wittwer, F. (1999). Use of metabolic profiles in dairy cattle in tropical and subtropical countries on smallholder dairy farms. In: *Preventive veterinarian Medicine* (38): 119-131

Wootton, P. (1992): Nervous ketosis. In: *Canadian Veterinary Journal* (33): 194

8 Konsequenzen für evtl. weitere Forschungsaktivitäten

Wie empfohlen, den vorgestellten Auswertungsansatz sowie die fünf Regressionsmodelle mit Hilfe von Datensätzen weiterer Herden/Populationen zu verifizieren. Für die entsprechenden Datensätze oder Untersuchungen müssen folgende Daten/Informationen in den ersten Wochen der Laktation sowohl von Färsen als auch von mehrkalbigen Kühen vorliegen:

- Tierindividuelle Futteraufnahmezeiten mit Hilfe von Futterwiegetrögen und/oder
- die Untersuchung von tierindividuellen Blutproben auf den BHB-Gehalt.

Dafür können zusätzliche Versuche geplant und durchgeführt werden. Es kann aber auch versucht werden, entsprechende Datensätze von Studien mit anderen Ausrichtungen für die eigene Auswertung zu organisieren.

9 Liste über Veröffentlichungen

Müller, U., Kesser, J., Koch, C., Helfrich, H.-P. & Rietz, C. (2019): Monitoring predictive and informative indicators of the energy status of dairy cows during early lactation in the context of monthly milk recordings using mid-infrared spectroscopy, *Livestock Science* 221, 6–14

10 Liste über Posterpräsentationen

Kesser, J.; Koch, C.; Elsen, K.; Rietz, C.; Sauerwein, H. & Müller, U. (2015): Monthly recordings of β -hydroxybutyrate (BHB) concentrations in milk during early lactation to characterize energy status. 2nd DairyCare Meeting, Cordoba, Spanien

Kesser, J.; Koch, C.; Elsen, K.; Rietz, C.; Sauerwein, H. & Müller, U. (2015): Einfache monatliche Berechnung der Energiebilanz in den ersten vier Laktationswochen von Färsen und mehrkalbigen Milchkühen mit den MIR-Spektraldaten im Rahmen der Milchleistungsprüfung, DVG-Tagung Veterinärepidemiologie 3.0 Komplexe Probleme – einfache Antworten?, Berlin, Deutschland