

Aus dem Fachgebiet Tierzucht
Fachbereich Ökologische Agrarwissenschaften

**Analyse von unerwünschten Arzneimittelwirkungen antibiotikahaltiger
Euterinjektoren von Mastitiden bei Kühen der Rasse Holstein- Friesian
unter Berücksichtigung von Leistungsniveau, Genetik und
Produktionsbedingungen**

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Agrarwissenschaften

(Dr. agr.) an der Universität Kassel,

Fachbereich Ökologische Agrarwissenschaften

vorgelegt von

Pia Brigitte Rehbein

geboren in Witzenhausen

Witzenhausen, 2015

Tag der mündlichen Prüfung: 26. August 2014

Erster Gutachter: Prof. Dr. Sven König (Universität Kassel)

Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Hermann Swalve (Universität Halle)

INHALTSVERZEICHNIS

TABELLENVERZEICHNIS	V
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	IX
ZUSAMMENFASSUNG	1
SUMMARY	9
KAPITEL I	15
<i>Einleitung</i>	
KAPITEL II	19
<i>Literaturübersicht</i>	
2.1 Bedeutung der Mastitis	20
2.1.1 Inzidenzen	20
2.1.2 Ökonomie	21
2.1.3 Heritabilitäten	22
2.2 Umwelteffekte und Mastitis	22
2.2.1 Herdeneffekt	22
2.2.2 Jahreszeit/ Kalbesaison	23
2.2.3 Rasse	23
2.3 Tierbezogene Effekte und Mastitis	24
2.3.1 Milchleistung	24
2.3.2 Laktationsnummer	24
	I

2.3.3	<i>Laktationsstadium</i>	25
2.3.4	<i>Kalbealter</i>	26
2.3.5	<i>Somatische Zellzahl</i>	26
2.4	<i>Arzneimittel zur Behandlung von Mastitiden</i>	27
2.4.1	<i>Antibiotika</i>	27
2.4.2	<i>Homöopathika</i>	32
2.5	<i>Unerwünschte Arzneimittelwirkungen</i>	34
2.5.1.	<i>Angaben der Hersteller zu unerwünschten Arzneimittelwirkungen</i>	34
2.5.2.	<i>In Praxi aufgetretene UAW</i>	35
2.5.3	<i>Berichte über unerwünschte Arzneimittelwirkungen im Ausland</i>	35
2.6.	<i>Rekursive Modelle</i>	37
2.6.1	<i>Bisherige Anwendung rekursiver Modelle</i>	37
2.6.2	<i>Rekursives Modell der vorliegenden Arbeit</i>	38
2.7	<i>Literaturverzeichnis</i>	42
KAPITEL III		50
	<i>Evaluation of adverse drug reactions (ADR) of antibiotic drugs for the treatment of mastitis in dairy cows</i>	
KAPITEL IV		74
	<i>Incidences of and Genetic Parameters for Mastitis, Claw Disorders, and Common Health Traits Recorded in Dairy Cattle Contract Herds</i>	

KAPITEL V	104
<i>Einfluss einer antibiotischen Mastitisbehandlung auf tägliche Milchmengenleistungen bei Kühen der Rasse Holstein Friesian</i>	
KAPITEL VI	121
<i>Anwendung eines rekursiven Modells zur Erklärung der Beziehungen zwischen klinischer Mastitis und dem Produktionsmerkmal Milchleistung unter Berücksichtigung von Medikamentenapplikationen</i>	
KAPITEL VII	131
<i>Impact of antibiotic treatment of clinical mastitis on production and fertility traits in Brown Swiss dairy cattle from low input production systems</i>	
KAPITEL VIII	158
<i>Inferring relationships between clinical mastitis, productivity and fertility: A Recursive model application including genetics, farm associated herd management, and cow specific antibiotic treatments</i>	
KAPITEL IX	191
<i>Allgemeine Diskussion</i>	
9.1. Einleitung	192
9.2 Diagnostik der Mastitis	192
9.3 Antibiotische Behandlung der Mastitis und Alternativen	192

9.4	<i>Prophylaxemaßnahmen</i>	193
9.4.1	<i>Behandlungen vor dem Zeitraum des Trockenstellens</i>	193
9.4.1.1	<i>Trockenstellen unter antibiotischen Schutz</i>	194
9.4.1.1.a	<i>Praxisstudie: Auswirkungen der Behandlung von Färsen mit antibiotischen Trockenstellern vor dem Kalben</i>	195
9.4.1.2	<i>Trockenstellen mit Zitzenversiegeln</i>	197
9.4.1.3	<i>Impfungen gegen Mastitis</i>	197
9.5	<i>Integrierte Tierärztliche Bestandsbetreuung und Mastitis</i>	198
9.6	<i>Alternative genetisch-statistische Modellierung</i>	199
9.7	<i>Literaturverzeichnis</i>	207
 KAPITEL X		211
<i>Schlussfolgerungen</i>		
 KAPITEL XI		215
<i>Annex</i>		
11.1	<i>Fragebogen-Unerwünschte Arzneimittelwirkungen nach der Verabreichung von Antibiotika zur Behandlung von Mastitiden (in Anlehnung an vet-uaw.de)</i>	216
11.2	<i>Eidesstattliche Erklärung</i>	220
<i>Danksagung</i>		221

TABELLENVERZEICHNIS

KAPITEL II:

- Tabelle 1: Einteilung von Antibiotika zur Mastitistherapie nach Wirkstoffen in Wirkstoffgruppen
- Tabelle 2 : Bakteriologische Heilungsraten für Mastitis für sieben ausgewählte Antibiotika
- Tabelle 3 : Bakteriologische Heilungsraten für fünf ausgewählte Erreger (-gruppen)
- Tabelle 4 : Homöopathika zur Behandlung der drei klinischen Mastitisformen

KAPITEL III:

- Table 1: Classification of the relevant antibiotics for mastitis treatment
- Table 2: Evaluation of the UAW database of the BVL/ Berlin 03/2005 to 03/2010: Number of reports of antibiotics/ antibiotic combination products associated with mastitis treatment
- Table 3: Total consumption of antibiotics/ antibiotic combinations on farm A and farm B in the years 2008 to 2010
- Table 4: Expected adverse drug reactions due to mastitis treatment or prophylaxis based on the present study

KAPITEL IV:

- Table 1: Single and combined disorders (= categories and sub-categories) as used in the present study along with their mean incidences
- Table 2: Incidences of disorders (%) by parity on a lactation level (= proportion of cows with at least one treatment during lactation for a particular disease)

- Table 3: Posterior means and posterior SD for heritabilities (h^2), ratios of permanent environmental variances (pe^2), and repeatabilities (r^2) for single diagnoses and categories of disorders
- Table 4: Posterior means and posterior SD for genetic (r_g), permanent environmental (r_{pe}), residual correlations (r_e) and phenotypic correlations (r_p) among selected disorders
- Table 5: Posterior means and posterior SD for genetic (r_g), permanent environmental (r_{pe}), residual correlations (r_e) and phenotypic correlations (r_p) between selected diseases with production traits (protein yield, protein percentage, fat percentage) and with one indicator trait (SCS)

KAPITEL V:

- Tabelle 1: Einteilung der Antibiotika nach Wirkstoffgruppen in Kategorien
- Tabelle 2: Tierzahlen innerhalb der einzelnen Medikamentenkategorien (Definition der Kategorien: siehe Tabelle)
- Tabelle 3: Tägliche Milchmengen im Zeitraum von 15 Tagen vor der Mastitisbehandlung
- Tabelle 4: Tägliche Milchmengen am Behandlungstag und im Zeitraum 15 Tage nach der Behandlung für verschiedene Medikamentenkategorien zur Behandlung klinischer Mastitiden.

KAPITEL VI:

- Tabelle 1: Mittelwerte des Produktionsmerkmals Milchleistung vor (Mkg_1) und nach (Mkg_2) Auftreten einer Mastitis (in kg)
- Tabelle 2: Heritabilitäten für das Produktionsmerkmal Milchleistung vor (Mkg_1) und nach (Mkg_2) Auftreten einer Mastitis sowie für Klinische Mastitis (CM).

KAPITEL VII:

- Table 1: Classification of active ingredients into categories
- Table 2: An overview of mean values of days in milk (dim) before (dim1) and after (dim2) treatment and the number of treated cows in each category (N)
- Table 3: An overview of mean values of milk, SCS, Fat %, Protein %, milk urea nitrogen (MUN) and Lactose % before (1) and after (2) treatment of mastitis cows (CM 1) and around a fictive treatment day 113 of healthy cows (CM 0)
- Table 4: Significance of fixed effects in the model

KAPITEL VIII:

- Table 1: Application of structural equation models for objectives in dairy cattle
- Table 2: Average values in test-day production traits (MY = milk yield, PROT-% = protein percentage, FAT-% = fat percentage, FPR = FAT-%:PROT-% ratio of milk, LAC-% = lactose percentage, and MUN = milk urea nitrogen) before (= trait 1) and after (= trait 3) occurrence of clinical mastitis (CM = trait 2).
- Table 3: Posterior means of genetic correlations between production traits (MY = milk yield, PROT-% = protein percentage, FAT-% = fat percentage, FPR = FAT-%: PROT-% ratio of milk, LAC-% = lactose percentage, and MUN = milk urea nitrogen) before (= trait 1) and after (= trait 3) occurrence of clinical mastitis (CM = trait 2), and between CM and production traits. (Posterior SD in brackets).

KAPITEL IX:

Tabelle 1. Verbrauch von Penethamathydroiodid zur Mastitisbehandlung auf zwei Betrieben in den Jahren 2008- 2010

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

KAPITEL II:

Abbildung 1: Strukturformeln und Wirkmechanismen der für die Mastitistherapie relevanten Antibiotika- Wirkstoffgruppen

Abbildung 2: Simultanes Gleichungsmodell für drei Variablen: Y_1 , Y_2 und Y_3 sind phänotypische Merkmale, U_1 , U_2 und U_3 sind additiv- genetische Effekte, die auf das System einwirken; E_1 , E_2 und E_3 sind Resteffekte. Ein Einzelpfeil (z.B. $A \rightarrow B$) bedeutet, dass Variable A die Variable B beeinflusst. Ein Doppelpfeil kennzeichnet Korrelationen zwischen Paaren von Variablen. λ_{ij} zeigt die Änderungsrate der Variable i in Bezug zur Variable j.

Abbildung 3: Vollständig rekursives Modell für drei Variablen: Y_1 , Y_2 und Y_3 sind phänotypische Merkmale, U_1 , U_2 und U_3 sind additiv- genetische Effekte, die auf das System einwirken; E_1 , E_2 und E_3 sind Resteffekte. Ein Einzelpfeil (z.B. $A \rightarrow B$) bedeutet, dass Variable A die Variable B beeinflusst. Ein Doppelpfeil kennzeichnet Korrelationen zwischen Paaren von Variablen. λ_{ij} zeigt die Änderungsrate der Variable i in Bezug zur Variable j.

Abbildung 4: Simultanes rekursives Modell für drei Variablen: Y_1 , Y_2 und Y_3 sind phänotypische Merkmale, U_1 , U_2 und U_3 sind additiv- genetische Effekte, die auf das System einwirken; E_1 , E_2 und E_3 sind Resteffekte. Ein Einzelpfeil (z.B. $A \rightarrow B$) bedeutet, dass Variable A die Variable B beeinflusst. Ein Doppelpfeil kennzeichnet Korrelationen zwischen Paaren von Variablen. λ_{ij} zeigt die Änderungsrate der Variable i in Bezug zur Variable j.

KAPITEL III:

Figure 1: Evaluation of adverse drug reaction after administration of penethamathydroiodid

KAPITEL IV:

Figure 1: Example of data preparation for analyses of disorders for one cow (here: CM = clinical mastitis): Arrows = occurrence of CM; black bars = date of official test-days for production traits; dashed lines = thresholds of defined 'time windows' for assigning occurrences of CM to the nearest official test-date.

Figure 2: Mean incidences of health disorders in participating contract herds.

Figure 3: Incidences of diseases (here: diseases belonging to the category I = claw disorders) by lactation stage (assigned no. for lactation stage indicate the official test-days after calving).

Figure 4: Incidences of diseases (here: diseases belonging to the category III = female fertility) by lactation stage (assigned no. for lactation stage indicate the official test-days after calving).

Figure 5: Incidences of diseases (here: diseases belonging to the category II = mastitis, category IV = metabolism, category V = ectoparasites) by lactation stage (assigned no. for lactation stage indicate the official test-days after calving).

KAPITEL V:

Abbildung 1: LSQ-Mittelwerte für tägliche Milchmenge im Zeitraum 15 Tage vor und nach der Behandlung von Mastitis für verschiedene Kategorien verabreichter Antibiotika

Abbildung 2: LSQ-Mittelwerte für tägliche Milchmenge an Tag 15 vor (Mkg1) und nach (Mkg2) der Mastitisbehandlung

Abbildung 3: LSQ-Mittelwerte für tägliche Milchmenge an Tag 10 vor (Mkg1) und nach (Mkg2) der Mastitisbehandlung

Abbildung 4: LSQ-Mittelwerte für tägliche Milchmenge an Tag 5 vor (Mkg1) und nach (Mkg2) der Mastitisbehandlung

KAPITEL VI:

Abbildung 1. Posterior Mittelwerte und Standardabweichungen (in Klammern) der rekursiven Effekte λ_{21} und λ_{32} (Pfeile zeigen, dass Merkmal 2 durch Merkmal 1 beeinflusst wird = λ_{21} , und Merkmal 2 Merkmal 3 beeinflusst = λ_{32}); Mkg = Milchleistung vor bzw. nach Auftreten der Klinischen Mastitis (CM), jeweils mit Anzahl der Tage vor oder nach CM.

Abbildung 2. Posterior Erblichkeiten für Mkg 15 Tage vor Auftreten (graue Linie) und für Mkg 15 Tage nach Auftreten einer klinischen Mastitis (schwarze Linie).

Abbildung 3. Posterior Erblichkeiten für Mkg 10 Tage vor Auftreten (graue Linie) und für Mkg 10 Tage nach Auftreten einer klinischen Mastitis (schwarze Linie).

Abbildung 4. Posterior Erblichkeiten für Mkg 10 Tage vor Auftreten (graue Linie) und für Mkg 20 Tage nach Auftreten einer klinischen Mastitis (schwarze Linie).

Abbildung 5. Posterior Erblichkeiten für Mkg 20 Tage vor Auftreten (graue Linie) und für Mkg 10 Tage nach Auftreten einer klinischen Mastitis (schwarze Linie).

Abbildung 6. Posterior Erblichkeiten für klinische Mastitis (CM)

KAPITEL VII:

Figure 1: LSmeans for milk yield (kg) before treatment (Mkg1) and after treatment (Mkg2)

Figure 2: LSmeans for SCS before treatment (SCS1) and after treatment (SCS2)

- Figure 3: LSmeans for Fat % before treatment (F% 1) and after treatment (F% 2)
- Figure 4: LSmeans for Protein % before treatment (P% 1) and after treatment (P% 2)
- Figure 5: LSmeans for Milk urea nitrogen (mg/dl) before treatment (MUN 1) and after treatment (MUN 2)
- Figure 6: LSmeans for Lactose % before treatment (L% 1) and after treatment (L% 2)
- Figure 7: LSmeans for interval from calving to first service in days

KAPITEL VIII:

- Figure 1. Decomposition of effects and relationships in a recursive system with three traits: Trait_1 = test-day production trait before diagnosis of clinical mastitis (CM), trait_2 = CM, trait_3 = test-day production trait after diagnosis of CM. G_i^i = direct genetic effects on trait i, r_{gij} = genetic correlation between traits i and j, λ_{ij} indicates the rate of change in trait i with respect to trait j.
- Figure 2. Posterior means and standard deviations (in brackets) of recursive effects λ_{21} and λ_{32} (Arrows indicate that trait 1 affects trait 2 = λ_{21} , and trait 2 affects trait 3 = λ_{32} ; MY = milk yield, PROT-% = protein percentage, FAT-% = fat percentage, FPR = FAT-%:PROT-% ratio of milk, LAC-% = lactose percentage, and MUN = milk urea nitrogen, CTFS = calving to first service, SFI = success of first insemination, CM = clinical mastitis)
- Figure 3. Posterior heritability for clinical mastitis (CM) from a recursive model including three traits: SCS before occurrence of CM, CM, and SCS after occurrence of CM (posterior SD = 0.03).

Figure 4. Posterior heritability for SCS from the official test-day before occurrence of CM (dashed line) and for SCS from the official test-day after occurrence of CM (solid line). (Posterior SD for both traits = 0.02).

Figure 5. Posterior heritability for interval from calving to first service. (Posterior SD = 0.001).

Figure 6. Posterior heritability for success of first insemination. (Posterior SD = 0.001).

Supplementary Figure S1: Posterior heritability for milk yield from the official test-day before occurrence of CM (dashed line) and for milk yield from the official test-day after occurrence of CM (solid line). (Posterior SD for both traits = 0.02).

Supplementary Figure S2: Posterior heritability for fat percentage from the official test-day before occurrence of CM (dashed line) and for fat percentage from the official test-day after occurrence of CM (solid line). (Posterior SD for both traits = 0.02).

Supplementary Figure S3: Posterior heritability for protein percentage from the official test-day before occurrence of CM (dashed line) and for protein percentage from the official test-day after occurrence of CM (solid line). (Posterior SD for both traits = 0.03).

Supplementary Figure S4: Posterior heritability for lactose percentage from the official test-day before occurrence of CM (dashed line) and for lactose percentage from the

official test-day after occurrence of CM (solid line). (Posterior SD for both traits = 0.03).

Supplementary Figure S5: Posterior heritability for milk urea nitrogen from the official test-day before occurrence of CM (dashed line) and for milk urea nitrogen from the official test-day after occurrence of CM (solid line). (Posterior SD for both traits = 0.02).

Supplementary Figure S6: Posterior heritability for the ratio of fat percentage to protein percentage from the official test-day before occurrence of CM (dashed line) and for the ratio of fat percentage to protein percentage from the official test-day after occurrence of CM (solid line). (Posterior SD for both traits = 0.03).

ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, detailliert Wechselwirkungen zwischen dem binären Gesundheitsmerkmal klinischer Mastitis auf der einen und Produktionsmerkmalen (z. B. Milch-kg) und funktionalen Merkmalen (z.B somatischer Zellgehalt) auf der anderen Seite unter simultaner Berücksichtigung von Umwelt und genetisch bedingten Einflussgrößen auf phänotypischer und genetischer Ebene abzubilden. Die Studie fokussierte auf innovative Aspekte der genetisch-statistischen Modellierung bzgl. der Anwendung von rekursiver Pfadmodellmethodik und einer erstmalig durchgeführten detaillierten Beschreibung bzw. Aufteilung von Umwelteffekten im Kontext quantitativ genetischer Studien. Die Aufteilung der Umwelteffekte beinhaltete nicht nur herkömmliche bekannte Effekte wie die der Herde, des Herdentesttags oder der Laktationsnummer, sondern auch tierindividuelle antibiotische Applikationen. Diese antibiotischen Applikationen wurden als zusätzlicher Effekt in die statistische Modellierung integriert, um deren Einfluss auf Produktionsmerkmale und funktionale Merkmale im weiteren Laktationsverlauf abschätzen zu können. Unerwünschte Effekte einer antibiotischen Applikation auf andere Merkmale mit ökonomischer oder auch ethologischer Relevanz implizieren eine unerwünschte Nebenwirkung von antibiotischen Applikationen im weiteren Sinne, aber basierend auf einer objektiv erfassten und quantitativ und qualitativ hochwertigen Datengrundlage.

Darüber hinausgehend erfolgte die direkte Evaluierung antibiotischer Applikationen zur Behandlung klinischer Mastitiden bzgl. etwaiger auftretender unerwünschter Arzneimittelwirkungen (UAW) im Sinne der klassischen Definition. Eine systematische Analyse mit der Definition einer UAW nicht als Effekt, sondern direkt als Merkmal, erfolgte basierend auf a) initiierten Versuchsdesigns b) der intensiven Zusammenarbeit mit kooperierenden externen Tierarztpraxen und c) bereits in Datenbanken elektronisch hinterlegter Information.

Insgesamt wurden in Rahmen der vorliegenden Arbeit sechs verschiedene wissenschaftliche Studien (siehe Kapitel III - Kapitel VIII) auf Grundlage von drei Datenbanken bzw. Datensätzen angefertigt. Diese Kapitel stehen im Gesamtkontext dieser Dissertationsschrift,

wurden aber als eigenständige Kapitel mit dem Ziel der Publikation in englisch- oder deutschsprachigen wissenschaftlichen Fachzeitschriften konzipiert.

Basis der direkten Analyse von UAW war die UAW Datenbank des BVL (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit) in Berlin, in der unerwünschte Arzneimittelwirkungen seit 2005 zentral erfasst werden (Datensatz I). Diese Information wurde ergänzt durch eigene Datenrecherche während der Projektlaufzeit mit externen kooperierenden Tierarztpraxen und partizipierenden landwirtschaftlichen Betrieben. Die beiden weiteren Datensätze zur quantitativ genetischen Modellierung mittels Pfadmodellmethodik waren zum einen ein Datensatz von 19870 Holstein Friesian Kühen, die in 9 Testherden in Thüringen gehalten wurden (Datensatz II). Dieser Datensatz beinhaltete nicht nur die Information zur antibiotischen Applikation von klinischen Mastitiden, sondern auch Aufzeichnungen zu Produktionsmerkmalen, zu funktionalen Merkmalen und zur Tiergesundheit inkl. einer tiefgründigen Abstammungsdatei. Ein weiterer Datensatz beinhaltete Mastitisdaten von 1275 Braunviehkühen, die in 46 kleinstrukturierten Betrieben in der Schweiz gehalten wurden (Datensatz III). Für diese Tiere waren Behandlungsdaten in Zusammenhang mit einer Mastitis aus den Jahren 2004- 2011 in schriftlicher Form verfügbar, die zur weiteren Auswertung in ein elektronisches Datenbanksystem übertragen wurden. Dieser Datensatz der „Low Input Betriebe“ ermöglichte auch den Vergleich einer großen Gruppe homöopathisch behandelte Tiere mit denen, die in konventionell wirtschaftenden Betrieben homöopathisch behandelt wurden (siehe auch Kapitel V).

Im Rahmen der ersten wissenschaftlichen Studie (**Kapitel III**) wurde Datensatz I analysiert und weitergehend diese Ergebnisse mit Daten aus der Veterinär- Datenbank „Vetidata“ abgeglichen. Eine Befragung zu UAW in kooperierenden Tierarztpraxen und eine praxisnahe Auswertung aller Behandlungsdaten zweier Milchviehbetriebe erfolgte ergänzend. Im gesamten Auswertungszeitraum von März 2005 bis März 2010 wurden lediglich 87 Meldungen zu UAW in der zentralen Datenbank des BVL erfasst. Die Analyse der gemeldeten UAW ergab, dass diese inhaltlich häufig nicht mit denen übereinstimmen, die von Seiten der pharmazeutischen Unternehmen in den Herstellerangaben gemacht wurden. Beispielsweise wurden seitens der pharmazeutischen Unternehmer etwaige gastrointestinale Störungen nach der Verabreichung von Penicillin deklariert. Diese UAW trat aber in der

Praxis nicht auf bzw. wurde nicht gemeldet. Die Befragung der partizipierenden Tierarztpraxen sowie die Auswertung der Behandlungsdaten der milchviehhaltenden Betriebe über UAW über einen Zeitraum von 22 Monaten bzw. drei Jahren bestätigten die Erkenntnisse der Analyse des "historischen" Datenmaterials: In beiden Betrieben trat im Analysezeitraum keine UAW auf. Somit kann gefolgert werden: Direkte bzw. klassische UAW nach antibiotischen Applikationen im Zusammenhang mit Mastitiden bei Milchkühen sind sehr selten und daher gilt, auf den eher indirekten Effekt auf Produktivität und Funktionalität der Milchkuh im Laktationsverlauf zu fokussieren.

In der zweiten wissenschaftlichen Studie (**Kapitel IV**) wurden auf Grundlage von Datensatz II Krankheitsinzidenzen ermittelt und genetische Effekte für Gesundheits- und Produktionsmerkmale geschätzt. Diese Studie ist als Vorarbeit der folgenden rekursiven Modellstudien zu sehen, da hier auf die Modellierung von antibiotischen Applikationen verzichtet wurde. Ziel von Kapitel IV war es somit, mittels eher robusten Wiederholbarkeitsmodellen einen ersten Kenntnisstand zu genetischen Parametern von klinischen Mastitiden und Beziehungen zu weiteren Gesundheitsmerkmalen und Wechselwirkungen zu Produktionsmerkmalen zu generieren. Die eingetragenen Diagnosen wurden nach dem Diagnoseschlüssel nach Feucker und Staufenbiel (2003), welcher 954 Einzeldiagnosen umfasst, aufgeschlüsselt. Die Diagnosen der Erkrankungen wurden dem nächstgelegenen Testtag zugewiesen. Insgesamt wurden 199027 Testtagsergebnisse ausgewertet. Die Diagnosen wurden in fünf Krankheitskomplexe eingeteilt: Klauenerkrankungen, Mastitis, Fruchtbarkeit, Stoffwechselstörungen und Ektoparasitosen. Die Schätzung der genetischen Parameter erfolgte im BLUP-Tiermodell mittels Bayes-basierter Ansätze. Es wurden bivariate Rechenläufe für jeweils ein Gesundheitsmerkmal und ein Produktionsmerkmal (Eiweißmenge, Eiweiß %, Fett %) bzw. für zwei Gesundheitsmerkmale angewendet. Für Binärdaten wurde auf Schwellenwertmethodik zurückgegriffen, während für normalverteilte Produktionsmerkmale gemischte lineare Modelle definiert wurden. Die Rechenmethodik basierte auf Gibbs-Sampling mit insgesamt 250000 Runden, davon wurden 50000 'burn in' Runden definiert. Als fixe Effekte wurden im Modell Herdentesttag und Laktationsnummer berücksichtigt, als Kovariable die Tage in Milch mittels Legendre Polynome 3. Ordnung. Zufällige Effekte waren der additiv genetische Tiereffekt, der permanente Umwelteffekt sowie Resteffekte. Die Ergebnisse zeigten, dass die

Inzidenzen für die analysierten Erkrankungen zu Beginn der Laktation durchweg am höchsten waren. Das gilt auch für klinische Mastitiden. Einzige Ausnahme bildeten die Sohlengeschwüre, die eine stetige Inzidenz durch die gesamte Laktation hindurch zeigten, die im Mittel bei 1,5% lag. Die Erbllichkeiten für die untersuchten Erkrankungen lagen im niedrigen Bereich mit Ausnahme des Limax. Für Limax wurde eine Erbllichkeit von 0,218 geschätzt. Niedrigste Erbllichkeiten wurden für Ektoparasitosen gefunden mit nur 0,0003. Die Heritabilitäten für die klinische Mastitis lagen bei 0,06, und waren somit doppelt so hoch wie die für die subklinische Mastitis mit 0,03. Die genetischen Korrelationen zwischen Produktionsmerkmalen und Gesundheitsmerkmalen lagen zwischen -0,306 (Eiweiß% - Endometritis) und 0,693 (SCS- klinische Mastitis). Die genetischen Korrelationen zwischen den Gesundheitsmerkmalen lagen durchgängig im niedrigen Bereich von -0,012 (Mortellaro-klinische Mastitis) bis 0,142 (Endometritis- Zysten). Positive genetische Korrelationen wurden zwischen Proteinmenge und klinischer Mastitis geschätzt. Ein ausgeprägter genetischer Antagonismus konnte jedoch nicht nachgewiesen werden.

Die dritte Studie (**Kapitel V**) befasste sich mit dem Einfluss einer antibiotischen Behandlung auf das Produktionsniveau (Milchleistung), ohne die genetische Verwandtschaftsmatrix bzw. genetische Effekte zu modellieren. Datengrundlage war, wie schon bzgl. Kapitel III spezifiziert, Datensatz II. In dieser Studie wurden zur Mastitistherapie relevante Antibiotika in 7 Medikamentenkategorien eingeteilt. Hinzu kamen eine Kategorie mit Homöopathika sowie eine Kontrollgruppe unbehandelter Kühe. Insgesamt wurden 14276 Datensätze ausgewertet. Die täglichen Milchmengen 15 Tage vor und 15 Tage nach der Mastitisbehandlung wurden analysiert. Die Schätzung des Einflusses der Medikamentenkategorie auf die tägliche Milchmenge erfolgte im gemischten linearen Modell. Als fixe Effekte wurden Laktationsstadium, Laktationsnummer, Medikamentenkategorie, Herde- Jahr- Saison-Effekt und Melkfrequenz berücksichtigt. In allen Kategorien war einen Tag vor der Behandlung ein Milchleistungsrückgang zu verzeichnen, der sich auch noch am Tag der Behandlung fortsetzte. Im Ergebnis war der Milchleistungsrückgang in der Kategorie der Homöopathika am geringsten und in der Kategorie der Tetrazykline am stärksten ausgeprägt. Insgesamt stieg die Milchleistung aber in allen Kategorien im Zeitraum von 15 Tagen nach der Behandlung wieder deutlich an.

Darauf basierend fokussierte eine vierte Studie (**Kapitel VI**) auf die Modellierung rekursiver Effekte zwischen klinischer Mastitis und Produktionsmerkmalen unter Berücksichtigung von antibiotischen Applikationen und genetischen Effekten. Das ausgewertete Datenmaterial umfasste tägliche Milchmengen von Holstein Friesian Kühen. Insgesamt wurden in dieser Studie 14276 Datensätze ausgewertet. Die Tiere wurden mit Antibiotika 7 verschiedener Kategorien und Homöopathika behandelt. Das statistische bivariate Modell war, analog zu Kapitel VIII, ein rekursives lineares Modell für normalverteilte Daten, und ein Schwellenwertmodell für Binärdaten. Bestimmt wurden Mittelwerte für die Milchleistung, strukturelle Gleichungskoeffizienten und Heritabilitäten. Die Mittelwerte der Milchleistungen lagen im engen Bereich von 35,4 kg – 35,9 kg vor Auftreten einer klinischen Mastitis (CM) und zwischen 32,5 kg- 32,7 kg nach Auftreten einer CM. Die strukturellen Gleichungskoeffizienten vor Auftreten der CM (λ_{21} = Einfluss der Milchmenge auf CM bzw. Reaktion Änderungsrate von CM in Abhängigkeit der Milchmenge) waren durchweg annähernd null, während sie sich nach Auftreten einer CM stark positiv darstellten. Eine Ausnahme ergab die Analyse der Kombination einer Milchleistung 20 Tage vor und 10 Tage nach der CM. Die Heritabilitäten für die Milchleistungen lagen auf einheitlichem, aber doch im Vergleich zu anderen Studien recht niedrigem Niveau.

In einer fünften Studie (**Kapitel VII**) wurden Antibiotika- Applikationen in Zusammenhang mit einer Mastitistherapie im gemischt linearen Modell auf Grundlage von Datensatz III analysiert. Die jeweils erste Behandlung innerhalb der ersten 305 Tage in Milch wurde ausgewertet. Die verabreichten Antibiotika waren in 16 Kategorien eingeteilt, wovon nach Extraktion und Überprüfung der Datenplausibilität noch 7 Kategorien der am häufigsten eingesetzten Antibiotika verblieben. Des Weiteren wurde eine Kontrollgruppe gesunder Kühe definiert, um den normalen Verlauf der Produktionskennzahlen im Laktationsverlauf abbilden zu können. Für die Analyse der Produktionsmerkmale wurden die Parameter Milchleistung, Fett%, Eiweiß% und Laktose% gewählt. Darüber hinaus standen aus dem Datenpool der routinemäßigen Milchleistungsprüfung in diesen Betrieben kontinuierliche Aufzeichnungen der funktionalen Testtagsmerkmale Somatischer Zellgehalt (SCS) und Milchharnstoffgehalt (MUN) zur Verfügung. Als funktionales Fruchtbarkeitsmerkmal wurde das Intervall von der Kalbung bis zur ersten Besamung (CTFS) ausgewählt.

Der Rückgang der Milchmenge nach einer antibiotischen Behandlung war marginal, wohingegen der somatische Zellgehalt unter Antibiose mit Gyrasehemmern und Beta-Laktam Antibiotika sowie in der Gruppe der Homöopathika anstieg und nicht wieder auf die Ausgangswerte gesunder Kühe einpendelte. In allen anderen Antibiotikakategorien war der Somatische Zellgehalt aber nach einer Behandlung rückläufig. Die Interpretation zu den Gehaltsmerkmalen (Fett %, Eiweiß %, und Laktose %) ist dahingehend kompliziert, da der Milchleistungsrückgang auch Konzentrationsveränderungen der Milchinhaltsstoffe impliziert und natürliche genetische Antagonismen wirken. Vor diesem Hintergrund ist es schwierig zu interpretieren, ob die phänotypischen Schwankungen der Merkmale eher konzentrationsbedingt sind, oder ob es sich um tatsächliche Auswirkungen einer antibiotischen Applikation handelt. Der Milhharnstoffgehalt als Indikatormerkmal für physiologische Imbalancen lag in der vorliegenden Studie für verschieden Kategorien antibiotischer Applikationen auf generell hohem Niveau, was aber mit der restriktiven Fütterung der Low Input Betriebe in Zusammenhang zu stehen scheint. Das Fruchtbarkeitsmerkmal Intervall von der Kalbung bis zur ersten Besamung war in allen Kategorien im Referenzbereich gesunder Kühe.

In einer sechsten wissenschaftlichen Untersuchung (**Kapitel VIII**) wurden ebenfalls auf Grundlage von Datensatzes III Testtagsergebnisse (Milch- kg, Fett%, Eiweiß %, Laktose %, SCS, Fett- Eiweiß- Quotient und MUN) und Fruchtbarkeitsmerkmale (Erstbesamungserfolg (SFI) und CTFS) in Beziehung zum Gesundheitsmerkmal CM analysiert. Die Analyse basierte auf einem rekursiven linearen Modell für normalverteilte Merkmale, und auf einem rekursiven Schwellenwertmodell für kategoriale Daten. Für die Postulierung der rekursiven Effekte eines Testtagsergebnisses in der Früh-laktation auf das Merkmal CM (bzw. "liability to clinical mastitis (LCM) auf der zugrundeliegenden Anfälligkeitsskala) und des Weiteren des rekursiven Effekts der CM auf weitere Testtagsergebnisse, wurde somit ein drei- Merkmals-Modell definiert (Merkmal 1 = Testtagsergebnis vor der Erkrankung, Merkmal 2 = CM, Merkmal 3 = Testtagsergebnis nach der Erkrankung). Für die Berechnung der rekursiven Effekte zwischen CM und Fruchtbarkeitsmerkmalen (SFI und CTFS) wurde ein Zwei-Merkmalsmodell definiert, das die Auswirkungen von CM auf SFI und CTFS abbildete. Die Schätzung der Heritabilitäten ergab für LCM einen Wert von 0,05; alle anderen Heritabilitäten waren im angemessenen Bereich, mit niedrigen posterior

Standardabweichungen. Die geringsten Heritabilitäten ergaben sich für die Fruchtbarkeitsmerkmale (SFI: $h^2 = 0,02$ und CTFS: $h^2 \approx 0$). Posterior Schätzungen für genetische Korrelationen zwischen LCM und Produktionsmerkmalen, LCM und Milhharnstoffgehalt sowie zwischen LCM und SCS lagen zwischen 0,56 und 0,68. Die Ergebnisse bestätigen einen genetischen Antagonismus zwischen Milch- kg und LCM und die Eignung von SCS als Indikatormerkmal für CM in Zuchtprogrammen für Milchrinder. Strukturelle Gleichungskoeffizienten beschreiben den Einfluss eines ersten Merkmals auf ein zweites Merkmal auf phänotypischer Ebene. Höhere Werte für Fett % und Fett- Eiweiß-Quotient zu Beginn der Laktation waren verbunden mit höherer Mastitisrate und bestätigten die Schätzwerte der strukturellen Gleichungskoeffizienten. Rekursive Effekte zwischen SCS und CM waren positiv, was starke phänotypische Einflüsse zwischen beiden Merkmalen widerspiegelt. Die strukturellen Gleichungskoeffizienten erklären auch eine nachteilige Auswirkung der CM auf die Fruchtbarkeitsmerkmale CTFS und SFI. Die Behandlungen der CM hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Produktionsmerkmale in der weiteren Laktation. Die meisten Mastitiden wurden mit Beta- Laktam- Antibiotika behandelt, allerdings waren die Werte für SCS und andere Produktionsmerkmale nach der Behandlung vergleichbar mit denen nach Behandlung mit anderen Antibiotika oder Homöopathika.

Eine allgemeine Diskussion in **Kapitel IX** greift die wesentliche Aspekte der durchgeführten Arbeit auf und gibt Anregungen zu weiteren Aktivitäten bzgl. der genetisch-statistischen Modellierung und Optimierung veterinärmedizinischer Aktivitäten. Im Ausblick zur genetisch-statistischen Modellierung erfolgt eine Schätzung genetischer Parameter an binären longitudinalen Mastitisdaten im Tiermodell mittels Schwellenwertmethodik, die in Random Regression Modelle (RRM) implementiert ist. Weiter wird der Herdentesttageffekt unter Berücksichtigung zusätzlicher tierindividueller Umwelteffekte wie der Melkfrequenz und etwaiger antibiotischer Applikationen genauer modelliert als in bisherigen Studien. Die geschätzten genetischen Parameter für klinische Mastitis können mittels dieser Methodik im Laktationsverlauf für sich ändernde physiologische Bedingungen abgebildet werden. Die genetischen Korrelationen zwischen klinischer Mastitis und Eiweiß-kg zeigten leichte Schwankungen im Verlauf der Laktation, aber lagen durchweg im Parameterbereich, der deutlich ausgeprägte genetische Antagonismen widerlegt. Die genetischen Korrelationen

zwischen SCS und CM im Bereich von $r_g = 0,70$ bestätigen Schätzwerte bisheriger Mehrmerkmalsmodelle.

Die vorliegende Arbeit hat gezeigt, dass rekursive Modelle genetische Parameter und phänotypische Beziehungen zwischen Merkmalen unter Berücksichtigung antibiotischer Applikationen abbilden können bzw. Lösungen für die antibiotischen Applikationen generiert werden. Diese Lösungen zeigen auf, wie verschiedene Medikamentenapplikationen auf objektiv erfasste Phänotypen (Produktionsmerkmale und funktionale Merkmale) im Laktationsverlauf einwirken, wobei aber aufgrund der statistischen Möglichkeiten bisher nur zwei wiederholte Messungen des gleichen Merkmals in distinkten Intervallen betrachtet wurden. Als weitere Innovation für folgende wissenschaftliche Studien sollte versucht werden, rekursive Pfadmodellmethodik mittels RRM zu kombinieren, um so simultan alle Wechselwirkungen im Laktationsverlauf zu erfassen.

Weiter wäre von Interesse, auch die "klassischen UAW" nicht als Effekt, sondern als Merkmal zu erfassen und mittels rekursiver Pfadmethodik unter Berücksichtigung von Genetik und weiterer Umwelteffekte zu analysieren. Die vorliegende Studie hat aber ganz deutlich gezeigt, dass Phänotypen zu allen dafür notwendigen Merkmalen sowie deren genetische und umweltbedingte Einflussgrößen nicht simultan in geeigneten Datensätzen vorliegen. Somit wird am Ende der generellen Diskussion der Vorschlag gemacht, auch das Erfassungssystem für UAW dahingehend zu modifizieren, dass die Abstammungen der Tiere systematisch eingespeist werden können. Weiter müssen die Erfassungssysteme für Gesundheitsdaten auf den landwirtschaftlichen Betrieben als zusätzliches "Erfassungstool" zur Antibiotikaapplikation klare Schnittstellen bzw. Eingabemasken zu etwaigen UAW aufweisen. Die Sensibilisierung zur Dateneingabe sollte nicht nur für Tierärzte, sondern auch für Landwirte oder Herdenmanger erfolgen.

SUMMARY

The aim of this study was to infer interactions and associations between the binary health trait clinical mastitis on the one hand and production traits (e.g. milk yield) and functional traits (e.g. somatic cell count) on the other hand, with simultaneous consideration of environmental and genetic influences on the phenotypic and on the genetic scale. The study focused on innovative aspects of genetic-statistical models concerning the application of recursive pathway models and a new methodology allowing a detailed description and differentiation of environmental effects in the context of quantitative genetic studies.

The distribution of environmental effects included not only conventional effects as the herd, the herd-test-day, or lactation, but also cow individual antibiotic applications. These antibiotic applications were integrated as an additional environmental effect in the statistical modeling, with the ultimate aim to assess the impact of antibiotic treatments on production and functional traits in the ongoing lactation. Negative effects on other traits with economic or ethological relevance due to antibiotic applications imply an undesirable adverse drug effect of antibiotic applications in a broad sense - but based on objective measurements (i.e. high quality phenotypes) from a substantial dataset.

Beyond that quantitative genetics approach, a "direct evaluation" of antibiotic applications for the treatment of clinical mastitis with regard to any adverse drug reactions (UAW) in the sense of the classical definition was done. A systematic analysis with the definition of an adverse drug reaction directly as a trait (= dependent variable) instead of an environmental effect (explanatory variable) was based on a) an initiated experimental design b) an intensive cooperation with external veterinary surgeries and c) on existing databases for adverse drug reactions.

In the present thesis, on the basis of records from three different databases, six different scientific studies were carried out (see Chapter III- Chapter VIII). These chapters are in the overall context of this thesis, but were created as separate studies with the aim of publication in peer-reviewed international scientific journals.

Basis of direct analysis of adverse drug reactions was the UAW database of the BVL (Federal Office for Consumer Protection and Food Safety) in Berlin. This database included centrally

recorded adverse drug reactions since 2005 (data set I). This information was supplemented by own data which was collected during the project period in cooperation with external veterinary surgeries and participating farms. The other two data sets for quantitative genetic modeling using pathway model methodology were, firstly, a data set including 19870 Holstein Friesian cows kept in nine large-scale contract test herds in Thuringia (data set II). This data set included information of antibiotic applications for mastitis treatments and additionally in production characteristics, functional traits, direct health traits as well as a deep pedigree for constructing an animal model. Another second data set for pathway model applications consisted of mastitis data of 1275 Brown Swiss cows which were kept in 46 small-scale farms in Switzerland (data set III). Data of (antibiotic) treatments in the context of mastitis from the years 2004 - 2011 were available. This data set from partly organic and low input farms also enabled the creation of a large control group of cows treated with homeopathics (see Chapter V).

The first scientific study (Chapter III) focused on data set I and compared the results of this analysis to data from the veterinary database "Vetidata". In addition, a survey focussing on effects of antibiotic treatments in participating veterinary practices and an on-farm evaluation of all treatment data of two dairy farms were accomplished. During the evaluation period from March 2005 to March 2010, only 87 entries of adverse drug reactions were recorded in the BVL database. Analyses of the reported adverse drug reactions and those that are recorded in "Vetidata" revealed some inconsistencies, i.e. in the sense that some reported adverse drug reactions were not identical with the producers' instructions. As one specific example, the producer instruction emphasises gastrointestinal disorders after the administration of penicillin; an adverse drug reaction which was not observed in practice and which was not recorded in the database system. Both evaluation techniques for adverse drug reactions, i.e. the survey in veterinary practices and the analyses of antibiotic treatments in two participating herds over a period of 22 month and 3 years, confirmed the results based on the "historical" entries in the database system: Direct or classical adverse drug reactions did not occur. In consequence and from a scientific point of view, extremely rare cases of: direct or classic adverse drug reactions after antibiotic applications for treatments of clinical mastitis in dairy cows imply to focus on indirect effects, such as productivity and dairy cattle health in the ongoing lactation. In a second scientific study (Chapter IV), incidences and genetic effects of health and production traits were estimated on the basis of data set II. Without modeling

pathway associations among trait and without considering antibiotic treatments, this study was imperative preliminary work with regard of the following recursive applications. Hence, the aim of Chapter IV was to generate a first state of knowledge of genetic parameters of clinical mastitis and relationships with other health traits and interactions with production traits by applying a more robust repeatability model. The collected diagnoses were classified by a diagnosis key as developed by Feucker and Staufenbiel (2003) which includes 954 single diagnoses. Diagnoses were assigned to the next official test day to create a longitudinal binary health data structure. Overall, 199027 test-day data were evaluated. The diagnoses were classified into five disease categories: Claw disorders, mastitis, fertility, metabolic diseases and ectoparasites. Estimation of genetic parameters was done within in Bayesian framework for BLUP animal models. Bivariate models were used (for one health trait with one production trait (protein yield, protein %, fat %), or for two health traits). For binary health data, threshold models were used, while linear mixed models were defined for Gaussian distributed test-day production traits. For Gibbs-sampling, a chain length of 250000 iterations was used, and first 50000 rounds were discarded as "burn-in" period. Fixed effects considered in the model were herd-test-day and lactation number, covariate was days in milk (modeled as Legendre polynomials of order 3), and random effects were animal additive-genetic effects, animal permanent environmental effects and residual effects. As a major result on the phenotypic scale, consistently highest incidences for analyzed diseases were found at the beginning of lactation. This was also the case for clinical mastitis. The only exception in this context was sole ulcerations with incidences that were on average 1.5% throughout lactation. Apart from limax with heritability of 0.218, heritabilities for analyzed health disorders were in a low range. Lowest values were found for ectoparasites with 0.0003. Heritability for clinical mastitis was 0.06 and for subclinical mastitis 0.03. Genetic correlations between production- and health traits were in a range from -0.306 (protein % - endometritis) to 0.693 (SCS- CM). Genetic correlations between health traits were consistently low and ranged from -0.012 (digital dermatitis – CM) to 0.142 (endometritis- ovarian cysts). The third highest was the genetic correlation between protein yield and CM. However, a pronounced genetic antagonism between health and productivity was not detected.

The third study (Chapter V) focused on the impact of antibiotic treatment on the production level (milk yield) in the ongoing lactation without modeling genetic relationships or genetic effects. Data basis was identical with the previous study (data set II). Antibiotics for mastitis

treatment were categorized into seven categories. Additionally, there was one category including homeopathics, and one category with untreated cows defined as a control group. In total, 14276 data sets were evaluated. Daily milk yield recorded in herd management software from a time span 15 days before and 15 days after mastitis treatment was analyzed. Estimation of the impact of antibiotic treatments (as defined in categories) on daily milk yield records was done by linear mixed model applications. Fixed effects in the statistical model were lactation stage, parity, antibiotic category, herd- year- season, and milking frequency. For all categories, milk yield decreased one day before treatment and substantially decreased at the day of treatment. Milk yield decline was lowest in the category of homeopathics and highest in the category of tetracyclines. In the following 15 days after treatment, milk yield continuously increased in all categories.

Based on the previous results of basic modeling, a fourth study (Chapter VI) included all relevant aspects and focussed on the modeling of recursive effects among clinical mastitis and production traits, included antibiotic applications and genetic relationships among cows. The evaluated data included daily milk yield of Holstein Friesian cows. In total, 114276 data sets were analyzed. The cows were treated with antibiotics categorized in 7 different categories and with homeopathics. In analogy to Chapter VIII the statistical model was a recursive linear threshold model. Mean values for milk yield before and after antibiotic treatments, structural equation coefficients and heritabilities were estimated. The mean values of milk yield followed a narrow range of 35.4 kg to 35.9 kg before occurrence of clinical mastitis (CM), and between 32.5 kg to 32.7 kg after the occurrence of CM. The structural equation coefficients before occurrence of the CM (λ_{21}) were all close to zero. After the occurrence of CM, values for structural equation coefficients were strongly positive with the exception of the combination of the two traits "milk yield 20 days before" and "10 days after" occurrence of CM. Heritabilities for milk yield were in a narrow range and on a low level.

In a fifth study (Chapter VII) applications of antibiotics in connection with mastitis therapy were analyzed by using a linear mixed model and on the basis of data set III. The first treatment within 305 days in milk was evaluated. Basically, the applied antibiotics were categorized into 16 different categories. After extraction, only 7 categories of most applied antibiotics remained. Furthermore, a control group was established to represent the normal trend of traits in the course of lactation. For analysis of production traits the parameters milk yield, Fat %, Protein % and Lactose % were chosen. Additionally, data from the routine milk

recording scheme on these farms including the functional testday traits somatic cell score (SCS) and milk urea nitrogen (MUN) were available. As a functional fertility trait, the interval from calving to first insemination (CTFS) was chosen. The decline in milk yield after antibiotic treatment was marginal, whereas SCS increased after antibiotic treatments with gyrase inhibitors and beta-lactam antibiotics as well as in the group of homeopathics, and did not reach the initial values of healthy cows again. In all other antibiotic categories, SCS declined after treatments. The interpretation of phenotypic trends of content values (Fat %, Protein % and Lactose %) is complicated, because the decline in milk yield also implies changes in the concentration of milk constituents, and furthermore, there is natural genetic antagonisms between yield and content traits. Hence, it is difficult to interpret whether the phenotypic variation of the traits are due to general changes of concentration, or due to an actual effect of the antibiotic application. The milk urea content as an indicator trait for physiological imbalances was in general on a high level for different categories of antibiotic applications in the present study. This fact seems to be associated with the restrictive feeding using low levels of concentrates in these participating "low input farms". The fertility trait „interval of calving to first insemination" was in in the reference range of healthy cows for all categories of antibiotic treatments.

In a sixth scientific study (Chapter VIII), associations between test-day results (milk yield, Fat %, Protein %, Lactose %, SCS, Ratio of Fat and Protein (FPR) and MUN) and fertility traits (success of first insemination (SFI) and CTFS) with the health trait CM were analyzed on basis of data set III. The analysis was based on a recursive linear model for Gaussian distributed traits, and on a recursive threshold model for categorical data. A three-trait- model was defined to describe the recursive effects of a test-day results in the early lactation on the trait CM (or "liability to clinical mastitis (LCM) to the underlying liability scale) and additionally the recursive effect of CM on the following test-day results (trait 1 = test-day result before CM, trait 2 = CM, trait 3 = test-day result after CM). For the calculation of the recursive effects among CM and fertility traits SFI and CTFS, a two-trait model was postulated, which described the effects of CM on SFI and CTFS. Estiamte of heritability for LCM was 0.05, and all other heritabilities were in a reasonable range with low posterior standard deviations. The lowest heritability estimates were obtained for the fertility traits (SFI: $h^2 = 0,02$ and CTFS: $h^2 \approx 0$). Posterior estimates of genetic correlations between LCM and production traits (Milk yield), between LCM and MUN, and and between LCM and SCS

ranged between 0.56 to 0.68. The results confirm a genetic antagonism between milk yield and LCM and the suitability of SCS as an indicator trait for CM in dairy cattle breeding programs. Structural equation coefficients describe the influence of a first trait on a second trait on the phenotypic level. Higher values for Fat % and FPR were associated with higher rates of CM. Recursive effects between SCS and CM were positive, reflecting strong phenotypic effects between the two traits. The structural equation coefficients also explain an adverse effect of CM on fertility traits (CTFS and SFI). Treatments of CM had no significant effect on the production traits in the ongoing lactation. With highest frequency, mastitis was treated with beta-lactam antibiotics. However, the values for SCS and other production traits after the treatment with beta-lactam antibiotics were comparable to those treatments with other antibiotics or homeopathics.

A general discussion in Chapter IX reflects the essential aspects of this thesis and provides suggestions for further activities with respect to the genetic-statistical modeling and optimization of veterinary activities. With the aim of further improving of genetic-statistical models, estimation of genetic parameters of binary longitudinal mastitis by applying random threshold models was done. Furthermore, the herd- test-day effect was more precisely modeled as in previous studies, by taking into account additional environmental effects such as the milking frequency and animal specific antibiotic applications. Application of such random regression methodology allows the estimation of genetic parameters for clinical mastitis for varying physiological and environmental conditions. Genetic correlations between clinical mastitis and protein-kg slightly varied during lactation, but did not prove distinct genetic antagonisms between udder health and productivity in the course of lactation. Genetic correlations between somatic cell count and clinical mastitis in the range of $r_g = 0.70$ confirmed previous estimates from multiple- trait- models.

The thesis impressively has shown the potential of recursive model applications. Genetic parameters and phenotypic relationships among traits were estimated by simultaneously taking into account specific antibiotic applications. In consequence, unbiased solutions for different antibiotic treatments were generated. Solutions show the impact or interactions of various drugs on or with objectively recorded phenotypes (production and functional traits) in the ongoing lactation. So far, and due to the current limitations of statistical recursive modeling, only two repeated measurements of the same traits were considered in distinct intervals. With regard to ongoing scientific studies in this general context, innovation is

imperative to combine recursive pathway models with random regression methodology to describe associations among traits in dependency of continuous environmental changes.

Furthermore, it would be of high relevance to study the “classic UAW” not only as an effect, but as a trait itself. By using recursive pathway methodology, such "UAW traits" should be analyzed by considering simultaneously genetics and other environmental effects. The present study quite clearly revealed the general drawback: Phenotypes for all relevant traits, as well as their genetic and environmental factors are not simultaneously available in appropriate data sets. Thus, at the end of the general discussion it is proposed to modify the existent detection system for UAW in such a way that systematically allows entries of pedigree data. In addition, electronically on-farm health data recording systems should have additional "tools" like obvious interfaces or input masks to report any UAW in connection with application of antibiotics or other drugs. Sensitization for UAW data input is not only imperative for veterinarians, but also for farmers or herd- manager.

KAPITEL I

Einleitung

EINLEITUNG

Ohne Zweifel zählt Mastitis bei Milchkühen zu den Hauptabgangsursachen und hat somit aufgrund von erhöhtem Remontierungsbedarf, Kosten der Behandlung, Wartezeiten für Milch bei antibiotikahaltigen Applikationen, assoziierter Leistungsdepression im Laktationsverlauf und gesteigertem Arbeitsaufwand eine hohe innerbetriebliche ökonomische Komponente. Ursachen und Wirkungen einer Mastitis gestalten sich allerdings außerordentlich komplex mit einer Vielzahl an Interaktionen zwischen beteiligten Merkmalen sowie tier- und umweltbezogenen Einflussgrößen.

Bei den Wechselwirkungen zwischen Mastitis und anderen Produktions- und Sekundärmerkmalen gibt es widersprüchliche Ergebnisse sowohl auf phänotypischer als auch auf genetischer Ebene, z.B. derart, ob hohe Milchleistungen generell mit einer höheren Suszeptibilität einhergehen. In der milchkuhhaltenden Praxis wird oftmals die Meinung vertreten, dass hohe Milchleistungen nur von gesunden Kühen realisiert werden können, und somit kein Antagonismus zwischen Leistungsniveau und Gesundheit bestehen kann. In diesem Kontext ist aber auch die Merkmalsdefinition der Milchmenge von Bedeutung, nämlich ob der Fokus auf selektierte Testtage zu Laktationsbeginn oder auf abgeschlossene Laktationsleistungen gerichtet ist. Moderne Tierzuchtwissenschaft mit der Ausrichtung auf die Werkzeuge der statistischen Nutztiergenetik hat in der Vergangenheit i.d.R. gemischte lineare oder generalisierte gemischt lineare Modelle angewendet, um die Beziehungen zwischen Mastitis und anderen Merkmalen zu analysieren. Diese Modelle erlauben es allerdings nicht, hinreichend den physiologischen oder biologischen Hintergrund, insbesondere von Gesundheitsmerkmalen, zu analysieren. Neue Analysemethoden in der quantitativen Genetik ermöglicht die von Gianola und Sorenesen (2004) entwickelte Pfadmodellmethodik. Dieses, ursprünglich schon in den 1940er Jahren in der Humanmedizin und Ökonometrie entwickelte theoretische Grundgerüst, ermöglicht es, simultane und rekursive Wechselwirkungen zwischen Merkmalen zu modellieren, um darauf basierend die genaue Unterscheidung zwischen genetischen und umweltbedingten Einflussgrößen zu erfassen. Die genetischen Einflussgrößen werden dabei über die additiv-genetische oder auf Bullen basierende Verwandtschaftsmatrix berücksichtigt. Produktionsbedingungen wie Management- oder Betriebseffekte gehen als systematische oder fixe Effekte in die

Mischmodellgleichungen ein. Das Leistungsniveau wird üblicherweise als korreliertes Merkmal berücksichtigt, aber es besteht auch die Möglichkeit definierte Milchleistungsniveaus als Effekt zu modellieren.

Mastitiden bei Milchkühen werden in den meisten Fällen mit antibiotikahaltigen Euterinjektoren behandelt. Es wird die Hypothese aufgestellt, dass der verabreichte Wirkstoff wesentlichen Einfluss auf Regeneration, Gesundheit und Leistungsniveau im weiteren Laktationsverlauf hat und somit als zusätzlicher Effekt im Pfadmodell berücksichtigt werden muss. In Extremfällen können nach antibiotischer Medikamentenapplikation aber auch sofort "sichtbare und klassische" unerwünschte Arzneimittelwirkungen (UAW) auftreten, z.B. der Tod der Kuh durch anaphylaktischen Schock. Hinreichende Inzidenzen von identischen UAW vorausgesetzt, würde dies auch die Modellierung dieser spezifischen UAW als zusätzliches Merkmal im rekursiven oder simultanen Pfadmodell erlauben. Somit bestand das erste Ziel der durchgeführten Studie darin, die in die Pharmakovigilanz- Datenbank des BVL über einen Zeitraum von 5 Jahren integrierten UAW bzgl. der Wirkstoffe und Frequenzen zu analysieren. Weiter wurde ein intensiver Austausch zu 11 Tierarztpraxen über den Zeitraum von 2 Jahren gepflegt, um UAW strukturiert zu erfragen und zu erfassen. Über den gleichen Zeitraum wurden 3 partizipierende landwirtschaftliche Milchvieh- Betriebe intensiv betreut und von 2 Betrieben die durchgeführten Behandlungen basierend auf Bestandsbüchern mit etwaigem Bezug zu UAW ausgewertet (siehe Kapitel III).

Die Auswertung aller im Titel der Arbeit spezifizierten Kenngrößen a) antibiotikahaltiger Euterinjektoren, b) Genetik, c) Leistungsniveau und d) Produktionsumwelt impliziert die Verfügbarkeit geeigneter Datensätze. Hierzu sollen zwei Datensätze, die unterschiedliche Produktionsumwelten beschreiben, genutzt und analysiert werden. Der erste Datensatz beinhaltet die notwendige Information von hochleistenden Testherden der Rasse Holstein Friesian aus Thüringen, die unter intensiven Managementbedingungen produzieren. An diesem Datensatz werden genetische (Ko)Varianzkomponenten für Mastitis und weitere assoziierte Produktions- und Sekundärmerkmale geschätzt. In diesem eher "robusten" Basismodell sollen weder rekursive Effekte noch Antitiotikawirkungen modelliert, sondern generell die Beziehungen zwischen Merkmalen auf genetischer Ebene abgebildet werden (siehe Kapitel IV). Testherden aus Thüringen sind charakterisiert durch eine hervorragende Datenquantität und -qualität, wobei insbesondere die Erfassung der täglichen Milchmenge eine Rolle spielt. Somit bietet sich als weiterführende Analyse an, den Effekt einer

Antibiotikabehandlung spezifizierter Wirkstoffklassen auf Produktions- und definierte Sekundärmerkmale im weiteren Laktationsverlauf zu analysieren. Die simultane Berücksichtigung von Genetik, Leistungsniveau und antibiotischer Applikation im finalen rekursiven Modell erfolgt basierend auf zwei komplementären Datenstrukturen, nämlich der Daten der erwähnten Großbetriebe aus Thüringen und zusätzlich basierend auf Daten von kleinbäuerlichen "low input" Familienbetrieben aus der Schweiz für die Rasse Braunvieh.

Als finaler Ausblick bzgl. der genetisch- statistischen Modellierung (siehe Kapitel 9.6) werden am substantiellen Datenmaterial aus Thüringen sogenannte Random Regression Modelle für kategoriale Mastitisdaten erprobt und angewendet. Random Regression Modelle haben gezeigt, dass sie in der Lage sind physiologische und genetische Hintergründe und Wechselwirkungen für normalverteilte longitudinale Produktionsmerkmale im Zeitablauf detailliert abzubilden. Somit besteht die weitere Innovation der vorliegenden Studie darin, diese Idee auf binäre Mastitisdaten anzuwenden und den sogenannten Herdentesttagseffekt bzgl. exogener Umweltfaktoren (u.a. Melkfrequenz, Mastitisapplikation) zu erweitern.

KAPITEL II

Literaturübersicht

LITERATURÜBERSICHT

2.1 Bedeutung der Mastitis

Die Mastitis stellt eine der am häufigsten auftretenden Erkrankungen in Milchviehherden dar. Gut ein Drittel aller Kühe erkranken während der Laktation an einer klinisch manifesten Mastitis (Harks, 2006). Das bedeutet, dass die Gesamtzahl an Mastitis erkrankter Tiere einer Herde ständig 1-2% beträgt. Erkrankt eine Kuh an Mastitis, so stellt dies einen erheblichen finanziellen Verlust für den Betrieb dar. Die Kosten für eine Mastitis liegen zwischen 180 € und 1800 €- dies ist abhängig davon, ob es zum Totalverlust des Tieres kommt oder ob es erfolgreich therapiert werden kann (Pfister, 2009).

Weiterhin ist die Mastitis auch die verlustreichste Einzeltierererkrankung milchviehhaltender Betriebe weltweit. Die häufigsten Ursachen für einen vorzeitigen Abgang von Milchkühen sind Eutergesundheitsprobleme und Fruchtbarkeitsstörungen. 26,5% der vorzeitig abgegangenen Milchkühe in den USA wurden aufgrund von schlechter Eutergesundheit geschlachtet (Wolter, 1996). Eutergesundheitsstörungen sind auch in Hessen die zweithäufigste Abgangsursache (19,4%) für Milchkühe (Wolter, 1996).

2.1.1 Inzidenzen

Studien an hochleistenden Milchkühen der heutigen Zeit ergaben Inzidenzen für Mastitis im Bereich von 0,24 (Sörensen et al., 2010) bis 0,42 (Østergaard, 2005). In diesem Rahmen bewegten sich auch die Ergebnisse einer Studie von Nash et al. (2000). In dieser Studie wurden die Kühe eingeteilt in Erstlaktierende und Zweitlaktierende. In der Gruppe der Erstlaktierenden lag die mittlere Inzidenz bei 0,27; in der Gruppe der Zweitlaktierenden bei 0,22. Eine Analyse zur Inzidenz der häufigsten Erkrankungen der Milchkuh in Zusammenarbeit mit kanadischen Milcherzeugern belegte, dass die Mastitis die am häufigsten auftretende Erkrankung in Milchviehbeständen ist (Neuenschwander, 2010).

Das Produktionssystem (ökologisch, konventionell) hat den Ergebnissen einiger Studien zufolge keinen Einfluss auf die Mastitisinzidenz (Brinkmann & Winckler, 2005, Vaarst et al., 2001, Weller & Bowling, 2000).

2.1.2 Ökonomie

Die finanziellen Einbußen einer Mastitis setzen sich aus vielen Komponenten zusammen. Insgesamt sind die durch subklinische Mastitiden entstehenden Kosten wesentlich höher als die Kosten, die in Folge einer klinischen Mastitis entstehen. Dies zeigt folgende Aufstellung (Wolter et al., 2013):

Klinische Mastitis

- Ablieferungssperre für Milch klinisch kranker Tiere
- Ablieferungssperre aufgrund der Wartezeit von Medikamenten
- Beeinträchtigung der Milchleistung
- Medikamente und Tierarztkosten
- erhöhter Arbeitsaufwand

Subklinische Mastitis

- reduzierte Milchleistung
- veränderte Milchezusammensetzung (Käsereitauglichkeit)
- Beeinträchtigung der hygienischen Wertigkeit als Lebensmittel

Die Gesamtkosten, die auch Verluste durch entgangene Einnahmen und erhöhte Remontierungsraten einbeziehen, belaufen sich auf Summen zwischen 80-180 €/ Kuh und Jahr in westeuropäischen Produktionssystemen (Kossaibati und Esslemont, 1997; Seegers et al., 2003).

2.1.3 Heritabilitäten

Im gemischt linearen Modell schätzten Hansen et al. (2002) and Carlén et al. (2004) Heritabilitäten zwischen 0,1– 0,35. In weiteren Studien, in denen Heritabilitäten für Mastitis geschätzt wurden, lagen die Ergebnisse zwischen 0,09- 0,16 (Abdel-Azim et al., 2005; Zwald et al., 2006). In den beiden letztgenannten Studien wurden Schwellenwertmodelle angewendet. Die Aufzeichnungen der Mastitisdaten erfolgten durch den Landwirt. Heringstad et al. (2003) untersuchte die Heritabilitäten bei Erstkalbinnen mittels eines Schwellenwertmodells. In dieser Studie lagen sie bei 0,066. In einer anderen Studie, in der nicht nur die erste, sondern die ersten fünf Laktationen analysiert wurden, lag die Heritabilität bei durchschnittlich 0,034 (Kadarmideen and Pryce, 2001).

2.2 Umwelteffekte und Mastitis

Das Auftreten von Mastitiden wird stark durch Umwelteffekte beeinflusst. Im tierzüchterischen Kontext integriert der Begriff der „Umwelt“ sämtliche nicht- genetischen Effekte. Damit genetisch- statistische Analysen möglichst genau durchgeführt und deren genetische Schätzwerte richtig interpretiert werden können, ist es wichtig, signifikante Umwelteffekte zu kennen, um darauf entsprechend korrigieren zu können.

2.2.1 Herdeneffekt

Der Herdeneffekt beinhaltet Parameter wie Management, Fütterung, Leistungsniveau der Herden sowie Melkverfahren, Herdengröße und vorhandenes Erregerspektrum. Emanuelson und Persson (1984) bildeten auch das genetische Niveau der Herden mittels Herdeneffekt ab. Der Herdeneffekt wurde in einigen Studien untersucht und hat mit 5- 16 % einen großen Anteil an der Gesamtvarianz der Mastitiden (Lindström (1983), Emanuelson und Persson (1984), Madsen et al. (1987), Andriga und Wilmink (1991), Funke (1991), Doubravsky (1992), Distl (1992)).

2.2.2 Jahreszeit/ Kalbesaison

Die Effekte des Kalbemonats und des Kalbejahrs spielen in den bisher angewendeten gemischten Modellen eine eher untergeordnete Rolle. Dennoch gibt es einige Studien, die Assoziationen nachweisen können. In einigen Studien wurden in den späteren Sommermonaten die höchsten Zellgehalte gefunden (Essl und Wirth, 1987; Andriga und Wilmink, 1991; Kramer, 1999). In anderen Studien zeigten sich die höchsten Zellgehalte in den frühen Sommermonaten, was auf den Weideaustrieb zurück geführt wurde (Hamann und Reichmuth, 1990; Bahr, 1994). In diesem Fall scheint aber die Fütterung und Haltung als Herdeneffekt und weniger die Jahreszeit eine Einflussgröße zu sein. Andere Studien zeigten Varianzanteile unter 1% und schlussfolgerten, dass der Effekt der Jahreszeit/ Kalbesaison damit zu vernachlässigen sei (Andriga und Wilmink, 1991; Doubravsky, 1992). Nach Duda (1988), Doubravsky (1992), Distl (1992) und Bahr (1994) hatte der Abkalbemonat in Bezug auf die Zellzahl nur einen sehr geringen Effekt. Dennoch stellten sie fest, dass infolge von Abkalbungen zwischen August und November weniger Mastitiden auftraten.

2.2.3 Rasse

Die Rasse als Umwelteffekt wurde in Untersuchungen nur selten berücksichtigt. Batra (1986) fokussierte in einer vergleichenden Untersuchung auf die Rassen Brown Swiss, Norwegian Red Holstein und Ayrshire. Im Ergebnis hatte der Rasseeffekt keinen signifikanten Einfluss auf die somatische Zellzahl und die elektrische Leitfähigkeit der Milch. In einer Studie von Sondergaard et al. (2002) wurde der Einfluß der Rassen Jersey, Red Danish und Holstein Friesian auf die logarithmierte Zellzahl (SCC log) und die klinische Mastitis (2. bis 50. Laktationstag) untersucht. Die Tierzahl war allerdings mit 293 Tieren sehr gering.

2.3 Tierbezogene Effekte und Mastitis

2.3.1 Milchleistung

Die Milchleistung und deren Einfluss auf klinische Mastitiden wurde in einigen Studien untersucht. Emanuelson und Persson (1984) zeigten ein streng antagonistisches Verhältnis zwischen Milchmenge und Zellzahl auf. Der Effekt der Milchmenge auf die Zellzahl war signifikant. Auch in einer Studie von Trede (1987) und in einer weiteren von Bahr (1994) innerhalb der Rassen „Deutsche Schwarzbunte“ und „Deutsche Rotbunte“ in Schleswig Holstein wurde eine züchterisch unerwünschte Korrelation von Milchleistung zu Zellzahl nachgewiesen. Auch in aktuelleren Studien wie z.B. in einer Studie von Nyman et al. (2007) zeigte sich, dass Kühe mit höheren Milchleistungen wesentlich häufiger an Mastitis erkranken als Kühe mit niedrigen Milchleistungen. In der genannten Studie wurden Kühe in hochleistend und niederleistend eingruppiert. In der niederleistenden Gruppe ergab sich eine Inzidenz für klinische Mastitis zwischen 3,1% und 12,8 %, während diese in der Gruppe der hochleistenden Kühe zwischen 20,8% und 41,2% lag. Ähnliche Resultate liefert eine Studie von Luczac et al. (2009). Im Ergebnis konnte diese Studie ein signifikant höheres Risiko für Mastitiserkrankungen im höheren Leistungsbereich (> 10.000 kg Jahresleistung) nachweisen.

Eine wegweisende Studie in diesem Zusammenhang hat Heringstad et al. (2007) in Form des sogenannten Selektionsexperiments durchgeführt. In diesem Experiment wurden Kühe mit hohen Milchleistungen streng mit Bullen angepaart, die ebenfalls hohe Milchleistungen vererben. Diese Anpaarungen führten über insgesamt fünf Generationen zu einem zunehmenden Anstieg der Inzidenz für klinische Mastitis.

2.3.2 Laktationsnummer

Ein erhöhtes Mastitisrisiko mit zunehmender Laktationsnummer wurde in mehreren Studien beschrieben. Bis zur fünften Laktation stieg die Zellzahl linear an, anschließend stagnierte sie (Emanuelson und Persson, 1984). In einer weiteren Studie von Doubravsky (1992) waren die Zellzahlen in der ersten Laktation niedrig. In der fünften Laktation wurden Zellzahlen über 500.000/ ml Milch gemessen. Distl (1992) beobachtete einen signifikanten Effekt der

Laktationsnummer auf die klinische Mastitis, d.h. mit höherer Laktationsnummer wurden steigende Mastitisinzidenzen nachgewiesen.

Andere Studien wiederum konnten keinen signifikanten Effekt der Laktationsnummer auf die Zellzahl feststellen (Sondergaard et al. (2002), Pätsch (2002)). Monardes und Hayes (1985) untersuchten einen interessanten Aspekt, der mit steigender Laktationsnummer auftritt. In deren Studie wurde der Grund der ansteigenden Zellzahlen mit steigender Laktationsnummer untersucht. Als Ursache wurden kumulative Effekte latenter Infektionen und nachwirkende Effekte aus klinischen Infektionen nachgewiesen. In einer anderen Studie von Duda (1988) wird dagegen davon ausgegangen, dass Alterungsprozesse im Gewebe für den stetigen Zellzahlanstieg verantwortlich sind.

2.3.3 Laktationsstadium

Nach den Studien von Andringa und Wilmink (1991) und Doubravsky (1992) beträgt der prozentuale Anteil des Laktationsstadiums an der Gesamtvarianz der Zellzahl 1- 4 %. Die Häufigkeiten der Mastitiden sind am Anfang und am Ende der Laktation am höchsten. Der Verlauf der Zellzahl während der Laktation ist aber unabhängig vom Infektionsstatus der Kuh. Allerdings ist die Zellzahl bei an Mastitis erkrankten Kühen insgesamt höher als bei gesunden Tieren. Duda (1988) fand heraus, dass der Zellgehalt der Milch einem Verdünnungseffekt durch die Milchmenge unterliegt. Dadurch ergibt sich ein Zellzahlminimum während des Laktationsgipfels nach ca. 60- 90 Tagen. Anschließend steigt die Zellzahl bei gleichzeitig sinkender Milchleistung bis zum Ende der Laktation hin an. Aus diesen Beobachtungen kann gefolgert werden, dass für die Zellzahlvariation während der Laktation eigentlich die Milchleistung der Kuh maßgeblich ist; die absolute Zellzahl bleibt über den gesamten Laktationsverlauf annähernd konstant (Wettstein (1991), Danuser (1992), Doubravsky und Trappmann (1992) und Bahr (1994)).

2.3.4 Kalbealter

Einige Studien zum Erstkalbealter zeigten keinen oder nur einen geringen Effekt des Erstkalbealters auf die Höhe der Zellzahl (Schutz et al, 1990; Bahr, 1994). Eine andere Studie konnte mit zunehmendem Erstkalbealter auch einen geringen Zellzahlanstieg feststellen. Das heißt, je älter die Tiere bei der ersten Kalbung waren, desto höher war die Zellzahl in der ersten Laktation (Welper und Freeman, 1992). Bunch et al. (1984) stellten positive Effekte auf die Häufigkeit des Auftretens einer Mastitis fest, wenn das Erstkalbealter unter 28 Monate lag. Dieser positive Effekt konnte auch in der Folgelaktation noch nachgewiesen werden. Dieses Resultat unterstreicht auch die Ergebnisse einer weiteren Studie von Phillipson et al. (1980), in der herausgefunden wurde, dass Behandlungsfrequenzen aller Erkrankungen am geringsten sind, wenn das Erstkalbealter zwischen 25 und 30 Monaten liegt. Funke (1999) fand in seiner Studie hingegen keinen positiven Effekt des Erstkalbealters auf die klinische Mastitis. Der Anteil des Erstkalbealters an der Gesamtvarianz des Merkmals klinische Mastitis betrug 0,2- 1,0 %.

2.3.5 Somatische Zellzahl

Die somatische Zellzahl hat in vielen Ländern große Bedeutung für Zuchtprogramme. Eines der wichtigsten Ziele hierbei ist die Zucht auf Mastitisresistenz, da dies einerseits einen großen ökonomischen Vorteil mit sich bringen würde, und andererseits würde die Tiergesundheit maßgeblich verbessert (Ødegard, et al, 2003). Einige Studien haben gezeigt, dass eine Mastitis immer auch mit dem Anstieg der somatischen Zellzahl (SCS) verbunden ist (Mrode and Swanson, 1996). Infolgedessen wurde die SCS als indirektes Merkmal genutzt, um Kühe auf eine geringere Mastitisinzidenz züchten zu können. Eine sehr interessante Studie in diesem Zusammenhang wurde von Heringstad et al. (2007) in Form eines Selektionsexperimentes durchgeführt. Es wurden Kühe mit niedriger Mastitisinzidenz mit ebensolchen Bullen angepaart. Über insgesamt fünf Generationen war zu beobachten, dass die Mastitisinzidenz immer weiter zurückging. Ebenso fand Nash et al. (2000) in einer Studie heraus, dass Töchter von Bullen, die niedrige SCS vererben, in der ersten und zweiten

Laktation im Vergleich mit anderen Töchtern, weniger häufig an klinischer Mastitis erkranken.

Andere Studien haben gezeigt, dass ein initial niedriger SCS mit einem höheren Risiko an Mastitis zu erkranken verbunden ist (Schukken et al., 1994; Shuster et al., 1996; Schukken et al., 1999; Suriyasathaporn et al., 2000). Erklärt wird diese Tatsache dadurch, dass die SCS eine immunologische Funktion in der Abwehr von Mastitiserregern haben soll. Durch die niedrigen SCS ist auch die immunologische Antwort auf etwaige Erreger abgemildert, wodurch es leichter zu einer Infektion kommen kann.

2.4. Arzneimittel zur Behandlung von Mastitiden

2.4.1. Antibiotika

In Deutschland zugelassene Antibiotika, die zur Mastitistherapie einer akuten oder subklinischen Mastitis oder prophylaktisch im Rahmen des Trockenstellens angewendet werden, stammen aus den 5 Wirkstoffgruppen Beta- Laktam Antibiotika, Quinolone, Aminoglykosid Antibiotika, Makrolid Antibiotika und Lincosamid Antibiotika. Die einzelnen Wirkstoffgruppen enthalten diverse Wirkstoffe (Tabelle 1). Man unterscheidet zwischen bakteriostatisch wirksamen Substanzen, die das Bakterienwachstum durch verschiedene Mechanismen hemmen, und bakteriziden Antibiotika, die die Bakterien abtöten (siehe Abb. 1). Das Ziel der antibiotischen Behandlung besteht somit darin, die Mastitiserreger zu minimieren. Über effektive immunologische Mechanismen wird in Folge eine Selbstheilung des Organismus angestrebt (Hamann und Krömker, 1999). Antibiotika werden in der Regel auf Grundlage eines Antibiogramms eingesetzt. In klinisch schwerwiegenden Fällen werden auch Antibiotika, die über ein breites Wirkspektrum verfügen, als Sofortmaßnahme eingesetzt. Die bakteriologische Untersuchung erfolgt dann „post applicationem“ und dient zur Absicherung der Therapie. Im Falle der Mastitis des Rindes kann eine antibiotische Therapie allein intrazisternal, allein per injectionem oder aus einer Kombination aus beidem bestehen. Die Heilungsraten der Mastitis sind zum einen davon abhängig, um welchen Erreger es sich handelt und zum anderen davon, welches Antibiotikum eingesetzt wurde. In einer retrospektiven Praxisstudie von Wilson et al. (1999) wurden durchschnittliche

bakteriologische Heilungsraten nach einer antibiotischen Therapie von 75% (1891 Kühe von 2526 an Mastitis erkrankten Kühen) erreicht (Tabelle 2). In dieser Studie wurden auch die Heilungsraten nach Applikation der unterschiedlichen Antibiotika in Verbindung mit den durch Antibiogramm nachgewiesenen Erreger verglichen. Amoxicillin stach durch eine sehr hohe Heilungsrate von durchschnittlich 82% heraus und wurde in dieser Studie auch am häufigsten eingesetzt (1103 von 2526 Behandlungen). Des Weiteren wurden in dieser Studie Heilungsraten für die nachgewiesenen bakteriellen Erreger ermittelt (Tabelle 3). Die höchste durchschnittliche Heilungsrate in einer Erregerkategorie wurde in dieser Studie bei Streptokokken (außer Strep. Agalaktiae) festgestellt und lag bei 83%; Amoxicillin erreichte in dieser Kategorie sogar eine Heilungsrate von 90%.

Tabelle 1. Einteilung von Antibiotika zur Mastitistherapie nach Wirkstoffen in Wirkstoffgruppen

	Wirkstoffgruppe	Wirkstoffe
<u>Beta Laktam Antibiotika</u>	1. Penicilline	Benzylpenicillin sowie seine Ester und Salze
		Amoxicillin
		Ampicillin
		Cloxacillin
		Oxacillin
	2. Cephalosporine	Cefquinom
		Cefoperazon
		Ceftiofur
		Cephalexin
		Cefazolin
		Cefapirin
		Danofloxacin
		Marbofloxacin
		Enrofloxacin
<u>Quinolone (Gyrase Hemmer)</u>	Spectinomycin	
	Kanamycin	
	Neomycin	
<u>Aminoglykosid Antibiotika</u>	Gentamicin	
	Tylosin	
	Erythromycin	
<u>Makrolid Antibiotika</u>	Lincomycin	
	Trimethoprim/ Sulfonamid	
<u>Lincosamid Antibiotika</u>		Oxytetrazyklin
<u>Trimethoprim/ Sulfonamid</u>		Diverse
<u>Tetrazykline</u>		
<u>Homöopathika</u>		


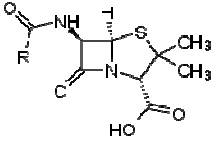
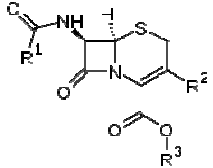
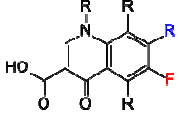

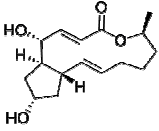
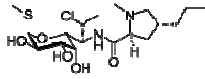
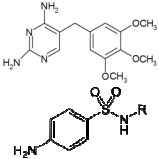
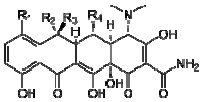
Wirkstoffgruppe	Wirkmechanismus	Strukturformel
Beta Laktam Antibiotika		
1. Penicilline	Bakterizide Wirkung durch Hemmung der Peptidoglycansynthese bei der Zellteilung.	
2. Cephalosporine		
Quinolone (Gyrase Hemmer)	Bakteriostatisch und bakterizid aufgrund der Hemmung des bakterieneigenen Enzyms DNA- Gyrase	
Aminoglykosid Antibiotika	Bakteriostatisch durch Hemmung der Proteinbiosynthese der bakteriellen Ribosomen	
Makrolid Antibiotika	Bakteriostatisch durch Hemmung der Proteinbiosynthese der bakteriellen Ribosomen	
Lincosamid Antibiotika	Bakteriostatisch durch Hemmung der Proteinbiosynthese der bakteriellen Ribosomen	
Trimethoprim/ Sulfonamid	Synergistischer Effekt der beiden Substanzen, der zu einer bakteriziden Wirkung durch Hemmung der bakteriellen Folsäuresynthese führt, während die beiden Einzelsubstanzen jeweils nur bakteriostatisch wirken.	
Tetrazykline	Hemmung der Proteinbiosynthese der bakteriellen Ribosomen	

Abb. 1 Strukturformeln und Wirkmechanismen der für die Mastitistherapie relevanten Antibiotika- Wirkstoffgruppen (Löscher, Ungemach u. Kroker, 1990; eigene Darstellung)

Tabelle 2 und Tabelle 3 geben noch einmal die Abhängigkeit der Heilungsraten zum einen vom zur antibiotischen Therapie ausgewählten Antibiotikum und zum anderen vom nachgewiesenen Erreger wieder (eigene Darstellung nach Wilson et al., 1999).

Tabelle 2. Bakteriologische Heilungsraten für Mastitis für sieben ausgewählte Antibiotika

Antibiotikum	Bakteriologische Heilungsrate
Amoxicillin	82 %
Cefapirin	68 %
Cloxacillin	73 %
Erythromycin	76 %
Hetacillin	62 %
Penicillin	65 %
Pirlimycin	44 %

Tabelle 3. Bakteriologische Heilungsrate für fünf ausgewählte Erreger (-gruppen)

Erreger	Bakteriologische Heilungsrate
Streptococcus agalactiae	77 %
Staphylococcus aureus	49 %
Streptococcus sp. (außer Sc. Agalactiae)	83 %
CNS	81 %
E. coli, Klebsiella, Proteus, Corynebact., Pseudomonas spp, Pasteurella spp.	74 %

2.4.2. Homöopathika

Wie auch in vielen anderen Bereichen der Nutztierhaltung hat auch in der Mastitistherapie die Behandlung mit Homöopathika Einzug gehalten. Die Homöopathie verwendet verdünnte und potenzierte Substanzen pflanzlicher, mineralischer oder tierischer Herkunft; diese Substanzen sind oft ursprünglich giftig, verlieren diese Eigenschaft aber durch diverse Verdünnungsschritte. Homöopathika werden nach den Simileregeln verordnet (Löscher, 1992), was soviel heißt wie „Gleiches wird durch Gleiches geheilt“. Je ähnlicher das Bild einer Substanz in ihrer ursprünglichen toxischen Form dem aktuellen Krankheitsbild ist, desto größer sollen in der Homöopathie die Erfolgsaussichten einer Behandlung sein.

Um den Einsatz von Antibiotika in ökologisch wirtschaftenden Betrieben zu reduzieren, schreibt die Verordnungen der EU EG 889/ 2008 in Abschnitt 4, Artikel 24 vor, homöopathische und pflanzliche Arzneimittel bevorzugt anzuwenden, sofern ihre therapeutische Wirkung für die Tierart und das Krankheitsbild geeignet sind. Die Anwendung antibiotischer Arzneimittel ist nur unter strengen Bedingungen gestattet, z.B. wenn homöopathische oder pflanzliche Arzneimittel unzweckmäßig erscheinen.

Homöopathika sind schwer mit Antibiotika vergleichbar, da zwei völlig unterschiedliche Ansätze der Heilmethoden verfolgt werden. Während Antibiotika möglichst dann gezielt eingesetzt werden, wenn ein spezifischer Erreger und dessen Sensitivität gegen ein Antibiotikum nachgewiesen wurden, wird in der Homöopathie die Verhaltensänderung durch die Erkrankung und deren Ursachen explizit in die Verordnung des passenden homöopathischen Mittels einbezogen. Tabelle 4 gibt einen kurzen Überblick über die häufigsten zur Mastitistherapie angewendeten Homöopathika. Dieser Überblick dient nur der Vereinfachung und soll keinesfalls eine Therapieempfehlung darstellen, da die Homöopathie das passende Mittel immer tierindividuell und nach der bereits o.g. Simileregeln auswählt.

Verschiedene Studien haben sich auch mit dem Vergleich der Heilungsraten von Antibiotika und Homöopathika beschäftigt. Werner et al. (2010) zeigt in einer Studie, dass Homöopathika und Antibiotika sich hinsichtlich der Heilungsraten nicht signifikant unterscheiden. Die Studie wurde allerdings nur an milden und subakuten Mastitiden durchgeführt. Zu einem ähnlichen Ergebnis kommt auch eine Praxisstudie von Krömker (2003) im Rahmen des

Untersuchungsvorhabens in der ökologischen Rindviehhaltung in Niedersachsen. Auch in dieser Studie wurden keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Heilungsraten nach antibiotischer oder homöopathischer Therapie festgestellt. Es wurden Heilungsraten nach homöopathischer Therapie von 56,6 % erreicht.

Tabelle 4. Homöopathika zur Behandlung der drei klinischen Mastitisformen (nach Labre, 2005; eigene Darstellung)

Akute Mastitis	Aconitum (Blauer Eisenhut)
<i>(vergrößertes, entzündetes, gerötetes Viertel)</i>	Belladonna (Tollkirsche)
	Phytolacca (Kermesbeere)
	Chamomilla (Kamille)
	Bryonia (Zaunrübe)
	Hepar sulfuris (Kalkschwefelleber)
	Sulfur (Schwefel)
	Lycopodium (Bärlapp)
	Croton tiglium (Purgierkörner)
Subakute Mastitis	nach Erscheinungsbild entweder aus dem Sektor akut oder chronisch; fließende Übergänge
Chronische Mastitis	Conium maculatum (Fleckenschierling)
<i>(Sklerosierung des betroffenen Viertels, veränderte Milchqualität)</i>	Silicea (Kieselerde)
	Kalium chloratum (Kaliumchlorid)
	Pulsatilla (Küchenschelle)
	Asa foetida (Stinkasant)

2.5 Unerwünschte Arzneimittelwirkungen

2.5.1. Angaben der Hersteller zu unerwünschten Arzneimittelwirkungen

Einen Überblick über bekannte unerwünschte Arzneimittelwirkungen (UAW) bieten die den Handelspräparaten beiliegenden Informationen (Packungsbeilage). Die häufigsten UAW sind im Folgenden nach Wirkstoffgruppe zusammengestellt

Betalaktam Antibiotika

Die häufigste unerwünschte Arzneimittelwirkung in dieser Gruppe ist der Anaphylaktische Schock, der auch zum Tode des Tieres führen kann. Desweiteren sind lokale Irritationen an der Injektionsstelle in den Herstellerangaben erwähnt. Seltener treten Magen- und Darmstörungen nach einer Behandlung mit Penicillinen auf und sehr selten kommt auch die Thyreotoxikose als unerwünschte Arzneimittelwirkung vor.

Chinolone (Gyrase- Hemmer)

Bekannte unerwünschte Arzneimittelwirkungen dieser Vertreter sind vor allem die lokale Reaktion an der Injektionsstelle, die durch Schmerzhaftigkeit und Schwellung deutlich sichtbar werden kann. Vereinzelt kann die intravenöse Injektion infolge von Kreislaufstörungen auch zu Schockreaktionen führen. Sehr selten sind gastrointestinale Störungen nach der Behandlung mit einem Chinolon. Eine Schädigung des Gelenkknorpels mit Bewegungsstörungen als Folge ist nicht auszuschließen.

Aminoglykosid- Antibiotika

In der Gruppe der Aminoglykosid- Antibiotika muss man insbesondere bei längerer Anwendungsdauer mit Störungen des Gehör- und Gleichgewichtssinnes rechnen. Auch die Nierenfunktion kann durch die längere vor allem parenterale Therapie gestört werden. Desweiteren sind Krämpfe, Atemnot und Kollaps als unerwünschte Arzneimittelwirkung angegeben, die durch die neuromuskulär blockierenden Eigenschaften von Aminoglykosid- Antibiotika bedingt sind. Auch anaphylaktische Reaktionen und lokale Hautreaktionen sind von den Herstellern als bekannte UAW angegeben.

Makrolid- Antibiotika

Unerwünschte Arzneimittelwirkungen in dieser Gruppe sind vornehmlich starke Reizung mit lokaler Gewebsdestruktion, sogenannten demarkierten Nekrosen. Auch gastrointestinale Störungen können nach der Anwendung von Makrolid- Antibiotika auftreten.

2.5.2. In Praxi aufgetretene UAW

Um auch praktische Kenntnisse von aufgetretenen UAW zu erlangen wurde eine UAW Datenbank des Bundesministeriums für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) in Berlin eingerichtet. Diese nimmt Meldungen über UAW von Tierhaltern, Tierärzten und pharmazeutischen Unternehmen entgegen und wertet diese aus. Eine ausführliche Auswertung der UAW Datenbank über das Auftreten von UAW nach antibiotischer Behandlung einer Mastitis zeigt auch Kapitel III der vorliegenden Arbeit. Diese Auswertung umfasste die Zeitspanne von März 2005 bis März 2010. In dieser Zeit sind beim BVL in Berlin insgesamt 87 Meldungen eingegangen, die mit einer Mastitisbehandlung in Verbindung standen. Die insgesamt 87 Meldungen umfassten eine Anzahl von 526 behandelten Milchkühen (Eine Meldung kann immer mehrere Tiere und mehrere Medikamente beinhalten). Von dieser Gesamtanzahl zeigten 313 Tiere nach der antibiotischen Behandlung eine Reaktion, 98 Tiere starben. Die gemeldeten Wirkstoffe, die zur Mastitisbehandlung eingesetzt wurden und die unerwünschte Arzneimittelwirkungen ausgelöst haben sollen, entsprachen auch denen, die in der Nutztierpraxis häufig im Einsatz sind.

2.5.3 Berichte über unerwünschte Arzneimittelwirkungen im Ausland

United Kingdom

In der Literatur gibt es einige Hinweise auf unerwünschte Arzneimittelwirkungen an Rindern nach der Verabreichung von Antibiotika. So wird im Zusammenhang mit einer

Mastitisbehandlung mit Neomycin über Ototoxizität und Nephrotoxizität berichtet (Woodward, 2005). Desweiteren wird in diesem Artikel auf Hypersensitivitätsreaktionen und negative Effekte auf den Gastrointestinaltrakt nach der Verabreichung von Tetracyclinen und Penicillinen an Rinder hingewiesen.

Schweden

In Schweden wurden zwischen den Jahren 1991-1995 28 Fälle über unerwünschte Arzneimittelwirkungen bei Rindern gemeldet. 10 dieser Meldungen bezogen sich auf die Verabreichung von Antibiotika. Zwei Kühe wurden ataktisch nach der Verabreichung von Benzylpenicillin. Bei weiteren zwei Tieren wurde über lokale Reaktionen an der Injektionsstelle berichtet nach der Verwendung von Oxytetracyclin beziehungsweise Trimethoprim-Sulfonamid. Eine andere Kuh wurde unruhig nach der Behandlung mit Spiramycin und ein weiteres Tier erlitt einen Kollaps nach der Injektion von Enrofloxacin. Außerdem wird von drei Fällen berichtet, in denen frischgekalbte Kühe noch Rückstände von Benzathine Penicillin in der Milch hatten, nachdem sie in der Trächtigkeit behandelt worden waren (Tjälve, 1997).

Schweiz

Die Schweiz verfügt seit dem 01. Januar 2002 über ein gesetzlich verankertes Pharmakovigilanz-Meldesystem. Die Meldungen über unerwünschte Arzneimittelwirkungen bei der Anwendung von Tierarzneimitteln steigen seither jährlich (Muentener et al., 2007). So gaben das Institut für Veterinärpharmakologie und -toxikologie der Universität Zürich, Swissmedic, Schweizerisches Heilmittelinstitut, Bern, das Institut für Viruskrankheiten und Immunprophylaxe (IVI), Mittelhäusern, und das Schweizerische Toxikologische Informationszentrum (STIZ), Zürich, auch für 2006 einen Bericht über das Auftreten unerwünschter Arzneimittelwirkungen heraus. Aus diesem geht hervor, dass es im Jahr 2006 insgesamt 118 Meldungen über unerwünschte Arzneimittelwirkungen gab. 20 Meldungen betrafen Antiinfektiva; davon allein 7 Meldungen über eine vermutlich allergische Reaktion

auf ein Trockensteller-Präparat für Milchkühe, welches als Wirkstoffe Benzylpenicillin und Neomycin beinhaltet. Als unerwünschte Arzneimittelwirkung wurden derbe Schwellungen, die teilweise mit heftigen Schmerzen und Fieber verbunden waren, angegeben (Müntener et al., 2007).

Brasilien

In der Region Sao Paulo wurden im Jahr 2009 4 ökologisch wirtschaftende Milchkuhbetriebe auf pathogene Mikroorganismen, somatische Zellzahlen und Arzneimittelrückstände in der Milch untersucht. Auch die Effektivität der eingesetzten Antibiotika wurde im Rahmen der Studie ausgewertet. Insgesamt wurden 148 Tiere untersucht. Es wurden hohe Resistenzraten bei der Untersuchung festgestellt, so waren 53,5% der Isolate gegen Penicillin resistent, 41,6% gegen Ampicillin und 38,6 % gegen Neomycin. In 40 von 148 Isolaten wurden Resistenzen gegenüber 3 oder mehr Antibiotika festgestellt.

In Zuge der Untersuchung wurden bei 4 Tieren Rückstände von Antibiotika in der Milch gefunden (Ribeiro, 2009).

In der Region Paraiba wurden 46 Staph. aureus positive Tiere auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika untersucht. Das Ergebnis der Untersuchung war, dass in den meisten Fällen eine Resistenz gegenüber Penicillin vorlag. Ein Teil der Isolate war auch resistent gegen Tetracycline, Erythromycin, Kanamycin oder Neomycin (Pereira & Siqueirajunior, 1995).

2.6 Rekursive Modelle

2.6.1 Bisherige Anwendungen rekursiver Modelle

Um insbesondere in Beziehung zum Produktionsniveau stehende Erkrankungen oder auch Veränderungen funktionaler Merkmale besser zu verstehen, stellten Gianola und Sorensen (2004) sogenannte rekursive Modelle für tierzüchterische Anwendungen vor. Derartige Modelle erlauben, Wechselwirkungen zwischen Phänotypen und Genotypen unter Berücksichtigung der Modellierung von Umwelteffekten im Detail abzubilden. Diese

Modelle, als eine weitere Kategorie der sogenannten "structural equation models" (SEM), bauen das multivariate gemischte Modell durch Hinzufügen von Feedback- Situationen und rekursiven Effekten zwischen den Phänotypen aus. Wu et al. (2008) erweiterte die Modelle von Gianola und Sorensen (2004). Diese Erweiterung erlaubt eine gemeinsame Analyse von normalverteilten und kategorialen Merkmalen in sogenannten „recursive and simultaneous Gaussian- threshold models“.

Ursprünglich war die Idee für die Beschreibung gleichzeitiger und rekursiver Beziehungen zwischen Phänotypen für biologische Systeme des Menschen von Haldane und Priestley (1905) entwickelt worden. In den letzten fünf Jahren werden strukturelle Gleichungsmodelle u.a. angewendet, um genetische Parameter für funktionale Merkmale in einem physiologischen Kontext abzuleiten. Janssen und van Duijn (2008) konzentrierten sich in ihrer Studie auf eine breitere Anwendung und weitere Perspektiven von SEM oder Pathway-Model Anwendungen in der Humangenetik. Durch die Kombination der Informationen von genetischen Varianten mit umweltbedingten Risikofaktoren ist zum Beispiel eine genauere Prognose für verschiedene Erkrankungen möglich.

2.6.2 Rekursives Modell der vorliegenden Arbeit

Generell sind zur Analyse der Wechselwirkungen zwischen klinischer Mastitis und Produktionsmerkmalen bzw. zwischen klinischer Mastitis und funktionalen Merkmalen unter Berücksichtigung von Umwelteffekten wie antibiotischer Applikationen verschiedene genetisch-statistische Modellierungen denkbar. Physiologisch sinnvoll erscheint die Modellierung von 'Feedback-Situationen' oder 'Rückkoppelungseffekten' zwischen Merkmalen in der Art, dass nicht nur der Effekt einer Leistungssteigerung auf eine Mastitis, sondern oder auch der rekursive Effekte der Mastitis auf die ihr folgenden Leistungen abgebildet wird. Diese Fragestellung wird in der vorliegenden Dissertation in Kapitel VIII aufgegriffen und tiefergehend erörtert, indem die Einwirkung der Leistungssteigerung eines Produktionsmerkmals (MY1 = Milk Yield) auf Krankheitsinzidenzen (CD = Clinical Disease) mit dem rekursiven Effekt einer vermuteten Leistungsdepression in Milch-kg (MY2) im weiteren Laktationsverlauf analysiert wird. Das Grundgerüst des Modells besteht aus den drei

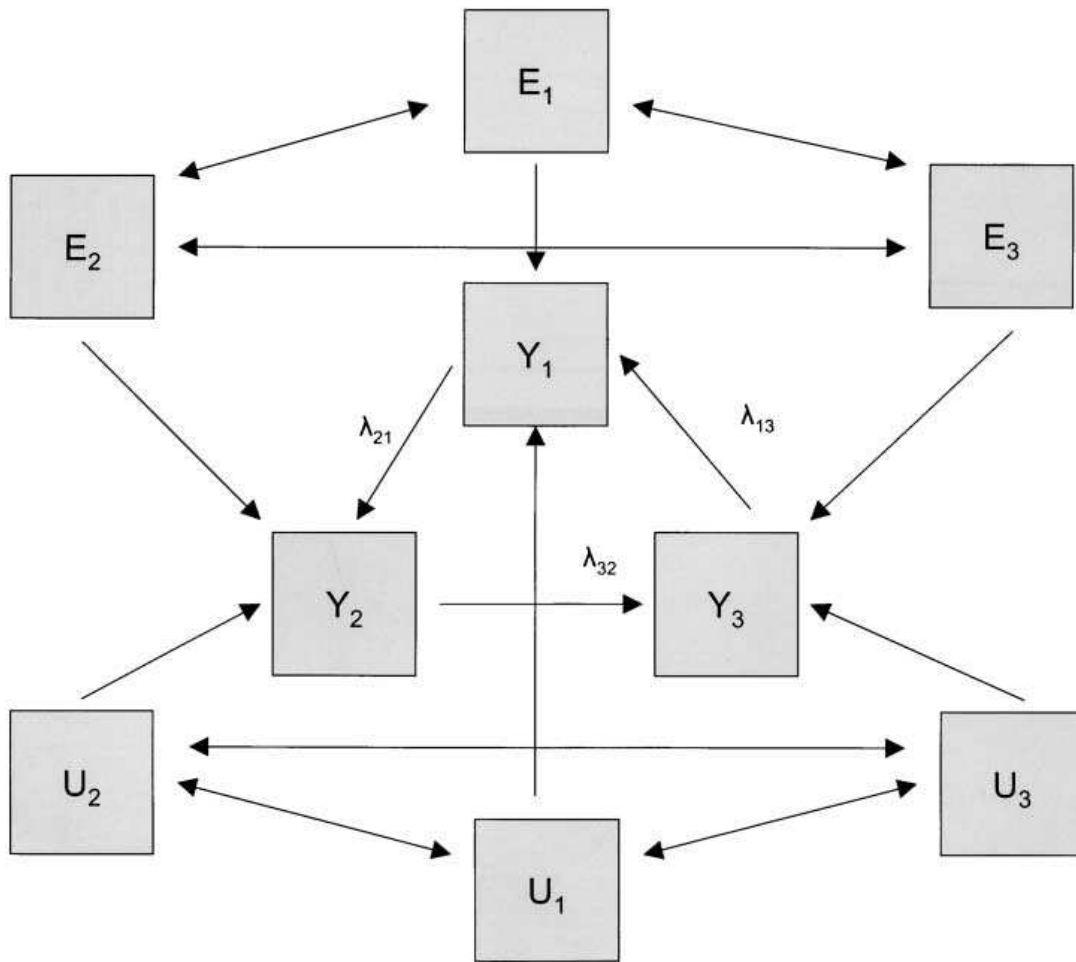


Abb. 3: Vollständig rekursives Modell für drei Variablen: Y_1 , Y_2 und Y_3 sind phänotypische Merkmale, U_1 , U_2 und U_3 sind additiv- genetische Effekte, die auf das System einwirken; E_1 , E_2 und E_3 sind Resteffekte. Ein Einzelpfeil (z.B. $A \rightarrow B$) bedeutet, dass Variable A die Variable B beeinflusst. Ein Doppelpfeil kennzeichnet Korrelationen zwischen Paaren von Variablen. λ_{ij} zeigt die Änderungsrate der Variable i in Bezug zur Variable j (Gianola and Sorensen, 2004).

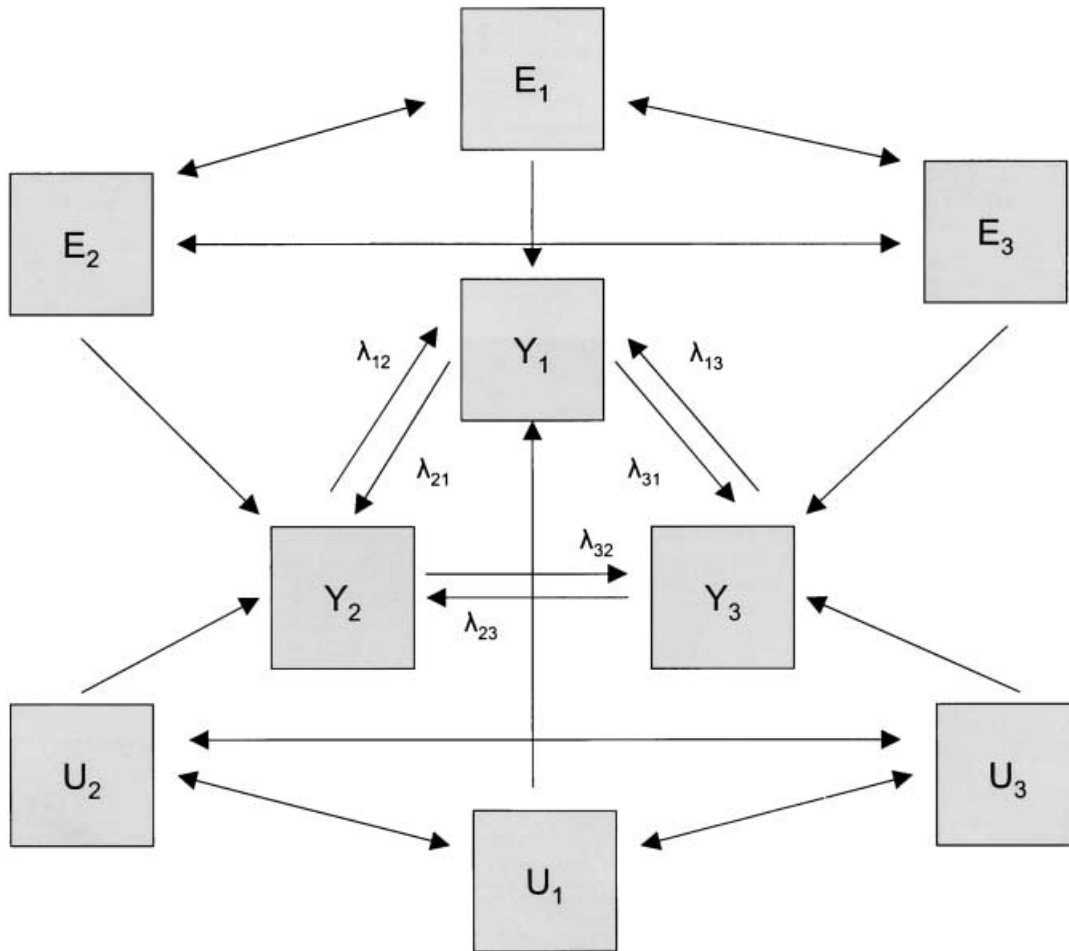


Abb. 4: Simultanes rekursives Modell für drei Variablen: Y_1 , Y_2 und Y_3 sind phänotypische Merkmale, U_1 , U_2 und U_3 sind additiv- genetische Effekte, die auf das System einwirken; E_1 , E_2 und E_3 sind Resteffekte. Ein Einzelpfeil (z.B. $A \rightarrow B$) bedeutet, dass Variable A die Variable B beeinflusst. Ein Doppelpfeil kennzeichnet Korrelationen zwischen Paaren von Variablen. λ_{ij} zeigt die Änderungsrate der Variable i in Bezug zur Variable j (Gianola and Sorensen, 2004).

Im Ergebnis von Interesse sind hier die genetischen (Ko)varianzkomponenten der drei Merkmale, aber auch die sogenannten Strukturgleichungskoeffizienten λ , welche beschreiben,

wie sich auf phänotypischer Ebene die Änderungsrate in Merkmal 1 auf Merkmal 2 auswirkt (bei mehreren Merkmalen entsprechend mehrere Koeffizienten). Als zusätzliche Ergänzung im Forschungsvorhaben wurde als weiterer Umwelt- oder Managementeffekt die Antibiotikabehandlung einer Mastitis in die Pfadmodellmethodik integriert, um so den Erfolg von verschiedenen Antibiotikaapplikationen und eventuell auftretende Nebenwirkungen (UAW) analysieren zu können.

2.7 Literaturverzeichnis

- Andringa, G. and J.B.M. Wilmink (1991): The adjustment of milk cell counts for systematic influences 42nd Annual Meeting EAAP, Berlin
- Bahr, T. (1994): Schätzung genetischer Parameter für Merkmale der Zellzahl und der Melkbarkeit beim Rind Diss. Christian-Albrechts-Univ. Kiel
- Batra, T.R. (1986): Relationship of somatic cell concentration with milk yield in dairy cows
Can. J. Anim. Sci. 66, 607-614
- Brinkmann J., Winckler C. (2005): Status quo der Tiergesundheitssituation in der ökologischen Milchviehhaltung - Mastitis, Lahmheiten, Stoffwechselstörungen. In: Heß, J.- und Rahmann, G. (Hrsg.) Beiträge zur 8. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, 01.-04.03.2005, Kassel, S. 343-346.
- Bunch, K.J., D.J.S. Heneghan, K.G. Hibbit, G.J. Rowlands (1984): Genetic influences on clinical mastitis and its relationship with milk yield, season and stage of lactation.
Livestock Prod. Sci. 11, 91-104
- Danuser, J. (1992): Individuelle Zellzahl und Eutergesundheit. Diss agr. ETH Zürich
- Distl, O. (1992): Genetische Analyse von Krankheitshäufigkeiten mit dem Schwellenmodell bei südbayrischen Milchviehherden Züchtungskd. 64, 1-19

- Doubravsky, P., und W. Trappmann (1992) Nutzung des somatischen Zellgehaltes der Milch zur züchterischen Verbesserung der Eutergesundheit Züchtungskunde 64, 323-336
- Duda, J. (1988): Populationsgenetische Analyse der Mastitisanfälligkeit in Oberbayrischen Kuhbeständen. Diss. agr. München-Weihestephan
- Emanuelson, U., Persson, E., 1984. Studies on somatic cell counts in milk from Swedish dairy cows. I. Non-genetic causes of variation in monthly test-day results. Acta Agric. Scand. 34, 33-46.
- Essl, A., G. Wirth (1987): Schätzung von Populationsparametern für verschiedene Mastitisindikatoren. Züchtungskunde, 59:3,175-184
- Funke, U. (1991): Genetische Analyse direkter Merkmale zur Selektion auf Verbesserung der Mastitisresistenz beim Schwarzbunten Milchrind. Diss. agr. Berlin
- Funke, U. (1999): Zum Management der Eutergesundheit, sowie Melkhygiene und Milchqualität. Vortrag am 30.4.1999 in Bahnitz
- Gianola, D., Sorensen, D., 2004. Quantitative genetic models for describing simultaneous and recursive relationships between phenotypes. Genetics 167, 1407-1424.
- Haldane, J.B.S., Priestley, J.G.M., 1905. The regulation of the lung-ventilation. J. Physiol. 32, 225-266.
- Hamann, J. und V. Krömker (1999): Mastitistherapie - Hilfe zur Selbsthilfe. Prakt. Tierarzt 80, 38-42.
- Hamann, J., J. Reichmuth (1990): Exogene Einflüsse auf den Zellgehalt der Milch unter Berücksichtigung des Gesundheitszustandes der Milchdrüse. Milchwissenschaft 45,286-290
- Harks, M. (2006): Untersuchung zum Verhalten metabolischer Parameter während der Umstellungsphase einer konventionellen in eine ökologische Milchviehhaltung Dissertation, Klinik für Klautiere des Fachbereichs Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin

Heringstad, B., G. Klemetsdal, and T. Steine. 2007. Selection responses for disease resistance in two selection experiments with Norwegian Red cows. *J. Dairy Sci.* 90:2419-2426.

HVL Jahresbericht, 2010

Janssens A.C.J.W. and C.M. van Duijn (2008): Genome-based prediction of common diseases: advances and prospects. *Hum. Molec. Genet.* 17:doi:10.1093/hmg/ddn250.

Klocke, P., S. Garbe, J. Spranger und C.C., Merck, (2002) : Effects of homeopathic and antibiotic mastitis treatment considering medium term parameters in an organic dairy herd. XXIIth World Buiatric Congress Hannover, Abstracts, 210.

Kossaibati, M. A. and R. J. Esslemont (1997): The costs of production diseases in dairy herds in England. *Vet. J.* 154, 41-51.

Kramer, R. (1999): Saisonale Variation der Zellzahl in der Herdensammelmilch Tagung der DVG des Arbeitskreises „Eutergesundheit“ am 27./28.5.1999 in Hannover

Krömker, V. (2003): Zur Wirksamkeit der homöopathischen Mastitistherapie im Rahmen einer integrierten Bestandsbetreuung. Abschlussbericht des Untersuchungsvorhabens in der ökologischen Rindviehhaltung in Niedersachsen 2002 – 2003

Labre, P. (2005): Homöopathie für große und kleine Wiederkäuer, Sonntag Verlag. 62-67, 2005.

Lindström, U.B. (1983): Effects of some herd factors and traits of the cow on bacterial scores and cell counts in quarter milk samples *Acta Agric. Scand.* 33,388-394

Löscher, W. (1992): Homöopathie: Eine wirksame und risikoarme Alternative zur konventionellen Pharmakotherapie? Teil 1: Hahnemann und seine Lehre. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* 99, 51-54, 1992.

Löscher, W., Ungemach, F. R., Kroker, R. (1990): Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren. 3., neubearbeitete Auflage, Parey Verlag. 214- 246

- Luczak, S., M. Steffl, W. M. Amselgruber (2009): Einfluss der Milchleistung auf die Inzidenz ausgewählter Erkrankungen bei Hochleistungskühen. *Tierärztliche Praxis Großtiere*, 4/2009, 221- 228
- Madsen, P., S.M. Nielsen, M.D. Rasmussen, O. Klastrup, N.E. Jensen, P.T. Jensen, P.S. Schmidt Madsen, B. Laren, J. Hylogaard-Jensen (1987): Investigations on genetic resistance to bovine mastitis Beretning fra Statens Husdyrbrugsforsg. Kopenhagen
- Monardes, H.G., J.F. Hayes (1985): Genetic and phenotypic relationships between lactation cell counts and milk yield and composition of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 68, 1250-1256.
- Mrode, R.A. and Swanson, G.J.T. (1996): Genetic and statistical properties of somatic cell count and its suitability as an indirect means of reducing the incidence of mastitis in dairy cattle. *Anim. Breed. Abstr.*64, 847-857.
- Müntener CR, Bruckner L, Gassner B, Stürer A., Demuth DC, Althaus FR, Zwahlen R (2007): Gemeldete unerwünschte Wirkungen von Tierarzneimitteln im Jahr 2006. *Schweiz. Arch. Tierheilk.*, 2007 149: 439-448.
- Nash, D. L., G.W. Rogers, J.B. Cooper, G.L. Hargrove, J.F. Keown, L.B. Hansen (2000): Heritability of Clinical Mastitis Incidence and Relationships with Sire Transmitting Abilities for Somatic Cell Score, Udder Type Traits, Productive Life, and Protein Yield
- Neuenschwander, T. F.-O. 2010. Studies on disease resistance based on producer-recorded data in Canadian Holsteins. PhD Thesis. University of Guelph, Guelph, Canada
- Nyman, A.-K., T. Ekman, U. Emanuelson, A.H. Gustafsson, K. Holtenius, K. Persson Waller, C. Halle'n Sandgren (2007): Risk factors associated with the incidence of veterinary-treated clinical mastitis in Swedish dairy herds with a high milk yield and a low prevalence of subclinical mastitis. *Preventive Veterinary Medicine* 78 (2007) 142–160
- Ødegard, J, J. Jensen, P. Madsen, D. Gianola, G. Klemetsdal, and B. Heringstad (2003): Detection of Mastitis in Dairy Cattle by Use of Mixture Models for Repeated Somatic Cell Scores: A Bayesian Approach via Gibbs Sampling. *J. Dairy Sci.* 86:3694–3703

- Østergaard, S., M. G. G. Chagunda, N. C. Friggens, T. W. Bendedsgaard, and I. C. Klaas (2005): A Stochastic Model Simulating Pathogen-Specific Mastitis Control in a Dairy Herd
- Pätsch, I. (2002): Computergestütztes Zuchtmanagement der Milchrinderherde des Lehr- und Forschungsgutes Ruthe. Diss. vet. med. Tiho Hannover
- Pereira, M. S. V. & Siqueirajunior, J. P. (1995): Antimicrobial Drug-Resistance in Staphylococcus-Aureus Isolated from Cattle in Brazil. Letters in Applied Microbiology. vol. 20, no. 6, pp. 391-395.
- Pfister T (2009) Untersuchungen zur Endotoxintoleranz bei der akuten Mastitis des Rindes. München, LMU, Klinik für Wiederkäuer, Diss
- Philipsson, J., B. Thafvelin, I. Hedebrö-Velander (1980): Genetic studies on disease recordings in first lactation cows of Swedish dairy breeds. Acta agric. Scand. 30, 327-335
- Ribeiro, M. G., Geraldo, J. S., Langoni, H., Lara, G. H. B., Siqueira, A. K., Salerno, T., & Fernandes, M. C. (2009): Pathogenic microorganisms, somatic cell count and drug residues evaluation in organic bovine milk. Pesquisa Veterinaria Brasileira, vol. 29, no. 1, pp. 52-58.
- Schukken, Y. H., B. A. Mallard, J.C.M. Dekkers, K. E. Leslie, M. J. Stear (1994): Genetic Impact on the Risk of Intramammary Infection Following Staphylococcus aureus Challenge. J. Dairy Sci Vol. 77, Issue 2, Pages 639-647
- Schukken, Y. H., K.E. Leslie, D.A. Barnum, B.A. Mallard, J.H. Lumsden, P.C. Dick, G.H. Vessie, M.E. Kehrli (1999): Experimental *Staphylococcus aureus* Intramammary Challenge in Late Lactation Dairy Cows: Quarter and Cow Effects Determining the Probability of Infection. J. Dairy Sci., Vol. 82, Issue 11, Pages 2393-2401
- Schutz, M.M., L.B. Hansen, G.R. Steuernagel, A.L. Kuck (1990): Variation of milk, fat, protein, and somatic cells for dairy cattle J. Dairy Sci. 73, 484-493

- Seegers H, Fourichon C, Beaudeau F (2003). Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Vet Res* 2003; 34: 475-91
- Shuster D.E., Lee E. K., Kehrl M. E. (1996): Bacterial growth, inflammatory cytokine production, and neutrophil recruitment during coliform mastitis in cows within tend after calving, compared with cows at midlactation. *Am. J. Vet. Res.* 1996; 57:1569–1575
- Sondergaard, E., M.K. Sørensen, I.L. Mao, J. Jensen (2002): Genetic parameters of production, feed intake, body weight, body composition and udder health in lactating dairy cows *Livestock Prod. Sci.* 77, 23-34
- Sørensen, L.P., T. Mark, M.K. Sørensen, S. Østergaard (2010): Economic values and expected effect of selection index for pathogen-specific mastitis under Danish conditions
- Suriyasathaporn, W., Y.H. Schukken, M. Nielen, A. Brand (2000): Low Somatic Cell Count: a Risk Factor for Subsequent Clinical Mastitis in a Dairy Herd. *J. Dairy Sci.* Vol. 83, Issue 6, Pages 1248-1255
- Tjälve, H. (1997): Adverse reactions to veterinary drugs reported in Sweden during 1991-1995. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, Vol. 20, 1997
- Trede, J. (1987): Genetische Analyse der Parameter der Eutergesundheit und der Melkbarkeit. *Diss. agr. Christian-Albrechts-Universität zu Kiel*
- Vaarst M., Alban L., Mogensen L., Thamsborg S. M., Kristensen E. S. (2001): Health and welfare in danish dairy cattle in the transition to organic production: problems, priorities and perspectives. *J Agr and Environ Ethic* 14:367-390.
- Weller R. F., Bowling P. J. (2000): Health status of dairy herds in organic farming. *Vet Rec* 146:80 81.
- Welper, R.D., A.E. Freemann (1992): Genetic parameters for yield traits of Holsteins, including lactose and somatic cell score *J. Dairy Sci.* 75, 1342-1348

- Wettstein, M. (1991): Untersuchung über verschiedene Parameter der Milch auf ihre Eignung bei der Zuchtwertschätzung hinsichtlich Sekretionsstörung. Diss. med. vet. Univ. Gießen
- Werner C, Sobiraj A, Sundrum A. (2010): Efficacy of homeopathic and antibiotic treatment strategies in cases of mild and moderate bovine clinical mastitis. *J. Dairy Res.* 2010 Nov. 77(4):460-7
- Wilson, David J., Ruben N. Gonzalez, Kerry L. Case, Linda L. Garrison, Yrjo T. Gröhn (1999): Comparison of Seven Antibiotic Treatments with No Treatment for Bacteriological Efficacy Against Bovine Mastitis Pathogens. *J. Dairy Sci.* Vol. 82, Issue 8, Pages 1664-1670
- Wolter, W., Kloppert, B. und M. Zschöck (1996): Eutergesundheitssituation in hessischen Milcherzeugerbetrieben, 37. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der DVG, Garmisch-Partenkirchen, 1996
- Wolter, W., B. Kloppert, H. Castaneda V. und M. Zschöck (2013): <http://bibd.uni-giessen.de/gdoc/2002/uni/p020001.pdf>; aufgerufen am 03.11.2013
- Woodward, K.N. (2005): Veterinary Pharmacovigilance. Part 3. Adverse effects of veterinary medicinal products in animals and on the environment. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* Vol. 28, 2005
- Wu, X.-L., Heringstad, B., Gianola, D., 2008. Exploration of lagged relationships between mastitis and milk yield in dairy cows using a Bayesian structural equation Gaussian-threshold model. *Gen. Sel. Evol.* 40, 333-357.

KAPITEL III

Evaluation of adverse drug reactions (ADR) of antibiotic drugs for the treatment of mastitis in dairy COWS

(Manuscript submitted to “Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift”)

SUMMARY

Mastitis is an economically very important disease of dairy cattle; consequently the antibiotal treatment is of high priority. This survey includes all commonly in mastitis treatment used antibiotics and their adverse drug reactions. It was striking to note that in Germany often more serious reactions were reported, while one finds in the foreign literature reactions that are considered rare to very rare in the producers' instructions. A survey of veterinarians over a period of 22 months has not been shown to be a useful method to record adverse drug reactions in true number; only one vet made a report of an adverse reaction.

According to this the mastitis treatments of 3 years of two dairy livestock farms with about 300 dairy cows were evaluated in the study. Despite a high consumption of antibiotics no adverse drug reaction were reported by the farmers.

The main data source of adverse drug reactions in Germany is the BVL database (federal office of consumer protection and food safety) in Berlin. But also here in the period of March 2005 to March 2010 only 87 reports could be captured, which resulted from antibiotic treatment of mastitis. But also this number might not correspond to the reality.

ZUSAMMENFASSUNG

Da die Mastitis eine wirtschaftlich sehr bedeutende Erkrankung des Milchviehs ist, kommt auch deren antibiotischer Behandlung ein hoher Stellenwert zu. In dieser Bestandsaufnahme wurden alle wichtigen in der Mastitistherapie angewendeten Antibiotika hinsichtlich ihrer unerwünschten Arzneimittelwirkungen aufgenommen und ausgewertet. Auffällig war hierbei, dass in Deutschland häufig schwerwiegendere Reaktionen gemeldet werden, wohingegen man in der ausländischen Literatur auch Reaktionen findet, die in den Herstellerangaben als selten oder sogar sehr selten auftretend eingestuft werden. Eine Befragung der Nutztierpraktiker über einen Zeitraum von 22 Monaten hat sich nicht als sinnvolle Methode erwiesen um

unerwünschte Arzneimittelreaktionen in wirklichkeitsgetreuer Anzahl zu erfassen; lediglich ein Tierarzt machte eine Meldung über eine unerwünschte Reaktion.

Daher wurden auch Mastitis- Behandlungen über 3 Jahre von 2 Milchviehhaltenden Betrieben mit insgesamt 300 Milchkühen in die Studie mit aufgenommen und ausgewertet. Trotz eines hohen Verbrauchs an Antibiotika wurden keine unerwünschten Arzneimittelwirkungen von den Betriebsleitern gemeldet.

Die wichtigste Quelle für Daten über unerwünschte Arzneimittelwirkungen in Deutschland ist die BVL Datenbank (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit) in Berlin. Aber auch hier wurden im Zeitraum von März 2005 bis März 2010 nur 87 Meldungen aufgenommen, die aus einer antibiotischen Mastitisbehandlung resultierten. Auch diese Anzahl dürfte nicht den in Wirklichkeit aufgetretenen Reaktionen entsprechen.

INTRODUCTION

Milk production is the main production branch of the agricultural sector in Germany. In 2009, 29.2 million t milk were produced, and the sales of milk comprised an economic value of 22.233 billion € (Statistisches Bundesamt, 2010). Closely and mostly antagonistic related to high milk production are several diseases. Mastitis is one of the most frequently occurring health disorder in dairy cattle herds. Almost 30 % of all cows in the German dairy cattle population are diagnosed with clinically manifested mastitis per year (Seegers et al., 2007). About 18 % of all involuntary dairy cow disposals are attributed to mastitis. Hence, among all culling reasons, mastitis with 5.9 % is on .the upper ranks (Reksen et al., 2006). A cow diagnosed for mastitis implies a considerable financial loss to the farm. The costs of mastitis range from 180 € to 1,800 €, mainly depending on the success of a treatment (Pfister, 2009).

Accordingly, the rapid and effective treatment of mastitis is essential. A multitude of preparations are available on the market, which can be mainly divided into homeopathic and antibiotic drugs. The most common used method to treat mastitis is the application of appropriate antibiotic drugs. Studies have shown that cure rates are significantly higher after

administration of antibiotics compared to treatments with homeopathics (Klocke, 2002). In detail in 2009, the treatment with antibiotics comprised 29 % of all veterinary medicinal products applied (Bundesverband für Tiergesundheit, 2009). The application of such a large amount of antibiotics raises the question of adverse drug reactions. So far, this question that has not been adequately addressed within a scientific context based on data recorded in the field. In Germany, there is no statutory obligation to report adverse drug effects. Knowledge of adverse drug reactions is only based on experimental studies that are needed to get a legal authorization for the utilization of drugs. Legalization is valid for a period of 5 years. Re-evaluation is due after five years. At this point in time, the BVL evaluates additional studies investigating adverse reactions of specific antibiotics. Without a relevant event the drug gets an unlimited legal authorization. Unfortunately, these experimental studies are very limited, and additionally based on a relatively small number of animals used as case and control. For an adverse drug reaction that occurs with a frequency of 0,001, at least 30,000 animals have to be treated with this specific antibiotic to detect an adverse drug reaction with a probability of 95% (Muentener et al., 2004). This underlines the importance of veterinarian feedback from experiences in the field to discover even very rare occurring adverse drug reactions.

In other countries, safety of drugs is of increasing importance. For example in Switzerland, a statutory obligation has been implemented to report adverse drug reactions since 2002. As a consequence, the number of reports continuously increases year by year. In the United Kingdom, the British Veterinary Association publishes an annual report of all suspected adverse reactions related to all drugs used in the veterinary medicine (Dyer et al., 2008). Results from these reports revealed an increase in the number of reports of adverse drug reactions also in UK. In Germany, only a slight increase of reports of adverse drug reactions has been observed, but for sure, those limited numbers of reports do not correspond to reality. Although veterinarians are encouraged by the professional code to report adverse drug reactions, reports are still the exception and additional efficient systems should be implemented.

Consequently, the aim of the present study was twofold. First, to get a deeper inside into recorded adverse drug reactions based on existing databases and reports, and secondly, to encourage farmers and veterinarians for reporting reactions by implementing new strategies.

Consequently, the study focussed on the evaluation of the following four sources of data: 1.) the veterinary database system 'Vetidata', 2.) the database system of the BVL, 3.) a survey in veterinary surgeries, and 4.) the analysis of antibiotic applications in two dairy cattle herds.

MATERIALS AND METHODS

Existing databases

The veterinary database 'Vetidata'

'Vetidata' is a German veterinary information platform related to issues of drug application, toxicology and drug law. It is supervised by members of a project group of scientists, veterinarians and veterinary medicine students. There is close cooperation to the BVL in Berlin, veterinary interested associations, universities and pharmaceutical companies. Only veterinarians or veterinary working personal have access to this information platform. This information service provides detailed information about available vaccines and drugs, a list of all active ingredients approved for food producing animals, notes of relevant laws, instructions for the use of anaesthesia, withholding time on detail, information about re-designation, instructions for delivering drugs to animal owners, and data about all known adverse drug reactions. The present study aimed on the evaluation of all antibiotic veterinary drugs used to treat mastitis in dairy cattle and associated adverse drug reactions. A detailed search for active ingredients, active ingredient groups or even the name of the preparation is possible. Subsequently, detailed information of the requested preparations is shown. This information includes withholding time, composition of the preparation, indications, active ingredients, dosage, pharmacology, and adverse drug reactions. The present study focused on the analysis of all these details. Criteria entered in 'Vetidata' to receive all antibiotic drugs for mastitis treatment in dairy cows were 'Mastitis' (= mastitis), 'Mastitiden' (= cases of mastitis), 'Euterentzündung' (= udder inflammation), 'Euterentzündungen' (= udder inflammations) or 'intramammäre Anwendung' (= intramammary application). The

preparations of interest were classified into active ingredient groups and adverse drug reactions.

The BVL database

The BVL database located in Berlin is a system that includes adverse drug reactions after administration of veterinary medicinal products. The traditional sources for this database are forms that are sent by mail to the postal address of the BVL. This is done by veterinarians or by other members of the profession. An online form is available since 2007. Using this tool, reports about adverse drug reactions can be submitted electronically. The online form is accessible by www.vet-uaw.de. In order to ensure entries only from medical professionals a 'Doccheck' account is necessary. The form is in German language and organized as follows: I. 'Daten zum Absender' (= data about sender), II. 'Daten zum Tier' (= animal data), III. 'Angaben zum Arzneimittel' (= drug data) and IV. 'Unerwünschte Wirkung' (= adverse drug reaction). The first part of the form requests obligatory information about the type of report (first or following) and the address of the sender. Information about the owner of the animal is on a voluntary base. The obligatory second part includes information on the number of treated and diseased animals as well as their sex. Further data on species and breed can be availed from a list. Further optional information comprises weight, age, and health status of the animal, and the reason for the treatment. The third part of the form is related to the drug. This part includes data of the used drug. Furthermore, the reporting person has to give an assessment to the causality of the applied drug. The only obligatory information of this part is the exact designation of the drug. Further optional information includes the name of the pharmaceutical company, the approval- and charge number, and dosage and galenics of the applied drug. Furthermore, the treatment can be described 'in words', and in this context, the person who applied the drug, can be listed. The fourth part is about the adverse drug reaction. In this part, the symptoms the animal shown are requested. Obligatory information in this context is the exact description of the adverse drug reaction, and the date when first adverse symptoms were observed. Further optional information is related to the duration of the symptoms, and the period from applying the drug to the date when first symptoms were shown.

The user is allowed to fill the forms and to submit the information, but he or she has no access to all of the information stored in the database system. Hence, for the present study an electronic list including all reported adverse drug reactions related to a mastitis treatment or to prophylaxis of mastitis was requested. The period of these reports were from March 2005 to June 2010. The available reports were evaluated for active ingredients, frequency of occurrence, and symptoms.

Survey of veterinary surgeries

The survey was conducted from March 2010 to December 2011 based on a questionnaire that captured the following information:

Altogether eleven veterinary surgeries, which have their focus on the treatment and care of dairy cattle herds, were interviewed about local and generalized adverse drug reactions. The surgeries were mainly located in the region of Lower Saxony and Hesse, Germany. Additionally three surgeries were located in the northern part of Mecklenburg- Western Pomerania and in Saxony. To the veterinary surgeries a blank form was sent to capture adverse drug reactions caused by an antibiotic treatment of mastitis. In this form the veterinarians or the farmer were asked about age, weight and breed of the treated cows, symptoms the cows showed, the applied drug and about local and generalized adverse drug reactions. Furthermore the surgeries were contacted regularly by telephone or personal visits in distinct intervals to capture adverse drug reactions immediately. The available reports were also evaluated for active ingredients, frequency of occurrence and symptoms.

Evaluation of treatment data from dairy cattle herds

Mastitis treatment data from in total 300 Holstein dairy cows kept in two herds in the region of Northern Hesse, Germany, was available to analyze the use of antibiotics and possible adverse reactions. The two farms are anonymous in our study; they are referred to as dairy farm A and dairy farm B. In the present study, all treatments of mastitis from January 2008 to December 2010 were captured. All together, 419 treatments were recorded, 195 on farm A

and 224 on farm B. The treatments were divided into the following three categories: Treatments of clinical mastitis, treatments of *Escherichia coli*- mastitis, and dry-off prophylaxis. The evaluation of mastitis treatments is based on the veterinary drug application and issue documents, as well as on notes recorded by farmers. The issue documents include the following information: Identity of the cow, diagnosis, the applied drug and its dosage. This information collected on hardcopy was entered in an electronic database combined with additional details provided by the farmer, e.g. information related to the development of the health status of single cows following antibiotic treatments. Additionally, a printed form was issued to the farmers to record occurring adverse reactions during the evaluation period. This form was identical to that one used by the cooperating veterinary surgeries. Information that had to be filled in were about age (in years), weight (in kilograms) and breed of the treated cows, symptoms the cows showed, the applied drug and about local or generalized adverse drug reactions. The database was e.g. used to calculate the total consumption of antibiotics on both farms and to make comparisons between farms. For this purpose, the exact quantity of each active ingredient was calculated on the basis of the applied drugs (see table 3)

RESULTS

Evaluation of 'Vetidata'

The analysis of 'Vetidata' related to antibiotics used to treat mastitis in dairy cattle revealed in total 81 different preparations. The relevant antibiotics were assigned to their active ingredient groups as categorized in Table 1. All of the producer's instructions with regard to adverse drug reactions are given in 'Vetidata' as well. These were also assigned to the active ingredients.

Beta lactam antibiotics were divided into two groups. The first group included the penicillins. Important representatives of this group are benzylpenicillin and its salts and esters, as well as amoxicillin, ampicillin, cloxacillin and oxacillin. There are 37 commercial preparations of this group available in 'Vetidata' to treat mastitis in cattle. Adverse drug reactions belonging to

this group are the anaphylactic shock, which also can lead to death, local irritations at the injection places and stomach and intestinal disorders. Very rarely, thyreotoxicosis as an adverse drug reaction can occur.

The second group of the beta lactam antibiotics included the cephalosporins. Cephalosporins are divided into four generations in which the fourth generation is the most advanced. The newer generations of cephalosporins have the better lactamase stability and are characterized by a larger spectrum of effect against bacteria. The most important cephalosporins used in veterinary medicine to treat mastitis in dairy cattle are the following: cefapirin, cefazolin and cephalexin (the first generation) , cefoperazon and ceftiofur (third generation) and cefquinom (fourth generation). Altogether nine commercial preparations are on the market. According to the producer's information the most frequently occurring adverse drug reaction in the group of the cephalosporins is the anaphylactic shock, occurring with a frequency of lower than 0,0001. Painful local reactions and swellings at the injection location are mentioned in the producer's information, too. Especially cefapirin is known for its ability to sensitize and it can also lead to cross allergies with other beta lactam antibiotics.

Another active agent group are the quinolones, also known as gyrase inhibitors. The most important representatives of this group are danofloxacin, marbofloxacin and enrofloxacin. These active ingredients are outstanding, because they are effective against an infection with mycoplasma. Known adverse drug reactions of representatives of this group are particularly local reactions at the injection location which is clearly identifiable via tenderness and swellings. In some cases, the intravenous injection of a quinolone can lead to shockreaction as a result of circulatory disturbance. Very rare are gastrointestinal disorders after the application of a quinolone. The damage of the articular cartilage as a result of the treatment with a quinolone cannot be excluded.

The group of aminoglycoside antibiotics includes the active ingredients spectinomycin, kanamycin, neomycin and gentamycin. These active ingredients are mainly contained in combination preparations. For example kanamycin is used in a combination with cephalexin for intramammary applications. Neomycin is available in a combination preparation with benzylpenicillin. Only gentamycin is available as a single active agent, but not for intramammary use. For the group of the aminoglycoside antibiotics, the most common

adverse drug reactions are disorders of the hearing and adverse effects of the sense of balance. The renal function can be affected by an extended and especially parenteral application. In addition cramps, breathing difficulties and collapse are mentioned as adverse drug reactions caused by the neuromuscular blocking activities of aminoglycoside antibiotics. Even anaphylactic reactions and local skin reactions are described in the producer's information.

The fourth group of important antibiotics to treat mastitis is the group of macrolide antibiotics. Here, the most important veterinary representatives are tylosin and erythromycin. Both active ingredients are only available as solution for injection. Tylosin is only authorized to be injected intramuscular, erythromycin can be administered intramuscularly as well as subcutaneously. The spectrum includes gram-positive bacteria, haemophilus, mycoplasma and anaerobes. Adverse drug effects in this group are mainly strong irritation with local tissue destruction, so-called demarcated necrosis. Also gastrointestinal disturbances may occur after the use of macrolide antibiotics.

Evaluation of the BVL database

In the period from March 2005 to March 2010 the BVL in Berlin received in total 87 reports of adverse drug reactions after the treatment of mastitis in cattle by using antibiotics. These 87 comprised 526 different treated dairy cows implying that one message included several animals and several medications. Even 216 cows that showed no adverse effect were reported because the treatment had taken place in connection with reacting cows. 313 of the 526 cows showed a reaction after the antibiotal treatment, 98 cows even died. The reported active ingredients which have been used for treatment of mastitis and which have caused the adverse drug effect are equivalent to those that are generally used in veterinary practice (see Table 1).

Table. 1. Classification of the relevant antibiotics for mastitis treatment

Active ingredient	Active ingredient	Most important adverse drug reactions
A) Beta lactam antibiotics		
1. Penicillins	Benzympenicillin and its esters and salts	- anaphylaxis including anaphylactic shock
	Amoxicillin	- local irritation
	Ampicillin	- allergic reactions (allergic skin reactions, anaphylaxis)
	Cloxacillin	- gastrointestinal disorders
	Oxacillin	- thyreotoxicosis
2. Cephalosporins	Cefquinome	- anaphylactic reactions
	Cefoperazone	- painful local reactions, swelling (transient)
	Ceftiofur	- sensitization
	Cephalexin	- cross-allergenicity with β -lactam antibiotics possible
	Cefazolin	
	Cefapirin	
B) Quinolones (gyrase inhibitors)		
	Danofloxacin	- pain and swelling (transient or lasting)
	Marbofloxacin	- injury to the articular cartilage
	Enrofloxacin	- emergence of shock reactions
C) Amino-glycoside antibiotics		
	Spectinomycin	- disorders of the auditory, vestibular and the renal function
	Kanamycin	
	Neomycin	- convulsions, respiratory distress and collapse
	Gentamicin	- neuromuscular blockade - allergic reactions (skin reactions, anaphylactic reactions)
D) Makrolid antibiotics		
	Tylosin	- strong irritation and local demarcated necrosis
	Erythromycin	- gastrointestinal and renal disturbances
F) Lincosamid antibiotics		
	Lincomycin	- allergic reactions

Table 2 summarizes antibiotics or combined antibiotic products, and the frequency of the reports. In most reports, adverse drug reactions were associated with the treatment of the active agent penethamathydroiodid. This finding was expected, because penethamathydroiodid is the most frequently reported active agent and was used for most of the treatments that have been reported.

The 31 reports included 117 different treated cows. Among the 117 treated cows, 37 reacted to the treatment with penethamathydroiodid by showing various symptoms. The most reported adverse drug reaction was death after an anaphylactic shock or after a collapse. This was observed in 22 cases. Other adverse reactions were death without specification (nine cases), and residues in the milk (one case). In four cases, the calves of the treated cows died within 48 hours after birth. Another cow collapsed, but without death (Figure 1).

Table 2. Evaluation of the UAW database of the BVL/ Berlin 03/2005 to 03/2010: Number of reports of antibiotics/ antibiotic combination products associated with mastitis treatment

Antibiotic/ combination	Number of reports	Frequency (%)
Penethamathydroiodid	31	35,63
Cloxacillin	16	18,39
Cefquinom	7	8,04
Procaine- benzylpenicillin	7	8,04
Marbofloxacin	3	3,45
Benzylpenicillin, Neomycin, Penethamathydroiodid	3	3,45
Cefoperazone	3	3,45
Oxacillin	2	2,30
Amoxicillin	2	2,30
Erythromycin	2	2,30
Danofloxacin	1	1,15
Tylosin	1	1,15
Cefapirin	1	1,15
Benzylpenicillin, neomycin	1	1,15
Ceftiofur	1	1,15
Enrofloxacin	1	1,15
Not evaluable cases	5	5,75
TOTAL	87	100,00

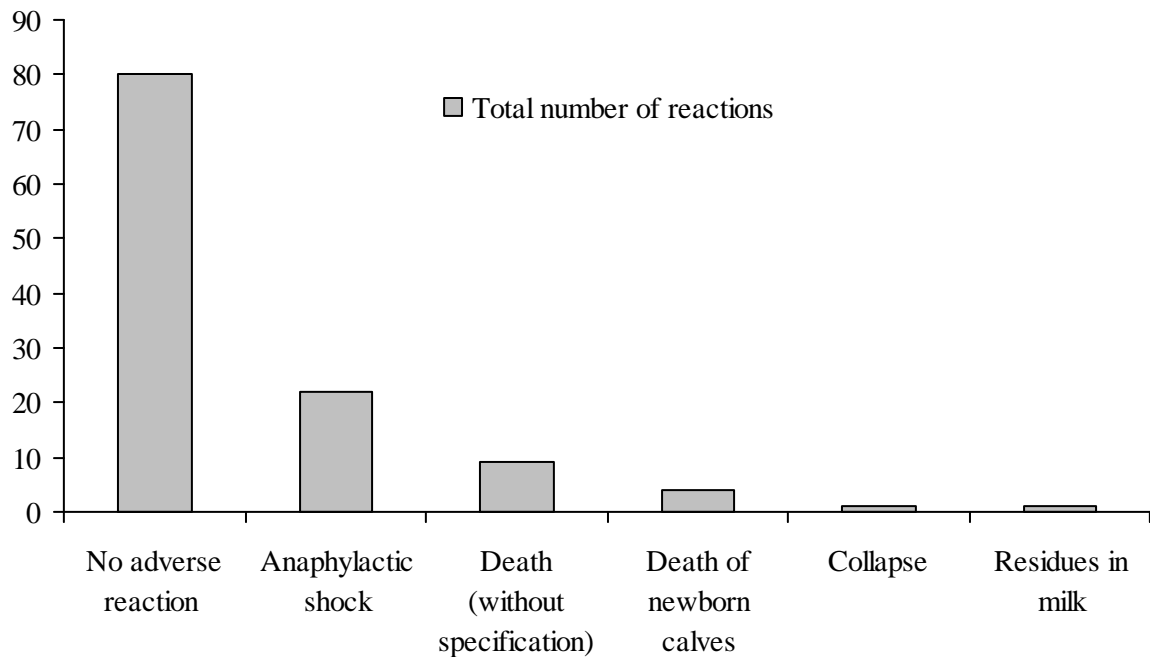


Fig. 1. Evaluation of reactions after administration of penethamathydroiodid

Sixteen different reports included the active ingredient cloxacillin. These 16 reports identified 70 treated cows, and 39 cows reacted by showing an adverse reaction. Again, the reactions were various. The death of the cow was reported in 24 cases. Seven cows suffered from acute mastitis after the treatment, four cows aborted, and three other cows suffered from downer cow syndrome after the treatment with cloxacillin. One cow had residues of the antibiotic in the milk even after expiration of the withholding time. 31 of the 70 treated cows showed no reaction. They were reported in connection with treatments of other cows showing reactions after treatment with cloxacillin.

There were seven reports for the active agent cefquinome. These reports included 47 treated cows. Only eight of these cows showed a reaction after the treatment. The most frequently reported adverse drug reaction was the anaphylactic shock resulting in death (five of the eight cows). One cow had residues of the antibiotic in the milk after expiration of withholding time; one cow suffered a collapse but recovered, and another cow showed edema all over the body. 39 of the 47 treated cows showed no reaction. There were seven reports for the active agent

procaine penicillin. These reports included 21 treated dairy cows. 18 cows showed a reaction to the treatment. Ten cows suffered from candida mastitis, and four other cows died after the treatment without specifying any details. For three cows that were treated with procaine-benzylpenicillin, residues of this antibiotic in the milk was discovered after the determined withholding period. Another cow suffered from the downer cow syndrome. There were only three of the 21 cows without any reaction following the treatment.

Three adverse drug reaction reports included the active substance marbofloxacin . Here, the three cows died after the treatment. The preparation with the combination of the three active ingredients benzylpenicillin, neomycin and penthamathydroiodid was reported three times, too. These three reports included three reacting cows. Two cows aborted, and one cow had antibiotic residues in the milk.

The active ingredient cefoperazon was also reported three times. These reports included 62 cows which were treated with this active ingredient and 13 of them reacted. These 13 cows had residues of cefoperazon in the milk. None additional adverse drug reactions were reported. Oxacillin was reported twice. Four cows were treated and they reacted to the treatment. One cow had residues in the milk and the other three cows aborted after the treatment.

Adverse drug reactions in connection with the active ingredient amoxicillin were reported twice, too. The two reports dealt with three cows which suffered an anaphylactic shock and two of the cows died. Erythromycin was reported twice. Two cows were treated with erythromycin and both died after the treatment without specifying further details.

All the other active ingredients were only reported once. One cow died after treatment with danofloxacin. Tylosin caused residues in the milk. Cefapirin caused death in one case, and another cow could not stand up anymore after the treatment. Ceftiofur caused an anaphylactic shock finally resulting in death. The active ingredient enrofloxacin caused death, too, but without specifying further details. A combination of the active ingredients benzylpenicillin and neomycin was used for the treatment of eight cows. Three of them had residues in their milk.

Five reports could not be evaluated because the treatment included more than one active ingredient or active ingredient combinations. These five reports included 180 cows. 174 of them reacted to the treatment. 25 cows died after the treatment, 16 of them had an anaphylactic shock resulting in death, four other had an acute mastitis consequently did not have any milk and showed stagnated feed intake. Five cows showed several symptoms simultaneously, so that an individual evaluation of the symptoms was not possible.

Survey of veterinary surgeries

Based on the survey of veterinary surgeries covering the period from March 2010 to December 2011, no adverse drug reaction was reported. All eleven surveyed veterinarians did not find and consequently did not report any adverse drug effect associated with an antibiotic treatment used for mastitis.

Evaluation of treatment data

On dairy farm A during the evaluation period, in total 195 treatments were reported. These were distributed over the evaluation period as follows: In 2008 most cows were treated with antibiotics, altogether a number of 84, in 2009 68 cows were treated and in 2010 43 cows. In this run it can be seen that the total number of treatments decreases. 145 of all these treatments were for drying off. There are nine treatments due to *Escherichia coli* mastitis and 41 due to clinical mastitis remaining, altogether 50 cases of mastitis. This means an average of 16.7 cows per year were treated for mastitis. Considering the total of 150 cows this means a frequency of mastitis of 11.1%.

In 2008, seven cows were treated with antibiotics due to *Escherichia coli* mastitis. In the whole evaluation period there were nine treatments due to *Escherichia coli* mastitis, consequently in 2008 about 78% of all *Escherichia coli* mastitis treatments took place. Seven other cows were treated due to clinical mastitis which means the lowest number of clinical mastitis cases, 70 cows were treated with antibiotics for drying off. All the *Escherichia coli* mastitis treatments included the active ingredients penethamathydroiodid and cefquinom.

Cefquinom was used both as injectable product for intramuscular injection as well as udder injectors. Penethamathydroiodid was administered as solution for intramuscular injection, which had been prepared from a dried substance and its solvent. For the treatment of clinical mastitis this solution of penethamathydroiodid was also used in three cases. Additionally, in one case lincomycin was used in an injectable solution of lincomycin and spectinomycin. Furthermore the active ingredients trimethoprim, sulfadimidin and sulfathiazol in an injectable solution were used to treat three cows with clinical mastitis. Additionally to the parenteral administration of antibiotics, injectors for intramammary application containing a combination of the active ingredients lincomycin and neomycin were applied in four cases, and injectors containing benzylpenicillin and neomycin were applied in one case. For drying off, injectors for intramammary application were used which comprised an antibiotic combination of benzylpenicillin, neomycin and penethamathydroiodid.

In 2009, no single cow on dairy farm A suffered from *Escherichia coli*- mastitis, but 18 cows were treated against clinical mastitis which means the highest number in the evaluation period. Considering there were 41 cases of clinical mastitis in the evaluation period, this means about 44% of them were in 2009. In addition to antibiotics used in 2008, cefquinom and ceftiofur were applied as solution for intramuscular injection, and oxacillin and cefquinom were intramammary applied. 50 cows were dried off with antibiotics. For drying off, again an antibiotic combination of benzylpenicillin, neomycin and penethamathydroiodid was used.

In 2010 43 cows were treated with antibiotics, this means the lowest number in the evaluation period. Two cows suffered from *Escherichia coli*- mastitis. They were treated with marbofloxacin in solution for intramuscular, subcutaneous or intravenous injection, and additionally an intramammary application of a combination of cefalexin and kanamycin was applied at the same time and the following five days. 16 cows were diagnosed with clinical mastitis. They were treated with the standard antibiotics of previous years and additionally with gentamicin as injectable solution and cefalexin and procain penicillin for intramammary use. 25 cows were treated for drying off again using an antibiotic combination of benzylpenicillin, neomycin and penethamathydroiodid. This means in 2010 only about 16.7%

of all cows were treated for drying off. In the previous years 46.7% (2008) and 33.3% were treated.

The total consumption of antibiotics in the years 2008 to 2010 is given in Table 3. The consumption of penethamathydroiodid decreased in the period of three years from 158'000 mg in 2008 to 60'000 mg in 2010. Regarding the consumption of procaine- benzylpenicillin no clear trend is visible; nevertheless it is noticeable that the consumption is still on a relatively high level. The consumption of the active ingredient cefquinom consistently increased. The use of neomycin significantly decreased during the three years of observation. All the other ingredients were not used in all of the three years; consequently we did not compare applications by year.

On dairy farm B during the evaluation period, 228 treatments were reported. In 2008, three cows were treated against *Escherichia- coli-* mastitis. Additionally, twelve cows were received treatments to cure clinical mastitis. Three cows were infected with the major pathogen *Staph. aureus*, resulting in a treatment during lactation. An antibiotic combination product was applied to 62 product of benzylpenicillin, neomycin and penethamathydroiodid was used for drying off. The active ingredient cefquinom to treat *Escherichia- coli-* mastitis was used as injectable solution for intramuscular injection as well as injectors for intramammary application. In addition to that enrofloxacin was applied as injectable solution.

The consumption of penethamathydroiodid on farm B followed the same trend as reported for farm A. In 2008, 139'700 mg penethamathydroiodid were applied, but the total the consumption decreased to 35'500 mg in 2009 and to 28'000 mg in 2010. Also procaine- benzylpenicillin applications showed similar trends on both farms. The consumption of cefquinom is different when comparing farm B to farm A. In farm B, the consumption was on a lower level in 2010 compared to 2008.. The use of neomycin followed the same pattern in both farms and substantially decreased from 2008 to 2010. Neither in farm A nor in farm B, adverse drug reactions were reported during the whole evaluation period.

DISCUSSION

The aims of this study were to analyze adverse drug reactions based on existing databases (BVL and Vetidata), and to identify and to record adverse reactions 'in the field', i.e. by contacting and supervising veterinarians and farmers. Farmers and veterinarians were involved in the study to sensitize them with regard to the importance of adverse drug reactions.

Interestingly, 'Vetidata' included adverse reactions that were not identified in the BVL-database. Such differences were gastrointestinal disorders after the application of penicillins, disorders of the auditory, or renal functions after the administration of an amino- glycoside antibiotic. Woodward (2005) reported cases of oto- and nephrotoxicity after administration of neomycin and negative reactions on the gastrointestinal tract after application of penicillins. Another example of such an adverse reaction is local irritation or allergic skin reaction after administration of penicillins (Bousquet et al., 2009). For example in Switzerland, Muentener et al. (2007) reported about seven cases of allergic skin reactions after dry off treatment with penicillins. Vice versa, adverse reactions were reported to the BVL that are not described in the application notes. For example in the BVL-database, several reports included statements related to antibiotic residues in milk after the withholding time. In this context, the active ingredients penethamathydroiodid, oxacillin, cloxacillin and cefquinom were reported once, and the ingredient procaine- benzylpenicillin was reported three times. This adverse drug reaction, which is not mentioned in the application notes, seems to be a serious problem since there are similar cases in other countries. In Sweden, Tjälve (1997) reported that three fresh calved cows had residues of penicillins in the milk despite observing withholding time.

In conclusion, the willingness to report an adverse drug reaction seems to increase if the reactions are not already given in the application notes of the drug. This would also explain the fact that well- known adverse drug reactions are only reported frequently if they are really serious. Notable in this context is the fact that less serious adverse reactions are reported more often in countries with a statutory notification system, e.g. as implemented in Switzerland. In this reporting system, even firm swelling and painful local reactions were identified as

adverse drug reactions. In addition, allergic reactions after antibiotic treatment were reported (Muentener et al, 2007). In general, it can be stated that adverse reactions in pets are observed more frequently than in farm animals (Gehring, 2001). Probably the very individual relationship to pets plays a big role in this context.

The survey of veterinary practices was also not representative because no adverse effect could be recorded. It is assumed that vets only notes serious reactions or such not already given in the application notes. On the other hand and in most cases, veterinarians are not able to notice adverse reactions after a treatment, because these reactions sometimes occur several hours or days after administration of the drug. Hence, they have to rely on the information given by cooperating farmers. This is the main reason why focussing in the present study directly on two dairy farms. Both farms were evaluated with regard to their consumption of antibiotics and occurring adverse drug effects. Altogether 419 mastitis treatments were recorded in the evaluation period on both farms, but adverse reactions did not occur after the treatment of mastitis. Interestingly, one can observe that the total consumption and the cases of clinical- and Escherichia- coli mastitis show a descending trend. This can be seen very well by the example of consumption of penethamathyroidid. Farm A started with a total consumption of 158'000 mg. The consumption in the following years only was 90'000 mg (2009) and 60'000 mg (2010). On farm B the same trend can be seen. Starting with 139'700 mg penethamathyroidid in 2008, the consumption decreased to 35'500 mg in 2009 and to 28'000 mg in 2010 (table 3).

Table 3. Total consumption of antibiotics for mastitis treatment on farm A and B in the years 2008 to 2010

Year	Antibiotics	Farm A	Farm B
		Total consumption	Total consumption
2008	Penethamathydroiodid	158 000 mg	139 700 mg
	Procaine- benzylpenicillin	82 900 mg	153 160 mg
	Cloxacillin		40 000 mg
	Cefquinom	5 850 mg	8 775 mg
	Cefoperazon		800 mg
	Enrofloxacin		4 000 mg
	Neomycin (incl. Framycetin)	32 100 mg	64 700 mg
	Tylosin		36 000 mg
	Lincomycin	11 430 mg	
	Spectinomycin	5 700 mg	
	Trimethoprim,	12 000 mg	
	2009	Penethamathydroiodid	90 000 mg
Procaine- benzylpenicillin		56 000 mg	172 800 mg
Oxacillin		4 000 mg	
Cefquinom		7 775 mg	
Ceftiofur		750 mg	
Cephalexin			2 000 mg
Kanamycin			1 110 mg
Neomycin (incl. Framycetin)		20 600 mg	29 500 mg
Lincomycin		1 980 mg	
Trimethoprim,		2 000 mg	
2010	Penethamathydroiodid	60 000 mg	28 000 mg
	Procaine- benzylpenicillin	100 000 mg	171 100 mg
	Cefquinom	8 225 mg	1 125 mg
	Cephalexin	4 000 mg	1 600 mg
	Marbofloxacin	600 mg	
	Kanamycin	1 110 mg	333 mg
	Neomycin (incl. Framycetin)	10 000 mg	22 500 mg
	Gentamycin	2 500 mg	

Both farms keep about 300 dairy cows plus progeny so the total number of cattle is about 600. Considering the total number of 466 reports concerning all adverse drug reactions (not only due to mastitis treatment) from January 2007 to October 2010 in Germany (Matthey et al., 2010) and due to the fact that there are about 12.5 million dairy cows in Germany, an adverse drug reaction could actually not be expected.

Additionally, the current study makes this very clear. In this study antibiotics for mastitis treatment or prophylaxis (drying off) were applied 419 times in the period of three years. Altogether 300 cows were involved in this study. In conclusion the average of treatments per year was about 140 or in other words to 46% of all cows antibiotics were administered. Since there are about 12.5 million dairy cows in Germany there must be about 5.75 million antibiotic treatments due to mastitis or mastitis prophylaxis per year. Looking at reported adverse drug reactions due to mastitis there are only 87 reports in the period of five years, which means an average of reports of 17.4 reports per year. These 17.4 reports per year distribute over 5.75 million treatments. In conclusion we can state that only one of 330'000 cows reacts or in other words if 1000 cows were treated 0.003 of them would show an adverse drug reaction (table 4).

Table 4. Expected adverse drug reactions due to mastitis treatment or prophylaxis on basis of the present study

Number of dairy cows in Germany	Number of mastitis treatments or prophylaxis per year	Average of reported adverse drug reactions per year	Number of reacting cows per 1000 antibiotic treatments
12.5 million	5.75 million	17.4	0.003

But it should always be kept in mind that there is no official law in Germany for reporting adverse drug reactions. Hence, an unknown number of 'side effects' is ignored. In Switzerland, however, the reporting is a legal requirement; but even there only 30 adverse reactions concerning cattle were reported in 2009 (Müntener et al, 2010).

Nevertheless the most important aim of this study is achieved. By close cooperation to farmers and veterinary surgeries an increasing attention to pharmacovigilance could be established.

ACKNOWLEDGEMENTS

The study was supported by the BVL in Berlin. Great special thanks to Dr. Annette Wilke for her assistance in data provision and processing.

REFERENCES

- Bousquet, P.- J., P. Demoly, A. Romano (2009): Drug allergy and hypersensitivity: Still a hot topic. *Allergy* 2009. 64: 179- 182
- Dyer, F., Spagnuolo- Weaver, M., Cooles, S., Tait, A. (2008): Suspected adverse reactions, 2007. *Veterinary Record* 2008. 163: 69- 72
- Gehring, R. (2001): Suspected adverse reactions to veterinary drugs reported in South Africa (January 1998- February 2001). *Journal of the South African Veterinary Association* 72: 120- 126.
- Klocke, P., S. Garbe, J. Spranger, C.C., Merck, (2002): Effects of homeopathic and antibiotic mastitis treatment considering medium term parameters in an organic dairy herd. XXIIth World Buiatric Congress Hannover, Abstracts, 210.

- Matthey, C., Saalschmidt, F., Wilke, A., Ibrahim, C. (2010): Unerwünschte Arzneimittelwirkungen (UAW) bei Haus- und Nutztieren; Bericht des BVL zu UAW-Spontanmeldungen im Zeitraum 2007 bis 10/2010. Deutsches Tierärzteblatt. 12/2010: 1610- 1615.
- Müntener, C.R, Gassner, B., Demuth, D.C.; Althaus, F.R., Zwahlen, R., (2004): Pharmakovigilance für Tierarzneimittel in der Schweiz. Schweiz. Arch. für Tierheilk. 2004 146: 499- 505.
- Müntener, C.R., Bruckner, L., Gassner, B., Stürer, A., Demuth, D.C., Althaus, F. R., Zwahlen, R.(2007): Gemeldete unerwünschte Wirkungen von Tierarzneimitteln im Jahr 2006. Schweiz. Arch. für Tierheilk. 2007 149: 439- 448
- Müntener, C.R., Bruckner, L., Stürer, A., Althaus, F. R., Caduff- Janosa, P. (2010):
Vigilance der Tierarzneimittel: Gemeldete unerwünschte Wirkungen im Jahr 2009. Schweiz. Arch. für Tierheilk.2010 152: 575- 583.
- Pfister, T (2009): Untersuchungen zur Endotoxintoleranz bei der akuten Mastitis des Rindes. München, LMU, Klinik für Wiederkäuer, Diss.
- Reksen, O., L. Sølverød, A. J. Branscum, O. Østera's (2006). Relationship between milk culture results and treatment for clinical mastitis or culling in Norwegian Dairy cattle. J. Dairy Sci. 89:2928–2937
- Seegers H, Fourichon C, Beaudeau F (2003). Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. Vet Res 2003; 34: 475-91
- Tjälve H. (1997): Adverse reactions to veterinary drugs reported in Sweden during 1991-1995. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, Vol. 20, 1997
- Woodward K.N. (2005): Veterinary Pharmacovigilance. Part 3. Adverse effects of veterinary medicinal products in animals and on the environment. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics Vol. 28, 2005:

Bundesverband für Tiergesundheit (2009):

http://www.bftonline.de/fileadmin/bft/tierarzneimittelmarkt/BFT-Tierarzneimittelmarkt_2009.JPG

Statistisches Bundesamt (2010):

<http://www.destatis.de/jetspeed/portal/cms/Sites/destatis/Internet/DE/Content/Publikationen/Fachveroeffentlichungen/LandForstwirtschaft/ViehbestandTierischeErzeugung/MilcherzeugungVerwendung2030422097004,property=file.pdf>

Vetidata (2011): <http://www.vetidata.de>

Kapitel IV

Incidences of and Genetic Parameters for Mastitis, Claw Disorders, and Common Health Traits Recorded in Dairy Cattle Contract Herds

(Manuscript published in “Journal of Dairy Science Vol. 95, Issue 4, April, 2012; Pages 2144-2156”)

ABSTRACT

Test-day production records combined with diagnoses for health traits from 19,870 Holstein cows kept in nine large-scale contract herds in the region of Thuringia, Germany, were used to infer genetic parameters of health disorders. From an electronic database system for recording diagnoses in contract herds, 15 health disorders with highest incidences were extracted and grouped into the following five disease categories: Claw disorders, mastitis, female fertility, metabolism, and ectoparasites. In a Bayesian approach, threshold methodology was applied for binary distributed health disorders and linear models were used for Gaussian test-day observations. Variances and variance ratios for health disorders were from univariate, and covariance components among health disorders and between health disorders and test-day production traits were from bivariate repeatability models. Incidences of health disorders increased with increasing parity, and were substantially higher at the beginning of lactation. Only incidences for ectoparasites slightly increased with increasing stage of lactation. Heritabilities ranged from 0.00 for ectoparasites to 0.22 for interdigital hyperplasia. Heritabilities of remaining health disorders were in a narrow range between 0.04 (corpus luteum persistent) and 0.09 (dermatitis digitalis). Clustering different diseases into disease categories did not result in higher heritabilities. The variance ratio of the permanent environmental component was higher than the heritability for the same trait, pointing to the conclusion that non-genetic factors influence repeated occurrence of health problems during lactation. Repeatabilities were relatively high with values up to 0.49 for interdigital hyperplasia. Genetic correlations among selected health disorders were mostly close to zero disproving the assumption that a cow being susceptible for a specific disease is also susceptible for other types of health disorders. Antagonistic genetic relationships between test-day protein yield and health disorders were found for ovarian cysts (0.57) and clinical mastitis (0.29). Remaining genetic correlations between diseases and production traits were close to zero. The genetic correlation between clinical mastitis and SCC was 0.69. This study revealed reliable genetic parameters for health disorders and underlined the possibility of precise health data recording by farmers from contract herds that can be used for genetic evaluation of health traits.

INTERPRETIVE SUMMARY

Contract herds have been established with the primary goal to record health traits that can be used for official genetic evaluations and for further applications such as genomic selection. A database was developed and recording of health disorders was done by farmers or veterinarians. Especially for clinical mastitis, relatively high incidences at the beginning of lactation in combination with antagonistic relationships with protein yield underline the necessity to implement breeding strategies including direct selection on health disorders

INTRODUCTION

A system of contract or cooperator herds for improving dairy cattle breeding programs in Germany has been suggested by Schierenbeck et al. (2011). The advantages of selecting specific herds for a close collaboration with the local breeding organization are based on the aspects of an accurate genetic differentiation in superior environments, on improved logistics in the era of genomic selection, and on the possibility to record additional functional health traits. For the region of Thuringia characterized by large-scale dairy farms, Gernand et al. (2007) utilized estimates of intra-herd variance components and results from cluster analyses for the identification of contract herds. Selected herds were characterized by a high production level, large herd sizes, and an early average age at first calving.

Consequently in contract herds in Thuringia, electronic database systems were implemented that allow combining of test-day records with health disorders recorded from veterinarians, claw trimmers and farmers, and the parallel documentation of further effects related to herd management. A system for the direct recording of health traits is imperative for the improvement of the health status in the whole population via breeding strategies. In the past, the main problem regarding the inclusion of health traits in the breeding goal was the lack of appropriate data, and in most cases, indirect measurements were used. For example for the improvement of udder health, generally SCC is used as an indicator for breeding on resistance

against mastitis. However, based on several published results, Heringstad et al. (2000) found only a moderate genetic correlation of 0.60 between SCC and clinical mastitis. The aim of a study by König and Swalve (2006) was to quantify the relative importance of different index traits with respect to selection response for the trait laminitis resistance. Applying selection index theory, they identified a doubling in selection response in laminitis resistance per generation when laminitis observations of 50 daughters per bull were included as index traits instead of using indicator traits. However, the prerequisite for breeding strategies is the direct recording of health traits, which is difficult to realize in the whole population. Mark (2004) gave a detailed review for examples of direct recording of functional or "next generation" health traits. Some of these suggested traits, especially clinical mastitis, have been recorded in Scandinavia over a period of more than 30 years. Traditionally, Scandinavian countries have a leading position in registration and collection of information about new health traits (Mark, 2004). Health data collected via veterinary systems are integrated into the national electronic database system and used for genetic evaluation (Heringstad et al., 2000). Simianer and König (2002) compared the success of international breeding programs in terms of udder health using data from international genetic evaluations. Genetic gain for udder health was highest for the Scandinavian countries. Additionally, the advantage of direct selection strategies for mastitis on the phenotypic scale was demonstrated via a long-term selection experiment (Heringstad et al., 2007). Beside Scandinavia, udder health monitoring projects also have been established for dual purpose Simmental cows in Austria, and a large amount of data has been used for genetic studies (Koeck et al., 2010a; Koeck et al., 2010b). Also in the Netherlands (Windig et al., 2010), substantial datasets for genetic analyses of clinical mastitis in combination with bacteriological characterizations have been used for a multitude of genetic studies.

So far in Germany, genetic parameters for clinical and subclinical mastitis in combination with pathogen-specific data, are only based on small datasets. Based on observations from 400 cows from one farm, Schafberg et al. (2006) estimated heritabilities for *staphylococcus aureus* and *coagulase negative staphylococcus* ranging between 0.03 and 0.09 when applying different statistical models. In the study by Hinrichs et al. (2005), 3,200 cows from three different farms in Germany were used to estimate heritabilities for mastitis, and to infer relationships between mastitis and production. Consequently, the aim of the present study was

an extension of genetic studies by including further health traits being available from a substantial dataset recorded in large-scale contract herds. A further focus was on the estimation of genetic relationships between selected health disorders, somatic cell score (SCS), and production traits, and to study incidences of health disorders during the course of lactation.

MATERIALS AND METHODS

Data

Test-day records for protein yield, fat %, protein %, and SCC, as well as health disorders for a total of 954 different diagnoses were available from 19,870 Holstein cows kept in nine large-scale contract herds in the region of Thuringia in the eastern part of Germany. The monthly test-day SCC was log-transformed into test-day SCS to achieve normality and homogeneity of variances using the formulae by Ali and Shook (1980). Data for analyses were recorded from January 2007 over a period of two yrs. Hence, some cows had observations from two different lactations, resulting in 23,873 lactations (Table 2). Records were from parities 1 to 12. Number of cows per herd ranged from 616 to 2,800. Cows were sired by 1,147 different bulls which implies an average of 17 daughters per sire. From the pool of sires, 47 had more than 50 daughters, 106 sires had 21 to 50 daughters, 146 sires had 11 to 20 daughters, 214 sires had 6 to 10 daughters, and 357 sires had 2 to 5 daughters. The no. of animals in the pedigree file was 90,283, and deepest pedigrees were traced back to founder animals born in 1920.

Diagnoses were defined according to the recording key developed by Feucker and Staufenbiel (2003). This system for recording diagnoses is based on experiences of and collaborations between veterinarians and farmers, and is mainly used in large-scale farms in the eastern part of Germany. For statistical analyses, 15 health disorders with highest incidences on a lactation level (= proportion of cows with at least one treatment during lactation for a particular disease) were extracted and also combined into the following five diseases categories: claw disorders, mastitis, female fertility, metabolism, and ectoparasites (Table 1).

Table 1. Single and combined disorders (= categories and sub-categories) as used in the present study along with their mean incidences¹

Disorder / category /	Description of the disorder	Incidence ¹	
I.) Category: Claw	Including I.1, I.2, I.3	5.2	22.6
I.1) Sub-category: Purulent	Including I.1a, I.1b, I.1c	4.0	19.0
I.1a) Sole ulceration	Infection of the corium	1.5	7.4
I.1b) Interdigital	Infection of interdigital connective tissue	0.8	5.6
I.1c) Digital dermatitis	Exudative infection of claw	1.0	6.2
I.2) Sub-category: Non	Including I.2a, I.2b, I.2c	2.3	12.1
I.2a) Laminitis	Aseptic infection of the corium	1.1	7.6
I.2b) Interdigital	Bead between the inner and outer claw	0.9	4.4
I.2c) White line disease	Separation between sole and wall horn	0.5	2.5
I.3a) Lameness ²	Cow is obvious lame ²	2.2	7.3
II.) Category: Mastitis	Including II.1, II.2	7.7	38.0
II.1) Clinical mastitis	Obvious infection (dolor, calor, rubor)	6.7	34.6
II.2) Subclinical mastitis ²	Increased SCC via Schalm-test	1.1	6.5
III.) Category: Female	Including III.1, III.2	13.3	53.7
III.1) Sub-category: Uterus	Including III.1a, III.1b, III.1c	0.8	6.1
III.1a) Puerperium	Gynecological infect	1.8	14.6
III.1b) Retained placenta	Fetal membranes are not rejected	1.6	12.8
III.1c) Endometritis	Endometrial bacterial infection	2.9	19.2
III.2) Sub-category: Ovary	Including III.2a, III.2b, III.2c, III.2d	7.3	31.5
III.2a) Silent estrus	No visible signs of estrus	1.7	9.8
III.2b) Ovarian cysts	Degenerated persistent follicles	3.5	15.7
III.2c) Corpus luteum	Corpus luteum persistent on the ovary	2.5	13.3
IV.) Category: Metabolism	Ketosis, milk fever, abomasum	1.0	7.8
V.) Category: Ectoparasites	Ectoparasite infection (e.g. lice, ticks)	1.5	10.6

¹Incidences: First value = incidences on a test-day level = proportion of diseased cows at a specific test-day averaged over all test-days; second value = incidences on a lactation level = proportion of cows with at least one treatment during lactation for a particular disease

²Detailed explanation in the text

Most of the individual diseases, defined sub-categories and categories according to Feucker and Staufenbiel (2003) are described in Table 1. Further explanation is needed for 'lameness', 'mastitis', 'ectoparasites', and 'metabolism'. In the description of the recording key, 'lameness' implies a cow being obviously lame due to swellings and injuries at hocks, hips, and pelvis bones. As such, lameness also belongs to the overall category I: 'claw disorders' and the sub-category I.3: 'miscellaneous claw disorders'. The category 'mastitis' was divided into clinical and subclinical mastitis. Clinical mastitis implies an obvious infection and a treatment by a veterinarian, whereas subclinical mastitis is based on visual inspections of the California mastitis test results (Schalm and Noorlander, 1957) as used by farmers. Due to extremely low incidences of health disorders belonging to the categories IV: 'ectoparasites' and V: 'metabolism', only categories instead of single traits were used for genetic analyses.

Health disorders were assigned to the nearest official test-day of the whole lactation. Hence, repeated measurements for disorders were official test-day records within lactation by considering in total 199,027 test-day observations for the same trait. Depending on the difference in days between two consecutive official-test dates, 'time windows' were defined. An example might be the following: The first official test-day of a cow is 10 d after calving, and the second test-day is at DIM 42. Hence, the 'threshold' separating these two test-days is DIM 26. The general interval between two consecutive official test-days is approximately 30 d. Consequently, also a defined 'time window' (apart from the first window) spans this period of 30 d. On average, the first test-day after calving was at DIM 16, the following at DIM 46, etc. This implies an average of 31 d for the first interval. Average no. of official test-days per cow and lactation was 8.3 with a maximum value of 15. The method as described above for assigning health disorders to official test-days resulted for all traits in the same no. of repeated measurements per cow. Within the defined 'time window', repeated measurements for the same health disorder were not taken into account and coded with a '1' irrespective of the number of entries for this disorder; otherwise for a healthy cow, a score of '0' was assigned. At a threshold point dividing two consecutive time windows, a minimum time period of 5 d was required to consider a treatment as a new disease case. This period was also used by Hinrichs et al. (2005). An example for health data preparation for statistical analyses is illustrated in Figure 1.

Statistical Models

Estimation of (co)variance components was done using the computer package Multiple Traits Gibbs Sampling for Animal Models (MTGSAM; Van Tassel and Van Vleck, 1995). A Bayesian approach using Gibbs sampling was applied. Length of burn-in and of the sampling period were assessed by visual inspections of a Gibbs chain of genetic covariances. Based on the visual inspections of trace plots, chain lengths of 250,000 iterations were used, and first 50,000 rounds were discarded as burn-in. Hence, posterior means and posterior standard deviations for fixed and random effects as well as for (co)variance components were calculated from 200,000 samples. Independent proper uniform priors were assigned to each of the elements of vectors for fixed and random effects. The residual variance of the binary trait was set to 1.

Repeatability models were fitted, with health disorders as binary (threshold) and protein yield, protein %, fat % and SCS as Gaussian traits. Univariate repeatability models were applied to estimate variance components for all health disorders as specified in Table 1. In matrix notation, the model for a binary trait was:

$$[\mathbf{l}] = [\mathbf{X}\mathbf{b} + \mathbf{Z}\mathbf{u} + \mathbf{W}\mathbf{p} + \mathbf{e}]$$

and consequently, for a Gaussian trait:

$$[\mathbf{y}] = [\mathbf{X}\mathbf{b} + \mathbf{Z}\mathbf{u} + \mathbf{W}\mathbf{p} + \mathbf{e}]$$

where \mathbf{l} = vectors of unobserved liabilities for health disorders from a binary outcome; \mathbf{y} = vectors of observations for test-day production records; \mathbf{b} = vector of fixed effects of herd-test-day (HTD), parity, and regressions on DIM using polynomials of order 3; \mathbf{u} = vector of random additive genetic effects; \mathbf{p} = vector of random permanent environmental effects for cows; and \mathbf{e} = vector of random residual effects; and \mathbf{X} , \mathbf{Z} , and \mathbf{W} are incidence matrices for \mathbf{b} , \mathbf{u} and \mathbf{p} , respectively.

Bivariate repeatability models were applied 1.) to estimate covariance components between selected health disorders, 2.) to estimate covariance components between selected health disorders and test-day production traits (protein yield, protein %, fat %), and 3.) to estimate covariance components between selected health disorders and test-day SCS as an indicator

trait for mastitis. MTGSAM allows for the application of threshold methodology. In the case of a bivariate study including two binary health traits, threshold models were applied. Here, the statistical model (repeatability model for two traits 1 and 2) in matrix notation was:

$$\begin{bmatrix} \mathbf{I}_1 \\ \mathbf{I}_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{Xb}_1 + \mathbf{Zu}_1 + \mathbf{Wp}_1 + \mathbf{e}_1 \\ \mathbf{Xb}_2 + \mathbf{Zu}_2 + \mathbf{Wp}_2 + \mathbf{e}_2 \end{bmatrix}$$

where \mathbf{I} = vectors of unobserved liabilities for health disorders from a binary outcome for traits 1 and 2. Fixed and random effects were the same as used for the univariate repeatability models. In the case of a bivariate study including one binary trait and one Gaussian trait, threshold-linear models were applied. Consequently, the statistical model for a binary trait 1 and a Gaussian trait 2 was:

$$\begin{bmatrix} \mathbf{I}_1 \\ \mathbf{y}_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{Xb}_1 + \mathbf{Zu}_1 + \mathbf{Wp}_1 + \mathbf{e}_1 \\ \mathbf{Xb}_2 + \mathbf{Zu}_2 + \mathbf{Wp}_2 + \mathbf{e}_2 \end{bmatrix}$$

where \mathbf{I} = vectors of unobserved liabilities for health disorders from a binary outcome (trait 1), and \mathbf{y} = vectors of observations for test-day production records (trait 2).

The (co)variance structure was as follows:

$$\text{var} \begin{bmatrix} \mathbf{u} \\ \mathbf{p} \\ \mathbf{e} \end{bmatrix} = \begin{pmatrix} \mathbf{G} \otimes \mathbf{A}_u & \mathbf{0} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{P} \otimes \mathbf{I}_p & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{0} & \mathbf{R} \otimes \mathbf{I}_r \end{pmatrix}$$

\mathbf{G} is a 2×2 additive genetic (co)variance matrix for one Gaussian and one binary trait, or for two binary traits; \mathbf{A}_u is an additive genetic relationship matrix for u animals in the whole pedigree; \mathbf{P} is a 2×2 permanent environmental covariance matrix for cows in both traits; \mathbf{I}_p is an identity matrix for p cows; \mathbf{R} is a 2×2 residual variance matrix for the two traits; \mathbf{I}_r is an identity matrix for r records; and \otimes is direct matrix product.

RESULTS AND DISCUSSION

Incidences of health disorders

Pronounced differences in mean incidences of analyzed health disorders, i.e. the proportion of cows with at least one treatment during lactation for a particular disease, were found when comparing the nine contract herds (Figure 2). Apart from ectoparasites, all diseases were found or recorded in all farms. In herd 1, incidences for ectoparasites were extremely high with a value of 55.9%, but not any incidences were observed in herds 2, 3, 4, and 5. This may be the causal consequence of an infection. This is especially the case with the expeditious spread of cattle lichen within a 'closed environment' of a dairy cattle herd. Incidences for some health disorders were on a fairly low level. For example, the category 'metabolism' had a mean occurrence of only 0.2% in herd 3. Results from herd management software revealed totally different management and feeding strategies between farms, and a multitude of interactions exists. König et al. (2005a) investigated claw disorders from large-scale dairy farms, and they tried to identify factors causing such substantial differences in mean incidences between farms. However, their attempt based on information related to feeding and management as collected in herd management programs, was not successful. For example for the best and the worst herd regarding sole ulceration, identical feeding strategies, husbandry systems and floor surfaces were identified. Hence, general conclusions for improving environments or farm management to improve dairy cattle health cannot be drawn.

Mean incidences of health disorders by parity, i.e. the proportion of cows with at least one treatment during lactation for a particular disease, are shown in Table 2.

Table 2. Incidences of disorders (%) by parity on a lactation level (= proportion of cows with at least one treatment during lactation for a particular disease)

	Parity							
	1	2	3	4	5	6	7	>7
No. of cows	9,360	6,575	4,047	2,069	972	434	203	213
I.) Category: Claw disorders (CD)	18.2	23.6	25.2	27.9	27.3	29.0	31.0	34.3
I.1) Sub-category: Purulent CD	15.7	19.5	21.3	23.1	24.2	23.7	25.1	27.2
I.1a) Sole ulceration	5.9	7.2	8.8	9.8	9.0	11.1	11.3	16.4
I.1b) Interdigital phlegmona	5.0	5.9	5.4	6.6	6.9	6.2	6.9	6.1
I.1c) Digital dermatitis	6.9	6.4	5.8	4.7	4.8	3.7	3.5	2.8
I.2) Sub-category: Non purulent CD	9.1	13.0	13.9	15.1	12.6	18.4	19.7	24.4
I.2a) Laminitis	6.2	7.8	8.1	9.2	7.9	11.3	13.8	19.3
I.2b) Interdigital hyperplasia	3.3	5.6	5.1	3.6	3.8	6.2	6.9	4.7
I.2c) White line disease	1.1	2.9	4.4	5.8	3.9	5.8	3.9	10.8
I.3a) Lameness	5.4	8.0	8.7	9.9	10.1	10.4	7.4	7.0
II.) Category: Mastitis	31.1	38.6	44.2	46.8	47.8	47.5	47.8	44.1
II.1) Clinical mastitis	28.2	35.7	40.2	42.4	42.5	42.6	43.8	37.6
II.2) Subclinical mastitis	5.2	5.7	7.9	9.2	10.0	10.1	9.4	8.9
III.) Category: Female fertility	53.4	51.3	55.8	56.2	56.8	58.1	52.2	53.1
III.1) Sub-category: Uterus	5.8	5.7	6.4	7.2	6.9	7.4	6.4	7.5
III.1a) Puerperal disorder	14.7	12.6	15.7	16.3	17.1	17.7	12.8	18.3
III.1b) Retained placenta	12.3	11.0	14.1	15.0	15.5	16.8	11.8	17.4
III.1c) Endometritis	18.0	17.8	19.9	23.2	24.4	26.7	22.7	22.1
III.2) Sub-category: Ovary	29.4	32.3	33.6	34.4	32.2	29.7	30.5	27.7
III.2a) Silent estrus	9.5	10.1	9.4	11.1	9.8	9.9	10.3	9.9
III.2b) Ovarian cysts	14.3	16.8	16.9	16.3	17.1	14.5	14.3	12.7
III.2c) Corpus luteum persistant	12.6	13.5	14.4	13.9	13.0	13.1	10.8	12.2
IV.) Category: Ectoparasites	11.1	11.5	10.0	9.7	7.5	8.5	5.9	6.6
V.) Category: Metabolism	3.5	6.6	10.9	15.3	17.1	23.3	16.8	16.4
Diseased	72.5	75.1	79.8	81.3	81.0	79.0	81.8	79.8

Generally, an increase of incidences was associated with increasing lactation number as found by Heringstad et al. (2005) for a multitude of health traits. In our study, when summarizing incidences from all disorders, incidences increased from 72.5% in parity 1 to 79.9% in parity 7. Corresponding values on a test-day level, i.e. the proportion of diseased cows at a specific test-day averaged over all test-days, were 22.9% and 33.3% in parity 1 and 2, respectively. For digital dermatitis, incidences decreased with increasing lactation number. This is in line with König et al. (2005a) who found that heifers' liability to digital dermatitis was higher than in adult cows. Some type of resistance against bacteria causing digital dermatitis can be anticipated, and, of course, there is an effect of selection. Large-scale dairy farming in the eastern part of Germany is characterized by high selection pressure in first lactation, and consequently, replacement rates are on a high level (Hufe, 2003).

Longitudinal structure of health data was used to analyze incidences of disorders by lactation stage at specific test-days (Figures 3, 4, and 5). For the claw disorders 'interdigital phlegmona', 'interdigital hyperplasia' and 'digital dermatitis' (Figure 3), for the female fertility traits 'endometritis' and 'retained placenta' (Figure 4), and for 'mastitis' and 'metabolism' (Figure 5), incidences were highest directly after calving. A further incidence peak was observed in the time interval between test-day 2 and test-day 5 for 'ovarian cysts', 'corpus luteum persistent' and 'silent estrus' (Figure 4).

The distribution of incidences seems logical, since the metabolism of the dairy cow is exposed to physiological stress with the onset of a new lactation due to high milk yield. Collard et al. (1999) identified high milk yield within the first third of lactation as a major reason for health problems. They concluded that metabolic stress occurs when energy output is higher than energy input, inevitably resulting in too quick a mobilization of body fat reserves. Similar results with highest incidences in the first third of lactation are reported by Fleischer et al. (2001) for retained placenta, metritis, ovarian cysts, mastitis, claw diseases, milk fever, ketosis, and displaced abomasum, and by Harder et al. (2006) for fertility disorders in German Holstein cows. In contrast to all other health disorders, incidences for infections with ectoparasites slightly increased from 1.1% at test-day 1 to 4.3% at the end of lactation (Figure 5). Especially for heifers that have to be integrated in the cow herd, some

time is required from the infection with ectoparasites in the new environment to the time point where farmers detect infestations.

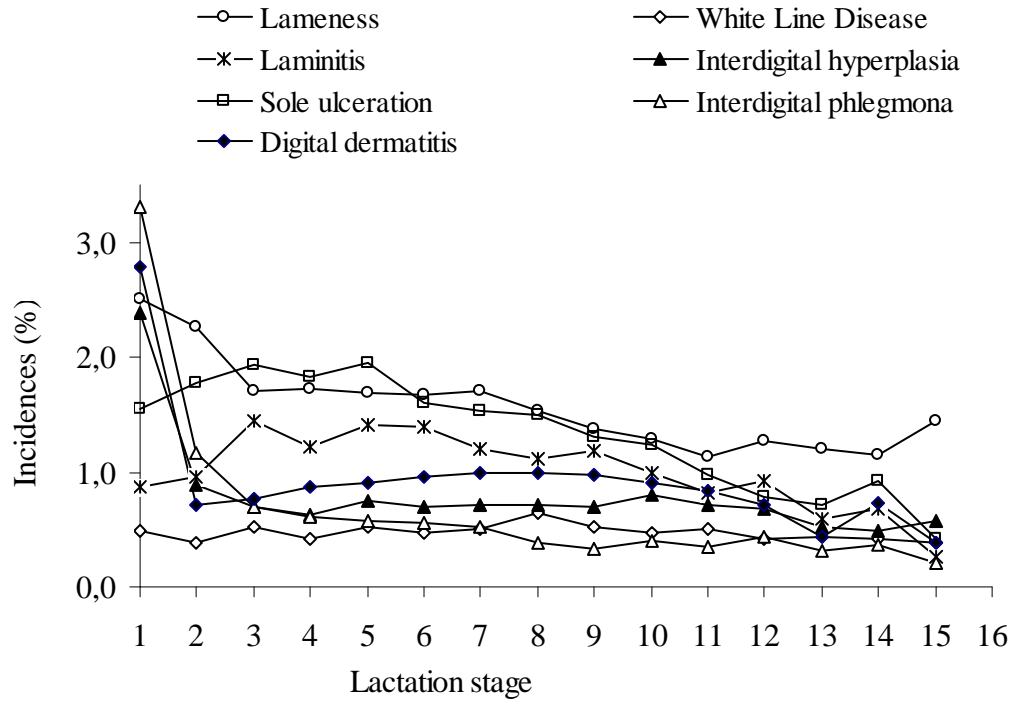


Figure 3. Incidences of diseases (here: diseases belonging to the category I = claw disorders) by lactation stage (assigned no. for lactation stage indicate the official test-days after calving)

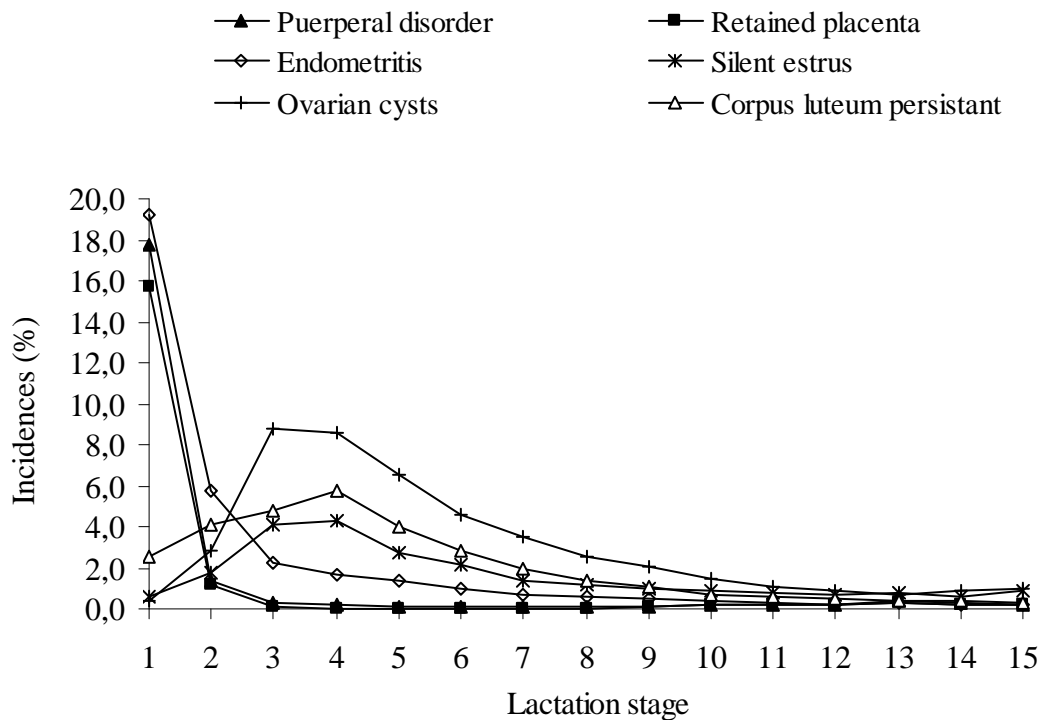


Figure 4. Incidences of diseases (here: diseases belonging to the category III = female fertility) by lactation stage (assigned no. for lactation stage indicate the official test-days after calving).

Variance ratios for disorders

Posterior means and posterior SD of heritabilities, variance ratios of the permanent environmental component, and repeatabilities for health disorders are given in Table 3. Among all traits analyzed, the heritability estimate with a value of 0.22 was highest for interdigital hyperplasia. A relatively strong genetic background for interdigital hyperplasia was found in previous German studies which estimated heritabilities of claw disorders, e.g. $h^2 = 0.28$ for Holstein cows (Burmester, 2005). Among all claw and foot disorders in the study by König et al. (2005a), heritability was also highest for interdigital hyperplasia, but overall on a lower level (0.12). The permanent environmental component for interdigital hyperplasia in the present study was relatively high, resulting in a repeatability of 0.50. Hence, occurrence

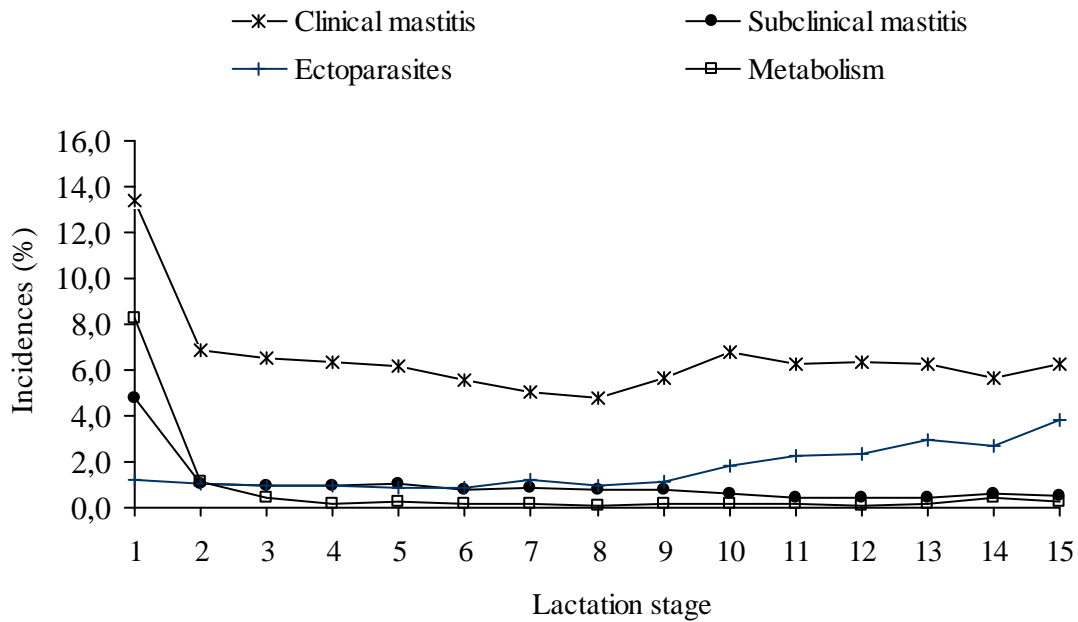


Figure 5. Incidences of diseases (here: diseases belonging to the category II = mastitis, category IV = metabolism, category V = ectoparasites) by lactation stage (assigned no. for lactation stage indicate the official test-days after calving).

of interdigital hyperplasia directly after calving is associated with a risk of further incidences during lactation. Heritabilities and repeatabilities of remaining claw disorders in the present study were substantially lower. Heritabilities ranged between 0.05 (laminitis) and 0.09 (digital dermatitis), and repeatabilities between 0.06 (laminitis) and 0.32 (sole ulceration). Results for heritabilities are comparable to estimates from previous studies conducted in the eastern part of Germany (König et al., 2005a; König et al., 2008).

Table 3. Posterior means and posterior SD for heritabilities (h^2), ratios of permanent environmental variances (pe^2), and repeatabilities (r^2) for single diagnoses and categories of disorders.

	h^2	$SD(h^2)$	pe^2	$SD(pe^2)$	r^2	$SD(r^2)$
I.) Category: Claw disorders (CD)	0.07	0.01	0.17	0.01	0.24	0.01
I.1) Sub-category: Purulent CD	0.05	0.01	0.15	0.01	0.20	0.01
I.1a) Sole ulceration	0.07	0.02	0.24	0.03	0.32	0.01
I.1b) Interdigital phlegmona	0.08	0.02	0.14	0.02	0.22	0.02
I.1c) Digital dermatitis	0.09	0.02	0.13	0.02	0.23	0.02
I.2) Sub-category: Non purulent CD	0.07	0.01	0.14	0.01	0.20	0.01
I.2a) Laminitis	0.06	0.01	0.00	0.00	0.06	0.01
I.2b) Interdigital hyperplasia	0.22	0.04	0.28	0.03	0.49	0.02
I.2c) White line disease	0.09	0.02	0.15	0.02	0.24	0.01
I.3a) Lameness	0.09	0.02	0.22	0.02	0.30	0.01
II.) Category: Mastitis	0.06	0.01	0.10	0.01	0.16	0.01
II.1) Clinical mastitis	0.06	0.01	0.09	0.01	0.15	0.01
II.2) Subclinical mastitis	0.03	0.01	0.23	0.02	0.27	0.02
III.) Category: Female fertility	0.04	0.01	0.17	0.01	0.21	0.01
III.1) Sub-category: Uterus	0.01	0.01	0.09	0.03	0.10	0.03
III.1a) Puerperal disorder	0.03	0.01	0.06	0.02	0.09	0.02
III.1b) Retained placenta	0.04	0.02	0.01	0.02	0.05	0.02
III.1c) Endometritis	0.05	0.02	0.18	0.02	0.24	0.01
III.2) Sub-category: Ovary	0.05	0.01	0.21	0.01	0.26	0.01
III.2a) Silent estrus	0.04	0.01	0.17	0.02	0.20	0.01
III.2b) Ovarian cysts	0.06	0.01	0.26	0.02	0.31	0.01
III.2c) Corpus luteum persistent	0.04	0.01	0.12	0.01	0.16	0.01
IV.) Category: Ectoparasites	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
V.) Category: Metabolism	0.05	0.01	0.18	0.02	0.23	0.02
Diseased	0.04	0.01	0.08	0.01	0.12	0.00

Combining all cases of mastitis, posterior heritability was 0.06 (Table 3). Heritability was higher for clinical than for subclinical mastitis (0.06 and 0.03, respectively). Substantially higher permanent environmental variances for subclinical mastitis resulted in higher repeatabilities compared to clinical mastitis. Hence, there must be a major non-genetic component causing repeated infections. For studying the genetic background of mastitis in detail, some other studies focused on specific pathogens (e.g. De Haas et al., 2008). Generally for the German situation, such data has to be interpreted with caution. Usually, only a small fraction of cows with clinical or subclinical mastitis is used for identifying specific pathogens. This implies that cows categorized for clinical mastitis are scored 'healthy' with regard to specific pathogens due to lacking laboratory investigations. Utilizing those data for genetic studies would result in biased estimates of genetic parameters. Schafberg et al. (2006) only used data from one farm that has implemented a scheme for analyzing specific major pathogens of all cows. However, for a reliable national genetic evaluation, those traits have to be selected that can be easily and identically recorded in all participating contract herds. Examples for a successful implementation of such suitable traits are demonstrated by Heringstad et al. (2007) via analyses of selection experiments conducted in Norway. Especially for clinical mastitis, Heringstad et al. (2007) impressively showed the possibilities of improving the status of udder health by consistently using sires with favorable EBVs for clinical mastitis. Our heritability estimates for clinical mastitis are in line with results from the recently established and comparable health monitoring project in Austria (Koeck et al., 2010a). These authors also used threshold methodology in a Bayesian framework and heritabilities on the underlying liability scale ranged from 0.02 to 0.06.

Posterior heritabilities with values ranging between 0.01 and 0.06 for the category 'female fertility' and belonging sub-categories and diseases (Table 3) are in the range reported in the literature (e.g. Zwald et al., 2006). Clustering fertility disorders into categories or analyzing single diseases revealed heritabilities of roughly the same magnitude. In some cases, heritabilities from sub-categories or categories were marginally higher (e.g. $h^2 = 0.05$ for the sub-category 'ovary' compared to $h^2 = 0.04$ for corpus luteum persistant). In contrast when analyzing the sub-category 'uterus', heritability was on the overall lowest level with a value of 0.01. Diseases included in the category 'female fertility' are strongly associated with a cow's recovering after calving, which has a further impact on the interval from calving to first

service. Traditionally in genetic evaluations, only fertility traits related to the success of an insemination have been used, e.g. non-return rates after 56d or after 90d. Knowledge of diseases such as retained placenta or endometritis will contribute to a deeper understanding of the physiological mechanisms of female fertility. Hence, genetic parameters of single fertility disorders can be used to develop new fertility indices. Interestingly, also for female fertility disorders, values for ratios of permanent environmental variances were substantially higher than estimates of heritabilities. This was found for all diseases summarized in the category 'female fertility' apart from retained placenta. This finding can easily be explained, because retained placenta only occurs directly after calving.

Lowest heritabilities among all disorders were found for ectoparasites (Table 3). Brown et al. (1992) estimated genetic parameters for ectoparasites in beef cattle by applying different statistical models, and heritability for the resistance against horn flies ranged from 0.59 to 0.78. In Zebu cattle, the heritability estimate for resistance against the tick *Boophilus microplus* was 0.27 (Andrade et al., 1998). To our knowledge, there are no studies addressing heritabilities for ectoparasite related diseases such as acrodermatitis, lichen or scabies in Holstein cows in Europe.

Health disorders belonging to the category 'metabolism', i.e. ketosis, milk fever and displaced abomasum, had higher incidences in some other studies (e.g. Heringstad et al., 2005). Consequently, they were analyzed separately in other studies when estimating genetic parameters. In large scale farms in East Germany, König et al. (2005b) identified a variety of management tools, and one of these tools is feeding of a total mixed ration (TMR) which is not practical on a small farm. In general, feeding of a TMR is associated with an increase of dry matter intake (e.g. Bargo et al., 2002), and consequently reduces metabolic diseases in early lactation. Heritability for the category 'metabolism' with a value of 0.05 was relatively low (Table 3), but permanent environmental variance (0.18) and repeatability (0.23) were substantially higher. Estimation of genetic parameters for health disorders of the complex 'metabolism', e.g. displaced abomasum, ketosis, and milk fever, was the topic of a limited number of studies. For displaced abomasum, a wide range of heritabilities, i.e. 0.08 Abdel-Azim et al. (2005), 0.15 (Zwald et al., 2004), 0.28 (Uribe et al., 1995) and 0.51 (Wolf et al., 2001) has been reported. The latter study estimated heritabilities for binary traits by applying

linear models and transforming them to the underlying liability scale according to the formula by Dempster and Lerner (1950). Considering only ketosis, heritability estimates based on threshold methodology were almost identical, i.e. 0.08 (Uribe et al., 1995), 0.06 (Zwald et al., 2004), and 0.11 (Frigo et al., 2010). Heringstad et al. (2005) applied threshold methodology in a Bayesian framework to estimate heritabilities for ketosis and milk fever in parity 1, 2, and 3. Estimates of heritability of liability for ketosis ranged from 0.14 to 0.16, and for milk fever from 0.09 to 0.13.

Correlations between selected health disorders

Due to the multitude of pair-wise combinations, estimation of genetic covariances and correlations has focused on those diseases characterized by highest incidences in combination with highest heritabilities within sub-categories of the overall categories 'claw disorders', 'female fertility' and 'mastitis' as defined in Table 1. Selected diseases belonging to claw disorders of the sub-categories I.1, I.2, and I.3 were digital dermatitis, interdigital hyperplasia, and lameness, respectively. With regard to female fertility, endometritis was used from sub-category III.1, and ovarian cysts from sub-category III.2. Within the overall category 'mastitis', no sub-categories were defined, and clinical mastitis was used in bivariate studies.

Correlations for the additive-genetic, permanent environmental, residual and phenotypic component among selected disorders are given in Table 4. Generally, genetic correlations were close to zero. König et al. (2005a) found positive genetic correlations among claw disorders, and between claw disorders and indicator traits for mastitis within a moderate range. They concluded that disorders seem to appear in clusters meaning that a cow being susceptible to any disease has an increased genetic risk to show another disease, too. As expected, in most cases genetic correlations between traits belonging to the same disease category, e.g. between interdigital hyperplasia and dermatitis digitalis, or between endometritis and ovarian cysts, were slightly higher than correlations between traits from different categories.

When correlating clinical mastitis with ovarian cysts and endometritis, correlations were close to zero (Table 4). Hence, we found no direct impact of the status of udder health on

incidences of ovarian cysts and endometritis, and vice versa. Generally, correlations among health disorders from different categories were on a low level, and following these results, it would be difficult to improve all health traits in the German Holstein population simultaneously via breeding strategies. In contrast in a selection experiment with Norwegian Red cows, it was shown that selection against mastitis leads to a favorable correlated selection response in ketosis and retained placenta (Heringstad et al., 2007).

Table 4. Posterior means and posterior SD for genetic (r_g), permanent environmental (r_{pe}), residual correlations (r_e) and phenotypic correlations (r_p) among selected disorders.

	r_g	SD(r_g)	r_{pe}	SD(r_{pe})	r_e	SD(r_e)	r_p	SD(r_p)
Lameness								
Interdigital hyper.	0.04	0.02	0.04	0.02	0.06	0.00	0.06	0.00
Digital dermatitis	0.01	0.03	0.00	0.02	0.01	0.00	0.01	0.00
Clinical mastitis	-0.01	0.04	-0.03	0.03	-0.01	0.00	-0.01	0.00
Endometritis	0.01	0.04	-0.01	0.02	0.02	0.00	0.02	0.00
Ovarian Cysts	0.11	0.04	0.13	0.02	0.03	0.00	0.04	0.00
Interdigital hyperplasia								
Digital dermatitis	0.11	0.02	0.12	0.02	0.16	0.00	0.15	0.00
Clinical mastitis	0.00	0.03	0.01	0.02	0.01	0.00	0.01	0.00
Endometritis	0.03	0.02	0.04	0.02	0.02	0.00	0.03	0.00
Ovarian Cysts	0.01	0.03	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00
Digital dermatitis								
Clinical mastitis	-0.01	0.03	-0.01	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00
Endometritis	0.00	0.03	0.01	0.02	0.02	0.00	0.02	0.00
Ovarian Cysts	-0.01	0.03	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00
Clinical mastitis								
Endometritis	0.00	0.04	0.02	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00
Ovarian Cysts	0.00	0.05	-0.08	0.03	-0.02	0.00	-0.02	0.00
Endometritis								
Ovarian cysts	0.14	0.04	0.17	0.02	-0.02	0.00	-0.01	0.00

Correlations between selected health disorders and production

Correlations between selected health disorders and test-day records for protein yield, protein %, and fat % are shown in Table 5. We found genetically antagonistic relationships between clinical mastitis and protein yield (0.29) and between ovarian cysts and protein yield (0.57; Table 4). Hooijer et al. (2001) used 305-d lactation yields, and genetic correlations with ovarian cysts were 0.35, 0.38, and 0.44 for milk, fat, and protein yield, respectively. Remaining genetic correlations between health disorders and protein yield in our study were close to zero. Apart from ovarian cysts with a value of 0.20, phenotypic correlations between health disorders and protein yield were on a low, negative level ranging from -0.13 (lameness) to -0.03 (endometritis). There is a broad variety of definitions of traits and of estimates for associations between production traits and disorders on the phenotypic scale. Some authors used 305-d lactation yields, and they found an increase in incidences of health disorders with increasing milk yield (i.e. Fleischer et al., 2001). Other authors used test-day production records from the beginning of lactation, and in most cases, higher milk yield was associated with a higher risk of an infection in the ongoing lactation (e.g. König et al., 2005a). However, the same authors mentioned the aspect that only healthy cows can produce a high milk yield, and they suggested the application of recursive or simultaneous models (Gianola and Sorensen, 2004) to account for feed-back situations. Including claw disorders as a binary and milk yield as a Gaussian trait, recursive models have been applied by König et al. (2008). On the first pathway, increased incidences of disorders were due to increasing milk yield. The recursive situation was described via a second path, such that an infection decreased milk yield in the ongoing lactation.

Apart from protein % and endometritis with a value of -0.31, genetic correlations between health disorders and fat% or protein % were close to zero (Table 5).

Table 5. Posterior means and posterior SD for genetic (r_g), permanent environmental (r_{pe}), residual correlations (r_e) and phenotypic correlations (r_p) between selected diseases with production traits (protein yield, protein percentage, fat percentage) and with one indicator trait (SCS).

	r_g	SD(r_g)	r_{pe}	SD(r_{pe})	r_e	SD(r_e)	r_p	SD(r_p)
Lameness								
Protein yield	-0.08	0.12	-0.05	0.05	-0.17	0.01	-0.13	0.01
Protein %	-0.02	0.11	-0.12	0.09	-0.01	0.00	-0.03	0.01
Fat %	-0.07	0.10	0.10	0.08	0.05	0.01	0.04	0.01
SCS	0.23	0.12	-0.05	0.05	0.01	0.01	0.01	0.01
Interdigital hyperplasia								
Protein yield	-0.06	0.11	-0.20	0.07	-0.07	0.02	-0.10	0.02
Protein %	0.10	0.09	-0.21	0.11	0.00	0.00	-0.01	0.01
Fat %	0.14	0.09	-0.22	0.11	0.01	0.01	0.00	0.02
SCS	-0.10	0.10	-0.02	0.06	0.01	0.01	-0.02	0.01
Digital dermatitis								
Protein yield	-0.11	0.14	-0.02	0.09	-0.05	0.01	-0.05	0.02
Protein %	0.05	0.11	-0.02	0.14	0.00	0.00	0.01	0.01
Fat %	-0.01	0.11	0.08	0.12	0.02	0.01	0.02	0.01
SCS	-0.14	0.13	-0.01	0.07	0.00	0.01	-0.02	0.01
Clinical mastitis								
Protein yield	0.29	0.07	-0.22	0.04	-0.15	0.00	-0.11	0.00
Protein %	-0.06	0.06	0.14	0.07	0.05	0.00	0.04	0.00
Fat %	-0.14	0.06	-0.07	0.06	0.05	0.00	0.01	0.00
SCS	0.69	0.05	0.64	0.03	0.20	0.00	0.29	0.00
Endometritis								
Protein yield	0.09	0.15	0.06	0.05	-0.09	0.01	-0.03	0.01
Protein %	-0.31	0.10	0.10	0.07	0.00	0.00	-0.02	0.01
Fat %	0.03	0.09	-0.02	0.06	0.02	0.01	0.01	0.01
SCS	-0.04	0.12	0.01	0.04	0.00	0.01	0.00	0.01
Ovarian cysts								
Protein yield	0.57	0.08	0.32	0.03	0.08	0.01	0.20	0.01
Protein %	-0.16	0.09	-0.05	0.06	0.00	0.00	-0.02	0.01
Fat %	-0.01	0.09	-0.06	0.06	-0.01	0.01	-0.02	0.01
SCS	0.05	0.11	-0.01	0.03	0.00	0.01	0.00	0.01

Correlations between selected health disorders and one indicator trait (SCS)

Correlations between selected health disorders and the udder health indicator trait SCS are shown in Table 5. SCS has a long tradition in dairy cattle breeding programs for the general use in national and international genetic evaluations. In agreement with other studies (e.g. de Haas et al., 2002), the genetic correlation with a value of 0.69 between clinical mastitis and SCS was on a moderate level. However, the use of the indicator trait SCS was a valuable tool for improving udder health by breeding. Additional gain is possible when focusing on direct selection strategies, but it is always a challenge to get a substantial amount of accurate health data. De Haas et al. (2002) applied selection index calculations and used relatively high economic weights for SCS, but they found that selection strategies based on indicator traits are not efficient enough to reduce incidences of some major pathogens.

The phenotypic correlation between clinical mastitis and SCS in our study with a value of 0.29 was even lower than the genetic correlation. There are also critical arguments from a veterinary point of view when breeding on low SCS. Kehrlı and Shuster (1994) argued that cows with extremely low SCS might be more susceptible to clinical mastitis due to an insufficient immune response.

An increasing number of studies investigated associations between udder health and female fertility. On the phenotypic scale, chronically diseased cows over the whole lactation and cows with a somatic cell count above 400,000 measured at the first test-day after an insemination, showed about 4% lower pregnancy rates compared to cows having SCC values below 150,000 (König et al., 2006). Schrick et al. (2001) found longer intervals from calving to successful inseminations and an increasing number of inseminations with higher incidences of clinical and subclinical mastitis. Lower pregnancy rates after mastitis were also reported e.g. by Santos et al. (2004). Focussing on specific diseases related to the female fertility category as done in our study only partly describes those associations. The genetic correlation between ovarian cysts and SCS was 0.05, and also close to zero between endometritis and SCS (Table 4). Also phenotypic correlations were close to zero.

Assumptions and limitations of statistical modeling

Following the results of the present study, it can be stated that the applied repeatability model is also useful to estimate genetic parameters for disorders with low incidences, or for disorders that are only relevant early in lactation, e.g. retained placenta or metabolic disorders.

For verification of genetic parameters for such traits that are characterized by a limited number of treatments in the middle and in the end of lactation, a relatively simple univariate lactation model was applied. Fixed effects were the same compared to the repeatability model, but without modelling a random permanent environment component. Only the first 100 d after calving were considered. If the respective disorder appeared, the cow was scored with a '1', and otherwise with a '0'. Heritabilities were in line with estimates from the univariate repeatability model: 0.04 for the category 'female fertility', 0.01 for the sub-category 'uterus', 0.04 for puerperal disorders, 0.05 for retained placenta, and 0.05 for endometritis.

Alternative models for such type of data from on-farm management software have been suggested by Zwald et al. (2006), who divided the lactation in several segments as a base for a multi-trait model. A similar, multivariate model was also applied by Heringstad et al. (2004). Further extensions could be the application of random regression models for binary traits as done by Tsuruta et al. (2009) for conception rate. However, such sophisticated modelling that allows a variation of genetic parameters over DIM implies the availability of a substantially larger dataset compared to the data used in the present study.

CONCLUSIONS

Contract herds for dairy cattle have been implemented in large-scale farms in Thuringia with the primary goal to record new functional health traits for genetic evaluation. The electronic recording database was developed in a way that both farmers and veterinarians can handle such a systems very easily. Based on reliable incidences and estimates of genetic parameters

for disorders as found in the present study, we recommend a general use of these data for official genetic evaluation. Heritabilities for health disorders were generally lower compared to estimates from previous studies conducted in Germany when data was obtained from research stations or planned experiments, but in line with comparable field studies from Scandinavia and Austria. We also found that grouping related diseases into disease categories not necessarily implies higher heritabilities or higher additive genetic variances, but a focus for practical applications should be on those traits or clusters of traits that are characterized by moderate incidences and which are relevant for dairy cattle farmers. Incidences, heritabilities, variances, and correlations from the present study are essential prerequisites for the next step, i.e. setting up the most appropriate breeding goal and the evaluation of breeding program designs.

REFERENCES

- Abdel-Azim, G., A.E. Freeman, M.E. Kehrli, Jr., S.C. Kelm, J. L. Burton, A. L. Kuck, and S. Schnell. 2005. Genetic basis and risk factors for infectious and noninfectious diseases in US Holsteins. I. Estimation of Genetic Parameters for Single Diseases and General Health. *J. Dairy Sci.* 88:1199–1207.
- Ali, A. K. A., and G. E. Shook. 1980. An optimum transformation for somatic cell concentration in milk. *J. Dairy Sci.* 63:487-490.
- Andrade, A. B. F, R. G. Silva, and A. J. Costa. 1998. Genetic and environmental aspects of the resistance of Zebu cattle to the tick *Boophilus microplus*, pp. 339-342 in Proc. 6th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod., Armidale, Australia, January 11-16.
- Bargo, F., L. D. Muller, J. E. Delahoy, and T. W. Cassidy. 2002. Performance of high producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 85:2948-2963.

- Brown, A.H., C. D. Steelman, Z. B. Johnson, C. F. Rosenkrans, and T. M. Brasuell. 1992. Estimates of repeatability and heritability of horn fly resistance in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 70:1375-1381.
- Burmester, J. 2005. Analyse von Daten aus dem Managementprogramm für Klauenpfleger mittels Schwellenwertmodellen. Msc-thesis Göttingen.
- Collard, B. L., P. J. Boettcher, J. C. M. Dekkers, D. Petitclerc, and L. R. Schaeffer. 1999. Relationships between energy balance and health traits of dairy cattle in early lactation. *J. Dairy Sci.* 83:2683-2690.
- De Haas, Y., H. W. Barkema, and R. F. Veerkamp. 2002. Genetic parameters of pathogen-specific incidence of clinical mastitis in dairy cows. *Anim. Sci.* 74:233-242.
- De Haas, Y., W. Ouweltjes, J. ten Napel, J. J. Windig, and G. de Jong. 2008. Alternative somatic cell count traits as mastitis indicators for genetic selection. *J. Dairy Sci.* 91: 2501-2511.
- Dempster, E. R., and I. M. Lerner. 1950. Heritability of threshold characters. *Genetics* 35:212-236.
- Feucker, W., and R. Staufenbiel. 2003. Zentraler Diagnoseschlüssel. http://www.portal-rind.de/index.php?module=Downloads&func=prep_hand_out&lid=17. Access 16.03.2010.
- Fleischer, P., M. Metzner, M. Beyerbach, M. Hoedemaker, and W. Klee. 2001. The relationship between milk yield and the incidence of some diseases in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:2025-2035.
- Frigo, E., C. D. Dechow, O. Pedron, and B. G. Cassell. 2010. The genetic relationship of body weight and early-lactation health disorders in two experimental herds. *J. Dairy Sci.* 93:1184–1192.
- Gernand, E., R. Waßmuth, U. U. v. Borstel, and S. König. 2007. Heterogeneity of variance components for production traits in large-scale dairy farms. *Livest. Sci.* 112:78-89.

- Gianola, D., and D. Sorensen. 2004. Quantitative genetic models for describing simultaneous and recursive relationships between phenotypes. *Genetics* 167:1407-1424.
- Harder, B., J. Bennewitz, D. Hinrichs, and E. Kalm. 2006. Genetic parameters for health traits and their relationship to different persistency traits in German Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89:3202-3212.
- Heringstad, B., G. Klemetsdal, and J. Ruane. 2000. Selection for mastitis resistance in dairy cattle—a review with focus on the situation in Nordic countries. *Livest. Prod. Sci.* 64:95-106.
- Heringstad, B., Y. M. Chang, D. Gianola, and G. Klemetsda. 2004. Multivariate threshold model analysis of clinical mastitis in multiparous Norwegian dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 87:3038-3046.
- Heringstad, B., Y. M. Chang, D. Gianola, and G. Klemetsdal. 2005. Genetic analyses of clinical mastitis, milk fever, ketosis, and retained placenta in three lactations of Norwegian Red cows. *J. Dairy Sci.* 88:3273-3281.
- Heringstad, B., G. Klemetsdal, and T. Steine. 2007. Selection responses for disease resistance in two selection experiments with Norwegian Red cows. *J. Dairy Sci.* 90:2419-2426.
- Hinrichs, D., E. Stamer, W. Junge, and E. Kalm. 2005. Genetic analyses of mastitis data using animal threshold models and genetic correlations with production traits. *J. Dairy Sci.* 88:2260-2268.
- Hooijer, G. A., R. B. F. Lubbers, B. J. Ducro, J. A. M. van Arendonk, L. M. T. E. Kaal-Lansbergen, and T. van der Lende. 2001. Genetic parameters for cystic ovarian disease in Dutch Black and White cattle. *J. Dairy Sci.* 84:286-291.
- Hufe, P. 2003. Ansätze zur Senkung von Remontierungsraten in einem Milchviehbetrieb. *Züchtungskunde* 75:472-478.
- Kehrli, M. E., and D. E. Shuster. 1994. Factors affecting milk somatic cells and their role in health of the bovine mammary gland. *J. Dairy Sci.* 72:1547-1556.

- Koeck, A., B. Heringstad, C. Egger-Danner, C. Fuerst, C., P. Winter, and B. Fuerst-Waltl. 2010a. Genetic analysis of clinical mastitis and somatic cell count traits in Austrian Fleckvieh cows. *J. Dairy Sci.* 93:5987-5995.
- Koeck, A., B. Heringstad, C. Egger-Danner, C. Fuerst, C., and B. Fuerst-Waltl. 2010b. Comparison of different models for genetic analysis of clinical mastitis in Austrian Fleckvieh dual-purpose cows. *J. Dairy Sci.* 93:4351-4358.
- König, S., A. R. Sharifi, H. Wentrot, D. Landmann, M. Eise, and H. Simianer. 2005a. Genetic parameters of claw and foot disorders estimated with logistic models. *J. Dairy Sci.* 88:3316-3325.
- König, S., G. Dietl, I. Raeder, and H. H. Swalve. 2005b. Genetic relationships for dairy performance between large-scale and small-scale farm conditions. *J. Dairy Sci.* 88:4087-4096.
- König, S., and H. H. Swalve. 2006. A model calculation on the prospects of an improvement of claw health in dairy cattle via genetic selection. *Züchtungskunde* 78:345-356.
- König, S., G. Hübner, R. Sharifi, E. Bohlsen, J. Detterer, H. Simianer, and W. Holtz. 2006. Relationship between somatic cell score and success of first inseminations in dairy cattle estimated with logistic models. *Züchtungskunde* 78:89-101.
- König, S., X. Wu, D. Gianola, B. Heringstad, and H. Simianer. 2008. Exploration of relationships between claw disorders and milk yield in Holstein cows via recursive linear and threshold Models. *J. Dairy Sci.* 81:395-406.
- Mark, T. 2004. Applied genetic evaluations for production and functional traits in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 87:2641-2652.
- Santos, J. E. P., R. L. Rainard, M. A. Ballou, G. E. Higginbotham, and J. E. Kirk. 2004. Effects of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 80:31-45.
- Schafberg, R., F. Rosner, and H. H. Swalve. 2006. Examinations on intramammary infections in dairy cows based on pathogen-specific data. 8th World Congr. on Genetics Applied

- to Livestock Production, August 13-18, 2006, Belo Horizonte, MG, Brasil, Article 15-13.
- Schalm O. W., and D. O. Noorlander. 1957. Experiments and observations leading to development of the California mastitis test. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 130:199–204.
- Schierenbeck, S., F. Reinhardt, R. Reents, H. Simianer, and S. König. 2011. Identification of informative cooperator herds for progeny testing based on yield deviations. *J. Dairy Sci.* 94:2071-2082.
- Schnyder, U., and C. Stricker. 2002. Genetic evaluation for female fertility in Switzerland. *Interbull Bulletin* 29: 138-141.
- Schrick, F. N., M. E. Hockett, A. M. Saxon, M. J. Lewis, H. H. Dowlen, and S. P. Oliver. 2001. Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *J. Dairy Sci.* 84:1407-1412
- Simianer H., and S. König. 2002. Ist Zucht auf Krankheitsresistenz erfolgreich? *Züchtungskunde* 74: 413-425.
- Tsuruta, S., I. Misztal, C. Huang, and T. J. Lawlor. 2009. Bivariate analysis of conception rates and test-day milk yields in Holsteins using a threshold-linear model with random regressions. *J. Dairy Sci.* 92: 2922-2930.
- Uribe, H.A., B.W. Kennedy, S.W. Martin, D.F. Kelton. 1995. Genetic Parameters for Common Health Disorders of Holstein Cows. *J. Dairy Sci.* 78: 421-430
- Van Tassell, C.P., and L.D. Van Vleck. 1995. A manual for use of MTGSAM.
- Windig, J. J., W. Ouweltjes, J. ten Napel., G. de Jong, R. F. Veerkamp, and Y. de Haas. 2010. Combining somatic cell count traits for optimal selection against mastitis. *J. Dairy Science* 93:1690-1701.
- Wolf, V., H. Hamann, H. Scholz, and O. Distl. 2001. Einflüsse auf das Auftreten von Labmagenverlagerungen bei Deutschen Holstein Kühen. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 108:403-408.

Zwald, N. R., K. A. Weigel, Y. M. Chang, R. D. Welper, and J. S. Clay. 2004. Genetic selection for health traits using producer recorded data. I. Incidence rates, heritability estimates, and sire breeding values. *J. Dairy Sci.* 87: 4278 - 4294.

Zwald, N. R., K. A. Weigel, Y. M. Chang, R. D. Welper, and J. S. Clay. 2006. Genetic analysis of clinical mastitis data from on-farm management software using threshold models. *J. Dairy Sci.* 89: 330-336.

Kapitel V

Einfluss einer antibiotischen Mastitisbehandlung auf tägliche Milchmengenleistungen bei Kühen der Rasse Holstein Friesian

(Manuscript prepared for submission to „Züchtungskunde“)

EINLEITUNG

In Anlehnung an Länder, im skandinavischen Raum oder auch an Österreich, wo die Erfassung von Gesundheitsmerkmalen und deren Auswertung für züchterische Zwecke und zur Verbesserung des Herdenmanagements bereits standardmäßig praktiziert wird, soll diesmal eine in partizipierenden Praxisbetrieben erfasste Erkrankung im Fokus einer veterinärmedizinisch ausgerichteten Untersuchung sein. Dieser Fokus richtet sich auf das Gesundheitsmerkmal "klinische Mastitis" mit dem Ziel, deren antibiotische oder homöopathische Behandlung als Einflussfaktor auf longitudinale Milchleistungsdaten zu analysieren. Die erwähnte Datenerfassung von Gesundheitsmerkmalen in den skandinavischen Ländern wird seit Mitte der 70er Jahre praktiziert und durch Zusammenarbeit der Tierärzte mit den Landwirten und den Zuchtorganisationen realisiert. Der in Deutschland bis Mitte der 90er Jahre auf die Produktionsmerkmale gerichtete züchterische Fokus hat einer konsequenten Implementierung von Gesundheitsdatenbanken in Milchkuhbetrieben entgegengewirkt. Die Gesunderhaltung der Tiere spiegelt zwar ein primäres Interesse milchkuhhaltender Betriebsleiter wieder (u.a. Rozzi et al, 2007), spielte aber züchterisch in Deutschland über Jahrzehnte hinweg eine untergeordnete Rolle. Selbst die Zucht auf funktionale Hilfsmerkmale, wie z.B. auf den somatischen Zellgehalt als Indikator für klinische Mastitis, ist durch realisierte Selektionsintensitäten und Selektionsdifferenziale charakterisiert, die unter den theoretischen Erwartungswerten liegen (König et al., 2007). Darauf haben auch Simianer und König (2002) in ihrer Studie zum Ländervergleich für Eutergesundheitsmerkmale basierend auf Daten der internationalen Zuchtwertschätzung hingewiesen.

Fakt ist, dass insbesondere in Deutschland ein enormer Kostendruck in der Milchproduktion dazu geführt hat, mittels kontinuierlicher Milchmengensteigerung das Einkommen milchkuhhaltender Betriebe zu sichern. Hohe Milchleistungen über einen langen Zeitraum können aber nur von gesunden Kühen realisiert werden. Darüber hinaus haben Gesundheitsmerkmale eine direkte ökonomische Komponente, die wesentlich die Wirtschaftlichkeit der Milchproduktion determiniert (Simianer und König, 2002). Jede Erkrankung, die eine Milchkuh durchleidet, bedeutet immer auch einen Milchmengen- und

damit ökonomischen Verlust für den Landwirt. Besondere Bedeutung hat in diesem Kontext die klinische Mastitis.

Der Gesamtmilchmengenverlust, der durch eine Mastitis entsteht liegt zwischen 300 kg - 850 kg in der aktuellen Laktation (Lührmann, 2007). Dieser Verlust wird maßgeblich mitbestimmt durch die Erkrankungsdauer und die Intervalle zwischen verschiedenen Erkrankungen. Je schneller eine Mastitis diagnostiziert und somit behandelt wird, desto schneller kann sie auch geheilt werden. Dadurch sinkt die Gesamterkrankungsdauer. Ein weiterer wichtiger Faktor dabei ist die effiziente Behandlung der Mastitis mit geeigneten Präparaten.

Detailanalysen zur Wirkung der Präparate implizieren longitudinale Datenstrukturen zur Anwendung des Präparates und zu dessen Wirkung. Eine offensichtliche und objektive Wirkung manifestiert sich über den Verlauf der täglichen Milchmengenmessungen. Die Besonderheit der vorliegenden Studie liegt somit darin, dass Datensätze mit täglichen Milchmengen für die Analyse zur Verfügung standen, während in vielen anderen Studien nur Milchmengen der monatlichen Testtage analysiert werden können. Ein Vergleich der täglichen Milchmengen vor dem Auftreten der Mastitis und nach der Behandlung sollen direkte Rückschlüsse zur Wirkung der genutzten Präparate liefern.

MATERIAL UND METHODEN

Daten

Das Datenmaterial der aktuellen Studie beinhaltet Messungen zur täglichen Milchleistung sowie Angaben zu Mastitisbehandlungen während der ersten drei Laktationen von Schwarzbunten Holsteinkühen, die in Testherden in neun Großbetrieben in Thüringen gehalten wurden. Die Daten wurden in den Jahren 2002 bis 2012 erfasst. Aus acht verschiedenen Medikamentenkategorien wurden einzelne Medikamentenwirkstoffe gebildet (siehe Tabelle 1), so dass 14276 Datensätze mit 5480 Erstbehandlungen je Laktation (siehe Tabelle 2) resultierten. Für eine Kontrollgruppe nicht an Mastitis erkrankter Tiere wurde ein mittleres Laktationsstadium (108 Tage in Milch) als „fiktiver Behandlungstag“ definiert. Die

täglichen Milchleistungen in einem Intervall bis zu 15 Tage vor und 15 Tage nach der Behandlung wurden analysiert.

Tabelle 1: Einteilung der Antibiotika nach Wirkstoffgruppen in Kategorien

Kategorie	Wirkstoffgruppe
01	Beta Laktam Antibiotika
03	Gyrase Hemmer
04	Aminoglykoside
05	Makrolide
07	Trimethoprim/ Sulfonamid
08	Aminoglykoside/ Beta Laktam Antibiotika
12	Homöopathika
16	Tetracykline
99	Kontrollgruppe unbehandelter Kühe

Tabelle 2: Tierzahlen innerhalb der einzelnen Medikamentenkategorien (Definition der Kategorien: siehe Tabelle)

Medikamentenkategorie	1	3	4	5	7	8	12	16	99	Σ
n	4119	152	60	252	24	813	11	49	8796	14276
%	28,9	1,1	0,4	1,8	0,2	5,7	0,1	0,3	61,6	100,0

Statistisches Modell

Der Einfluss der Medikamentenkategorie auf die tägliche Milchmenge in einem Zeitraum von 15 Tagen vor und nach der Behandlung wurde mit Hilfe der Prozedur Proc Mixed des Programmpakets SAS 9.2 (Institute, Cary, NC, USA) im gemischten linearen Modell geschätzt. Das statistische Modell für die Varianzanalyse lautet in Matrixnotation wie folgt:

$$y = Xb + e$$

mit dem Vektor der beobachteten Testtagsgemelke y , dem Vektor b mit der Inzidenzmatrix X für die fixen Effekte Laktationsstadium (9 Klassen mit 30-Tageintervall), Herde-Jahr-Saison, Laktation (1-3), Medikamentenkategorie (1, 3, 4, 5, 7, 8, 12, 16, 99; siehe Tabelle 1) und Melkfrequenz (2 oder 3). Vektor e ist der Vektor der zufälligen Resteffekte.

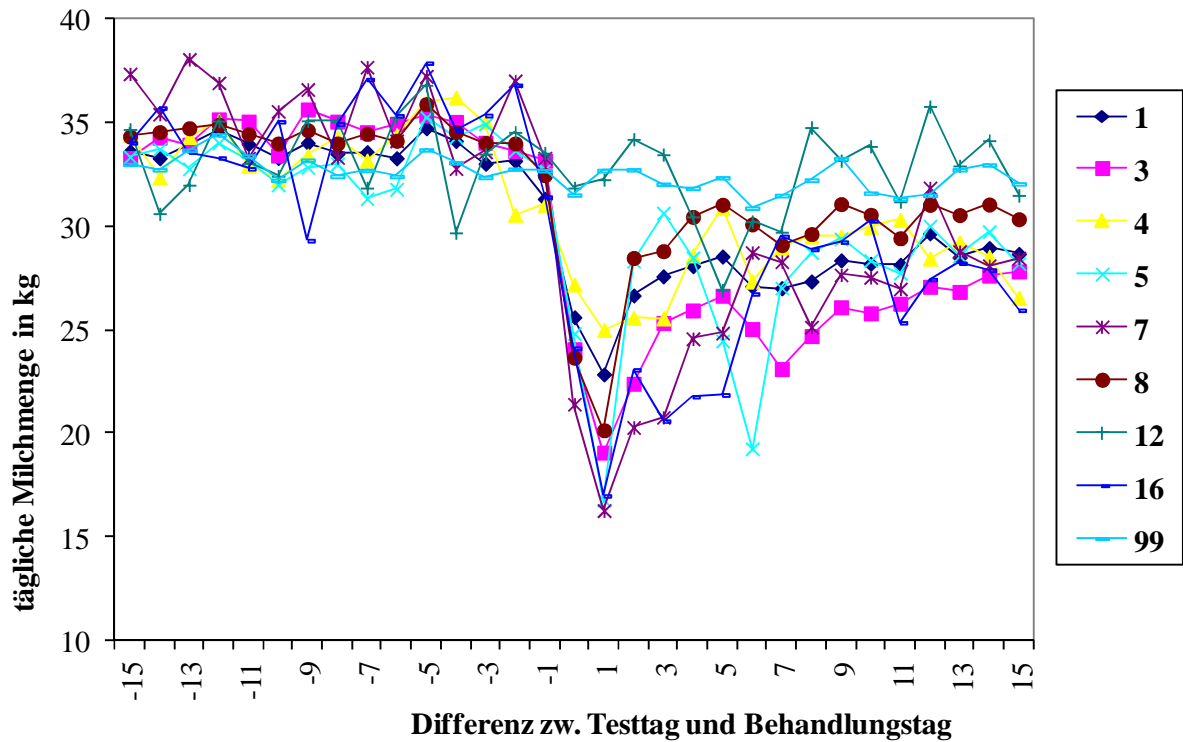
ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Verlauf der Milchleistung 15 Tage vor und nach der Behandlung

Deutlich in Abbildung 1 und den Tabellen 3 und 4 zu erkennen ist der Milchmengenrückgang, der für alle definierten Kategorien bereits einen Tag vor der Behandlung einsetzt. Vor der Behandlung liegt die tägliche Milchmenge im Mittel bei ca. 35 kg, direkt vor der Behandlung sinkt sie ab auf Werte ab um 20 kg. Einen Tag nach der Behandlung ist ein weiterer Milchmengenrückgang zu erkennen. Erst am zweiten Tag nach der Behandlung beginnt die Milchleistung wieder zu steigen. Insgesamt erreichen die Leistungen im Zeitraum von 15 Tagen nach der Behandlung aber nicht wieder ihr Ausgangsniveau. Ausnahme bildet hier die Gruppe der Homöopathika (Kategorie 12), welche am 12. Tag nach der Behandlung einen Milchleistungszuwachs von 1,1 kg zur Ausgangsmilchleistung 15 Tage vor der Behandlung verzeichnen kann. Insgesamt ist der Milchleistungsrückgang in der Gruppe der Homöopathika auch nicht so gravierend wie in den anderen Kategorien. Am Tag der Behandlung liegt die Milchleistung in allen behandelten Kategorien deutlich unter 30 kg (21,4 kg- 27,2 kg). In der Gruppe der Homöopathika wird am

Behandlungstag immer noch eine Milchleistung von 31,9 kg erreicht. Diese Leistung liegt sogar 0,4 kg über der Leistung der Kontrollgruppe der unbehandelten Kühe. Diese Ergebnisse sprechen dafür, dass die Homöopathika überwiegend in mildereren Fällen der Mastitis eingesetzt werden, wodurch auch die Prognose einer Behandlung besser ist. Dies zeigt auch eine Vergleichsstudie homöopathischer und antibiotischer bzw. Kombinationsbehandlungen von Mastitiden von Fidelak et al. (2007). In dieser Studie wurden bakterielle Mastitiserreger in „major“ and „minor pathogens“ unterteilt. In der Gruppe der „minor pathogens“ reichte meist eine homöopathische Behandlung der Mastitis aus, während in der Gruppe der „major pathogens“ antibiotische Behandlungen unabdingbar waren um adäquate Heilungsraten herbeizuführen. Im Gegensatz zu den Antibiotika wirken die Homöopathika auch nicht bakterizid oder bakteriostatisch nur auf einen bestimmten bakteriellen Erreger, sondern unterstützen die Selbstheilungskräfte des Organismus. Aus diesem Grund ist auch das Wirkspektrum der Homöopathika breiter und es kann seltener zu Fehlbehandlungen kommen, wie es zum Beispiel bei einem ungeeigneten Antibiotikum (Einsatz ohne Resistenztest) oder einem zu gering dosiertem Antibiotikum die Folge sein kann.

Der massivste Einbruch der Milchleistung wird in der Gruppe der Tetrazykline beobachtet. In dieser Gruppe sinkt die Milchleistung um 9,9 kg. Gerade dieser Wirkstoff wird aktuell aufgrund der zunehmend schlechter werdenden Resistenzlage diskutiert (Nam et al., 2009; Erskine et al., 2002; Sawant et al., 2007). Diese schlechte Resistenzlage kann auch in der vorliegenden Studie dazu geführt haben, dass die Milchleistung derart massiv einbricht. Dafür spricht auch, dass in der Gruppe der Tetrazykline auch 15 Tage nach der Behandlung noch die geringste Milchleistung aller Gruppen vorliegt.



1) 01= Beta Laktam Antibiotika, 03= Gyrase Hemmer, 04= Aminoglycoside, 05= Makrolide, 07= Trimethoprim/ Sulfonamid, 08= Aminoglycoside/ Beta Laktam Antibiotika, 12= Homöopathika, 16= Tetracycline, 99= Kontrollgruppe unbehandelter Kühe

Abb. 1: LSQ-Mittelwerte für tägliche Milchmenge im Zeitraum 15 Tage vor und nach der Behandlung von Mastitis für verschiedene Kategorien verabreichter Antibiotika

Tabelle 3: Tägliche Milchmengen im Zeitraum 15 Tage vor der Mastitisbehandlung

		Tage vor der Behandlung														
		-15	-14	-13	-12	-11	-10	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1
Medikamentenkategorien	1	33,6	33,3	33,9	34,7	34,0	33,3	34,0	33,5	33,6	33,3	34,8	34,1	33,0	33,2	31,3
	3	33,3	34,3	33,9	35,2	35,1	33,4	35,7	35,1	34,6	35,0	35,4	35,0	34,0	33,6	33,2
	4	34,4	32,4	34,3	35,1	32,9	32,2	33,4	34,3	33,2	34,4	36,0	36,2	35,1	30,6	31,0
	5	33,4	33,7	32,8	34,0	33,2	32,0	32,9	33,0	31,3	31,8	35,3	34,3	34,9	33,7	32,8
	7	37,4	35,4	38,1	36,9	33,3	35,6	36,6	33,3	37,7	34,1	37,3	32,8	33,6	37,0	33,3
	8	34,3	34,6	34,7	34,9	34,5	34,0	34,6	34,0	34,5	34,1	35,9	34,6	34,0	34,0	32,5
	12	34,7	30,6	32,0	35,1	33,1	32,4	35,1	35,1	31,9	35,3	36,8	29,7	33,5	34,6	33,5
	16	34,0	35,7	33,6	33,3	32,8	35,1	29,3	34,9	37,1	35,3	37,9	34,6	35,4	36,8	31,4
	99	33,0	32,7	33,7	34,4	33,4	32,2	33,2	32,4	32,7	32,4	33,7	33,1	32,4	32,8	32,7

¹⁾ 01= Beta Laktam Antibiotika, 03= Gyrase Hemmer, 04= Aminoglycoside, 05= Makrolide, 07= Trimethoprim/ Sulfonamid, 08= Aminoglycoside/ Beta Laktam Antibiotika, 12= Homöopathika, 16= Tetrazykline, 99= Kontrollgruppe unbehandelter Kühe

Tabelle 4: Tägliche Milchmengen am Behandlungstag und im Zeitraum 15 Tage nach der Behandlung für verschiedene Medikamentenkategorien zur Behandlung klinischer Mastitiden.

		Tage nach der Behandlung															
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Medikamentenkategorien	1	25,6	22,9	26,7	27,6	28,1	28,5	27,1	27,0	27,3	28,4	28,2	28,1	29,7	28,5	29,0	28,7
	3	24,1	19,1	22,4	25,3	25,9	26,6	25,0	23,1	24,7	26,1	25,8	26,3	27,1	26,8	27,6	27,8
	4	27,2	25,0	25,6	25,6	28,6	30,9	27,3	29,0	29,5	29,5	30,0	30,3	28,4	29,2	28,5	26,5
	5	24,8	16,8	28,3	30,6	28,5	24,5	19,3	27,0	28,7	29,4	28,3	27,7	30,0	28,6	29,8	28,2
	7	21,4	16,3	20,3	20,8	24,6	24,8	28,7	28,3	25,1	27,7	27,5	27,0	31,9	28,8	28,1	28,5
	8	23,7	20,2	28,5	28,8	30,5	31,0	30,1	29,1	29,6	31,1	30,6	29,4	31,0	30,5	31,1	30,4
	12	31,9	32,3	34,2	33,5	30,5	26,9	30,2	29,7	34,8	33,2	33,9	31,2	35,8	32,9	34,1	31,5
	16	24,1	17,0	23,1	20,6	21,8	21,9	26,7	29,5	28,9	29,2	30,3	25,3	27,4	28,2	27,9	25,9
	99	31,5	32,7	32,7	32,0	31,8	32,4	30,9	31,5	32,2	33,3	31,6	31,3	31,5	32,7	33,0	32,1

¹⁾ 01= Beta Laktam Antibiotika, 03= Gyrase Hemmer, 04= Aminoglycoside, 05= Makrolide, 07= Trimethoprim/ Sulfonamid, 08= Aminoglycoside/ Beta Laktam Antibiotika, 12= Homöopathika, 16= Tetracykline, 99= Kontrollgruppe un behandelter Kühe

Tag 15 vor und nach der Behandlung

Die Kontrollgruppe 99 stellt in diesem Zusammenhang den normalen laktationsbedingten Rückgang der Milchleistung dar. Dieser sinkt in der vorliegenden Studie um 0,6 kg von 32,7 kg auf 32,1 kg. In allen Behandlungskategorien ist der Milchleistungsrückgang wesentlich höher. Alle behandelten Kategorien starten am Tag 15 vor der Behandlung auch mit höheren Ausgangsleistungen als die unbehandelte Kontrollgruppe. Die höchste Ausgangsmilchleistung hat Kategorie 7 mit 37,4 kg. In dieser Kategorie findet auch gleichzeitig der größte Milchleistungsrückgang statt. Die Milchleistung sinkt im benannten Zeitraum um 8,9 kg. Der geringste Milchleistungsrückgang ist in der Kategorie der Homöopathika zu verzeichnen.

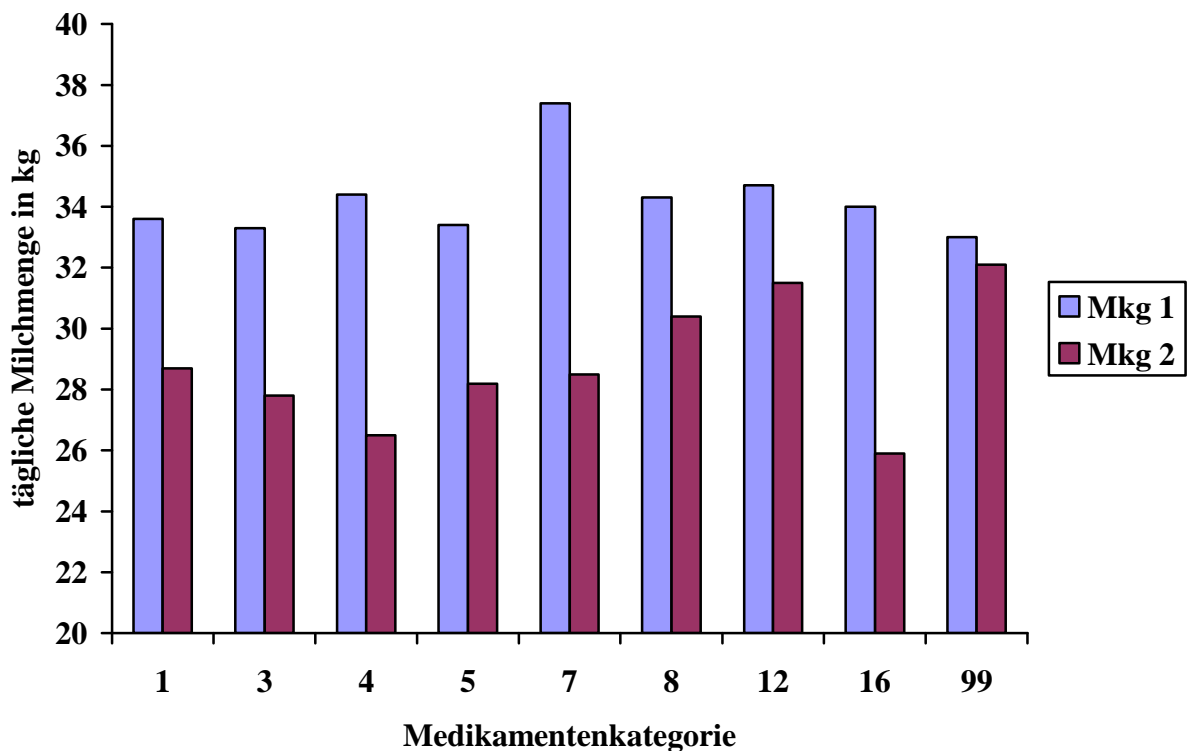


Abb. 2: LSQ-Mittelwerte für tägliche Milchmenge 15 Tage vor (Mkg1) und nach (Mkg2) der Mastitisbehandlung

Tag 10 vor und nach der Behandlung

In der Kontrollgruppe 99 geht die Milchleistung im benannten Zeitraum um 0,6 kg von 32,2 kg auf 31,6 kg zurück. Auch in diesem Zeitintervall geht die Milchleistung am massivsten in der Kategorie 7 zurück, von 35,6 kg auf 27,5 kg. In der Kategorie der Homöopathika steigt die Milchleistung sogar von 32,4 kg auf 33,9 kg an. Studien haben gezeigt, dass milde Infektionen mit gram- negativen Mastitiserregern schnell durch die kuheigene Abwehr eliminiert werden können- gelegentlich kommt es jedoch zu persistierenden Infektionen. In diesen Fällen ist die Homöopathie ein probates Mittel um die Immunabwehr der Kuh noch zusätzlich zu unterstützen (Erskine et al., 1992; Pyörälä et al., 1994).

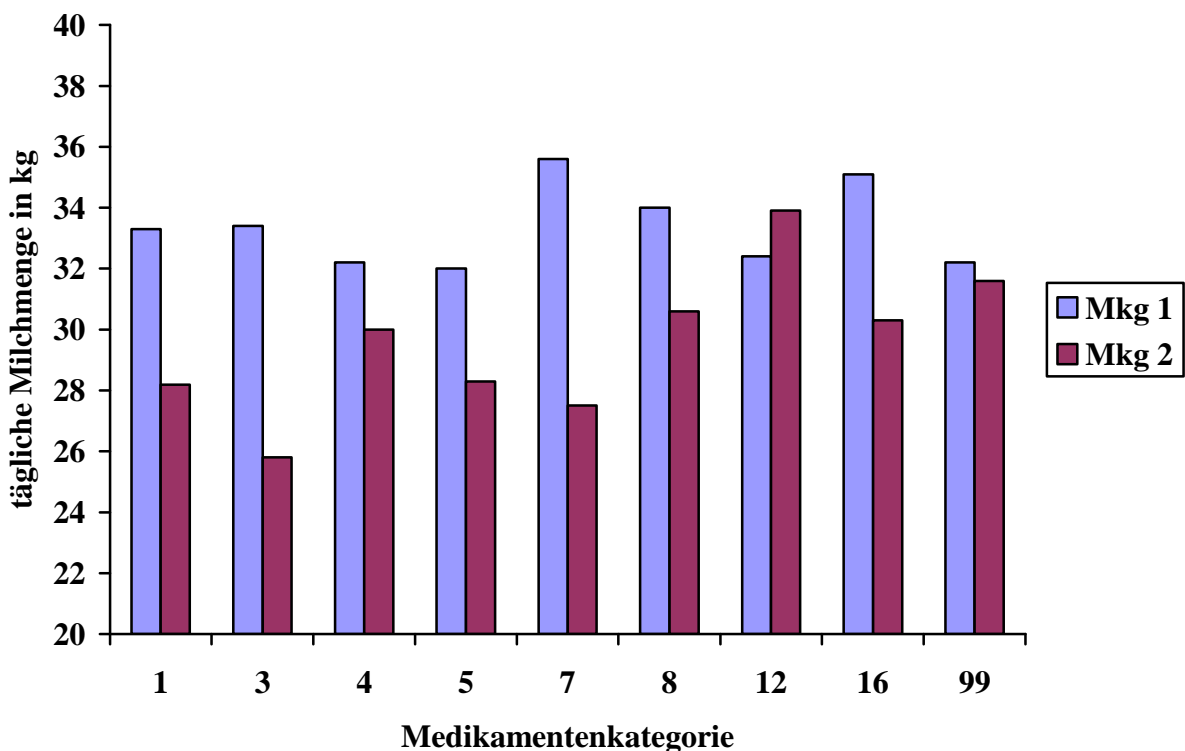


Abb. 3: LSQ-Mittelwerte für tägliche Milchmenge 10 Tage vor (Mkg1) und nach (Mkg2) der Mastitisbehandlung

Tag 5 vor und nach der Behandlung

In diesem Zeitintervall sinkt die Milchleistung in allen Kategorien. Der massivste Einbruch ist in der Kategorie 16 (Tetrazykline) zu verzeichnen. Der Milchmengenrückgang umfasst 16 kg (von 37,9 kg auf 21,9 kg). Verantwortlich für diesen massiven Einbruch könnte die Resistenzproblematik mit diesem Antibiotikum sein, welche schon besprochen und belegt wurde (siehe *Verlauf der Milchleistung 15 Tage vor und nach der Behandlung*).

In Kategorie 7 (Trimethoprim/ Sulfonamid) ist ebenfalls ein massiver Einbruch der Milchleistung zu erkennen. Eine Studie von A. Pitkälä (2004) zeigt deutlich, dass die Resistenzlage eines Antibiotikums zur Mastitisbehandlung maßgeblich vom vorhandenen Erreger abhängt. Trimethoprim/ Sulfonamid Kombinationen zeigten in dieser Studie Resistenzen gegenüber den Erregern in 0-1,8% der Fälle. Da in der vorliegenden Studie keine Angaben über Erregernachweise und Antibiogramme gemacht werden können, ist nicht auszuschließen, dass es sich im Falle der massiven Milchleistungseinbrüche um Behandlungen mit einem ungeeigneten Antibiotikum handelt.

Insgesamt ist anzumerken, dass in allen Kategorien der Milchleistungsrückgang in diesem Zeitintervall verglichen mit den beiden vorherigen Zeitintervallen am größten ist. In diesem Zusammenhang noch am unauffälligsten sind die beiden Medikamentenkategorien 1 und 8, welche beide Beta- Laktam Antibiotika enthalten. Eine Studie von Serieys et al. (2005) gibt die bakteriologischen Heilungsraten von Mastitiden nach Gabe von Penethamat parenteral mit 67 % und nach Gabe von Ampicillin/ Cloxacillin intramammär mit 56,7 % an. (alles Beta- Laktam Antibiotika). Salat et al. (2008) untersucht in einer Studie bakteriologische Heilungsraten nach Penethamatgabe. Die durchschnittliche Heilungsrate in dieser Studie liegt bei 59,5 % über alle untersuchten Erreger.

Enrofloxacin gehört zu Medikamentenkategorie 3. In dieser Kategorie kann man auch 5 Tage nach erfolgter Behandlung noch einen deutlichen Milchmengenverlust

verzeichnen. In einer Studie von Suojala (2010) wird die klinische Heilungsrate nach Gabe von Enrofloxacin zwei Tage nach erfolgter Behandlung mit 8,1 % angegeben. Das heißt, dass ein wesentlicher Anteil der Kühe nach 2 Tagen noch keine klinische Heilung zeigt. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie.

In einer Studie von McDougall et al. (2007) wurden die Wirksamkeiten von Tylosin (Kat. 5, Makrolid Antibiotikum) und Penethamat (Kat. 1; Beta- Laktam Antibiotikum) gegenüber den mastitisrelevanten Erregern miteinander verglichen. In diesem Vergleich schnitt Tylosin mit einer durchschnittlichen bakteriologischen Heilungsrate von 83,8 % knapp besser ab als Penethamat, welches eine bakteriologische Heilungsrate von 81,2 % über alle Erreger erzielte. Diese Studie ist mit den vorherigen allerdings nur bedingt vergleichbar, da die Berechnung der bakteriologischen Heilungsrate sich auf den 21. Tag nach der Behandlung bezieht, während die anderen Vergleichsstudien zwei Tage nach der Behandlung eine Berechnung der Heilungsrate erfolgte. Im 21- Tage Zeitraum kann es auch ohne Behandlung schon zu einer Besserung der klinischen Symptome gekommen sein. Dies zeigt Suojala (2010)- 21 Tage nach Auftreten einer Mastitis sind in dieser Studie 57,1 % der Kühe ohne Behandlung klinisch geheilt

In der vorliegenden Studie ist 5 Tage vor und 5 Tage nach der Behandlung Penethamat bezüglich der Milchleistung im Vorteil gegenüber Tylosin, da nach Penethamatgabe schon eher höhere Milchleistungen erzielt werden. Allerdings schwanken die Milchleistungen nach Tylosingabe auch stark (siehe Tabelle 4). Betrachtet man den gesamten Zeitraum, so fällt auf, dass am Tag 4 nach der Behandlung die Milchleistung in Medikamentenkategorie 5, wozu auch Tylosin gehört, schon bei 28,5 kg liegt; diese Leistung ist identisch mit der Leistung der Medikamentenkategorie 1, wozu Penethamat gehört, am Tag 5 nach der Behandlung.

In Kapitel VII der vorliegenden Arbeit (“Impact of antibiotic treatment of clinical mastitis on production and fertility traits in Brown Swiss dairy cattle”) wurde ebenfalls der Einfluß einer antibiotischen Behandlung auf Milchleistung und andere Merkmale an Braunvieh in der Schweiz untersucht. Insgesamt sind die

Milchleistungen des Braunviehs auch schon vor der Behandlung geringer. Demzufolge ist auch der Milchleistungsrückgang bei Auftreten einer Mastitis geringer. Die auffälligste Kategorie in diesem Zusammenhang ist Medikamentenkategorie 10 („Combination of Gyrase- inhibitors/ Beta- lactam antibiotics“), welche aber in der Auswertung dieser Studie nicht vorkommt. Ein nur geringer Milchleistungsrückgang ist in beiden Auswertungen in der Gruppe der Beta-Laktam Antibiotika zu verzeichnen, insofern passen die Ergebnisse zusammen. Ein direkter Vergleich der beiden Auswertungen kann aber nicht erfolgen, da in Kapitel VII jeweils die Testtage vor und nach einer Mastitisbehandlung ausgewertet wurden, ohne, dass genau bekannt ist, um wieviele Tage es sich handelt. In der aktuellen Auswertung hingegen, wurden explizit die Tage 5, 10 und 15 vor und nach einer Behandlung untersucht.

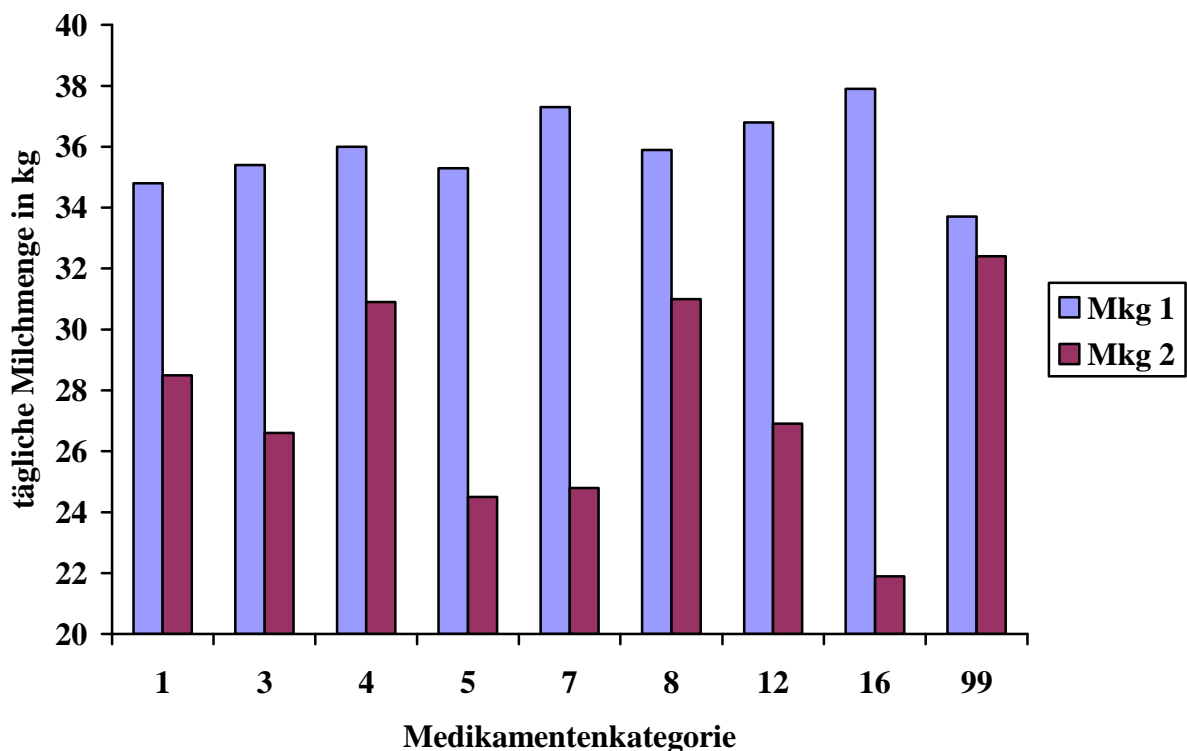


Abb. 4: LSQ-Mittelwerte für tägliche Milchmenge 5 Tage vor (Mkg1) und nach (Mkg2) der Mastitisbehandlung

SCHLUSSFOLGERUNG

Ein gegen den Mastitis auslösenden Erreger ungeeignetes Antibiotikum ist der Hauptgrund für das Fehlschlagen der antibiotischen Mastitistherapie (Sandholm et al., 1990). Aus diesem Grund ist das Vorliegen eines Antibiogramms für die Mastitisbehandlung essentiell. In der vorliegenden Studie kann keine Aussage über die Wirksamkeit der Antibiotika gemacht werden, da keine Antibiogramme zur Auswertung vorlagen.

Die Behandlung einer Mastitis sollte immer auf Grundlage eines Antibiogramms erfolgen, um ein geeignetes Antibiotikum für die Therapie einsetzen zu können.

Bei Einsatz eines ungeeigneten Antibiotikums kann es schnell zu einer Verschlimmerung der klinischen Symptomatik kommen, in der vorliegenden Studie wurde dies anhand massiver Milchleistungsrückgänge in den Kategorien ersichtlich.

Auch ohne Behandlung kommt es im Zeitverlauf der Mastitis in ca. der Hälfte der Fälle zu einer klinischen Heilung (Suojala, 2010).

LITERATUR

- Erskine, R. J., R. C. Wilson, M. G. Riddell, J. W. Tyler, H. J. Spears, and B. S. Davis (1992): Intramammary administration of gentamicinas treatment for experimentally induced *Escherichia coli* mastitis in cows. *Am. J. Vet. Res.* 53:375–381
- Erskine, R. J., R. D. Walker, C. A. Bolin, P. C. Bartlett, and D.G. White (2002): Trends in antibacterial susceptibility of mastitis pathogens during a seven-year period. *J. Dairy Sci.* 85:1111–1118.

- Fidelak, C, A. Reinecke, C. Merck, P. Klocke und J. Spranger (2007): Verminderter Einsatz von Antibiotika in der Therapie klinischer Mastitiden durch eine Erstbehandlung mit Homöopathika. 9. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau. Hohenheim
- König, S., S. Lessner, and H. Simianer. 2007. Application of controlling instruments for the improvement in cow sire selection. *J. Dairy Sci.* 90:1967-1980.
- Lührmann, B. (2007): Was kostet eine Mastitis. *Milchpraxis*; 45(2):48-52
- McDougall, S, K. E. Agnew, R. Cursons, X. X. Hou und C. R. W. Compton (2007): Parenteral Treatment of Clinical Mastitis with Tylosin Base or Penethamate Hydriodide in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 90:779–789
- Nam, H.M. S.K. Lim, H.M. Kang, J.M. Kim, J.S. Moon, K.C. Jang, J.M. Kim, Y.S. Joo, S.C. Jung (2009): Prevalence and antimicrobial susceptibility of gram-negative bacteria isolated from bovine mastitis between 2003 and 2008 in Korea
- Pitkälä, A., M. Haveri, S. Pyörälä, V. Myllys, and T. Honkanen-Buzalski (2004): Bovine Mastitis in Finland 2001—Prevalence, Distribution of Bacteria, and Antimicrobial Resistance. *J. Dairy Sci.* 87:2433–2441
- Pyörälä, S., L. Kaartinen, H. Käck, and V. Rainio (1994): Efficacy of two therapy regimens for treatment of experimentally induced *Escherichia coli* mastitis in cows. *J. Dairy Sci.* 77:453–461.
- Rozzi, P., F. Miglior, and K. J. Hand. 2007. A total merit selection index for Ontario organic dairy farmers. *J Dairy Sci.* 90:1584-1593.
- Salat, O, F. Serieys, B. Poutrel, L. Durel, and L. Goby (2008): Systemic Treatment of Subclinical Mastitis in Lactating Cows with Penethamate Hydriodide. *J. Dairy Sci.* 91:632–640

- Sandholm, M., L. Kaartinen, and S. Pyörälä (1990): Bovine mastitis— Why does antibiotic therapy not always work? An overview. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 13:248–260.
- Sawant, A. A., N. V. Hegde, B. A. Straley, S. C. Donaldson, C. L. Brenda, J. K. Stephen, and B. M. Jayarao (2007) Antimicrobialresistant enteric bacteria from dairy cattle. *Appl. Environ. Microbiol.* 73:156–163.
- Serieys, F, Y. Raguet, L. Goby, H. Schmidt, and G. Friton (2005): Comparative Efficacy of Local and Systemic Antibiotic Treatment in Lactating Cows with Clinical Mastitis. *J. Dairy Sci.* 88:93–99
- Simianer H., and S. König. 2002. Ist Zucht auf Krankheitsresistenz erfolgreich? *Züchtungskunde* 74: 413-425.
- Suojala, L, H. Simojoki, K. Mustonen, L. Kaartinen, und S. Pyörälä (2010): Efficacy of enrofloxacin in the treatment of naturally occurring acute clinical *Escherichia coli* mastitis. *J. Dairy Sci.* 93 :1960–1969

Kapitel VI

**Anwendung eines rekursiven Modells zur Erklärung
der Beziehungen zwischen klinischer Mastitis und
dem Produktionsmerkmal Milchleistung unter
Berücksichtigung von Medikamentenapplikationen**

EINLEITUNG

Diese Studie reflektiert sowohl methodisch als auch inhaltlich stark die Studie Rehbein et al. (2013) (siehe auch Kapitel VIII), welche an Schweizer Braunvieh in Low- Input Betrieben durchgeführt wurde. Die vorliegende Studie wurde, gegensätzlich zur o.g., an hochleistenden Kühen der Rasse Holstein Friesian durchgeführt. In beiden Studien findet sich die Besonderheit der täglichen Milchmengenerfassung wieder. Auf ausführliche relevante Literatur und die Diskussion dieser zu rekursiven Modellen wird in der vorliegenden Studie verzichtet, da dies bereits in der Studie zum Schweizer Braunvieh im Detail abgebildet wurde.

MATERIAL UND METHODEN

Daten

Das ausgewertete Datenmaterial umfasste tägliche Milchleistungen der ersten drei Laktationen von Schwarzbunten Holsteinkühen, sowie Angaben zu deren Mastitisbehandlungen. 14276 Datensätze, die sich aus 5480 Erstbehandlungen und 8796 unbehandelten Holstein Friesian Kühen (Kontrollgruppe) mit der Diagnose Mastitis zusammensetzten, resultierten aus diesem Datenmaterial. Die Daten stammten aus 9 Großbetrieben in Thüringen mit insgesamt 19870 Holstein Kühen. Die Datenerfassung erfolgte über einen Zeitraum von 3 Jahren. Die Kühe waren Töchter von insgesamt 1288 Vätern.

Behandelt wurden die Tiere mit Medikamenten aus insgesamt 8 Medikamentenkategorien (hiervon 7 Antibiotika- und 1 Homöopathika- Kategorie) (siehe auch Tabelle 1, Kapitel V).

Statistisches Modell

Angewendet wurden univariate rekursiv lineare Modelle und rekursive Schwellenwertmodelle. Die angewendeten Modelle erweitern insbesondere bestehende Schwellenwertmodelle (Gianola, 1982), wie sie bereits mit dem Fokus auf tierzüchterische

Analysen angewendet und evaluiert wurden. Analogien zur genetisch statistischen Modellierung finden sich bei König et al. (2008a) und Wu et al. (2008). Die methodischen Weiterentwicklungen sind detailliert in Kapitel VIII beschrieben (Rehbein et al., 2013). Die folgende Darstellung beschreibt das rekursive lineare Modell in Matrixschreibweise:

$$\begin{pmatrix} \Lambda \mathbf{y}_1 \\ \Lambda \mathbf{y}_2 \\ \dots \\ \Lambda \mathbf{y}_n \end{pmatrix} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}_h \mathbf{h} + \mathbf{Z}_s \mathbf{s} + \mathbf{e}$$

$\boldsymbol{\beta}$ ist der Vektor der fixen Effekte und beinhaltet die Effekte Laktationsnummer, Laktationsstadium und Medikamentenkategorie, die eingesetzt wurde um die klinische Mastitis zu behandeln; \mathbf{h} ist der Vektor der Herdeneffekte, Vektor \mathbf{s} ist der Vektor der Vatern effekte und \mathbf{e} sind die Resteffekte. \mathbf{X} , \mathbf{Z}_h und \mathbf{Z}_s sind die korrespondierenden Inzidenz Matrizen. Die Form der Matrix Λ in der vorliegenden Studie sah wie folgt aus:

$$\Lambda = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ -\lambda_{21} & 1 & 0 \\ 0 & -\lambda_{32} & 1 \end{bmatrix}$$

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Mittelwerte für die Milchleistung

Die Mittelwerte für die gemessenen Milchleistungen in der vorliegenden Studie liegen zwischen 35,4 kg und 35,9 kg vor und 32,5 bis 32,7 kg nach Auftreten der klinischen Mastitis (Tab.1). In der Studie von Rehbein et al. (2013) wurden Milchleistungen zwischen 28,12 kg vor und 25,57 kg nach Auftreten der Mastitis gemessen. Die Leistungen in der vorliegenden Studie sind also erwähnenswert höher. Der Milchleistungsrückgang lag bei durchschnittlich

3,0 kg. In der Studie nach Rehbein et al. (2013), lag der Milchleistungsrückgang bei 2,55 kg und damit niedriger. Allerdings war in dieser Studie die Milchleistung generell niedriger verglichen mit der hier vorliegenden, was mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die Effekte der Rasse und der Haltungsumwelt zurückzuführen ist. Die vorliegende Studie basiert auf Datenmaterial von intensiv geführten Großbetrieben aus den Neuen Bundesländern und Holstein Friesian Kühen, wohingegen die Studie Rehbein et al. (2013) auf Grundlage von Braunvieh haltenden "Low Input Betrieben" durchgeführt wurde. "Low Input Betriebe" heißt, dass der Kraftfuttereinsatz deutlich reduziert ist oder gänzlich auf Kraftfütterergänzung verzichtet wird. Diese Fütterungsstrategie hat sowohl Auswirkungen auf phänotypische Leistungsniveaus, aber auch auf die Schätzwerte genetischer Parameter (Yin et al., 2012). Vergleicht man den Milchleistungsrückgang der beiden Studien hingegen auf prozentualer Ebene und somit isoliert von etwaigen Skaleneffekten, so liegt dieser in beiden Studien bei ca. 9%. Hieraus kann geschlussfolgert werden, dass Kühe mit höherer Ausgangsmilchleistung, zumindest prozentual gesehen, keinen größeren Milchleistungsrückgang nach einer klinischen Mastitis zu verzeichnen haben als Kühe mit geringerer Milchleistung.

Tabelle 1. Mittelwerte des Produktionsmerkmals Milchleistung vor (Mkg_1) und nach (Mkg_2) Auftreten einer Mastitis (in kg)

Tage vor Auftreten der Mastitis/	Mkg_1	Mkg_2	Mkg_2 – Mkg_1
10/10	35,4	32,5	-2,9
10/ 20	35,4	32,7	-2,7
15/ 15	35,6	32,6	-3,0
20/ 10	35,9	32,5	-3,3
Durchschnitt	35,6	32,6	-3,0

Strukturelle Gleichungskoeffizienten für rekursive Effekte

Rekursive Effekte von Produktionsmerkmalen auf das Auftreten einer klinischen Mastitis und deren Effekt auf Produktionsmerkmale im weiteren Laktationsverlauf werden als Zahlenwert durch die strukturellen Gleichungskoeffizienten λ_{21} beziehungsweise λ_{32} wieder gegeben (Abb. 1).

Mkg_10	$\lambda_{21} = 0,0045$ (0,002) →	CM	$\lambda_{32} = 0,1266$ (0,1151) →	Mkg_10
Mkg_10	$\lambda_{21} = 0,0062$ (0,002) →	CM	$\lambda_{32} = 0,1611$ (0,1234) →	Mkg_20
Mkg_15	$\lambda_{21} = 0,0087$ (0,003) →	CM	$\lambda_{32} = 0,2518$ (0,0884) →	Mkg_15
Mkg_20	$\lambda_{21} = 0,0000$ (0,0016) →	CM	$\lambda_{32} = -0,0424$ (0,1323) →	Mkg_10

Abbildung 1. Posterior Mittelwerte und Standardabweichungen (in Klammern) der rekursiven Effekte λ_{21} und λ_{32} (Pfeile zeigen, dass Merkmal 2 durch Merkmal 1 beeinflusst wird = λ_{21} , und Merkmal 2 Merkmal 3 beeinflusst = λ_{32}); Mkg = Milchleistung vor bzw. nach Auftreten der Klinischen Mastitis (CM), jeweils mit Anzahl der Tage vor oder nach CM.

In der vorliegenden Studie wurde im Gegensatz zu Rehbein et al. (2013) als Produktionsmerkmal nur die Milchmenge zu verschiedenen Tagen vor und nach Auftreten einer klinischen Mastitis ausgewertet. Weitere Produktionsmerkmale wie Eiweißmenge oder auch Gehaltsmerkmale wurden in die Auswertung nicht einbezogen. In Analogie zu den Ergebnissen von Rehbein et al. (2013), sind auch in der vorliegenden Studie die strukturellen Gleichungskoeffizienten λ_{21} zwar positiv, aber annähernd nahe null. Im weiteren Laktationsverlauf zeigt der strukturelle Gleichungskoeffizient λ_{32} stark positive Effekte auf die Milchleistungen 10, 15 und 20 Tage nach Auftreten der Mastitis, wenn die Messung der vorangegangenen Milchleistung 10 oder 15 Tage vor Auftreten der klinischen Mastitis erfolgt ist. Eine Ausnahme bildet der strukturelle Gleichungskoeffizient λ_{32} für die Berechnungen von Mkg_20/ Mkg_10. In diesem Fall ist λ_{32} leicht negativ.

Genetische Parameter: Heritabilitäten

Die Heritabilitäten für das Produktionsmerkmal Milchleistung vor und nach Auftreten einer klinischen Mastitis lagen in einem engen Bereich zwischen 0,067 und 0,094. Die Abb. 2, 3, 4 und 5 zeigen die “posterior” Verteilungen der Erblichkeiten für Milchleistung. Generell scheint es so zu sein, dass die Heritabilitäten mit fortschreitender Laktation ansteigen, was gut an der Rechtsverschiebung der Verteilungskurve zu erkennen ist. Einzige Ausnahme in diesem Zusammenhang zeigt Abb. 3. Verglichen mit der Studie von Rehbein et. al (2013), in der die Erblichkeiten für die Milchleistungen vor und nach Auftreten einer klinischen Mastitis im doch recht weiten Bereich zwischen ca. 0,05 bis ca. 0,25 liegen, liegen die hier geschätzten Erblichkeiten auf recht einheitlichem Niveau, was auch durch die Lage der Verteilungskurven weiter illustriert wird.

Tabelle 2. Heritabilitäten für das Produktionsmerkmal Milchleistung vor (Mkg_1) und nach (Mkg_2) Auftreten einer Mastitis sowie für Klinische Mastitis (CM).

Tage vor Auftreten der Mastitis/ Tage nach Auftreten der Mastitis	Mkg_1	Mkg_2	CM
15/ 15	0,074	0,083	0,049
10/ 10	0,094	0,089	0,003
10/ 20	0,085	0,087	0,003
20/ 10	0,067	0,072	0,003

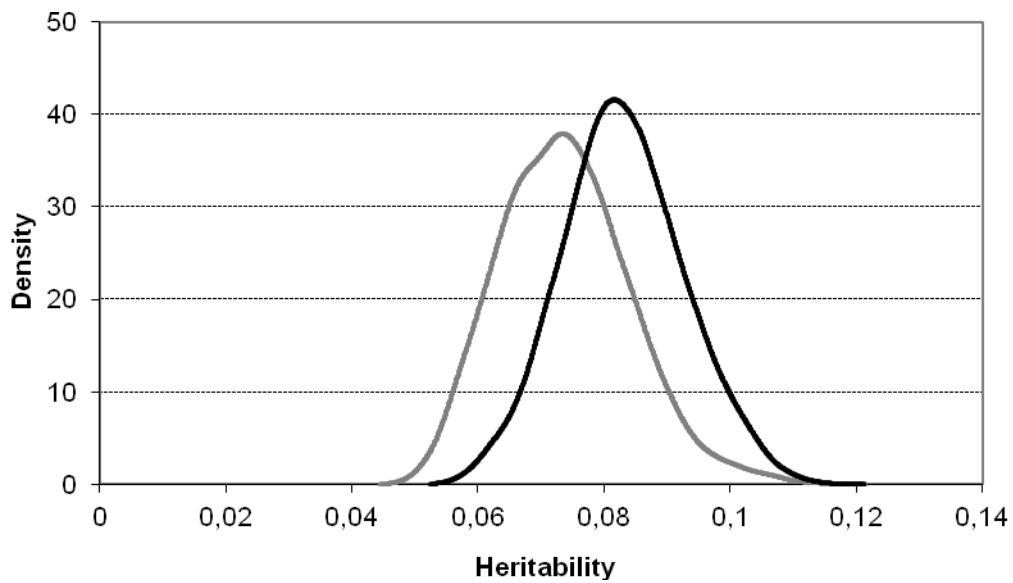


Abbildung 2. Posterior Erblichkeiten für Mkg 15 Tage vor Auftreten (graue Linie) und für Mkg 15 Tage nach Auftreten einer klinischen Mastitis (schwarze Linie).

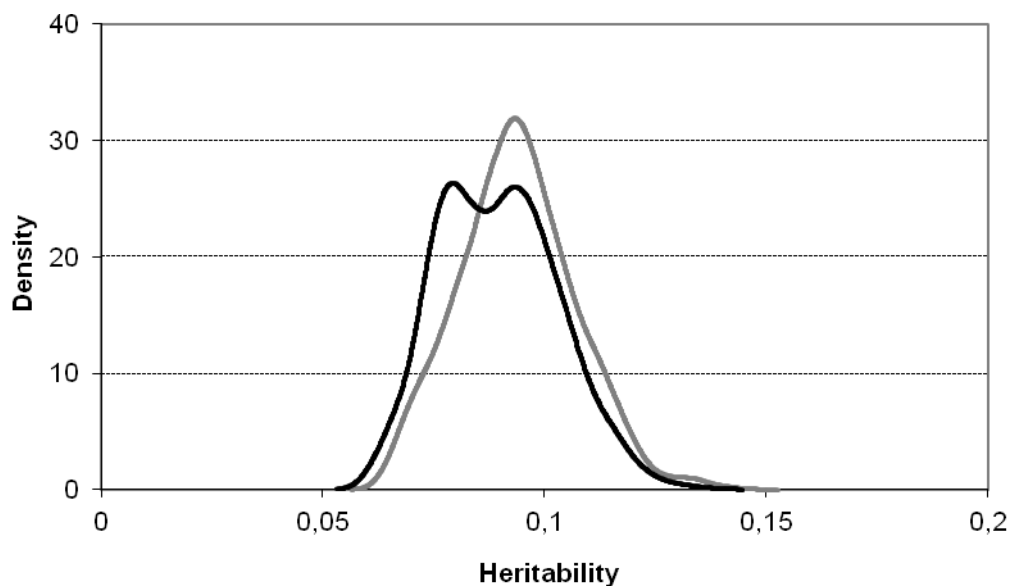


Abbildung 3. Posterior Erblichkeiten für Mkg 10 Tage vor Auftreten (graue Linie) und für Mkg 10 Tage nach Auftreten einer klinischen Mastitis (schwarze Linie).

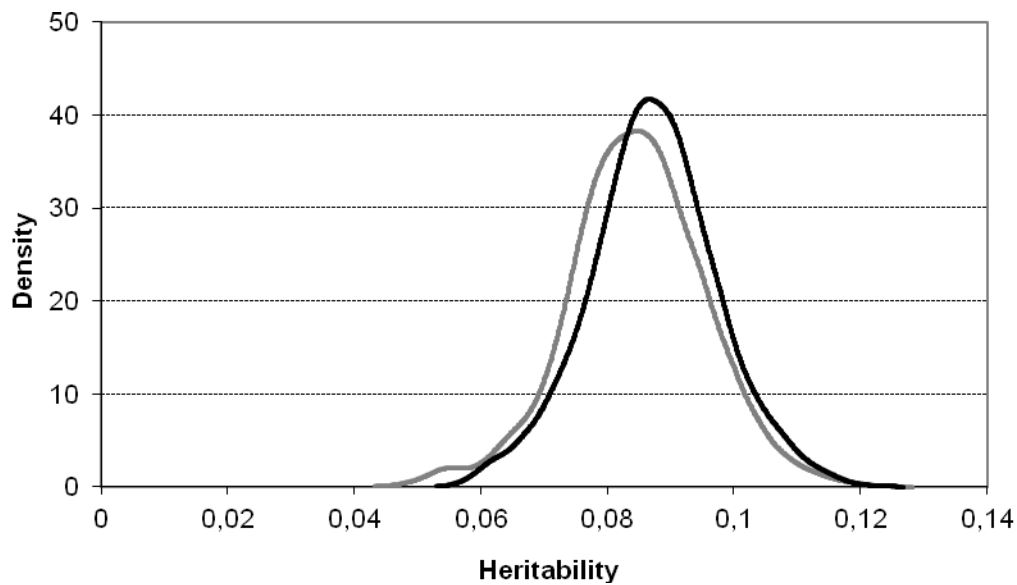


Abbildung 4. Posterior Erblichkeiten für Mkg 10 Tage vor Auftreten (graue Linie) und für Mkg 20 Tage nach Auftreten einer klinischen Mastitis (schwarze Linie).

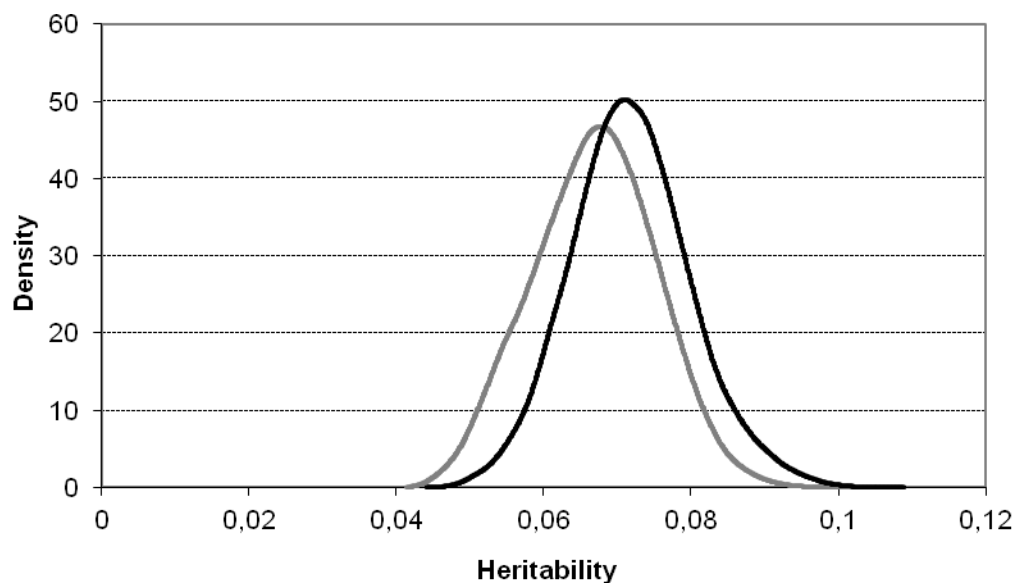


Abbildung 5. Posterior Erblichkeiten für Mkg 20 Tage vor Auftreten (graue Linie) und für Mkg 10 Tage nach Auftreten einer klinischen Mastitis (schwarze Linie).

Die Heritabilitäten für das Merkmal klinische Mastitis für die verschiedenen bivariaten Schätzläufe lagen im Bereich von 0,003 - 0,049. Die Abb. 6 zeigt die Verteilung der Erblichkeiten für klinische Mastitis. In der Studie von Rehbein et al. (2013) lagen die Heritabilitäten für klinische Mastitis im engeren Bereich zwischen 0,05 - 0,07. Somit kann gefolgert werden, dass die Rasse- und Fütterungsunterschiede scheinbar Einfluss ausüben auf die Tendenz der Schätzwerte genetischer Parameter.

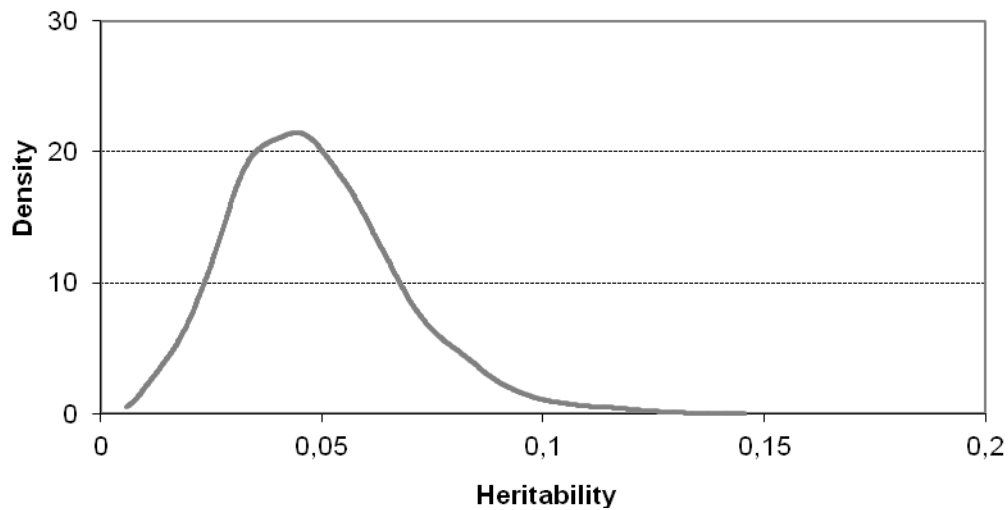


Abbildung 6. Posterior Erblichkeiten für klinische Mastitis (CM)

LITERATUR

Gianola, D., 1982. Theory and analysis of threshold characters. *J. Anim. Sci.* 54:1079-1096

König, S., Wu, X.-L., Gianola, D., Heringstad, B., Simianer, H., 2008a. Exploration of relationships between claw disorders and milk yield in Holstein cows via recursive linear and threshold models. *J. Dairy Sci.* 91, 395-406.

Rehbein, P., Brügemann, K., Yin T, V Borstel UK, Wu XL, König S, 2013.: Inferring relationships between clinical mastitis, productivity and fertility: A Recursive model application including genetics, farm associated herd management, and cow specific antibiotic treatments. *Prev. Vet. Med.* Vol. 112, pp 58-67.

Wu, X.-L., Heringstad, B., Gianola, D., 2008. Exploration of lagged relationships between mastitis and milk yield in dairy cows using a Bayesian structural equation Gaussian-threshold model. *Gen. Sel. Evol.* 40, 333-357.

Yin, T., Bapst, B., v. Borstel, U.U., Simianer, H., König, S., 2012. Genetic parameters for Gaussian and categorical in organic and low input dairy herds based on random regression methodology. *Livestock Sci.* 147, 159-169.

Kapitel VII

Impact of antibiotic treatment of clinical mastitis on production and fertility traits in Brown Swiss dairy cattle from low input production systems

(Manuscript prepared for submission to “Open Journal of Veterinary Medicine”)

ABSTRACT

Mastitis data of the years 2004- 2011 from Brown Swiss cows and additional data including cow specific antibiotic treatment were evaluated. Only the first treatment of mastitis within 305 days in milk (dim) was analyzed. The applied antibiotics were classified with regard to their active ingredients into 16 categories. After extraction of the most common antibiotics 7 categories remained. One category was used as control group (cat. 99) to reflect the lactation-related changes. The production data of the following traits was used for analysis: milk yield (Mkg), somatic cell score (SCS), fat percentage (F%), protein percentage (P%), lactose percentage (L%) and milk urea nitrogen (MUN).

In addition to the above mentioned test- day traits, the fertility trait 'Interval from calving to first service' (CTFS) was analyzed, because we hypothesized also an effect of the antibiotic treatment of mastitis on female fertility in the ongoing lactation. First inseminations between dim 20 and 200 were considered.

Milk yield loss after an antibiotic treatment was quite low. SCS increased after the application of antibiotic drugs and never reached the somatic cell score level of healthy cows again. The interpretation of effects on F %, P % and L % was quite difficult. In consequence of the Mkg decrease, there are natural concentration changes in milk. Furthermore, Mkg and percentage traits exhibit a natural antagonistic relationship on both the phenotypic and genetic scale. Values for MUN were quite high in the present study, but this seems to be due to several factors associated with feeding strategies, i.e. a limited input of concentrates (= lack of energy, especially in the "peak phase" of lactation. CTFS after antibiotic treatments was in the reference range as found for healthy cows. Cat. 14 (treatment with unknown antibiotics) revealed a shorter CTFS compared to the CTFS in the control group.

INTERPRETIVE SUMMARY

Mastitis treatment data of Brown Swiss cows was evaluated with the primary aim to analyze the success of antibiotic mastitis treatment. "Success" was defined as the production level and female fertility status in the ongoing lactation. The production traits Mkg, SCS, F %, P %, L % and MUN and additionally the fertility trait CTFS after occurrence of clinical mastitis (CM) were investigated. Antibiotic treatment is an effective tool to treat clinical mastitis and to avoid great economic losses in the following of clinical mastitis.

INTRODUCTION

Mastitis is a multi-factorial disease determined by environmental impact (e.g. general herd management) and cow associated effects. Cow associated effects with impact on susceptibility to clinical mastitis include a direct genetic component with a low to moderate heritability (Hansen et al. (2002), Carlen et al. (2004), Abdel-Azim et al. (2005), Zwald et al. (2006)) and further risk factors mainly reflecting metabolic stress during the peak phase of lactation. Metabolic stress occurs when energy intake does not match the energy requirement: A well-known problem of increasing relevance in dairy cow populations characterized by a high production level. In causality, especially high test-day milk yield in the first third of lactation might be associated with an increasing risk of infections, and resulting in higher incidences for CM. In turn, diseased cows react with a substantially reduction in milk production in the ongoing lactation. Furthermore, relationships between CM and functional traits were reported. Those relationships include impaired female fertility due to specific major pathogens, and detrimental impact on metabolism and dairy cow physiology (Gröhn et al., 2004).

In consequence, infections of the udder are associated with further undesired effects, but associations can be reduced by optimizing the antibiotic treatment. A detailed investigation of

the manifold interactions in "the process of clinical mastitis" imply the availability of a substantial database not only including the binary response of the disease, but additionally further traits of economic relevance (production and functional traits), environmental herd descriptors, and the used antibiotic treatment. Only a few European countries have implemented an electronically recording system for diseases in dairy cows.

In Scandinavia the health- recording system receives its data from three sources: Veterinary treatments, milk recording and artificial insemination (AI) records. Each case of treatment by a veterinarian is recorded on a cow health card. This information is stored on a special individual animal basis in a central data base. The central data base is used for example for genetic evaluation of health traits. Based on this national health- recording system in Scandinavia there already has been a successful selection experiment for mastitis resistance (Heringstad et al., 2000).

In Austria, a recording system for health traits according to a special diagnosis code is implemented since 2006 (Egger- Danner et al., 2007). The main intention is to use the data for genetic evaluations of dairy cattle health data. In April 2010, first breeding values for health traits were published for the breed Simmental (Koeck et al., 2010). But neither in Scandinavia nor in Austria, the recording system allows simultaneous recording of diseases combined with medical treatments and combined with the pedigree and phenotypic information of the cows at the same time.

Also in Germany, currently there is no routine electronically recording system for both type of data, i.e. health traits and treatments. First, such type of data only was recorded with the aim of scientific studies. For example, in a preliminary analysis, Rehbein et al. (2013) focussed on statistical modeling and quantitative genetics aspects. Referring to the same dataset, the main focus in the present study is an evaluation of antibiotic treatments on a "pure" phenotypic scale by applying conventional mixed model theory. In detail, the impact of medical treatments of CM was studied for the following traits: Mkg, P %, F %, L % and MUN. Additionally the fertility trait CTFS was investigated. This second study seemed to be very useful since treatment of CM is the most frequent reason to use antibiotics in dairy cattle (Guterbock et al., 1993).

A stronger decrease of production levels or impaired female fertility after an antibiotic treatment compared to healthy cows can be interpreted as an indirect adverse drug reaction of an antibiotic treatment a broader sense. It was shown in several previous studies that CM and related indicator traits (e.g SCS) causes milk production losses on a test-day as well as on a lactation basis (e.g. Seegers et al., 2003), and also was associated with decreasing pregnancy rates (e.g. König et al., 2006). However, most of those previous studies only focused on these losses directly associated with CM (Wilson et al., 2004, Gröhn et al., 2004) while neglecting the impact or differences due to cow specific antibiotic treatments. The present study extends the scientific perspective and investigates production losses from the background of different antibiotic applications. Furthermore, the study will evaluate efficiency of specific antibiotic treatments, i.e. if a specific treatment is an effective method to return to regular lactation performance level more quickly compared to other treatments or defined control groups.

MATERIALS AND METHODS

Data

Data of the health trait clinical mastitis was available from the years 2004 to 2011 from Brown Swiss dairy cows kept in low input or organic herds in Switzerland. Those herds have the duty to record treatments of clinical mastitis. Consequently, health data could be merged with production data, pedigree data, and cow specific antibiotic treatments. For the present study, we evaluated diagnosis and treatment data of 1,275 Brown Swiss cows kept in 46 small scale organic farms mainly located in the alpine region of Switzerland. Clinical mastitis was defined as a binary trait on the information of the medical treatment application and the additional based on the entry “mastitis” from the herd management software of the farm. As an extreme treatment for one single disease, up to seven drugs were applied; therefore mixed categories including several treatments were defined (table 1).

Impact of antibiotic treatment of clinical mastitis on production and fertility traits
in Brown Swiss dairy cattle

Table 1. Classification of active ingredients into categories

Category	Active ingredient category	Active ingredients
01	Beta Lactam Antibiotics	<i>Benzylpenicillin,</i> <i>Amoxicillin,</i> <i>Ampicillin</i> <i>Cloxacillin</i> <i>Oxacillin</i>
05	Macrolide Antibiotics	<i>Tylosin</i> <i>Erythromcin</i>
08	Aminoglycosides / Beta lactam antibiotics	Combination of the following active ingredients <u>Aminoglycosides</u> <u>Beta Lactam AB</u> <i>Spectinomycin</i> <i>Benzylpenicillin,</i> <i>Kanamycin</i> <i>Amoxicillin,</i> <i>Gentamycin</i> <i>Ampicillin</i> <i>Neomycin</i> <i>Cloxacillin</i> <i>Oxacillin</i>
10	Gyrase- inhibitors/ Beta- lactam antibiotics	Combination of the following active ingredients <u>Gyrase inhibitors</u> <u>Beta Lactam AB</u> <i>Danofloxacin</i> <i>Benzylpenicillin,</i> <i>Marbofloxacin</i> <i>Amoxicillin,</i> <i>Enrofloxacin</i> <i>Ampicillin</i> <i>Cloxacillin</i> <i>Oxacillin</i>
12	Homeopathics	
14	Unknown antibiotic treatment	
99	Control group of untreated cows	

Impact of antibiotic treatment of clinical mastitis on production and fertility traits
in Brown Swiss dairy cattle

Only the first treatment within 305 days in milk (dim) was used for the present analysis. Monthly milk recordings for production traits (Mkg, F %, P % and SCS) and insemination data were merged with mastitis data in the following way: Production data before and subsequent to CM occurrence in the same lactation were defined as trait 1 and trait 2. Healthy cows yields received a “fictive treatment day” at 113 dim (= mean value for dim of diseased cows). The final dataset for production data comprised 3273 lactations. Average incidence of CM was 9.5%. With regard to female fertility, first inseminations between dim 20 and dim 200 were considered and merged with CM data. For the study of the impact of CM treatments on fertility traits, 2514 lactations were used. Average CM incidence in this dataset was 3.6%. Means for dim and average values for all traits for respective dim are summarized in tables 2 and 3.

Table 2. Mean values of days in milk (dim) before (dim1) and after (dim2) mastitis treatment and the number of treated cows in each category (N).

Category	Variable	N	Means
01	dim1	74	95.6
	dim2	74	129.7
05	dim1	14	76.0
	dim2	14	110.8
08	dim1	86	98.0
	dim2	86	132.5
10	dim1	10	93.0
	dim2	10	127.7
12	dim1	113	103.6
	dim2	113	137.8
14	dim1	13	76.2
	dim2	13	111.1
99	dim1	2963	95.2
	dim2	2963	129.8

Impact of antibiotic treatment of clinical mastitis on production and fertility traits
in Brown Swiss dairy cattle

Table 3. Mean values of test- day observations for milk- kg, SCS, fat %, protein %, milk urea nitrogen (MUN) and lactose % measured on closest test- days before (1) and after (2) treatment of mastitis cows (CM 1) and around a fictive treatment day 113 of healthy cows (CM 0)

CM	Trait	N	Mean	SD	Min	Max
0	Mkg 1	2962	25.0	5.2	9.3	51.0
	Mkg 2	2962	23.1	4.9	4.6	44.9
	SCS 1	2962	2.22	1.47	0.01	9.09
	SCS 2	2962	2.43	1.40	0.01	8.80
	F% 1	2962	3.85	0.58	1.76	8.44
	F% 2	2962	3.95	0.56	1.61	9.65
	P% 1	2962	3.28	0.26	2.49	4.76
	P% 2	2962	3.38	0.28	2.52	5.82
	MUN 1, mg/dl	2962	24.9	8.2	5.0	56.0
	MUN 2, mg/dl	2962	24.5	8.0	5.0	60.0
	L% 1	2962	4.88	0.18	3.58	5.46
	L% 2	2962	4.85	0.18	3.86	5.35
	1	Mkg 1	311	26.4	7.1	9.2
Mkg 2		311	24.7	7.0	8.1	43.9
SCS 1		311	4.20	2.16	0.01	9.64
SCS 2		311	3.83	1.96	0.01	9.34
F% 1		311	3.91	0.60	2.41	6.66
F% 2		311	3.88	0.70	2.05	8.57
P% 1		311	3.35	0.36	2.60	5.00
P% 2		311	3.35	0.32	2.60	4.55
MUN 1, mg/dl		311	23.4	9.0	5.0	54.0
MUN 2, mg/dl		311	23.5	8.8	5.0	60.0
L% 1		311	4.76	0.23	3.61	5.28
L% 2		311	4.77	0.21	3.79	5.34

Statistical models

A linear mixed model was applied to assess the impact of drug the category (= treatment of CM) on test-day records after the mastitis treatment as well as on success of first insemination (SFI) for subsequent inseminations. Additionally, analysis of test-day records before occurrence of CM was accomplished in order to identify specific treatment strategies in relation to e.g. production levels, and to assess the efficiency of a treatment. The procedure Proc Mixed as implemented in SAS 9.2 (Institute, Cary, NC, USA) was used for the statistical analyses. In matrix notation, the statistical model for production traits and time to first insemination was:

$$y = Xb + e$$

where y represents the vector of observed test-day data. Vector b with incidence matrix X included the fixed effects season of calving (Dec-Feb, Mar-May, Jun-Aug, Sep-Nov), lactation stage (9 classes with 30-days intervals), herd size class (< 60, 60-79, 80-119, \geq 120 observations), drug category (1, 5, 8, 10, 12, 14, 99) and lactation number (1-11). Vector e was the vector of random residual effects. For the fertility trait the fixed effects season and lactation stage were excluded and milk level (\leq 25 kg, 25-28.5 kg, 28.5-32 kg, > 32 kg) was included into the model. Significance of fixed effects for every trait is shown in table 4.

Impact of antibiotic treatment of clinical mastitis on production and fertility traits
in Brown Swiss dairy cattle

Table 4. Significance of fixed effects in the model

	Mkg		SCS		F%		P%		MUN mg/dl		L%		CTFS (d)
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	-
Lactation stage	***	***	***	+	***	***	***	***	+	n.s.	**	***	-
Herd size	***	***	***	***	***	*	***	***	***	*	***	***	***
Lactation no.	***	***	***	***	*	+	***	***	***	*	***	***	**
Calving season	***	***	**	**	***	***	***	***	***	***	***	***	-
Category	n.s.	+	***	***	n.s.	*	n.s.	n.s.	**	n.s.	***	n.s.	**
Milk level	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	***

: Effect significant with $p < 0.1$ (+), $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**) or $p < 0.001$ (); n.s.: not significant, -: effect not in the model

RESULTS AND DISCUSSION

To assess the influence of antibiotic mastitis treatment on productivity in the ongoing lactation, a comparison was made with the "natural" change of production traits (depicting a part of the lactation curve) from healthy cows (= cows from Cat. 99).

Milk yield

Results for Mkg are given in figure 1. For healthy cows (= Cat. 99), Mkg decreased from 24.6 kg on the dummy test-day 1 to 22.2 kg on the dummy test-day 2. This means a normal lactation- related decline in Mkg of 2.4 kg within a period of 34 days. In consequence of a CM, several studies revealed a substantial decline in Mkg, which did not return to the level of healthy cows (Bartlett et al., 1991). Even in our study, decreasing Mkg after occurrence of CM was observed, but the decrease was different for different treatments. The most obvious decline in Mkg was observed for cows treated with a combination of gyrase- inhibitors and beta- lactam antibiotics (= Cat. 10). The average Mkg for cows in this category was 26.6 kg before occurrence of CM, and decreased by 5.4 kg to 21.2 kg. A slight decline in Mkg was observed for treatments with macrolide antibiotics (= Cat. 5). In this category, Mkg only decreased from 23.3 kg to 23.2 kg. In the remaining categories, the decline in Mkg ranged between 0.8 kg and 4.4 kg per day. These results are comparable to other studies (Wilson et al., 2004, Gröhn et al., 2004). The average of daily Mkg loss in diseased cows which were not treated with antibiotics was 5.35 kg in a study of Shim et al. (2004). In the present study, the average of Mkg decline was lower. As a result, it can be stated that cow specific antibiotic treatments as applied in organic and low input farms were more efficient than treatments of CM in conventional farms. We showed the necessity of treatments, because when comparing to the literature (e.g. Shim et al., 2004), highest decline in Mkg was observed for non treated cows.

Somatic Cell Score (SCS)

The results for SCS for the two different test-days are given in figure 2. An increase of SCS from the thir week of lactation was reported by Hagnestam- Nielsen et al. (2009). Also SCS in the present study in the control group (Cat. 99) followed this pattern, i.e. an increase between test day 1 and test day 2. This result is also in line with the stuy by De Vliegher et al. (2004). Diseased cows (= all categories with treatments) showed higher SCS before the treatment of mastitis underlining the the close relationship of SCS and CM on the phenotypic scale. Hence, it is justified to use SCS as a "warning system" to cure CM at an early stage. For diseased cows, SCS at test-day one was higher than in the control group. The exception is Cat. 10

(combination of gyrase inhibitors and beta- lactam antibiotics). In this category, we found an extremely low SCS before mastitis treatment.

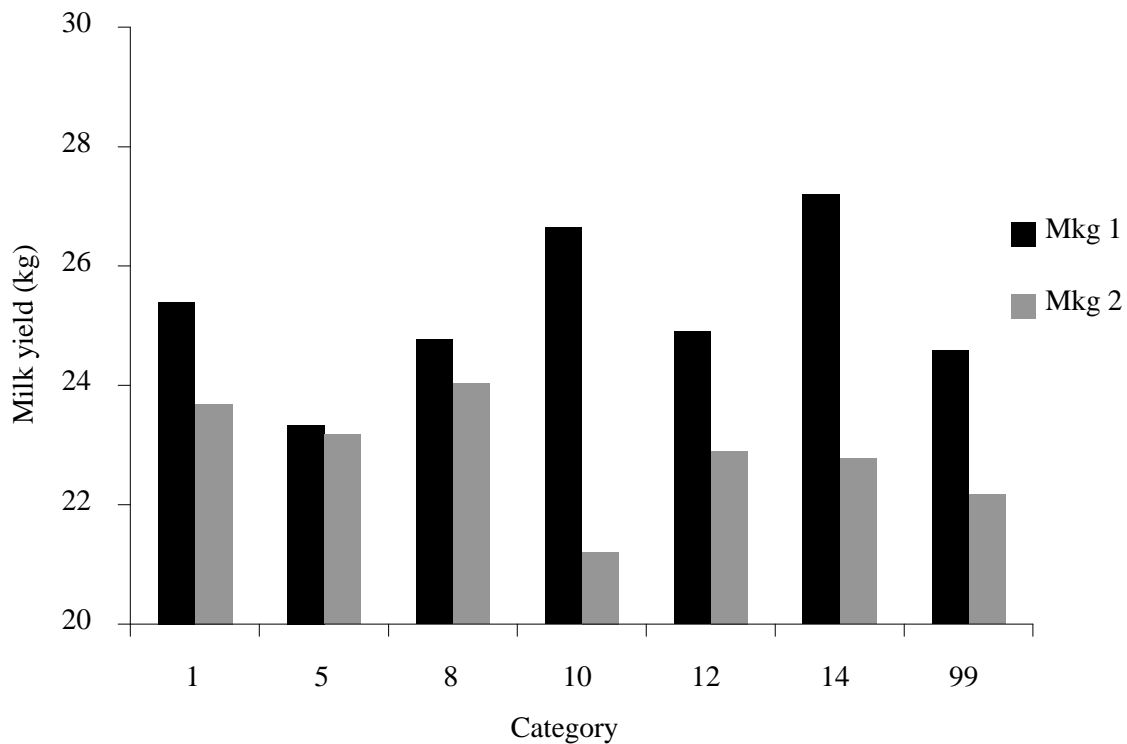


Figure 1. LSmeans for milk yield (kg) measured at the test- day before treatment of clinical mastitis (Mkg1), and measured at the test- day after treatment of clinical mastitis (Mkg2)

The success of antibiotic treatments is illustrated by decreasing SCS from test-day 1 to test-day 2. Exceptions are Cat. 10 (combination of gyrase inhibitors and beta- lactam antibiotics) and Cat. 12 (Homeopathics) (figure 2). Interestingly, in these two categories, SCS is higher after antibiotic treatment than before pointing to the inefficiencies of the applied ingredients.. . However, no treatment realized the SCS status of healthy cows. Interestingly, the application with Cat. 8 (a combination of beta- lactam antibiotics and aminoglycosides) achieved lower SCS than Cat. 1 (only beta lactam antibiotics). This result is based on a synergy effect. This synergy of beta- lactam antibiotics and aminoglycosides is also well known from recent

studies (Hooton et al., 1984). The highest decline of SCS after antibiotic treatment can be observed in Cat. 5. However, this is explainable by the very high SCS value before antibiotic mastitis treatment and an associated scaling effect. The SCS value after treatment is in the mean of the remaining SCS values.

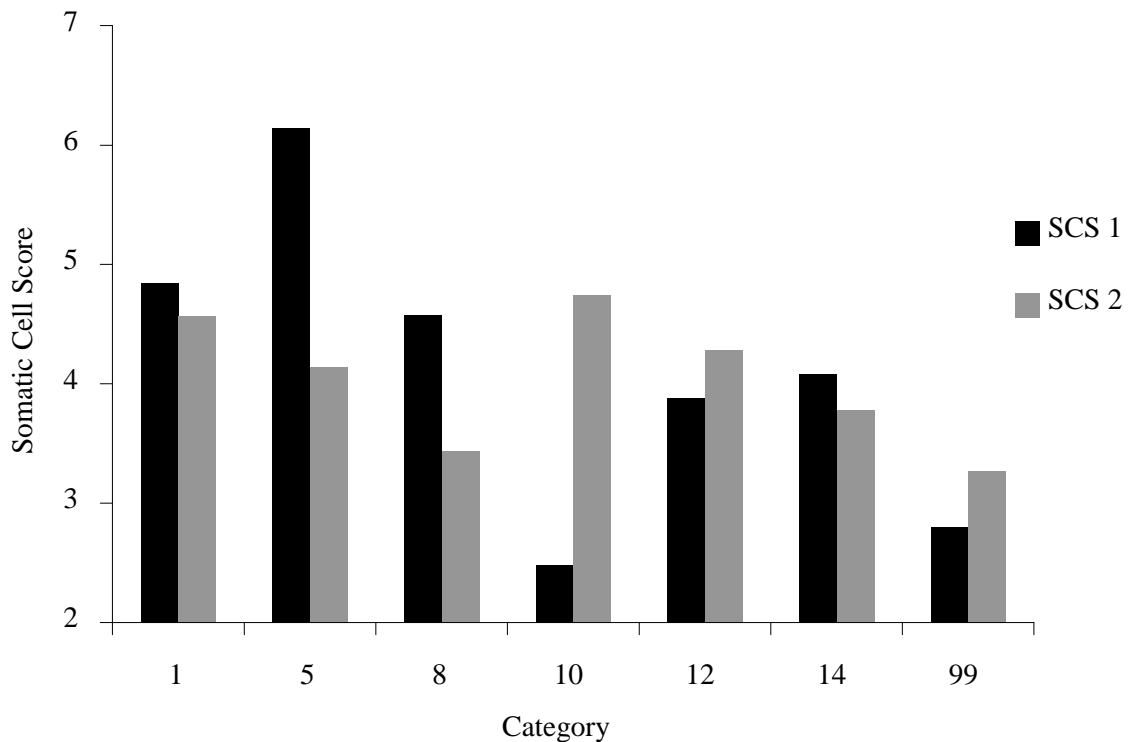


Figure 2. LSmeans for SCS before treatment (SCS1) and after treatment (SCS2)

Fat percentage (F%)

The impact of treatments on F% is given in figure 3. Generally, F% is higher directly after calving and at the end of lactation compared to the peak phase of lactation. For example, Stanton et al. (1992) observed a rapidly decrease of F% in the first 50 days of lactation to a level of 3.5%, which afterwards increased to 4.0 - 4.5 In the present study, such increasing F% in the course of lactation was observed in the control group (Cat. 99),(figure 3). However, we did not analyzed the first 50 days of lactation, which hamperes the evaluation for percentage traits directly after calving. Increasing F% for diseased cows is preassumably due

to the antagonistic relationships with milk yield. As stated above, a stronger decline for milk yield was observed in diseased cows compared to healthy cows, and consequently, the volume concentration changes (Pociecha, 1989).

We found a substantial variation of F% for the different treatment categories. F% 1 ranged between 3.8% - 4.0%, which is on a quite normal level. Of higher relevance is the development of F% after an antibiotic treatment. Actually, after successful treatment, we expect F% on a quite constant level, i.e. as realized at test-day 1. For categories 5, 8, 10 and 12, even an increase for F% was observed, while in categories 1 and 14, F % decreased by approximately 0.1 % after the treatment. In category 10, an extremely high value for F % 2 was observed. This might be attributed due to the extreme decline in milk yield in this category. Despite a reduced synthesis of milk fat in diseased cows, a strong decline in milk yield causes an increase of F%. Again, this explanation is a concentrating effect of reduced milk volume (Shuster et al., 1991).

Decreasing F% in categories 1 and 14 is explained by two theories. Firstly, it is possible that antibiotic mastitis treatment was not successful, and the CM was not fully cured. From a physiological perspective, mastitis is associated with decreasing synthesis of milk fat (Macmillan et al., 1983). However, when including results for SCS after antibiotic treatment to explain this phenomenon, we have to reject this theory. SCS decreases in both categories after the treatment; this is an appropriate indicator for successful mastitis treatment. The second theory based on adverse drug reactions in connection with the application of an antibiotic drug for mastitis treatment. As a result of this adverse reaction, F % decreased.

Impact of antibiotic treatment of clinical mastitis on production and fertility traits
in Brown Swiss dairy cattle

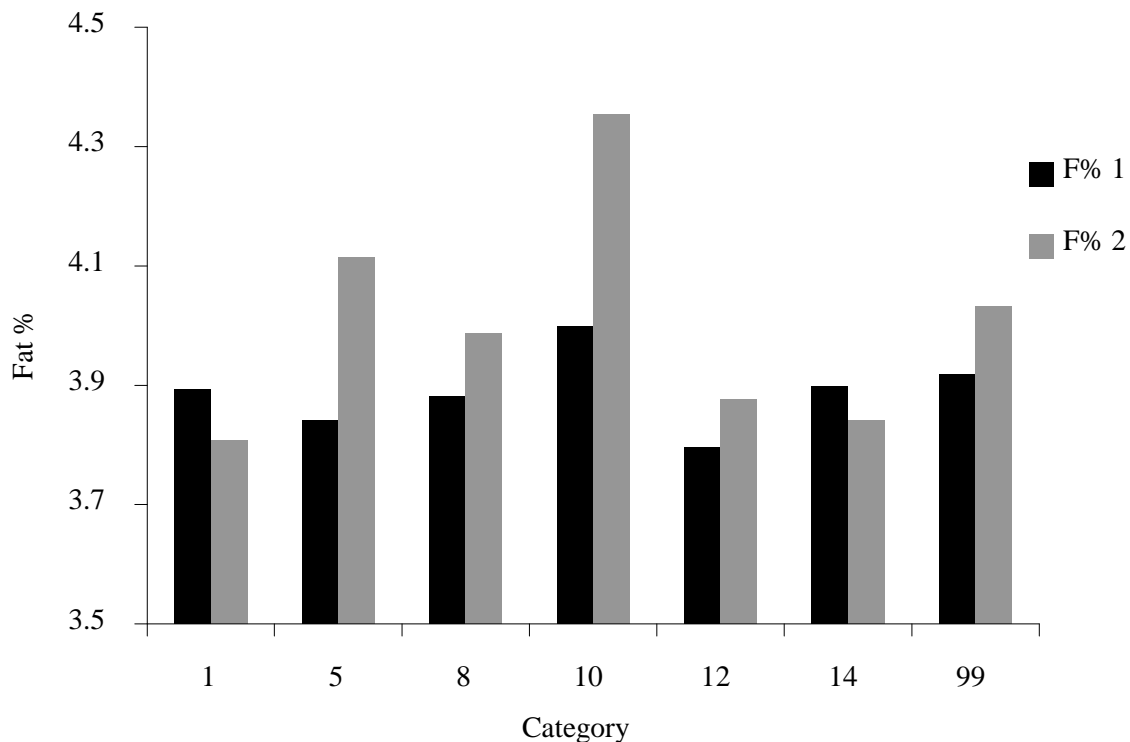


Figure 3. LSmeans for Fat % before treatment (F% 1) and after treatment (F% 2)

Protein percentage (P%)

The results for P% by categories are given in figure 4. The usual lactation curve for P% as described by Stanton et al. (1992) can be summarized as follows: At the beginning of lactation, P% is about 3.8%. In the first 30 days, P% decreases to values in the range of 3%. Subsequently, P% increases constantly to the end of lactation. Mean values averaging all test-days in the course of lactation are about 3.4%). As a result of mastitis, P% increases because of two reasons: On the one hand, there is an increased passage of proteins of the blood into the milk, and on the other hand as a result of milk yield decline, there are natural changes in the ratio of proteins to milk volume (Urech et al., 1999). McFadden et al. (1988) showed P% values close to 5% in milk of diseased cows. In the control group of the present study, the phenotypic trend of P% reflects the physiological background or expectations from a physiological perspective: P% increased in the course of lactation, and values for P% at test-

day 2 are in a narrow range close 3.4 %. In all treatment categories, an increase of P% from the test day before treatment to the test day after treatment was observed (figure 4). This is most obvious in Cat. 10. In this category, P% 2 is 3.5%. Hence, this is the highest value for P% when comparing all categories. However, this high value is, as well as the high value of F% in this category, due to the the strong milk yield decline which causes concentration changes in milk contents. In consequence, percentages of milk contents are higher than in a larger volume. Additionally, in Cat. 5 and in Cat. 14, P% 2 is higher than in the control group. Also the limited no. of observations within these categories has to be taken into account for interpretation of results (table 2).

For all treatment categories, P% 1 is lower than in the control group. Hence, the beginning of a CM diseases also was associated with decreasing P%. P% 2 did not deviate significantly from the results as realized in the control group.

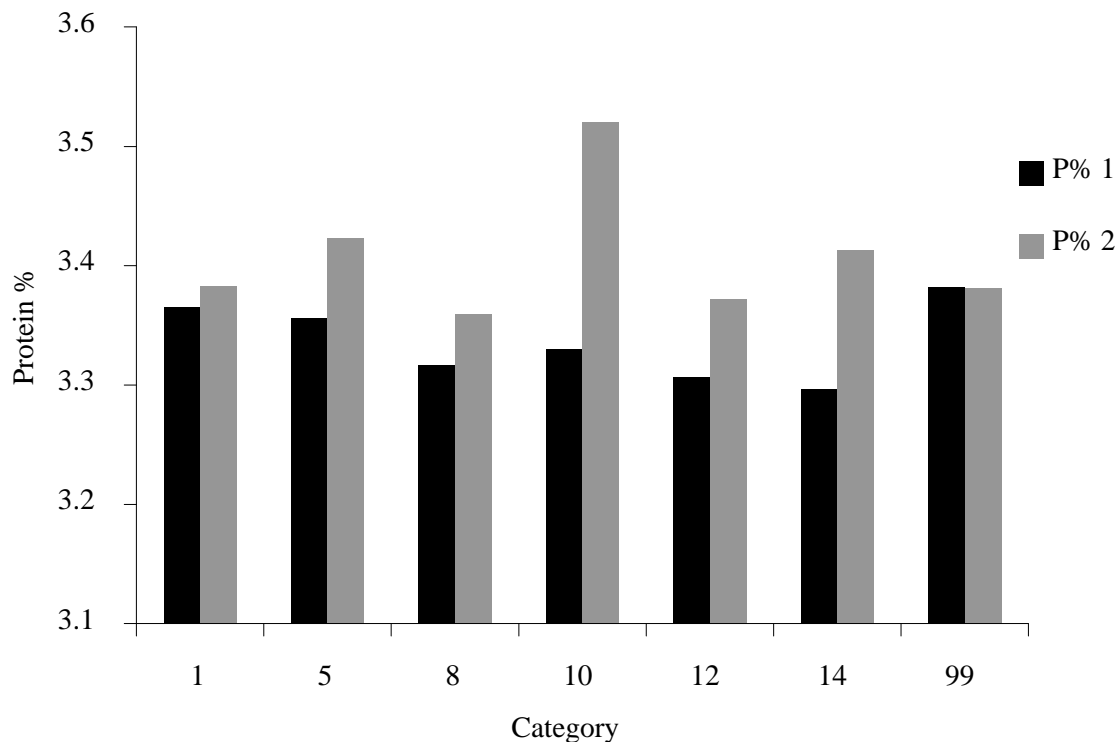


Figure 4. LSmeans for Protein % before treatment (P% 1) and after treatment (P% 2)

Milk urea nitrogen (MUN)

The results for MUN for both test-days are given in figure 5. The reference values for MUN are considered to be within the range from 10- 15 mg/ dl (Carlsson and Pehrson, 1994; Moore and Varga, 1996). Other studies show even closer values in the range from 12- 13 mg/ dl (Wood et al., 2003; Mitchell et al., 2005), or even very high values in the range from 20- 22 mg/ dl (Stoop et al., 2007; Butler et al., 1996). All these studies revealed the great variability for MUN that depends on several factors. Feeding is the main influence factor for MUN but additionally the effects of season, lactation stage and milk yield have direct impact on MUN values. For high yield cows kept in intensive production systems, pronounced associations between F%, P%, SCC with MUN were shown (Rajala- Schultz and Saville, 2003)... Especially the effect of lactation stage was significantly associated with levels of MUN in previous studies. Wattiaux et al. (2005) showed decreasing MUN values in the first 30 days of lactation. In the following, MUN increased up to the day 250 of lactation, and afterwards decreased to the end of lactation. Stoop et al. (2007) described an increasing MUN approximately to day 120 within lactation; roughly at the same time when cows typically reach the peak phase of milk production. Subsequently, MUN values decreased steadily to the end of lactation (Stoop et al., 2007).

In the control group of the present study, the value for MUN 1 is 25 mg/ dl, and the value for MUN 2 is 25.5 mg/ dl (figure 5). These values are quite high in comparison to the above mentioned studies. One explanation is based on a breed effect, i.e. substantially higher values for the breed Brown Swiss. Wattiaux et al. (2005) showed values for MUN with a maximum of 22 mg/ dl, which are quite high values in comparison to Holstein Friesian (HF) cows. High yielding Holstein Friesian cows only reached values about 15 mg/ dl (Rehbein et al., 2013). The second effect explaining high MUN values is due to the low input production system, which is characterized by a substantially lower intake of concentrates.. MUN values in the treatment categories revealed heterogeneous results. In Cat. 1, Cat. 5 and Cat. 14, the value for MUN 2 is lower than for MUN 1. Usually, in consequence of mastitis, MUN substantially decreases (Gutjahr et al., 1997). In contrast, least square means in Cat. 8, Cat. 10 and Cat. 12 showed increasing levels for MUN. No treatment category showed similar values as identified in the control group. Apart from Cat. 5, in all categories MUN 1 is lower than in

the control group. Interestingly, the value for MUN 2 for all categories is lower compared to the value in Cat. 99.. With high probability, and having in mind the explanation for low MUN values in diseased cows, the treatments as applied in categories 8 and 10 were most successful, because MUN values increased from test-day 1 to test-day 2. Although treatments of Cat. 12 revealed higher values for MUN 2 compared to MUN 1, but on a generally low level. MUN 1 and MUN 2 are very low in general.

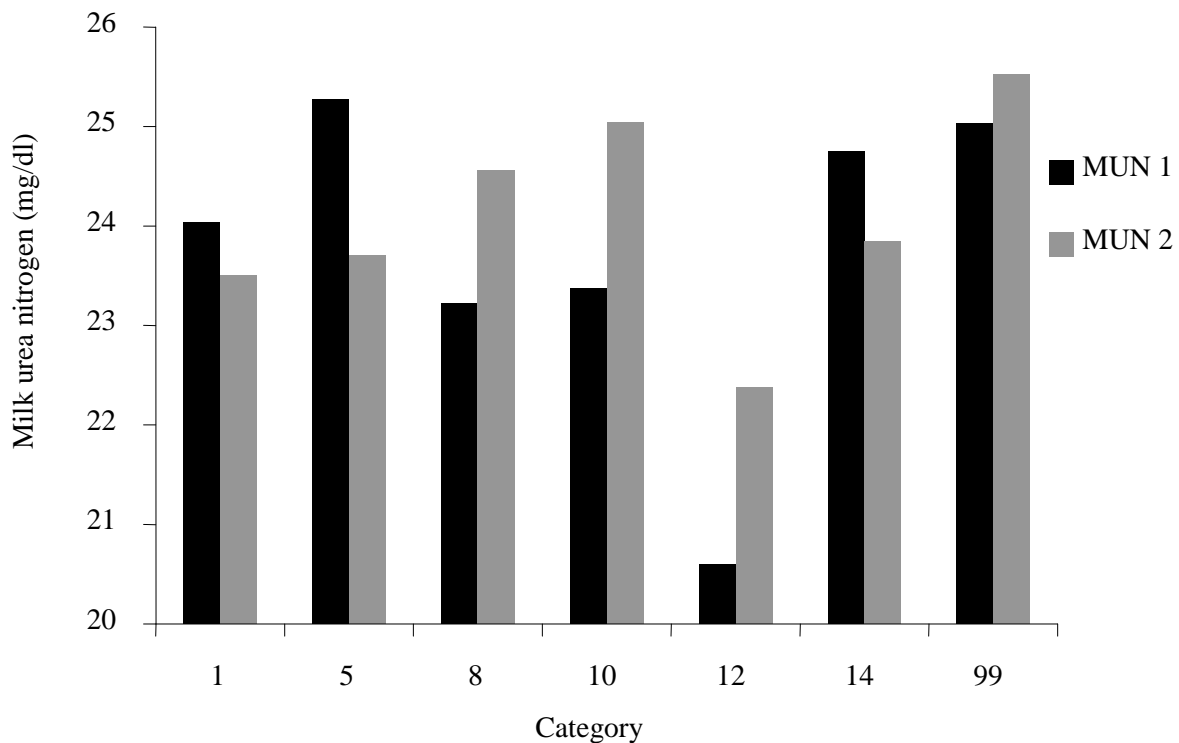


Figure. 5. LSmeans for Milk urea nitrogen (mg/dl) before treatment (MUN 1) and after treatment (MUN 2)

Lactose percentage (L%)

The pattern of L% on the phenotypic scale is described in detail by Miglior et al. (2006) for Canadian Holstein cows: From the calving date to dim 55, L% steadily increased up to maximal values about 4.8%. In the following, L% decreased constantly to the end of lactation and reaches values in a range of 4.6%. L% decreased by parity, and additionally decrease was

more pronounced of cows from parities 2 and 3 compared to cows in first lactation. In The present study, L% averaged to 4.8% in the control group. In the ongoing lactation, L% decreased to L%₂ = 4.7%. This results correspond to Miglior et al. (2006). In Cat. 8, Cat. 10, Cat. 12 and Cat. 14, a quite similar trend was observed. In Cat 10, the value for L%₂ is the lowest of all categories. Since the decrease of milk yield is very strong in this category, such a pronounced tendency was not expected. Due to the concentration changes, a similar trend as observed for F% or P% was also expected for L% for treatments of category 10. L% decreased, and simultaneously, also milk yield. From a physiological perspective, the antibiotic treatment in this category was not successful; additionally this is confirmed by the high value for SCS 2 in this category. Developments in Cat. 8, Cat. 12 and Cat. 14 are very similar to the control group. In Cat. 1 and Cat. 5, L% also increased from test-day 1 to test-day 2. i.e. L%₂ was in the usual range also after a treatment, but L%₁ is very low in these categories. Simultaneously, SCS 1 in these categories showed the highest value of all categories, and simultaneously, SCS decreased. Hence, SCS and L% are influencing each other. When SCS increased, L% decreased, and vice versa (Försbäck et al., 2010). It can be concluded that L%₁ is in such a low range, because SCS₁ is very high.

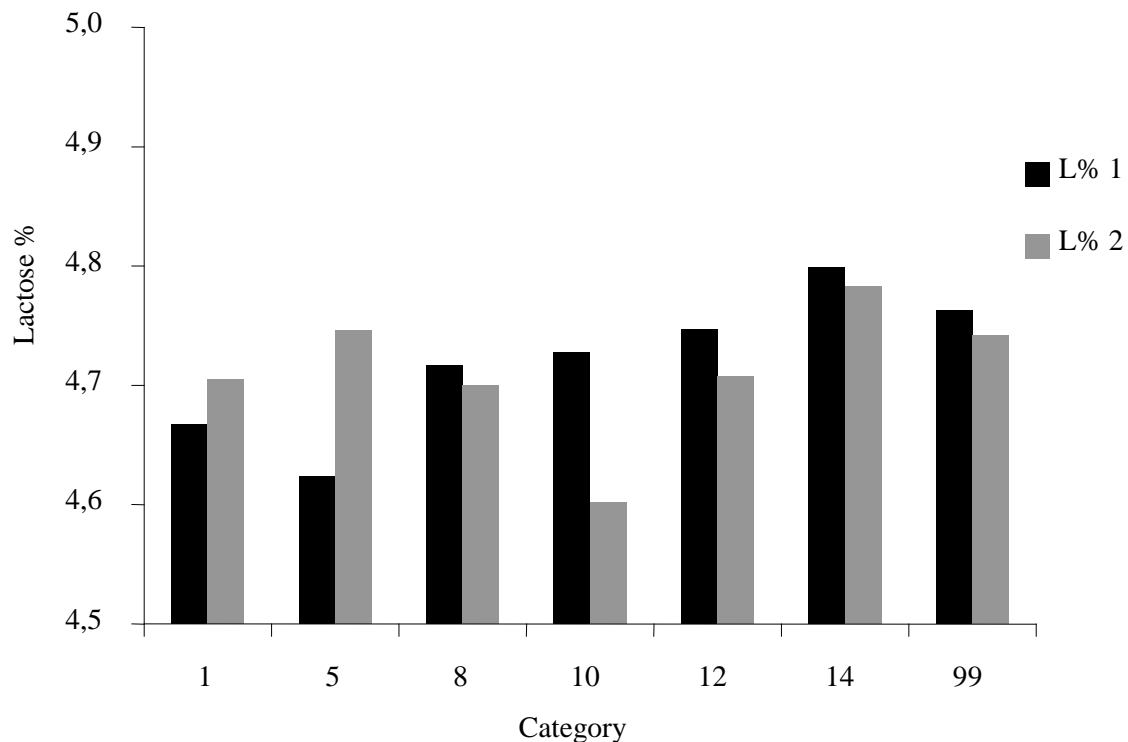


Figure 6. LSmeans for Lactose % before treatment (L% 1) and after treatment (L% 2)

Interval from calving to first service (CTFS)

According to de Kruif (1978), the interval from calving to first service should be in a range from 50 to 90 days. In the control group of the present study, the average CTFS is 71.7 days; hence, this result exactly fits in the above mentioned optimal time frame. In categories 1, categories 8 and category 12, CTFS is larger than in the control group, but generally not higher than 90 days. Category 8 shows the highest value for CTFS, but also an average value of 85.3 is acceptable, especially for cows with higher production level (König et al., 2008).. Diseased cows from category 14 had show lower values for CTFS than the control group; the average value in this category was 66.9 days, and consequently belongs to the range from 50 to 90 days.

Impact of antibiotic treatment of clinical mastitis on production and fertility traits
in Brown Swiss dairy cattle

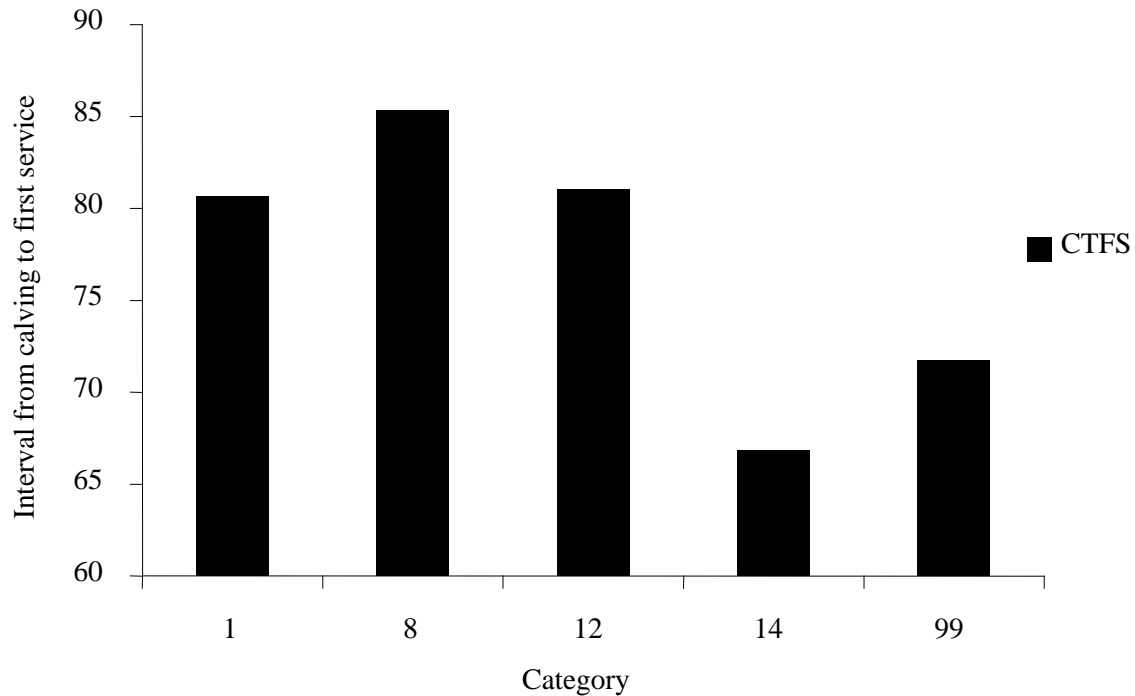


Figure 7. LSmeans for interval from calving to first service in days

Barker et al. (1998) stated in their study that the number of days to first insemination is larger for cows with clinical mastitis before a first insemination with values in a range of 93.6 +/- 5.6 days. In the present study, values for CTFS were clearly below the results reported by Baker et al. (1998); all cows with clinical mastitis and treated with antibiotics had a CTFS between 66.9 and 85.3 days. Indeed, compared to the control group, the period from calving to a first insemination was extended in categories 1, 8 and 12 but still correspond to the reference range according to de Kruif (1978). In conclusion, it can be assumed that any antibiotic treatment was not associated with substantial detrimental effects on female fertility.

CONCLUSIONS

Daily milk yield loss for cows with CM that are not treated with antibiotics is about 5.35 kg (Shim et al., 2004). When comparing our results to this reference,, we conclude that any applied antibiotic treatment is an effective tool to avoid high declines in milk production . In accordance, another study showed that milk yield decline was lower after antibiotic treatments (Roberson et al., 2004). SCS increased when CM occurred, and never reached the desired SCS level as found for healthy cows. In general, most of the antibiotic treatments led to decreasing SCS, but a combination of gyrase inhibitors and beta- lactam antibiotics and the category of homeopathics were associated with increasing SCS. Hence, it can be concluded that homeopathics without antibiotic treatment are not an efficient tool to treat clinical mastitis. The evaluation of F%, P% and L% is quite complicated because of natural genetic antagonistic effects between content traits and milk yield. With regard to female fertility, application of antibiotic treatments had no significant impact to CTFS. Values were within the theoretical optimal range.

REFERENCES

- Abdel-Azim, G. A., A. E. Freeman, M. E. Kehrli Jr., S. C. Kelm, J. L. Burton, A. L. Kuck, and S. Schnell. 2005. Genetic basis and risk factors for infectious and noninfectious diseases in US Holsteins. I. Estimation of genetic parameters for single diseases and general health. *J. Dairy Sci.* 88:1199-1207.
- Bartlett Paul C., Joost Van Wijk, David J. Wilson, Charles D. Green, Gay Y. Miller, George A. Majewski, Lawrence E. Heider (1991): Temporal Patterns of Lost Milk Production

- Following Clinical Mastitis in a Large Michigan Holstein Herd. *Journal of Dairy Science* Vol. 74, Issue 5, Pages 1561-1572
- Butler, W. R., J. J. Calaman, and S. W. Beam (1996). Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 74:858–865
- Carlen, E., E. Strandberg, and A. Roth. 2004. Genetic parameters for clinical mastitis, somatic cell score, and production in the first three lactations of Swedish Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 87:3062- 3070.
- Carlsson, J., and B. Pehrson. 1994. The influence of the dietary balance between energy and protein on milk urea concentration. Experimental trials assessed by two different protein evaluation systems. *Acta Vet. Scand.* 35:193–205.
- De Kruif, A. (1978): Factors influencing the fertility of a cattle population. *J. Reprod. Fert.* 54, 507- 518
- De Vliegher S., H.W. Barkema, H. Stryhn, G. Opsomer, A. de Kruif (2004): Impact of Early Lactation Somatic Cell Count in Heifers on Somatic Cell Counts over the First Lactation. *Journal of Dairy Science* Vol. 87, Issue 11, Pages 3672-3682
- Egger-Danner, C., B. Fuerst-Waltl, W. Holzhaecker, R. Janacek, J., Lederer, C. Litzllachner, C. Mader, M. Mayerhofer, J. Miesenberger, W. Obitzhauser, G. Schoder, and A. Wagner. (2007). Establishing a health monitoring system for cattle in Austria: First experiences. Page 363 in *Book of Abstracts of the 58th Annual Meeting of the EAAP*, Dublin, Ireland. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands.
- Forsbäck L., H. Lindmark-Månsson, A. Andrén, M. Åkerstedt, L. Andrée, K. Svennersten-Sjaunja (2010): Day-to-day variation in milk yield and milk composition at the udder-quarter level. *Journal of Dairy Science* Vol. 93, Issue 8, Pages 3569-3577
- Gröhn Y.T., D.J. Wilson, R.N. González, J.A. Hertl, H. Schulte, G. Bennett, Y.H. Schukken (2004): Effect of Pathogen-Specific Clinical Mastitis on Milk Yield in Dairy Cows, *J. Dairy Sci.* 87, pp 3358-3374.

- Guterbock W.M., A.L. Van Eenennaam, R.J. Anderson, I.A. Gardner, J.S. Cullor, C.A. Holmberg (1993): Efficacy of intramammary antibiotic therapy for treatment of clinical mastitis caused by environmental pathogens *J. Dairy Sci.*, 76 , pp. 4337–4444
- Gutjahr S, Schulz J, Beck K. (1997): Zur Beeinflussung des Harnstoffgehaltes in Rindermilchproben durch den Gesundheitszustand des Euters. *Prakt. Tierarzt* 1997; 78: 573 – 80.
- Hagnestam-Nielsen, C., U. Emanuelson, B. Berglund, E. Strandberg (2009): Relationship between somatic cell count and milk yield in different stages of lactation. *Journal of Dairy Science* Vol. 92, Issue 7, Pages 3124-3133
- Hansen, M., M. S. Lund, M. K. Sorensen, and L. G. Christensen. 2002. Genetic parameters of dairy character, protein yield, clinical mastitis, and other diseases in the Danish Holstein cattle. *J. Dairy Sci.* 85:445-452.
- Heringstad, B., G. Klemetsdal, and J. Ruane. 2000. Selection for mastitis resistance in dairy cattle: A review with focus on the situation in the Nordic countries. *Livest. Prod. Sci.* 64:95-106.
- Hooton, Thomas M., Andrew D. Blair, Marvin Turck, and George W. Counts (1984): Synergism at Clinically Attainable Concentrations of Aminoglycoside and 1-Lactam Antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Oct. 1984, pp. 535-538
- Koeck, A., C. Egger-Danner , C. Fuerst ,† W. Obritzhauser ,‡ and B. Fuerst-Waltl (2010): Genetic analysis of reproductive disorders and their relationship to fertility and milk yield in Austrian Fleckvieh dual-purpose cows. *J. Dairy Sci.* 93:2185–2194, pp 2185-2194
- König, S., G. Hübner, R. Sharifi, E. Bohlsen, J. Detterer, H. Simianer, and W. Holtz. 2006. Relationship between somatic cell score and success of first inseminations in dairy cattle estimated with logistic models. *Züchtungskunde* 78:89-101.

- König, S., Y.M. Chang, U.U. v. Borstel, D. Gianola, H. Simianer (2008): Genetic and phenotypic relationships among milk urea nitrogen, fertility, and milk yield in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 91, 4372-4382.
- Macmillan, Keith L., Graham F. Duirs, David M. Duganzich (1983): Association Between Dry Cow Therapy, Clinical Mastitis, and Somatic Cell Count Score with Milk and Fat Production in Ten New Zealand Dairy Herds. *Journal of Dairy Science* Vol. 66, Issue 2, Pages 259-265
- McFadden, Thomas B., R. Michael Akers, Anthony V. Capuco (1988): Relationship of Milk Proteins in Blood with Somatic Cell Counts in Milk of Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* Vol. 71, Issue 3, Pages 826-834
- Miglior, F., A. Sewalem, J. Jamrozik, D.M. Lefebvre, R.K. Moore (2006): Analysis of Milk Urea Nitrogen and Lactose and Their Effect on Longevity in Canadian Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science* Vol. 89, Issue 12, Pages 4886-4894
- Mitchell, R.G., G.W. Rogers, C.D. Dechow, J.E. Vallimont, J.B. Cooper, U. Sander-Nielsen, J.S. Clay (2005): Milk Urea Nitrogen Concentration: Heritability and Genetic Correlations with Reproductive Performance and Disease. *Journal of Dairy Science* Vol. 88, Issue 12, Pages 4434-4440
- Moore, D. A., and G. Varga. (1996). BUN and MUN: Urea nitrogen testing in dairy cattle. *Comp. Cont. Edu. Pract. Vet.* 18:712–721.
- Müntener, C.R., Bruckner, L., Stürer, A., Althaus, F. R., Caduff- Janosa, P. (2010): Vigilance der Tierarzneimittel: Gemeldete unerwünschte Wirkungen im Jahr 2009. *Schweiz. Arch. für Tierheilk.* 2010 152: 575- 583.
- Pociecha, JZ (1989). Influence of *Corynebacterium bovis* on constituents of milk and dynamics of mastitis. *Journal of Medical Microbiology*, 56, 480–486.
- Rajala-Schultz, P.J., W.J.A. Saville (2003): Sources of Variation in Milk Urea Nitrogen in Ohio Dairy Herds. *Journal of Dairy Science* Vol. 86, Issue 5, Pages 1653-1661

- Rehbein, P., K. Brügemann, X. L. Wu, and S. König (2013): Inferring relationships between clinical mastitis, productivity and fertility: A Recursive model application including genetics, farm associated herd management, and cow specific antibiotic treatments. *Preventive Veterinary Medicine*; Volume 112, Issues 1–2, October 2013, Pages 58–67.
- Rehbein, P. (2012). Evaluation of adverse drug reactions (ADR) of antibiotic drugs for the treatment of mastitis in dairy cows. *Berliner Müncherner Tierärztliche Wochenschrift* submitted
- Roberson, J.R., L.D. Warnick, G. Moore (2004): Mild to Moderate Clinical Mastitis: Efficacy of Intramammary Amoxicillin, Frequent Milk-Out, a Combined Intramammary Amoxicillin, and Frequent Milk-Out Treatment Versus No Treatment. *Journal of Dairy Science* Vol. 87, Issue 3, Pages 583-592
- Vet. Res. 34 (2003) 475-491 Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds Henri Seegers, Christine Fourichon and François Beaudeau.
- Shim, E.H., R.D. Shanks, D.E. Morin (2004): Milk Loss and Treatment Costs Associated with Two Treatment Protocols for Clinical Mastitis in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* Vol. 87, Issue 8, Pages 2702-2708
- Shuster, D.E., R.J. Harmon, J.A. Jackson, R.W. Hemken (1991): Reduced Lactational Performance Following Intravenous Endotoxin Administration to Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* Vol. 74, Issue 10, Pages 3407-3411
- Stanton, T.L., L.R. Jones, R.W. Everett, S.D. Kachman (1992): Estimating Milk, Fat, and Protein Lactation Curves with a Test Day Model. *Journal of Dairy Science* Vol. 75, Issue 6, Pages 1691-1700
- Stoop, W.M., H. Bovenhuis, J.A.M. van Arendonk (2007): Genetic Parameters for Milk Urea Nitrogen in Relation to Milk Production Traits. *J. Dairy Sci.* 90, Issue 4, pp 1981-1986
- Urech, E., Z. Puhán, and M. Schällibaum (1999): Changes in Milk Protein Fraction as Affected by Subclinical Mastitis. *J. Dairy Sci.* Vol. 82, Issue 11, Pages 2402-2411

- Wattiaux, M.A., E.V. Nordheim, P. Crump (2005): Statistical Evaluation of Factors and Interactions Affecting Dairy Herd Improvement Milk Urea Nitrogen in Commercial Midwest Dairy Herds. *Journal of Dairy Science* Vol. 88, Issue 8, Pages 3020-3035
- Wilson D.J., R.N. González, J. Hertl, H.F. Schulte, G.J. Bennett, Y.H. Schukken, Y.T. Gröhn (2004): Effect of Clinical Mastitis on the Lactation Curve: A Mixed Model Estimation Using Daily Milk Weights, *J. Dairy Sci.* 87, pp. 2073-2084
- Wood G.M., P.J. Boettcher, J. Jamrozik, G.B. Jansen, D.F. Kelton (2003): Estimation of Genetic Parameters for Concentrations of Milk Urea Nitrogen. *Journal of Dairy Science* Vol. 86, Issue 7, Pages 2462-2469
- Zwald, N. R., K. A. Weigel, Y. M. Chang, R. D. Welper, and J.S. Clay. 2006. Genetic analysis of clinical mastitis data from onfarm management software using threshold models. *J. Dairy Sci.* 89:330-336.

Kapitel VIII

**Inferring relationships between clinical mastitis,
productivity and fertility: A Recursive model
application including genetics, farm associated herd
management, and cow specific antibiotic treatments**

(Manuscript published in “Preventive Veterinary Medicine; Volume 112, Issues 1–2,
October 2013, Pages 58–67”)

ABSTRACT

A dataset of test-day records, fertility traits, and one health trait including 1,275 Brown Swiss cows kept in 46 small scale organic farms was used to infer relationships among these traits based on recursive Gaussian-threshold models. Test-day records included milk yield (MY), protein percentage (PROT-%), fat percentage (FAT-%), somatic cell score (SCS), the ratio of FAT-% to PROT-% (FPR), lactose percentage (LAC-%), and milk urea nitrogen (MUN). Female fertility traits were defined as the interval from calving to first insemination (CTFS) and success of a first insemination (SFI), and the health trait was clinical mastitis (CM). First, a tri-trait model was used which postulated the recursive effect of a test-day observation in the early period of lactation on liability to CM (LCM), and further the recursive effect of LCM on the following test-day observation. For CM and female fertility traits, a bi-trait recursive Gaussian-threshold model was employed to estimate the effects from CM to CTFS and from CM on SFI. The recursive effects from CTFS and SFI onto CM were not relevant, because CM was recorded prior to the measurements for CTFS and SFI. Results show that the posterior heritability for LCM was 0.05, and for all other traits, heritability estimates were in reasonable ranges, each with a small posterior SD. Lowest heritability estimates were obtained for female reproduction traits, i.e. $h^2 = 0.02$ for SFI, and $h^2 \approx 0$ for CTFS. Posterior estimates of genetic correlations between LCM and production traits (MY and MUN), and between LCM and somatic cell score (SCS), were large and positive (between 0.56 and 0.68). Results confirm the genetic antagonism between MY and LCM, and the suitability of SCS as an indicator trait for CM in genetic selection programs. Structural equation coefficients describe the impact of a first trait on a second trait on the phenotypic pathway. Higher values for FAT-% and FPR were associated with a higher LCM. The rate of change in FAT-% and in FPR in the ongoing lactation with respect to the previous LCM was close to zero. Estimated recursive effects between SCS and CM were positive, which implies strong phenotypic impacts between both traits. Structural equation coefficients explained a detrimental impact of CM on female fertility traits CTFS and SFI. The cow specific CM treatment had no significant impact on performance traits in the ongoing lactation. For most of the treatments, beta-lactam-antibiotics were used, but test-day SCS and test-day production traits after the

beta-lactam-treatment were comparable to solutions from the remaining antibiotic treatments, or from the homeopathic treatment.

INTRODUCTION

Clinical mastitis (CM) is a multi-factorial disease with substantial impact on farm economy. The financial loss of CM is mainly due to costs for treatments, discarded milk after antibiotic treatments, a decline in test-day milk yield, and increased labor. A detailed summary based on updated cost components per cow in an international context, underlining the economic importance of CM, was provided by Sadeghi-Sefidmazgi et al. (2011). Multiple factors with impact on CM be decomposed in "cow specific" and "general herd associated". Environmental herd associated risk factors include the feeding, husbandry, and farm management, which might be identical for cows in the same parity with a comparable lactation stage and a comparable calving season, and kept in the same herd. Cow specific factors itself include an environmental and a genetic component. This environmental component can be interpreted as preferential treatment, which is a specific individual treatment that is only relevant for a single cow, or for a group of cows. The relationships between the cow specific antibiotic treatment and incidences of CM and bacteriological cure rates in the dry period and in early lactation were shown by Gundelach et al. (2011). In consequence, the applied antibiotic therapy not only has response on incidences of CM and somatic cell score in the ongoing lactation, but also effects on related traits describing productivity and milk quality (Milner et al., 1997). The fact that different treatments can cause differences in physiological reactions was shown by Van Eenennamm et al. (1995).

The most sustainable method for preventing CM is the consolidation of the genetic background. In the past, breeding strategies in dairy cattle focused on productivity by neglecting functionality (e.g. Miglior et al., 2005). Both direct selection on clinical mastitis (CM) and inclusion of CM into an overall breeding goal for Holstein dairy cattle have been

suggested by several authors in the past decade (e.g. Kadarmideen and Price, 2001; Ødegard et al., 2003). A prerequisite when considering CM in an overall breeding goal is the availability of genetic (co)variance components between CM and other traits of interest. The traditional and mostly used method to infer relationships among CM and production traits (or other functional traits) is the application of standard mixed model theory and restricted maximum likelihood (e.g. Emanuelson et al., 1988). More recent studies applied threshold methodology in a Bayesian framework on binary health disorders to estimate genetic parameters for CM on the underlying liability scale (e.g. Heringstad et al., 2005). Based on estimates of genetic correlations, most of these studies supported antagonistic relationships between CM and production traits, either on the observed scale or on the underlying liability scale. A wider range of correlations is reported in the literature between CM and fertility, or between CM and other health disorders (e.g. Gernand et al., 2011).

However, correlations have no implication on the cause-effect relationships in a multi-trait system. For example, when analyzing associations between 305-d lactation records for milk- or protein yield with health disorders, variation of the production trait of interest can be a result, at least partially, from the previous or from the current lactation (Fleischer et al., 2001). Hence, this leads to the need to quantifying the relationship between the cause and the effect. For studying production-related diseases, Gianola and Sorensen (2004) proposed recursive and simultaneous models to infer the relationships between phenotypes in the context of animal breeding and genetics. Their models, as a special category of the so-called 'structural equation models' (SEM), extended multivariate mixed model theory by accounting for possible feedback situations and recursive relationships among phenotypes. Furthermore, Wu et al. (2008) extended the models of Gianola and Sorensen (2004) to allow joint analysis of Gaussian and categorical traits, leading to so called "recursive and simultaneous Gaussian-threshold models". Originally, the idea for describing simultaneous and recursive relationships between phenotypes was developed for biological systems in humans by Haldane and Priestley (1905). In the past five years, structural equation models have been applied to infer genetic parameters in dairy cattle. In particular, this type of novel models were used to explore recursive and simultaneous effects in a limited number of studies (Table 1), with a strong focus on the estimation of genetic parameters. When modeling the environmental component, studies summarized in Table 1 did not distinguish in "cow

specific" and "general herd effects". Janssen and van Duijn (2008) focused on a broader application and further prospects of SEM- or pathway model applications in human genetics by combining information of genetic variants with environmental risk factors, e.g. for an accurate disease prediction.

The aim of the present study was to infer genetic parameters and structural equation coefficients on the phenotypic pathway between CM and test-day records for production traits, and between CM and fertility traits. Unlike previous studies analyzing the genetic background of CM, detailed information on treatments of CM was collected and considered in the statistical modeling to distinguish in detail between general herd effects and cow specific risk factors.

Table 1. Application of structural equation models for objectives in dairy cattle

Author (Breed ¹)	No. of cows	Traits ²	Model
de los Campos et al., 2006 (NOR)	33,453	Milk yield → SCS SCS → Milk yield	Recursive and simultaneous linear sire models
Lopez de Maturana et al., 2007 (HOL)	17,558	Calving ease → Fertility	Recursive linear-threshold sire- (maternal-grandsire-) model
Wu et al., 2007 (NOR)	23,626	Milk yield → SCS SCS → Milk Yield	Recursive and simultaneous linear sire models
König et al., 2008a (HOL)	5,360	Milk yield → Claw disorders Claw disorders → Milk yield	Recursive linear-linear and recursive threshold-linear sire-models
Wu et al., 2008 (NOR)	20,464	Clinical mastitis → Milk yield Milk yield → Clinical mastitis	Recursive Gaussian-threshold sire models and recursive multivariate linear models
Heringstad et al., 2009 (NOR)	55,568	CFI ³ → Non-return 56 d Health ⁴ → Non-return 56 d	Recursive Gaussian-threshold sire models
Lopez de Maturana et al., 2009 (HOL)	90,393	Gestation length → Calving ease Calving ease → Stillbirth	Recursive Gaussian-threshold sire- (maternal-grandsire-) models
Jamrozik et al., 2010 (HOL)	10,832	Milk yield → SCS SCS → Milk Yield	Recursive random regression and simultaneous random regression animal models ⁵
Jamrozik and Schaeffer, 2010 (HOL)	25,950	Milk Yield → SCS SCS → Milk Yield	Recursive mixture random regression test-day models
Samore et al., 2010 (VAL)	20,868	Specific pathogens → SCS	Recursive threshold-linear sire-models

¹) HOL = Holstein Friesian, VAL = Valdostana dairy cattle, NOR = Norwegian Red

²) Arrows indicate the effect from trait 1 on trait 2, consideration of simultaneous effects is described in the column 'Model'.

³) CFI = Interval from calving to first service

⁴) Health traits include ketosis and retained placenta

⁵) Additionally, models with heterogeneous recursive or heterogeneous simultaneous effects were applied

MATERIALS AND METHODS

Data

The final dataset comprised test-day records, the health disorder CM, and fertility traits from 1,275 Brown Swiss cows kept in 46 small-scale organic farms located in the alpine region of Switzerland. The data pool reflects a broad basis of organic and low input herds, that are registered in the official Brown Swiss herdbook. Cows were daughters of 333 sires. Up to now, an independent organic breeding program does not exist, and consequently, same sires are used in conventional Brown Swiss herds. Test-day records included milk yield (MY), protein percentage (PROT-%), fat percentage (FAT-%), somatic cell score (SCS), the ratio of FAT-% to PROT-% (FPR), lactose percentage (LAC-%), and milk urea nitrogen (MUN). Organic and low input farming entails limitations in feeding of concentrates. Despite some similarities, also the different organic herds are characterized by differences in feeding or farm management strategies. A herd similarity is the strict restriction regarding the application of antibiotics and hormones. Prophylactic applications of antibiotics are forbidden, but antibiotic treatments to cure health disorders such as CM are allowed. This implies that farmers and veterinarians have to follow a recording system, which implies a detailed documentation of all health disorders along with their treatments. Consequently, occurrence of a health disorder in combination with the applied treatment was recorded for diseased cows and made available for this study. The associated antibiotic or homeopathic treatments for CM were categorized in 11 classes: 1= beta- lactam-antibiotics, 2 = aminoglycosides, 3 = macrolides, 4 = gyrase inhibitors, 5 = combination of aminoglycosides and beta- lactam antibiotics, 6 = combination of gyrase inhibitors and beta- lactam antibiotics, 7 = colistin, 8 = homeopathics, 9 = class of treatments with unknown antibiotics, 10 = combination of aminoglycosides, beta-lactam antibiotics and trimethoprim- sulphamide, and 11 = no treatment. The fertility traits used in this study was the Gaussian trait 'interval from calving to first service' (CTFS), and the binary trait 'success of a first insemination' (SFI). Data spanned a period of 5 yrs, including lactations from 2006 to 2010.

Data preparation for SEM applications including two test-day production traits and CM was done according to König et al. (2008a). The focus was on the occurrence of CM in the early period of lactation from the date of calving to DIM 200. If a cow was recorded for CM within this period, she received a score of 1 = diseased; otherwise a score of 0 = healthy was assigned. For each cow with CM = 1, the nearest test-day observation before and after the date of occurrence of CM was identified. This definition implies a biological system including two test-day traits and the binary health disorder CM. Trait 1 is the test-day record before the date of occurrence of CM (= trait 2), and the test-day record after occurrence of CM was trait 3. Trait 1 and trait 3 were always the same test-day traits, e.g. MY_1 in combination with MY_3, or MUN_1 in combination with MUN_3. Repeated cases of CM of the same cow within the period of 200 days were not taken into account. For such cases, we extracted the first CM record with complete information. Complete information implied the availability of trait 1 and trait 3, i.e. an official test-day record before and after the date of occurrence of CM. Healthy cows received a score = 0 for CM at a general dummy date of day 100. The definition of "healthy" implies no observation for CM within the first 200 days after calving. The dummy date "day 100" was chosen, because the average of diseased cows for days in milk for trait 1 (= dim_1) was 80.7, and 115.2 days in milk for trait 3 (= dim_3). Hence, day 100 is close to mean value of 98.0 days between dim_1 and dim_3. The nearest test-day observation for healthy cows before day 100 was trait 1, and the nearest test day observation after day 100 was trait 3.

For CM and fertility traits, bi-trait Gaussian-threshold linear models were defined. Here, we postulated that CM affects both fertility traits CTFS and SFI. Reciprocal affects were assumed to non-existent (because the measurement of CM was taken prior to the fertility traits). In this scenario, liability to clinical mastitis (LCM) was defined as trait 1, and in different analyses, either CTFS or SFI was treated as trait 2.

2.2 Statistical models

For SEM including two Gaussian test-day traits (trait 1 and trait 3) and LCM (trait 2), univariate recursive linear-threshold sire models were applied. These recursive models, which

extended the threshold models in the context of animal breeding and genetics (Gianola, 1982), were used following König et al. (2008a) and Wu et al. (2008). Briefly, the model assumes an underlying continuous variable (= liability l_i) for the binary health disorder CM which delimits the observed binary variable y_i into a value of 1 (diseased) if l_i is larger than a fixed threshold, and 0 (healthy) otherwise. In matrix notation, the recursive threshold linear model is as follows:

$$\begin{pmatrix} \Lambda \mathbf{y}_1 \\ \Lambda \mathbf{y}_2 \\ \dots \\ \Lambda \mathbf{y}_n \end{pmatrix} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}_h \mathbf{h} + \mathbf{Z}_s \mathbf{s} + \mathbf{e}$$

with $i = 1, 2, \dots, n$ denoting the n cows having records for the three traits. Here, \mathbf{y}_i is a vector containing observations for Gaussian test-day traits 1 and 3, and for LCM, all pertaining to the i -th cow; $\boldsymbol{\beta}$ is a vector of systematic effects including the effects of parity, year-season of calving, and the antibiotic or homeopathic treatments used to treat CM with anticipated effect on trait 3; \mathbf{h} is a vector of herd effects, vector \mathbf{s} is a vector of sire of cow effects, \mathbf{e} is a vector of residuals; \mathbf{X} , \mathbf{Z}_h , and \mathbf{Z}_s are the corresponding incidence matrices. The form of matrix Λ in this study took the following form:

$$\Lambda = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ -\lambda_{21} & 1 & 0 \\ 0 & -\lambda_{32} & 1 \end{bmatrix}.$$

This matrix Λ contains the structural coefficients λ_{ij} , describing the rate of change of trait i with respect to trait j . Here, λ_{21} is the gradient of LCM with respect to test-day trait 1. The rate of change in test-day trait 3 with respect to LCM is given by λ_{32} for this model with a recursive effect from trait 2 to trait 3. Figure 1 illustrates the associations among phenotypes and genotypes along with their effects as modeled in the present study.

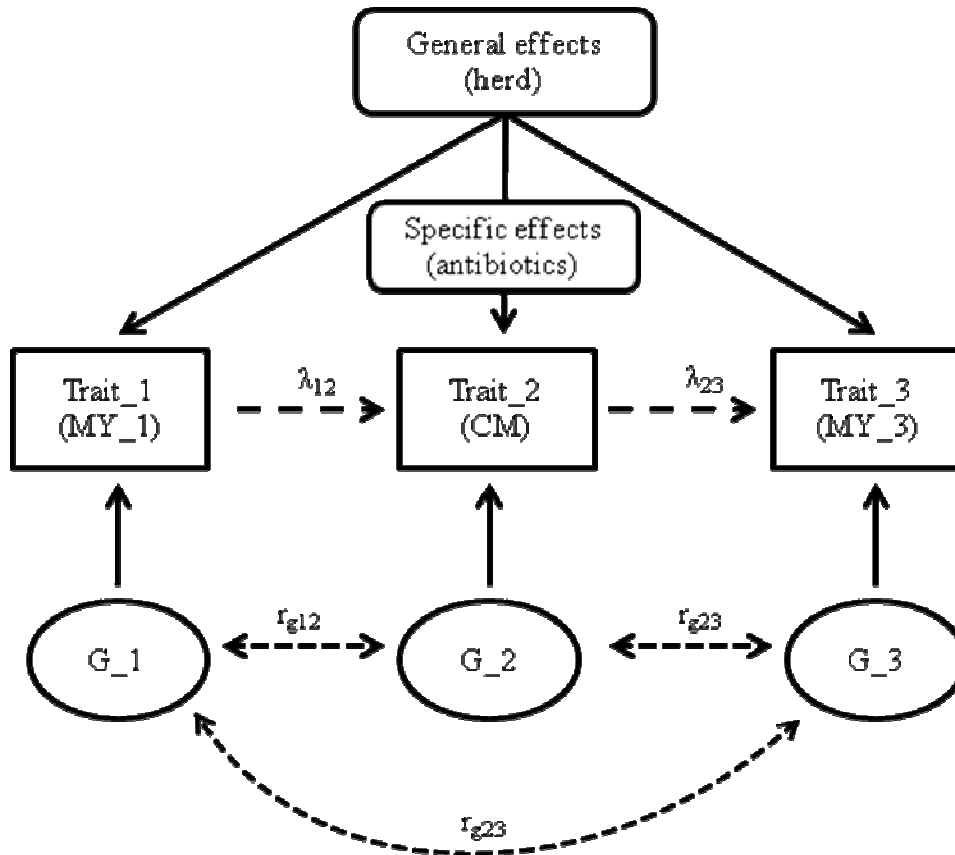


Figure 1. Decomposition of effects and relationships in a recursive system with three traits: Trait_1 = test-day production trait before diagnosis of clinical mastitis (CM), trait_2 = CM, trait_3 = test-day production trait after diagnosis of CM. G_i = direct genetic effects on trait i , r_{gij} = genetic correlation between traits i and j , λ_{ij} indicates the rate of change in trait i with respect to trait j .

For recursive SEM including one fertility trait and LCM, bi-trait threshold-linear models for LCM and CTFS and threshold-threshold models (for LCM and SFI), were applied. In both analyses, we assumed a causal effect of CM on both CTFS and SFI without modeling a 'feedback' effect of fertility on udder health in the ongoing lactation. Consequently, the form of matrix Λ was:

$$\mathbf{\Lambda} = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ -\lambda_{21} & 1 \end{bmatrix}$$

with λ_{21} describing the impact of LCM on CTFS in the in the first analysis or the impact of LCM on SFI in the second run. Fixed and random effects considered in the statistical model were the same as defined above for test-day production traits. Yin et al. (2012) found extremely low variances for the effect of the service sire in this type of data from organic farms in Switzerland. Hence, and according to Heringstad et al. (2009), we excluded the effect of the service sire from statistical models for analyzing female fertility traits.

The conditional distribution of the data and liabilities jointly for the linear-threshold model, of the conditional distributions of the pseudo-data $\mathbf{\Lambda y}$, or of the pseudo-data and liabilities jointly were chosen in analogy to König et al. (2008a). Prior distributions for structural coefficients, for elements of vector $\boldsymbol{\beta}$, for sire effects \mathbf{s} , for the effects of the herd \mathbf{h} , and for the corresponding co(variance) matrices were the same as described in detail by Heringstad et al. (2009). For binary traits, residual variances were fixed to 1, and in this case, the prior distribution of the matrix \mathbf{R} including the residual covariances was a conditional inverse Wishart distribution. Transformation of system covariance parameters from SEM into their counter parts in linear models was described by Gianola and Sorensen (2004). The later were model used to estimate heritabilities and genetic correlations.

Data analyses were conducted using the SIR-BAYES package (Wu et al., 2007) in which all Bayesian models were implemented via Markov chain Monte Carlo (MCMC) sampling. Length of burn-in rounds and of the total number of iterations were decided based on convergence diagnostics (Raftery and Lewis, 1992) using the BOA package in R, and also based on trace plotting of posterior samples of λ_{ij} . Based on these convergence diagnostics, it was decided that samples from first 10,000 iterations were discarded as 'burn in', and posterior distributions of parameters of interests were inferred based on posterior samples from 100,000 iterations after burn-in.

RESULTS AND DISCUSSION

Mean values for incidences, production levels, and female fertility

The mean incidence of CM in the organic and low input Brown Swiss population in Switzerland was 8.89%. Comparably speaking, susceptibility for CM was substantially higher in Holstein Friesian cows (e.g. Fleischer et al., 2001; Gernand et al., 2011). Lower incidences of CM were found in breeds other than Holstein, such as Simmental (Koeck et al., 2010) or Norwegian Red with an overall incidence of 10% (Heringstad et al., 2009), possibly due to higher resistance to CM in these breeds. In addition, the selection strategy in combination with the breeding program design could have an impact on the development of incidences of CM on the phenotypic scale. Norway started in 1978 to record health disorders on so-called 'health cards', and used the data for genetic evaluations (Heringstad et al., 2000). Traditionally, organic farmers pay more attention on improvements of functional health disorders than farmers from conventional dairy cattle herds. A survey by Rozzi et al. (2007) revealed that the relative emphasis on health traits, including CM, in an overall breeding goal was five times higher in organic than that in conventional farms. This fact may explain lower incidences of CM in the present dataset compared to data from conventional herds.

Average values for production traits of CM resistant and of CM susceptible cows before (= trait 1) and after (= trait 3) occurrence of CM (or before and after the fixed 'dummy date' of day 100) are given in Table 2. On the phenotypic scale, CM-susceptible cows reached a higher production level at the early stage of lactation but showed a larger decrease in test-day milk yield (MY₃ - MY₁), as compared with CM-resistant cows. Values for FPR₁ were higher for CM-susceptible cows than those values for CM-resistant cows. Physiological causality was described by Buttchereit et al. (2010). The detrimental effect of high FPR in the beginning of lactation on increased SCS supporting the results from the present study was shown by Bergk and Swalve (2010). Because an occurrence of CM was associated with an increase of FPR₃, it is assumed that the occurrence of health disorders will intensify the phenomenon of metabolic stress. We also found that MUN₁ was slightly higher for CM-

resistant compared to CM- susceptible cows. As expected from the close relationship between the indicator trait SCS and CM, CM- susceptible cows had substantially higher values for SCS_1 and SCS_3 than CM- resistant cows.

Table 2. Average values in test-day production traits (MY = milk yield, PROT-% = protein percentage, FAT-% = fat percentage, FPR = FAT-%:PROT-% ratio of milk, LAC-% = lactose percentage, and MUN = milk urea nitrogen) before (= trait 1) and after (= trait 3) occurrence of clinical mastitis (CM = trait 2).

Test-day trait	CM resistant cows ¹			CM susceptible cows		
	Trait 1	Trait 3	Trait 3 - Trait 1	Trait 1	Trait 3	Trait 3 - Trait 1
MY (in kg)	25.86	23.77	-2.09	28.12	25.57	-2.55
PROT-%	3.23	3.34	0.11	3.31	3.28	-0.03
FAT-%	3.82	3.92	0.10	3.87	3.80	-0.07
FPR	1.19	1.17	-0.02	1.18	1.16	-0.02
SCS	2.13	2.37	0.24	4.24	3.82	-0.42
LAC-%	4.88	4.85	0.03	4.76	4.77	0.01
MUN (in ppm)	249	246	-3.00	234	232	-2.00

¹ The nearest test-day record for CM resistant cows before a general dummy date of day 100 was defined as trait 1 and the nearest test-day record after day 100 was defined as trait 3.

Cows observed for CM had larger CTFS and lower SFI. Many previous studies have shown negative effects of CM on fertility 'interval traits' and fertility 'conception traits' (e.g. Schrick et al., 2001; Santos et al., 2004). The physiological explanation for these associations is based

on specific pathogens that may occur in the process of an infection in the udder (Schrick et al., 2001).

Structural equation coefficients for recursive effects

Recursive effects of production traits on LCM, and of LCM on production traits in the continuing lactation are quantified by structural equation coefficients λ_{21} and λ_{32} , respectively (Fig. 2).

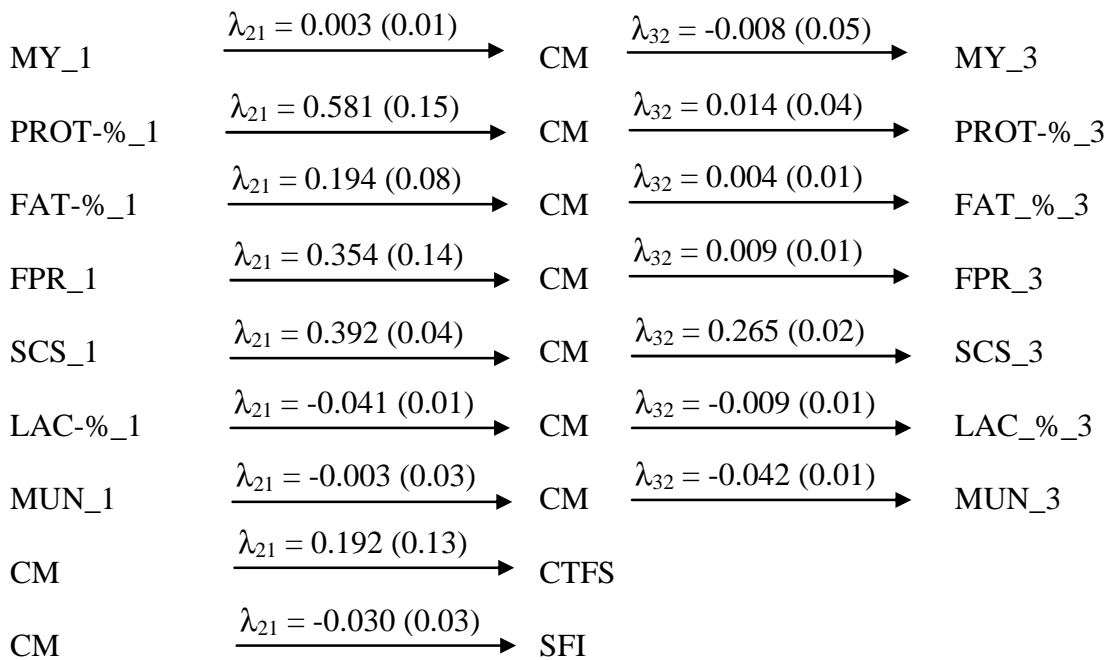


Figure 2. Posterior means and standard deviations (in brackets) of recursive effects λ_{21} and λ_{32} (Arrows indicate that trait 1 affects trait 2 = λ_{21} , and trait 2 affects trait 3 = λ_{32} ; MY = milk yield, PROT-% = protein percentage, FAT-% = fat percentage, FPR = FAT-%:PROT-% ratio of milk, LAC-% = lactose percentage, and MUN = milk urea nitrogen, CTFS = calving to first service, SFI = success of first insemination, CM = clinical mastitis)

Estimated recursive effects confirm the trend for test-day observations before and after occurrence of CM in Table 2. The results indicate that higher values for test-day production records directly after calving (MY_1, PROT-%_1, FAT-%_1) elevated LCM. In the ongoing lactation, occurrence of CM had negative effects on MY_3, and positive effects on PROT-%_3 and FAT-%_3. In these cases, however, structural coefficients λ_{32} were close to zero, and as indicated by posterior standard deviations, zero was included in the posterior distribution with high density. Instead of CM, Wu et al. (2007) used the indicator trait SCS to infer relationships with milk yield by applying recursive and simultaneous models; they reported pronounced negative effects of SCS on production levels. Effects were generally stronger for high yielding cows, which may be an explanation for values close to zero as found in our study for low yielding cows in organic herds. We applied an approach similar to Wu et al. (2008), who investigated the phenotypic relationships between milk yield and LCM. Our results concluded with the same trend, which is depicted in Fig. 2: structural coefficients were slightly positive for the effect of test-day milk yield on LCM, yet negative effects were found for LCM on test-day milk yield in the course of lactation.

Estimates for structural equation coefficients were strong and positive for recursive effects between SCS_1 and CM ($\lambda_{21} = 0.32$), and between CM and SCS_3 ($\lambda_{32} = 0.27$). Hence, in a narrow interval, LCM and SCS are closely related, supporting the practice worldwide that uses SCS as an indicator trait for CM in dairy cattle breeding programs. Gaussian-threshold recursive models in a two-pathway system were previously applied to study effects of specific major pathogens (*Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*) on SCS (Samore et al., 2010). Recursive effects on SCS for one unit increase in liability of values 0.13 and 0.20, respectively, support the value of $\lambda_{32} = 0.27$ as found in our study.

Recursive effect of LCM on CTFS was 0.19, and -0.03 of LCM on SFI. Heringstad et al. (2009) reported a posterior mean of -0.03 for the recursive effect from LCM onto CTFS, and of 0.03 for the recursive effect from LCM onto the non-return rate within 56 d after first insemination. Our results coincided with those obtained by Heringstad et al. (2009): recursive effects of LCM on the binary fertility trait were negligible, because estimated structural coefficients were close to zero. Heringstad et al. (2009) gave two explanations for larger CTFS in diseased cows: firstly, a farmer's voluntary decision to delay a first insemination if a

cow is sick; secondly, the physiological background meaning that a health disorder may hamper reproductive functions. Heringstad et al. (2009) found positive recursive effects of ketosis on CTFS, and negative recursive effects of ketosis on non-return rate 56 d. Ketosis is a trait related to energy deficiency. In our study, we used FPR to depict a cow's energy balance. An increase of FPR indicating the phenomenon of metabolic stress increased liability to CM ($\lambda_{21} = 0.35$). Milk urea nitrogen has an optimal intermediate range (König et al., 2008b). Low values reflect a lack in energy, whereas too high values may have toxic functions. In the present study, estimated structural coefficient λ_{21} was zero, and LCM had slightly negative effects on MUN ($\lambda_{32} = -0.04$).

Solutions for antibiotic treatments

A percentage of 8.89% of cows was diagnosed for CM and received a treatment. The distribution of treatments was as follows: beta-lactam-antibiotics = 22.2%, aminoglycosides = 1.1%, macrolides = 5.2%, gyrase inhibitors = 0.7%, combination of aminoglycosides and beta- lactam antibiotics = 25.2%, combination of gyrase inhibitors and beta- lactam antibiotics = 3.0%, colistin = 2.3%, homeopathics = 33.0%, class of treatments with unknown antibiotics = 4.4%, combination of aminoglycosides, beta-lactam antibiotics and trimethoprim- sulphonamide = 2.9% Krabisch et al. (1999) also identified a comparably high percentage of treatments with beta- lactam-antibiotics in small structured dairy cattle herds in Bavaria to cure infections with *Staphylococcus aureus*. These authors pointed on resistances after treatments with beta- lactam-antibiotics - a "treatment problem" that recently has been identified in general for gram-negative pathogens (Pfeifer and Eller, 2012).

Identification of resistances leads to the hypothesis of detrimental cure rates, and in causality to increasing SCS and decreasing milk yield in the ongoing lactation. However, solutions for posterior effects from the SEM on MY_3 and SCS_3 were on a similar level for all treatments. The posterior mean for SCS after the treatment with beta-lactam-antibiotics was slightly lower (factor 1.12) compared to the homeopathic treatment. In addition to the SEM, we run a linear model with SCS_3 as the depending trait, and explanatory variables as defined for the SEM, but without modeling the genetic component. For SCS_3, analysis of variance revealed a non-significant effect of the treatment ($P > 0.05$). Least Square mean for SCS from

the treatment with beta-lactam-antibiotics was 4.21, and the least square mean for SCS was 4.37 after the homeopathic treatment. Hektoen et al. (2004) compared homeopathic and antibiotic treatments of clinical mastitis using a randomized-clinical trial. Comparable to our approach conducted on a population wide basis, signs of mastitis in the ongoing lactation after the homeopathic treatment were not statistically different from standard antibiotic treatments.

Production level of milk, fat or protein yield after an infection is also an indicator for effectiveness of the applied treatment. Again, solutions from the SEM for the different antibiotic treatments and for the homeopathic treatment were on a similar level. The posterior mean for MY_3 after the treatment with the most used antibiotics (beta-lactam antibiotics) was increased by factor 1.03 compared to the homeopathic variant. Least square means for MY_3 from the linear model were 27.23 kg and 27.14 kg after the treatment with beta-lactam antibiotics and with homeopathics, respectively. Consequently, the effect of the treatment on MY_3 was statistically non-significant ($P > 0.05$). Langoni et al. (2011) investigated the impact of homeopathic treatments on both traits milk yield and SCS. Also in dairy goats, non-significant effects between treatments were identified.

Genetic parameters: heritabilities

Posterior heritabilities for CM from nine bivariate runs were in a narrow range from 0.05 to 0.07. The posterior distribution of heritability for CM from the recursive model including SCS_1, CM, and SCS_2 is shown in Fig. 3.

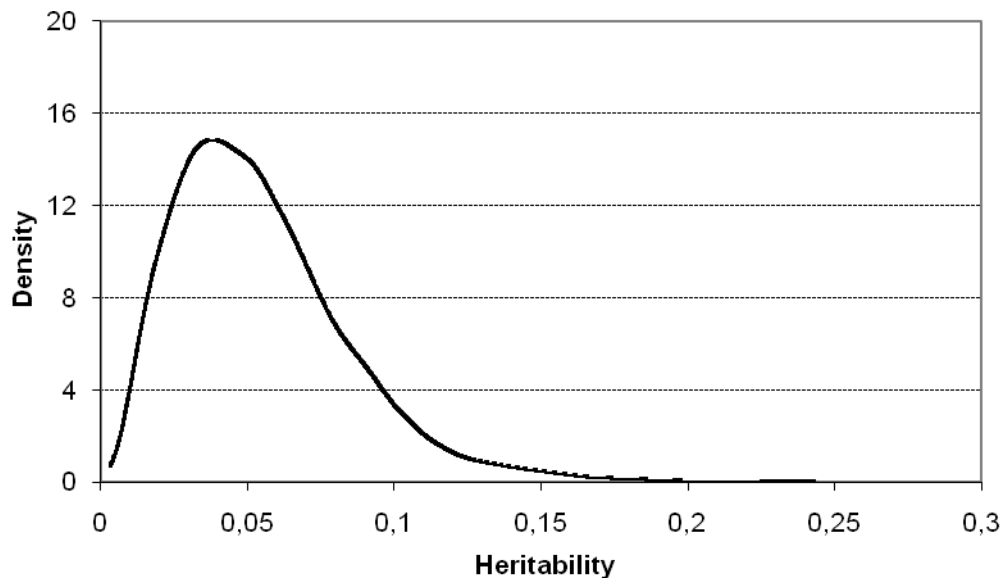


Figure 3. Posterior heritability for clinical mastitis (CM) from a recursive model including three traits: SCS before occurrence of CM, CM, and SCS after occurrence of CM (posterior SD = 0.03).

The posterior distributions of heritability for LCM approximate Gaussian densities, yet somewhat skewed to the right side. Posterior heritability estimates for LCM are in line with recent results obtained based on 'usual' threshold methodology (Gernand et al., 2011), and also agree with the results from Scandinavian countries based on similar recursive models in a Bayesian framework (Heringstad et al., 2009). Posterior heritability estimates for SCS₁ and SCS₃ were 0.12 and 0.16, respectively (Fig. 4), which were higher than the heritability estimates for LCM in the present study. Coincidentally, Biscarini et al. (2012) also reported high heritability estimates for SCS ($h^2 = 0.25$) in Brown Swiss populations. In general, heritability estimates for SCS were higher than those for CM in most studies investigating quantitative genetics of udder health (e.g. Emanuelson et al., 1988; Carlen et al., 2004).

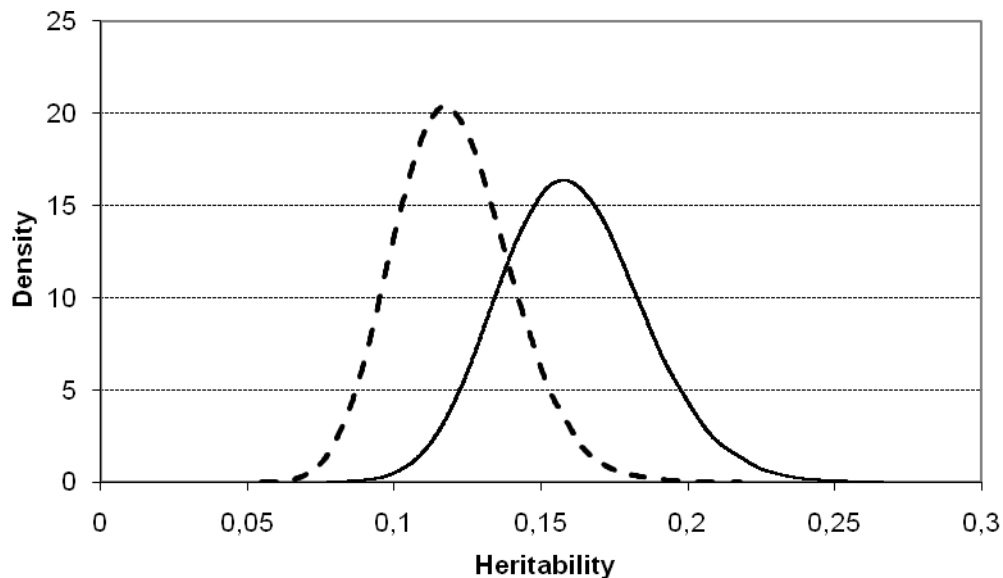
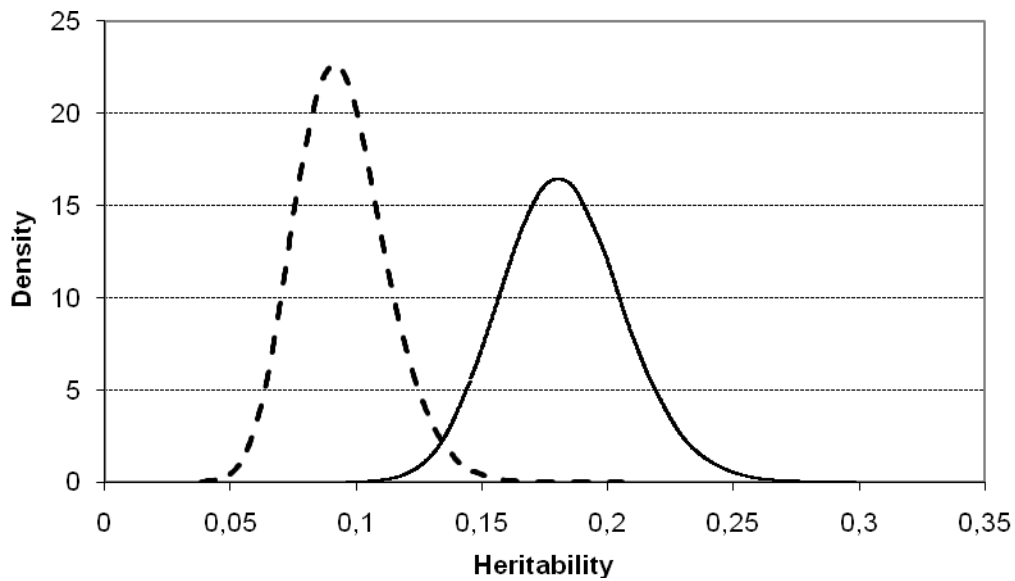
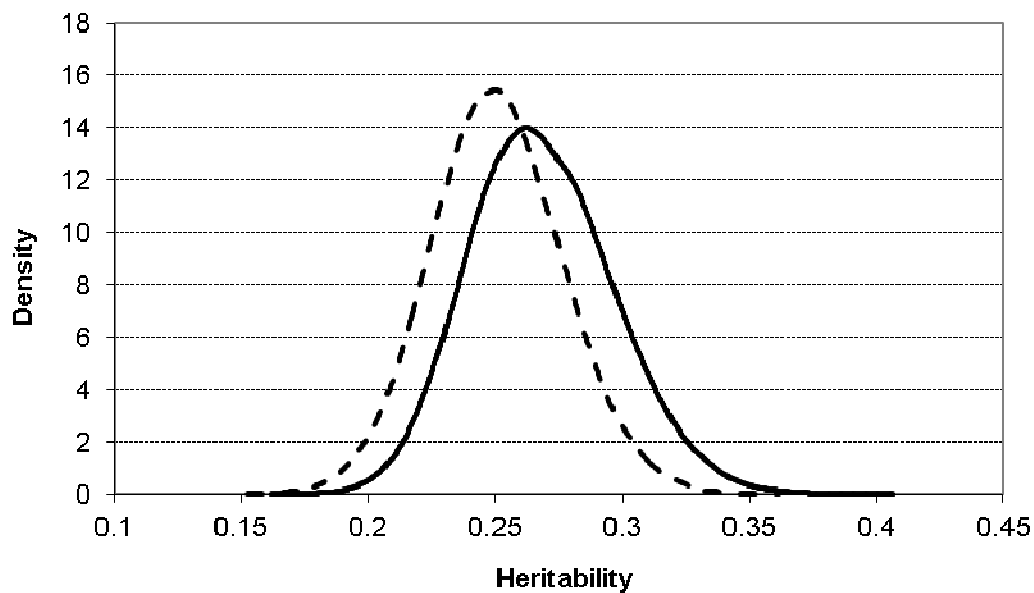


Figure 4. Posterior heritability for SCS from the official test-day before occurrence of CM (dashed line) and for SCS from the official test-day after occurrence of CM (solid line). (Posterior SD for both traits = 0.02).

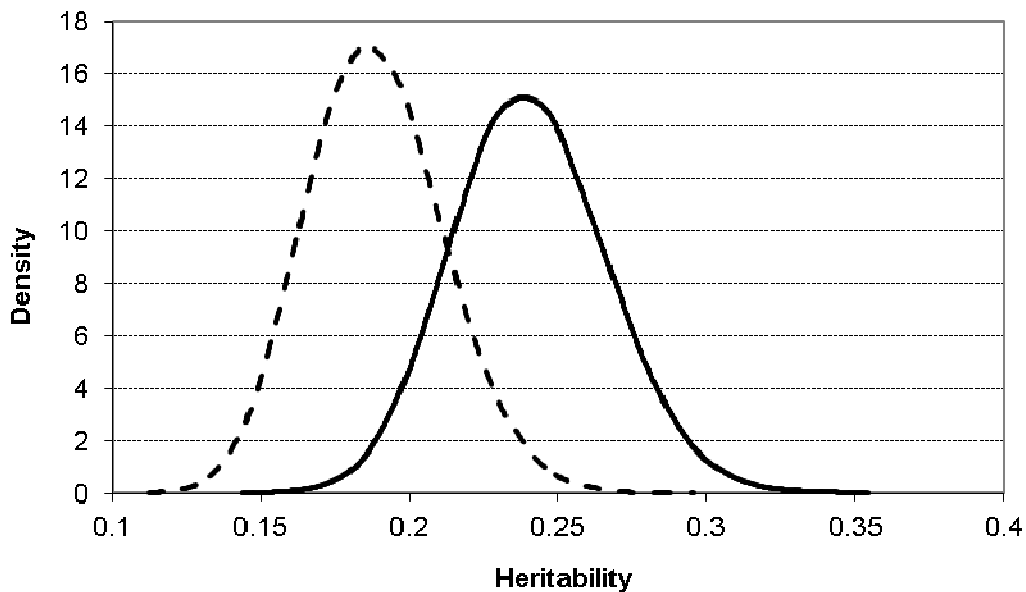
Posterior heritability estimates for test-day production traits MY, FAT-%, PROT-%, and LAC-% are shown in Supplementary Fig. S1, S2, S3, and S4, respectively. For these production traits, heritability estimates were in a reasonable range, with a tendency of increase from the beginning to the middle of lactation. This implies that the heritability estimates from the official test-day before occurrence of CM tended to be higher than the heritability estimates from the official test-day after occurrence of CM. A pronounced genetic background was found for LAC-%. Posterior heritability estimates were 0.32 and 0.34 for LAC-%₁ and LAC-%₃, respectively. LAC-% is not used for official genetic evaluations, but a moderate heritability and close correlations to other relevant traits of economic relevance justify the inclusion of lactose in an overall breeding goal.



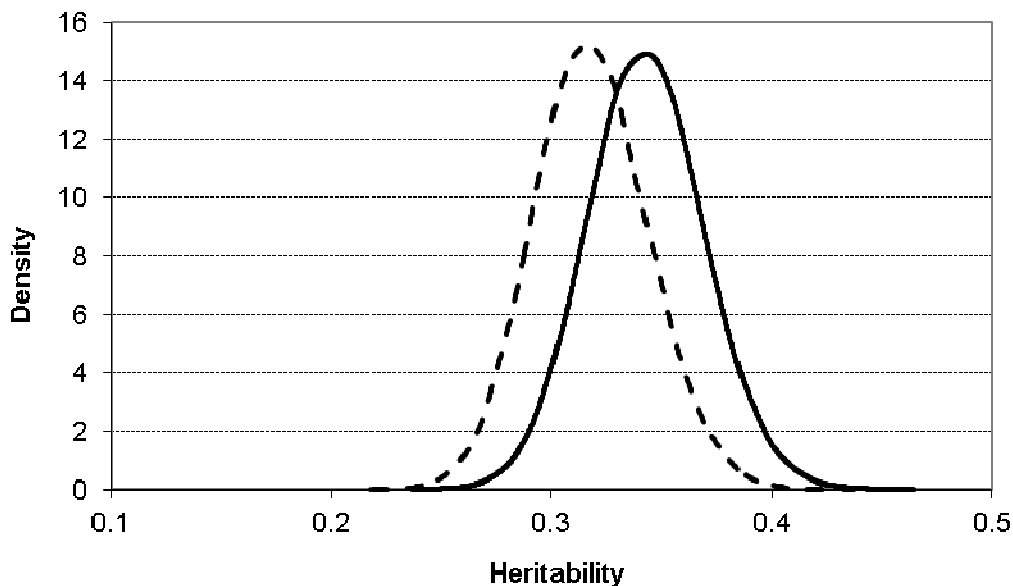
Supplementary Figure S1: Posterior heritability for milk yield from the official test-day before occurrence of CM (dashed line) and for milk yield from the official test-day after occurrence of CM (solid line). (Posterior SD for both traits = 0.02).



Supplementary Figure S2: Posterior heritability for fat percentage from the official test-day before occurrence of CM (dashed line) and for fat percentage from the official test-day after occurrence of CM (solid line). (Posterior SD for both traits = 0.02).



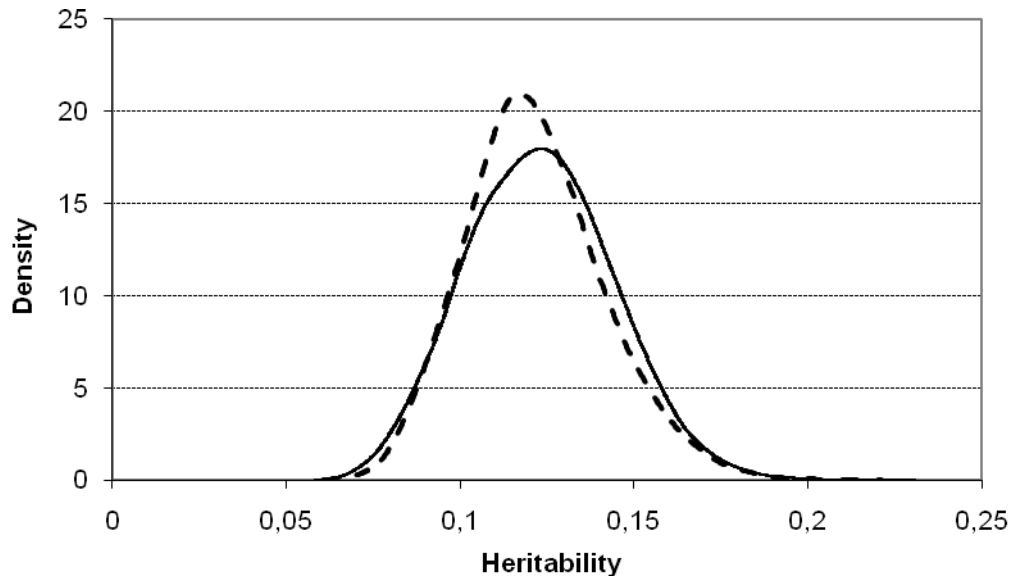
Supplementary Figure S3: Posterior heritability for protein percentage from the official test-day before occurrence of CM (dashed line) and for protein percentage from the official test-day after occurrence of CM (solid line). (Posterior SD for both traits = 0.03).



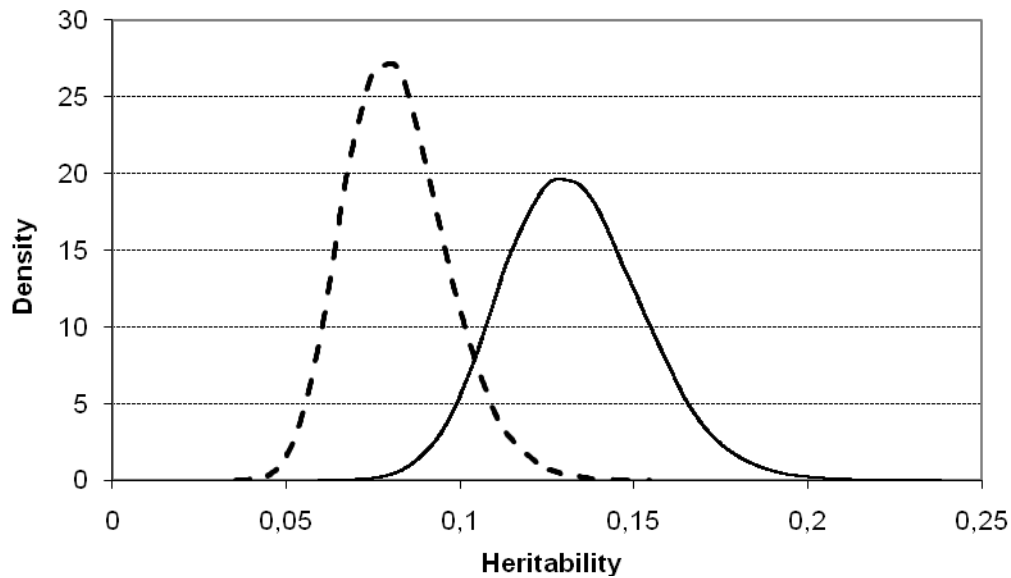
Supplementary Figure S4: Posterior heritability for lactose percentage from the official test-day before occurrence of CM (dashed line) and for lactose percentage from the official test-day after occurrence of CM (solid line). (Posterior SD for both traits = 0.03).

Posterior heritability estimates for traits associated with energy efficiency are depicted in Supplementary Fig. S5 (MUN) and S6 (FPR). Posterior heritability estimates for MUN_1 and MUN_3 were 0.12 and 0.13, respectively. Approximately equal heritability estimates for MUN traits were previously documented by König et al. (2008b) when using test-day observations in the early period of lactation. Jamrozik and Schaeffer (2011) used test-day records and finite mixture models to estimate daily heritabilities for FPR. Heritabilities increased with increasing DIM, and were lowest at the peak phase of lactation supporting our posterior estimates, i.e. $h^2 = 0.08$ for FPR_1 and $h^2 = 0.13$ for FPR_3. A major finding from the statistical perspective is the Gaussian distribution for posterior genetic estimates along with small posterior SD. This indicates the feasibility of SEM with genetic, general environmental, and cow specific environmental effects also for smaller datasets, e.g. datasets from organic populations.

Posterior heritability estimates for CTFS (Fig. 5) and for SFI (Fig. 6) were close to zero. In this study, the heritability for the 'interval trait' CTFS, which measures the starting of a first cycle after calving, was even lower ($h^2 < 0.01$) than for SFI ($h^2 = 0.02$). The latter is a trait directly associated with pregnancy. The recursive models used by Heringstad et al. (2009) were similar to ours. They reported that CTFS had a small heritability (0.04), whereas the heritability of non-return rate was slightly higher.



Supplementary Figure S5: Posterior heritability for milk urea nitrogen from the official test-day before occurrence of CM (dashed line) and for milk urea nitrogen from the official test-day after occurrence of CM (solid line). (Posterior SD for both traits = 0.02).



Supplementary Figure S6: Posterior heritability for the ratio of fat percentage to protein percentage from the official test-day before occurrence of CM (dashed line) and for the ratio of fat percentage to protein percentage from the official test-day after occurrence of CM (solid line). (Posterior SD for both traits = 0.03).

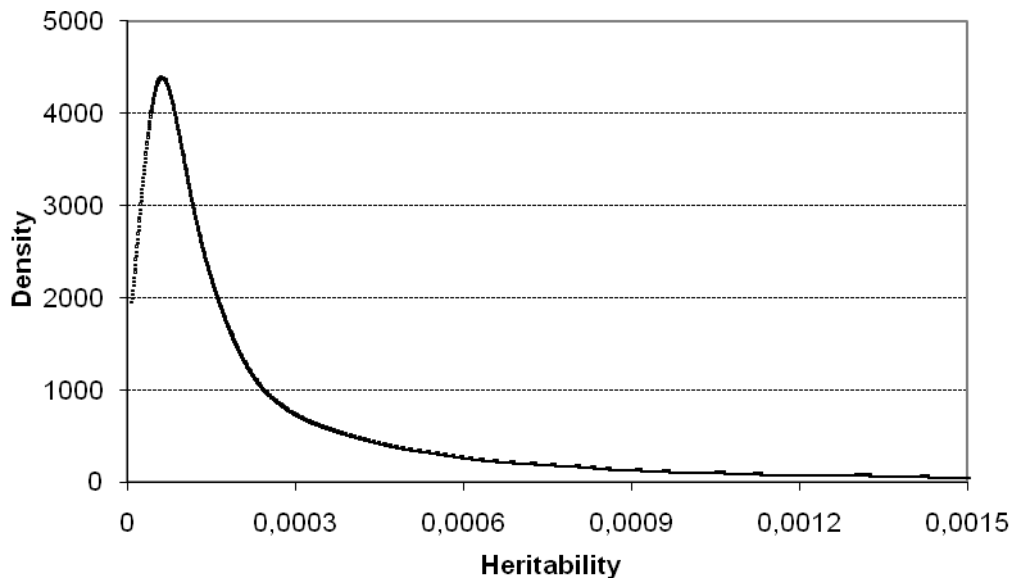


Figure 5. Posterior heritability for interval from calving to first service. (Posterior SD = 0.001).

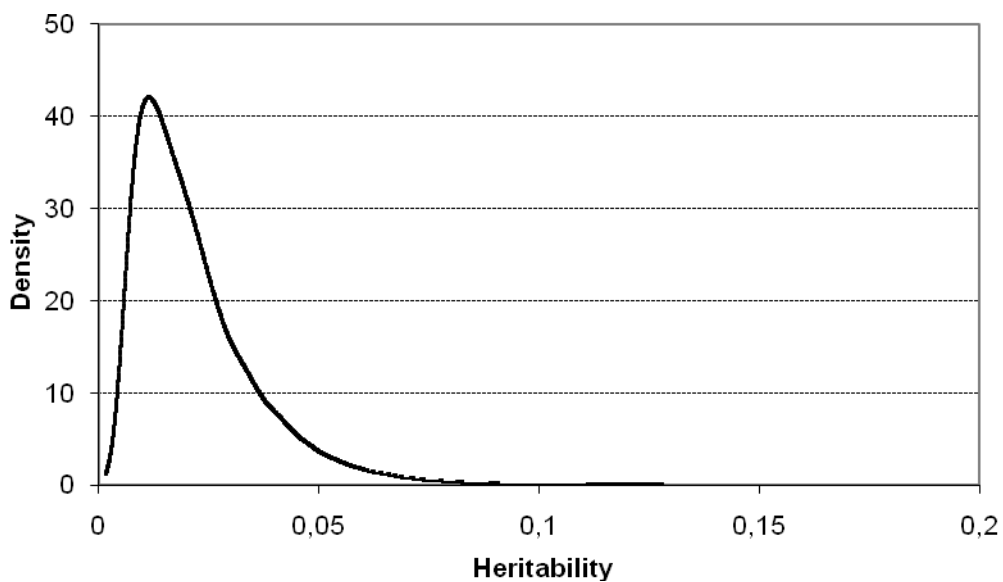


Figure 6. Posterior heritability for success of first insemination. (Posterior SD = 0.001).

Genetic parameters: Correlations

Posterior estimates of genetic correlations between test-day production traits before and after occurrence of CM, and between test-day production traits and CM are given in Table 3. Apart from the moderate genetic correlation between FPR_1 and FPR_3 ($r_g = 0.52$), genetic correlations in the same trait recorded at adjacent test-days were high, ranging from 0.87 (between FAT-%_1 and Fat-%_3) to 0.99 (between MY_1 and MY_3, and between MUN_1 and MUN_3). Strong correlations in the same trait for neighboring test-days are common in a multitude of random regression studies (e.g. Gernand et al., 2007). Posterior SD for correlations between test-day production traits were relatively low in a range from 0.01 (MY) to 0.09 (FPR).

Table 3. Posterior means of genetic correlations between production traits (MY = milk yield, PROT-% = protein percentage, FAT-% = fat percentage, FPR = FAT-%:PROT-% ratio of milk, LAC-% = lactose percentage, and MUN = milk urea nitrogen) before (= trait 1) and after (= trait 3) occurrence of clinical mastitis (CM = trait 2), and between CM and production traits. (Posterior SD in brackets).

Production trait	Genetic correlation		
	CM : Trait 1	CM: Trait 3	Trait 1 : Trait 3
MY	0.64 (0.17)	0.64 (0.17)	0.99 (0.01)
PROT-%	0.10 (0.28)	-0.02 (0.27)	0.89 (0.03)
FAT-%	-0.36 (0.28)	-0.45 (0.27)	0.87 (0.04)
FPR	0.13 (0.21)	0.21 (0.21)	0.52 (0.09)
SCS	0.68 (0.21)	0.66 (0.22)	0.98 (0.02)
LAC-%	0.02 (0.25)	0.07 (0.24)	0.91 (0.02)
MUN	0.56 (0.23)	0.57 (0.22)	0.99 (0.01)

Genetic correlations between test-day production traits and CM differed, to some extent, from the phenotypic relationships in terms of estimated recursive effects. For example, genetic correlations between MY and CM were $r_g = 0.64$, reflecting pronounced genetic antagonistic relationships between these two traits. This antagonistic relationship was supported by most of the studies from Scandinavia (e.g. Emanuelson et al., 1988), and also in several studies, genetic and phenotypic correlations were different in sign. Genetic correlations between FAT-% and CM were negative. Hence, selection for high fat percentages leads to decreased susceptibility to CM. This in turn contributes, at least partially, to the logical consequence of the genetic antagonism between milk yield and CM, because high MY tends to be genetically related to low FAT-% (Yin et al., 2012). Genetic correlations between LCM and SCS_1 and between LCM and SCS_3 were 0.68 and 0.66, respectively, which underline results from standard mixed model theory.

Genetic correlations between LAC-% and CM and between FPR and CM were weak. Genetic correlation was 0.13 between FPR_1 and CM, and 0.21 between CM and FPR_3. These results imply that an increase of FPR leads to a decline in udder health on the genetic scale. Similar results were published by Jamrozik and Schaeffer (2011) when using the indicator trait SCS instead of CM. In our study, genetic correlations between MUN_1 and CM and between MUN_3 and CM were strong and positive, i.e. $r_g = 0.52$ and $r_g = 0.57$, respectively. In the study by Stoop et al. (2007), genetic correlations between MUN and SCS were even higher ($r_g = 0.85$). These authors assumed similar genetic mechanisms for MUN and SCS, but in their study, the phenotypic correlation between MUN and SCS was close to zero.

The posterior genetic correlation was -0.33 between CM and SFI, and 0.29 between CM and CTFS. Genetically, this means that CM has a negative impact on both groups of fertility traits (i.e. starting of luteal activity after calving, and on pregnancy rates). Based on the recursive model, genetic correlation between CM and CTFS was 0.14, and that between CM and non-return 56 d was -0.03. Posterior SD of our estimates for genetic correlations were relatively high, which however still agreed with results for conception rates obtained from linear and threshold model applications for Holstein dairy cattle in UK (Kadarmideen et al., 2000).

CONCLUSIONS

Structural equation models were used for detangling phenotypic and genetic associations among phenotypes, in particular, between CM and health-related production traits. Due to the multi-factorial impact on CM, effects simultaneously considered in the statistical model included a genetic component, general environmental effects, and cow specific environmental effects (= antibiotic treatments). On the phenotypic level, FPR and SCS, as measured early in lactation, substantially increased LCM. For other production traits, their impact on LCM was ignorable, because the corresponding structural coefficients were all close to zero. In the ongoing lactation, only the association between CM and SCS was substantially different from zero: an indication that CM- susceptible cows were characterized by increasing levels of SCS. Estimated recursive effect was positive from CM to CTFS, and negative from CM to SFI. In accordance to the causal associations on the phenotypic pathways, strong antagonistic genetic relationships between MY and CM were estimated. The effect of the CM treatment on test-day traits in the ongoing lactation was non-significant. According to the solutions of the SEM, the posterior mean for SCS after the treatment with beta-lactam-antibiotics was slightly lower by factor 1.12 compared to the homeopathic treatment.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors gratefully acknowledge co-funding from the European Commission, under the Seventh Framework Programme for Research and Technological Development, for the Collaborative Project LowInputBreeds (Grant agreement No 222623). However, the views expressed by the authors do not necessarily reflect the views of the European Commission, nor do they in any way anticipate the Commission's future policy in this area. Funding of Pia Rehbein by the German Federal Office of Consumer Protection and Food Safety is gratefully acknowledged. X.-L. Wu acknowledges the funding from the University of Wisconsin – Madison Foundation.

REFERENCES

- Bergk, N., Swalve, H.H., 2010. Der Fett-Eiweiß-Quotient in der Früh lactation als Indikator für den Verbleib von Erstkalbinnen in der Milchkuhherde. *Züchtungskunde* 83, 89-103.
- Biscarini, F., Kramer, M., Bapst, B., Simianer, H., 2011. Estimation of genomic breeding values for traits with high and low heritability in Brown Swiss bulls. *Book of Abstracts of the 62nd Annual Meeting of the European Federation of Animal Science*. ISBN 978-90-8686-177-4.
- Buttchereit, N., Stamer, E., Junge, W., Thaller, G., 2010. Evaluation of five lactation curve models fitted for fat:protein ratio of milk and energy balance. *J. Dairy Sci.* 93, 1702-1712.
- Carlen, E., Strandberg, E., Roth, A., 2004. Genetic parameters for clinical mastitis, somatic cell score, and production in the first three lactations of Swedish Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 87, 3062-3070.
- de los Campos, G., Gianola, D., Heringstad, B., 2006. A structural equation model for describing relationships between somatic cell score and milk yield in first-lactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89, 4445-4455.
- Emanuelson, U., Danell, B., Philipsson, J., 1988. Genetic parameters for clinical mastitis, somatic cell counts, and milk production estimated by multiple-trait restricted maximum likelihood. *J. Dairy Sci.* 71, 467-476.
- Fleischer, P., Metzner, M., Beyerbach, M., Hoedemaker, M., Klee, W., 2001. The relationships between milk yield and the incidence of some diseases in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84, 2025-2035.
- Gernand, E., Waßmuth, R., von Borstel, U.U., König, S., 2007. Heterogeneity of variance components for production traits in large-scale dairy farms. *Livest. Sci.* 112, 78-89.

- Gernand, E., Rehbein, P., von Borstel, U.U., König, S., 2011. Incidences of and genetic parameters for mastitis, claw disorders and common health traits recorded in dairy cattle contract herds. *J. Dairy Sci.* 95, 2144-2156.
- Gianola, D., 1982. Theory and analysis of threshold characters. *J. Anim. Sci.* 54:1079-1096
- Gianola, D., Sorensen, D., 2004. Quantitative genetic models for describing simultaneous and recursive relationships between phenotypes. *Genetics* 167, 1407-1424.
- Gundelach, Y., Kalscheuer, E., Hamann, H., Hoedemaker, M., 2011. Risk factors associated with bacteriological cure, new infection, and incidence of clinical mastitis after dry cow therapy with three different antibiotics. *J. Vet. Sci.* 12(3), 227-233.
- Haldane, J.B.S., Priestley, J.G.M., 1905. The regulation of the lung-ventilation. *J. Physiol.* 32, 225-266.
- Hektoen, L., Larsen, S., Odegaard, S.A., Loken, T., 2004. Comparison of homeopathy, placebo, and antibiotic treatment of clinical mastitis in dairy cows - methodological issues and results from a randomized-clinical trial. *J. Vet. Med.* 51, 439-446.
- Heringstad, B., Klemetsdal, G., Ruane, J., 2000. Selection for mastitis resistance in dairy cattle: A review with focus on the situation in the Nordic countries. *Livest. Prod. Sci.* 64, 95-106.
- Heringstad, B., Chang, Y.M., Gianola, D., Klemetsdal, G., 2005. Genetic associations between susceptibility to clinical mastitis and protein yield in Norwegian Dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 88, 1509-1514.
- Heringstad, B., Wu, X.-L., Gianola, D., 2009. Inferring relationships between health and fertility in Norwegian Red cows using recursive models. *J. Dairy Sci.* 92, 1778-1784.
- Jamrozik, J., Schaeffer, L.R., 2010. Recursive relationships between milk yield and somatic cell score of Canadian Holsteins from finite mixture random regression models. *J. Dairy Sci.* 93, 5474-5486.

- Jamrozik, J., Bohmanova, J., Schaeffer, L.R., 2010. Relationships between milk yield and somatic cell score in Canadian Holsteins from simultaneous and recursive random regression models. *J. Dairy Sci.* 93, 1216-1233.
- Jamrozik, J., Schaeffer, L.R., 2011. Test-day somatic cell score, fat-to-protein ration and milk yield as indicator traits for sub-clinical mastitis in dairy cattle. *J. Anim. Breed. Genet.* 129, 11-19.
- Janssens, A.C., van Duijn, C.M., 2008. Genome-based prediction of common diseases: advances and prospects. *Hum. Mol. Genet.* 17, 166-173.
- Kadarmideen, H.N., Thompson, R., Simm, G., 2000. Linear and threshold model genetic parameters for disease, fertility and milk production in dairy cattle. *Anim. Sci.* 71, 411-419.
- Kadarmideen, H.N., Pryce, J.E., 2001. Genetic and economic relationships between somatic cell count and clinical mastitis and their use in selection for mastitis resistance in dairy cattle. *Anim. Sci.* 73, 19-28.
- Koeck, A., Heringstad, B., Egger-Danner, C., Fuerst, C., Winter, P., Fuerst-Waltl, B., 2010. Genetic analysis of clinical mastitis and somatic cell count traits in Austrian Fleckvieh cows. *J. Dairy Sci.* 93, 5987-5995.
- König, S., Sharifi, A.R., Wentrot, H., Landmann, D., Eise, M., Simianer, H., 2005. Genetic parameters of claw and foot disorders estimated with logistic models. *J. Dairy Sci.* 88, 3316-3325.
- König, S., Hübner, G., Sharifi, A.R., Bohlsen, E., Detterer, J., Simianer, H., Holtz, W., 2006. Relationship between somatic cell score and success of first inseminations in dairy cattle estimated with logistic models. *Züchtungskunde* 78, 89-101.
- König, S., Swalve, H.H., 2006. A model calculation on the prospects of an improvement of claw health in dairy cattle via genetic selection. *Züchtungskunde* 78, 345-356.

- König, S., Wu, X.-L., Gianola, D., Heringstad, B., Simianer, H., 2008a. Exploration of relationships between claw disorders and milk yield in Holstein cows via recursive linear and threshold models. *J. Dairy Sci.* 91, 395-406.
- König, S., Chang, Y.M., von Borstel, U.U., Gianola, D., Simianer, H., 2008b. Genetic and phenotypic relationships among milk urea nitrogen, fertility, and milk yield in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 91, 4372-4382.
- Krabisch, P., Gangl, A., Wittkowski, G., Fehlings, K., 1999. Prävalenzen der Antibiotika-Restistenz in Milchviehherden bei Infektionserregern mit humanmedizinischer Bedeutung. *Chemoth. J.* 8(6), 210-218.
- Langoni, H., Citadella, J., Nobrega, D.B., Faccioli, P.Y., Guimares de Freitas, F., 2011. *Vet. e. Zootec.* 18(4), 621-631.
- Lopez de Maturana, E., Legarra, A., Varona, L., Ugarte, E., 2007. Analysis of fertility and dystocia in Holsteins using recursive models, handling censored and categorical data. *J. Dairy Sci.* 90, 2012-2024.
- Lopez de Maturana, E., Wu, X.-L., Gianola, D., Weigel, K.A., Rosa, G.J.M., 2009. Exploring biological relationships between calving traits in primiparous cattle with a Bayesian recursive model. *Genetics* 181, 277-287.
- Miglior, F., Muir, B.L., Van Dormaal, B.J., 2005. Selection indices in Holstein cattle of various countries. *J. Dairy Sci.* 88, 1255-1263.
- Milner, P., Page, K.L., Hillerton, J.E., 1997. The effects of early antibiotic treatment following diagnoses of mastitis detected by a change in the electrical conductivity of milk. *J. Dairy Si.* 80, 859-863.
- Ødegard, J., Klemetsdal, G., Heringstad, B., 2003. Genetic improvement on mastitis resistance: Validation of somatic cell score and clinical mastitis as selection criteria. *J. Dairy Sci.* 86, 4129-4136.

- Pfeifer, Y., Eller, C., 2012. Current data and trends about the resistance of gram-negative pathogens to beta-lactams. *Eutergesundheitsdienst* 55, 1405-1409.
- Raftery, A. E., Lewis, S., 1992. How many iterations in the Gibbs sampler? Pages 763-774 in *Bayesian Statistics 4*. J. M. Bernardo, J. O. Berger, A. P. Dawid, and A. F. M. Smith, eds. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Rozzi, P., Miglior, F., Hand, K.J., 2007. A total merit selection index for Ontario organic dairy farmers. *J. Dairy Sci.* 90, 1584-1593.
- Sadeghi-Sefidmazgi, A., Moradi-Sharbabak, M., Nejati-Javaremi, A., Miraei-Ashtiani, S.R., Amer, P.R. 2011. Estimation of economic values and financial losses associated with clinical mastitis and somatic cell score in Holstein dairy cattle. *Animal* 5(1), 33-42.
- Samore, A. B, Roman-Ponce, S.I., Vevey, M., Maltecca, C., Bagnato, A., 2010. The causal relationship between specific pathogens and milk somatic cells in Valdostana Cattle Breed.
- Proc. 9th Wld. Congr. Genet. Appl. Livest. Prod., Leipzig, Germany, August 1 – 6, Abstract no. 707. German Society for Animal Science, Leipzig, Germany.
- Santos, J. E. P., Rainard, R.L., Ballou, M.A., Higginbotham, G.E., Kirk, J.E., 2004. Effects of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 80, 31-45.
- Schrick, F. N., Hockett, M.E., Saxon, A.M., Lewis, M.J., Dowlen, H.H., Oliver, S.P., 2001. Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *J. Dairy Sci.* 84, 1407-1412.
- Stoop, W. M., Bovenhuis, H., van Arendonk, J.A.M., 2007. Genetic parameters for milk urea nitrogen in relation to milk production traits. *J. Dairy Sci.* 90, 1981-1986.
- Van Eenennaam, A. L., Gardner, I.A., Holmes, J., Perani, L., Anderson, R.J., Cullor, J.S., Guterbrock, W.M., 1995. Financial analyses of alternative treatments for clinical mastitis associated with environmental pathogens. *J. Dairy Sci.* 78, 2086-2095.

- Wu, X.-L., Heringstad, B., Chang, Y.M., de los Campos, G., Gianola, D., 2007. Inferring relationships between somatic cell score and milk yield using simultaneous and recursive models. *J. Dairy Sci.* 90, 3508-3521.
- Wu, X.-L., Heringstad, B., Gianola, D., 2008. Exploration of lagged relationships between mastitis and milk yield in dairy cows using a Bayesian structural equation Gaussian-threshold model. *Gen. Sel. Evol.* 40, 333-357.
- Yin, T., von Borstel, U.U., Bapst, B., Simianer, H., König, S., 2012. Genetic parameters for gaussian and categorical traits in organic and low input dairy cattle herds based on random regression methodology. *Livest. Sci.* 147, 159-169.

Kapitel IX

Allgemeine Diskussion

9.1 Einleitung

Die in der Arbeit durchgeführten Analysen dienen der Darstellung von Mastitiden und deren Behandlungen sowie deren Auswirkungen auf ausgewählte Produktions- und Gesundheitsmerkmale sowohl auf quantitativ-genetischer als auch auf phänotypischer Ebene. In der folgenden Diskussion soll das Thema abschließend betrachtet werden, indem weiterführend a) auf Aspekte der Mastitis und unerwünschte Nebenwirkungen aus veterinärmedizinischer Perspektive und b) methodische Weiterentwicklungen bzgl. der genetisch-statistischen Modellierung eingegangen wird. Zu a) gehören u.a. Diagnose und Prophylaxemaßnahmen incl. der Auswertung eines eigens initiierten Versuchsdesigns. Die Weiterentwicklung der genetisch-statistischen Modellierung von binär verteilten longitudinalen Gesundheitsdaten b) zielt konkret ab auf die Anwendung von Random Regression Schwellenwertmodellen.

9.2 Diagnostik der Mastitis

Die Diagnostik der Mastitis erfolgt in der heutigen Zeit auf vielen Ebenen. In erster Linie ist die exakte klinische Untersuchung an der Kuh ein probates Mittel um die klinische Mastitis zu erkennen. Im Anschluss ist eine bakteriologische Untersuchung der Viertelgemelksproben auf Einzeltier- oder Herdenbasis für eine gezielte antibiotische Behandlung und geeignete Prophylaxemaßnahmen unabdingbar.

9.3 Antibiotische Behandlung der Mastitis und Alternativen

Der Einsatz von Antibiotika in der Nutztierhaltung ist kontrovers diskutiert. Antibiotika kommen zwar nur zur Behandlung bakterieller Infektionskrankheiten und nach tierärztlicher Diagnostik zur Anwendung, trotzdem stehen Tierärzte und Landwirte in der Kritik, zu häufig und zu große Mengen Antibiotika einzusetzen. Alle Angaben zur Antibiotikaverschreibung und Antibiotikaanwendung müssen sowohl von Tierärzten als auch von Landwirten schon seit Jahren lückenlos dokumentiert werden. Eine systematische Erfassung dieser Daten oder eine überbetriebliche Auswertung ist bislang jedoch noch nicht erfolgt.

Um eine sachgerechte Aussage zum Antibiotikaeinsatz in der Nutztierhaltung treffen zu können, sollen diese Daten zukünftig zentral erfasst und ausgewertet werden. Einige Länder haben solche Systeme bereits eingeführt. Das Antibiotikamonitoring wird für die Geflügelhalter ab 1. April 2013 und für Mastschweinehalter ab 1. September 2013 verpflichtend werden. Eine zentrale Erfassung für Milchviehhalter ist zwar bisher noch nicht in konkreter Planung, aber es ist dennoch in Zukunft damit zu rechnen. Diese Antibiotikadatenbank hat dann auch den Effekt, dass Betriebe mit sehr hohem Antibiotikaverbrauch negativ auffallen. Spätestens dann wird es dazu kommen, dass sich sowohl die Landwirte als auch die Tierärzte über gute Alternativen Gedanken machen müssen.

Generell scheint der Antibiotikaverbrauch im Zusammenhang mit Mastitisbehandlungen zu sinken. In der vorliegenden Studie (Kapitel III) sinkt der Verbrauch von Penethamathydroiodid, welches zur Mastitistherapie am häufigsten eingesetzt wurde, innerhalb des Studienzeitraums von drei Jahren erheblich (Tabelle. 1).

Pyörälä et al. (2012) kamen in ihrer Studie zu einem ähnlichen Ergebnis. Sie stellten die Entwicklung des Verbrauchs intramammärer Antibiotika in Finnland dar. Der Verbrauch sank von 2,9 Injektoren pro Kuh/ Jahr in 1999 auf 2,0 Injektoren pro Kuh/ Jahr in 2010.

Tabelle 1. Verbrauch von Penethamathydroiodid zur Mastitisbehandlung auf zwei Betrieben in den Jahren 2008- 2010

Jahr	Verbrauch von Penethamathydroiodid (in mg) Betrieb A	Verbrauch von Penethamathydroiodid (in mg) Betrieb B
2008	158 000	139 700
2009	90 000	35 500
2010	60 000	28 000

9.4 Prophylaxemaßnahmen

9.4.1 Behandlungen vor dem Zeitraum des Trockenstellens

Während der Trockenstehperiode soll dem Euter eine Ruhephase ermöglicht werden. Diese ist nötig, damit in der Folgelaktation adäquate Milchleistungen erzielt werden. Außerdem können latente Infektionen in diesem Zeitraum ausheilen. In den ersten beiden Laktationsmonaten ist die Mastitisinzidenz am höchsten; häufig sind die dafür verantwortlichen Infektionen während der Trockenstehphase entstanden. Ein gutes Trockenstehmanagement ist daher ein wichtiges Instrument für eine gute Eutergesundheit und darüber hinaus entscheidend für den Stoffwechsel und die Fruchtbarkeit der Kuh in der folgenden Laktation, sowie für die Anreicherung von Immunglobulinen im Kolostrum. Dies ist besonders wichtig für die Kälbergesundheit im Betrieb. Die Trockenstehperiode sollte ca. 6-9 Wochen umfassen. Das Trockenstellen erfolgt in der Regel abrupt von einer Melkzeit auf die nächste. Das Trockenstellen durch immer länger werdende Melkintervalle ist abzulehnen, da hierdurch der sich bildende Keratinfropf, der eine mechanische Barriere für eindringende Keime während der Trockenstehphase darstellt, am Entstehen gehindert wird. Das Trockenstellen kann durch verschiedene Behandlungen begleitet werden, die im Folgenden erläutert werden sollen.

9.4.1.1 Trockenstellen unter antibiotischem Schutz

Seit ca. Mitte der fünfziger Jahre wird das Trockenstellen von Milchkühen unter antibiotischem Schutz in vielen Ländern mit intensiver Milchproduktion routinemäßig durchgeführt. Diese antibiotische Trockenstelltherapie hat sich zum einen als wirksam erwiesen um bestehende Euterinfektionen auszuheilen und zum anderen um eine Prophylaxe gegen Neuinfektionen zu betreiben. In diesem Zusammenhang ist jedoch kritisch zu betrachten, dass bei einem routinemäßig eingesetzten Antibiotikum auch Tiere behandelt werden, die eutergesund sind und infolgedessen der Einsatz von Antibiotika nicht notwendig wäre. Diese Tatsache widerspricht den Leitlinien für den Einsatz von Antibiotika. Außerdem ist der Schutz durch Antibiotika in der Trockenstehzeit nicht vollständig. Zum einen ist ein Antibiotikum nie gegen alle potentiellen bakteriellen Erreger einer Mastitis wirksam, und zum anderen fällt die Wirkstoffkonzentration zum Ende der Trockensteherzeit hin ab, teilweise

sogar unter die minimale Hemmstoffkonzentration, so dass in der kritischen Phase des Aufeuterns in einigen Fällen auch gegen eigentlich sensible Erreger kein Schutz mehr vorliegt.

In Deutschland ist die Auswahl an antibiotischen Trockenstellern relativ groß. Insgesamt sind derzeit 16 Präparate (www.vetidata.de) auf dem Markt. Hauptkomponente der meisten Trockensteller ist ein Beta- Laktam Antibiotikum, in einigen Fällen in Kombination mit einem Aminoglykosid Antibiotikum, um einen synergistischen Effekt zu erzielen. Generell sollte bei der Auswahl eines geeigneten antibiotischen Trockenstellers darauf geachtet, dass die Erregersituation in einer Herde bekannt ist. Geeignete Antibiotika für die Trockenstelltherapie müssen vor ihrem Einsatz einem Resistenztest unterzogen werden, um sich ihrer Wirksamkeit zu vergewissern. Andernfalls läuft man Gefahr, dass sich Resistenzen gegen Antibiotika in der Herde entwickeln.

9.4.1.1.a Praxisstudie: Auswirkungen der Behandlung von Färsen mit antibiotischen Trockenstellern vor dem Kalben

Für die vorliegende Dissertation wurde im Zeitraum von 01.09.2009 bis 30.06.2011 eine Studie an 31 Färsen durchgeführt, die zum ersten Abkalben anstanden. Ziel der Studie war es, zum einen herauszufinden, ob durch die prophylaktische Applikation eines antibiotischen Trockenstellers höhere Leistungen bezüglich der untersuchten Produktionsmerkmale und eine verbesserte Eutergesundheit in der ersten Laktation einer Kuh realisiert werden können. Zum anderen wurden die Studie genutzt, um etwaige UAW in Zusammenhang mit den applizierten Antibiotika zu erfassen. Hierzu wurde analog zur Studie „Evaluation of adverse drug reactions (ADR) of antibiotic drugs for the treatment of mastitis in dairy cows“ (Kapitel III) der Fragebogen „Unerwünschte Arzneimittelwirkungen nach der Verabreichung von Antibiotika zur Behandlung von Mastitiden (in Anlehnung an vet-uaw.de)“ aus Kapitel 11.1 genutzt.

Die 31 Tiere wurden in zwei Versuchsgruppen eingeteilt. Im Sinne einer "Case and Control - Study" wurde ein strikt randomisiertes Versuchsdesign erstellt. Hierbei wurden Färsen mit einer letzten ungeraden Ohrmarkenziffer antibiotisch behandelt, während Tiere mit gerader letzter Ohrmarkenziffer keine Behandlung erhielten (= Kontrollgruppe). Der Versuch wurde

im Zeitraum von drei bis vier Wochen vor dem errechneten Kalbetermin durchgeführt. Die Tiere wurden während des routinemäßig auf dem Versuchsbetrieb in diesem Zeitraum durchgeführten Klauenschnitts im Klauenstand fixiert und je nach Ohrmarkenziffer prophylaktisch antibiotisch behandelt (oder eben nicht). Insgesamt wurden 21 Tiere mit antibiotischem Trockensteller behandelt. Somit fungierten 10 Färsen als Kontrollgruppe. Bei dem verwendeten antibiotischen Trockensteller handelt es sich um ein Arzneimittel mit den zwei antibiotischen Wirkstoffkomponenten Penicillin und Neomycin; ein Injektor zu 9 g enthielt 1030,0 mg Benzylpenicillin-Procaïn und 320,0 mg Benzylpenicillinkalium sowie 780,0 mg Neomycinsulfat.

An den genannten Daten wurde ein Mittelwertvergleich im gemischt linearen Modell (Prozedur proc mixed des Statistikpaketes SAS) durchgeführt. Eine Korrektur erfolgte lediglich auf die lineare Kovariable des Erstkalbealters. Es erfolgte eine Analyse des ersten offiziellen Probegemelks der monatlichen Milchkontrolle nach der Kalbung für die Merkmale Milch-kg, Fett-%, Protein-%, Zellzahl, Fett-%:Eiweiß-%-Quotient und MUN. Zentrales Ergebnis der Varianzanalyse war, dass es zwischen den beiden Versuchsgruppen keine signifikanten Unterschiede ($P < 0,05$) bzgl. der Mittelwertvergleiche innerhalb beider Gruppen für die analysierten Merkmale gab. Des Weiteren wurde für keine der Behandlungen eine UAW diagnostiziert und somit auch nicht gemeldet.

Die präpartale Applikation antibiotischer Substanzen an Färsen wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Sampimon et al. (2009a) fanden in einer Studie heraus, dass durch die prophylaktische Applikation von Antibiotika höhere Milchleistungen in der ersten Laktation erzielt werden können, wohingegen andere Studien dies nicht bestätigen (Borm et al., 2006). Andere Studien differenzierten zwischen Herden mit einer hohen Mastitisprävalenz und solchen mit einer niedrigen. In Herden mit einer hohen Mastitisprävalenz oder einer hohen Prävalenz von Mastitisserregern, die subklinische Mastitiden hervorrufen, wurden durch die prophylaktische antibiotische Behandlung positive Effekte bezüglich der Mastitisinzidenz und der Milchleistung in der ersten Laktation nachgewiesen (Kreiger et al., 2007; Bryan und Taylor, 2009; Sampimon et al., 2009a). Barlow et al. (2009) erörterten in einer Studie den Einfluss des Managements auf den Erfolg der präpartalen antibiotischen Behandlung. In gut gemangementen Herden hatte die Behandlung kaum einen Einfluss, während in schlecht

gemanagerten Herden eine prophylaktische Applikation von Antibiotika einen positiven Effekt auf Produktionsmerkmale und die Mastitisinzidenz in der ersten Laktation erzielen konnte. In diesem Zusammenhang soll aber darauf hingewiesen werden, dass die prophylaktische Applikation eines Antibiotikums keineswegs ein geeignetes Managementtool ist, um die Mastitisrate in einer Herde effektiv zu senken. Andere Massnahmen wie die Verbesserung der Hygiene oder der Fütterung scheinen hier geeigneter zu sein. Ausserdem muss man bei der Verwendung von antibiotischen Trockensteller beachten, dass es sich um einen Off- Label Use handelt, da diese Medikamente nicht für die Behandlung an Färsen zugelassen sind, sondern ausdrücklich für trockenstehende Milchkühe bestimmt sind. Daher muss der betreuende Hoftierarzt eine tierärztliche Indikation festlegen, um es dem Landwirt zu ermöglichen die Medikamente an Färsen anwenden zu dürfen (Nickerson, 2009).

9.4.1.2 Trockenstellen mit Zitzenversiegeln

Das Trockenstellen mit Zitzenversiegeln soll den natürlichen Keratinpfropf, der normalerweise zu Beginn der Trockenstehphase im Strichkanal gebildet wird, in seiner Funktion als mechanische Barriere unterstützen. Da sich der Keratinpfropf erst verzögert bildet, entsteht ein Zeitintervall in dem Keime nahezu ungehindert über den Strichkanal in das Euter einwandern können. Dadurch, dass die Kuh auch nicht mehr gemolken wird, entfällt auch eine Spülwirkung, bei der zusammen mit der Milch Erreger aus dem Euter herausgespült werden könnten.

Zwischen den Zitzenversiegeln unterscheidet man die externen und die internen. Bei den externen Zitzenversiegeln handelt es sich um filmbildende Emulsionen. Diese haben keine lang anhaltende Wirkung. Die Applikation muss während der Trockenstehzeit mehrfach wiederholt werden, da der Film sich mit der Zeit abnutzt. Bei den internen Zitzenversiegeln handelt es sich um Präparate, die Wismut als Wirkstoff enthalten. Interne Zitzenversiegler bieten einen Schutz durch die gesamte Trockenstehperiode hinweg.

In mehreren Studien wurde bereits nachgewiesen, dass interne Zitzenversiegler in der Lage sind, sowohl die Prävalenz postpartal auftretender subklinischer Mastitiden zu reduzieren, als

auch die Inzidenz klinischer Mastitiden im selben Zeitraum (Parker et al., 2007a, 2008; McDougall et al., 2008).

9.4.1.3 Impfungen gegen Mastitis

In den letzten Jahren ist eine zunehmende Diskussion über immunprophylaktische Maßnahmen zur Steigerung der körpereigenen Abwehrkräfte der Milchkuh gegen Mastitiserreger in der Milchdrüse zu verzeichnen. Zahlreiche Studien beschäftigten sich mit dem Versuch die antikörpergebundene Immunität im Euter mit klassischen Impfmethode anzuregen (Benda, 1993). Durch diese Methode sollte eine höhere Mastitisresistenz in den Beständen geschaffen werden. Ein großer Vorteil dieser Methode wäre eindeutig, dass eine Impfung leicht in routinemäßig durchgeführte Tätigkeiten, wie zum Beispiel im Zuge des Trockenstellens, mit einbezogen werden könnte. Vakzine gegen Staph. Aureus und E. coli wurden bereits entwickelt, zeigen aber noch nicht den gewünschten Erfolg. In den USA besteht eine Zulassung für eine Vakzine gegen E. coli. Mithilfe dieser Vakzine sind die Infektionen allerdings nicht zu verhindern, lediglich der Verlauf wird abgemildert. Studien über den Einsatz von Vakzinen gegen Staph. Aureus bei Milchkühen zeigen unterschiedliche Ergebnisse. Giraud et al. (1997) zeigten in ihrer Studie eine reduzierte Mastitisinzidenz nach dem Einsatz einer Vakzine, während in einer anderen Studie von Tenhagen et al. (2001) der Einsatz einer Staph. Aureus Vakzine keinen Erfolg verzeichnen konnte. Einen weiteren interessanten Ansatz verfolgten Nickerson et al. (1999) mit der Impfung von Färsen in einem Alter von 6 Monaten und einer Boosterung der Impfung zwei Wochen später sowie einer regelmäßigen Nachimpfung alle 6 Monate. In dieser Studie zeigte sich, dass nach diesem Schema vakzinierte Tiere in der ersten Laktation ein signifikant reduziertes Risiko aufweisen an einer Staph. Aureus Mastitis zu erkranken.

Vakzine gegen Streptokokken sind derzeit Gegenstand von Forschungsvorhaben in der EU. In Deutschland und Österreich gibt es bis dato noch keine Zulassungen für Vakzine gegen Mastitis (Winter, 2009). Weitere Untersuchungen und die systematische Erforschung der Euterimmunität sind notwendig, um solche prophylaktischen Maßnahmen routinemäßig einsetzen zu können. Auch die Applikation von Cytokinen, ein natürlich vorkommendes Protein zur Aktivierung der Phagozytose, und der Bakteriocine, ein bakteriell produziertes

Enzym zur Lyse der Zellwände, ist als routinemäßige Prophylaxemaßnahme in der Erforschung.

9.5 Integrierte Tierärztliche Bestandsbetreuung und Mastitis

Die Mastitis ist zweifelsohne eine multifaktorielle Erkrankung und stellt für den Landwirt einen enormen wirtschaftlichen Verlust dar, der sich hauptsächlich aus Tierärztkosten und dem Milchmengenverlust während der Erkrankung und auch in der Folge, zusammen setzt. Vorbeugung durch geeignete Massnahmen vermindert im Fall der Mastitis das Risiko der Erkrankung erheblich. Zwar kommt in der heutigen Zeit der Behandlung des an Mastitis erkrankten Einzeltieres immer noch Bedeutung zu, allerdings ist seit Mitte der 90er Jahre auch die Integrierte Tierärztliche Bestandsbetreuung (ITB) auf dem Vormarsch. Bis Mitte der 90er Jahre stand immer die Milchleistungsteigerung im Vordergrund. Durch die Steigerung der Milchleistung und die wachsenden Herden konnte eine angemessene Einkommensentwicklung in der Milchproduktion grundsätzlich sichergestellt werden. Durch die enorme Steigerung der Milchleistung kam es auch vermehrt zu Problemen mit der Eutergesundheit, da Milchleistung und hohe somatische Zellzahlen miteinander korrelieren (Nyman et al., 2007). Unter den heutigen Bedingungen eines Milchquotensystems und sinkender Milchpreise ist es von besonderer Bedeutung, eine vorgegebene Milchmenge möglichst kostengünstig und ohne Qualitätsverlust zu produzieren (De Kruif et al., 1998). Eben solche Qualitäts- und Milchmengenverluste entstehen aber in Zusammenhang mit einer Mastitis. Die ITB betrachtet den Bestand als Ganzes und versucht allgemein die Herdengesundheit zu verbessern, indem beeinflussende Faktoren wie Haltungsbedingungen und Prophylaxemaßnahmen auf Herden- und nicht auf Einzeltierebene durchgeführt werden. Der betreuende Tierarzt führt mit dem Betriebsleiter eine Gesamtherdenanalyse durch. Hierbei werden Probleme identifiziert und Lösungsstrategien und Ziele gemeinsam entwickelt. Auf dieser Grundlage wird ein Programm erarbeitet, an das sich Betriebsleiter und Tierarzt strikt halten. In festgesetzten Intervallen werden Betriebsabläufe und Dokumentationen geprüft und der aktuelle Stand der Herde untersucht. Das Einzeltier steht hier im Hintergrund, vielmehr wird die gesamte Herdengesundheit verbessert, indem

Erkrankungen nicht nur diagnostiziert und behandelt werden, sondern auch deren auslösende Faktoren betrachtet und bekämpft werden, was letztlich auch dem Einzeltier zu Gute kommt.

9.6 Alternative genetisch-statistische Modellierung

Der Fokus der vorliegenden Arbeit war auf die Anwendung von rekursiven Modellen gerichtet, um die Beziehungen zwischen Merkmalen auf phänotypischer und genetischer Ebene unter Berücksichtigung ihrer Wechselwirkungen und variierenden spezifischen und allgemeinen Umwelteffekten zu modellieren. Für longitudinale Datenstrukturen, d.h. wiederholt auftretende Mastitisfälle im Laufe der Laktation, erscheint auch eine Modellierung mittels Random Regression Modellen (RRM) sinnvoll. Möglichkeiten der breiten Anwendung von Random Regression Modellen sowohl für normalverteilte Produktionsmerkmale als auch für kategorial Daten diskutiert Schaeffer (2004). Jamrozik et al. (1997) verweisen auf den zusätzlichen Vorteil bzgl. der genaueren Modellierung von sogenannten Herdentesttagseffekten, die neben den Umwelteffekten Melkfrequenz, tägliches Klima oder Trächtigkeitsstatus auch tierärztliche Behandlungen abbilden können.

Als weitere statistische Innovation soll somit an dem substantiellen Datenmaterial von Testherden aus Thüringen die Anwendung von RRM für longitudinale binäre Mastitisdaten erprobt werden. Die Datenaufbereitung für die Longitudinaldaten ist in Kapitel IV erklärt. Allerdings konnte in der Zwischenzeit eine Ausdehnung der Datenbasis auf 15 partizipierende Testherden realisiert werden. Der Erfassungszeitraum für klinische Mastitis nach dem hierarchischen Diagnoseschlüssel von Feucker und Staufenbiel (2003) erstreckte sich über den Zeitraum vom 01.01.2007 bis 31.08.2012. Die in der Analyse berücksichtigten Holsteinkühe waren in der ersten, zweiten oder in der dritten Laktation. Die Anzahl Kühe pro Herde variierte von 835 Kühen bis 4276 Kühen. Insgesamt standen somit für die Auswertung 26651 Kühe zur Verfügung, die Töchter von 1258 verschiedenen Vätern waren. Dies impliziert im Durchschnitt 21 Töchter pro Vater und insgesamt 74 Besamungsbullen hatten mehr als 70 Töchter.

Das Grundgerüst der genetisch-statistischen Modellierung wurde in Anlehnung an Bohmanova et al. (2008) für RRM mit Legendre Polynome konzipiert. Bohmanova et al.

(2008) fokussierte allerdings auf Produktionsmerkmale. Für das binäre Merkmal klinische Mastitis wurde das statistische Modell wie folgt abgewandelt und definiert:

$$\pi_{ijkl} = \text{HTD}_i + \sum_{n=1}^q \alpha_{kn} z_n(s) + \sum_{n=1}^q \beta_{jn} z_n(s) + \sum_{n=1}^q \gamma_{jn} z_n(s)$$

mit π = Wahrscheinlichkeit einer klinischen Mastitis der j -ten Kuh am l -ten Testtag; HTD_i = fixer Effekt der i -ten Herdentesstag-Melkfrequenz-Behandlungsklasse; α_{kn} = n -ter fixer Regressionskoeffizient für die Tage in Milch innerhalb Laktationsnummer; q = Anzahl der Kovariablen; β_{jn} = n -ter random regression Koeffizient für denb additiv-genetischen Effekt von Kuh j für die Tage in Milch; γ_{jn} = n -ter random regression Koeffizient für den permanenten Umwelteffekt der von Kuh j für die Tage in Milch; $z(s)$ = Vektor der Kovariablen der Dimension q , welche die Form der fixen und zufälligen Laktationskurve am Tag s beschreibt. Für die Modellierung der fixen und zufälligen Regressionskoeffizienten wurden Legendre Polynomer 4. Ordnung gewählt. Die Standardisierung erfolgte zwischen dem 5. und dem 365. Laktationstag. In bivariaten Rechenläufen mit einem zweiten Merkmale Eiweiß-kg oder Zellzahl wurde für dieses zweite Merkmal das gleiche statistische Modell definiert, wobei für die normal verteilten Merkmale "Somatic Cell Score (SCS)" und Eiweiß-kg allerdings ein lineares Modell anstatt eines Schwellenwertmodells verwendet wurde.

Die Rechenläufe wurden im Bayes-basierten Ansatz mittels Gibbs Sampling im Programmpaket DMU ((Madsen and Jensen, 2010) durchgeführt. Die "Posterior" Schätzwerte basieren auf insgesamt 250000 Iterationsrunden, d.h. 300000 Runden wurden insgesamt definiert, aber davon die ersten 50000 Runden als sogenannte "burn in" Phase gelöscht.

Im Ergebnis zeigt sich, dass RRM im Gegensatz zu rekursiven Modellen in der Lage sind, genetische Parameter und Schätzwerte für longitudinale Mastitsdaten im gesamten Laktationsverlauf abzubilden. Die Heritabilitätsschätzwerte für klinische Mastitis von einem RRM-Einmerkmalsmodell und von den bivariaten Rechenläufen (klinische Mastitis mit Eiweiß-kg bzw. klinische Mastitis mit SCS) zeigt Abbildung 1. Tendenziell höhere Heritabilitäten zu Laktationsbeginn und am Ende der Laktation deuten auf einen variierenden genetischen (und womöglich physiologischen) Hintergrund im Laktationsverlauf. Das heisst,

dass zu Laktationsbeginn u.a. andere Gene angesprochen oder exprimiert werden als am Ende der Laktation. Ähnliche Zusammenhänge zwischen quantitativ-genetischer und physiologischer Ebene wurden von Cammack et al. (2006 und 2009) nachgewiesen.

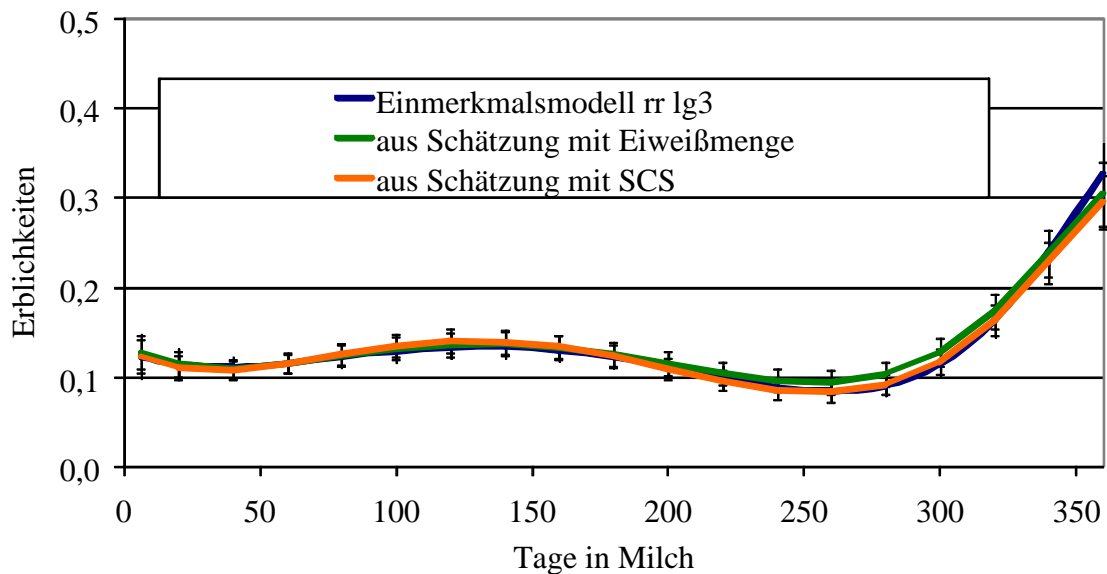


Abb. 1: Heritabilitäten für klinische Mastitis geschätzt mittels RMM-inmerkmalsmodell ($rr\ Ig3$) und mittels bivariater Rechenläufe mit täglicher Eiweißmenge und täglichen SCS

Ursache höherer genetischer Varianzen und Erblichkeiten wie hier für klinische Mastitis insbesondere zu Laktationsende kann auch eine bessere genetische Differenzierung aufgrund einer sich ändernden Umweltgestaltung sein. Darauf haben Gernande et al. (2007) oder auch Brügemann et al. (2012) bei der genetischen Analyse von Produktionsmerkmalen mittels RRM hingewiesen. Beide Autoren konnten höhere additiv-genetische Varianzen und Erblichkeiten für Eiweiß-kg in solchen Produktionssystemen nachweisen, die durch eine bessere Umweltgestaltung und reduzierte Stresssituationen (z.B. Hitzestress) charakterisiert

waren. Bezug nehmend auf die Schätzwerte der vorliegenden Analyse könnte man nun postulieren, dass zum Ende der Laktation die Kuh weniger Stress ausgesetzt verglichen mit dem Laktationsbeginn, wo insbesondere bei Hochleistungskühen ein substantielles negatives Energiedefizit vorzufinden ist (u.a. Collard et al., 1999). Auf der anderen Seite gibt es aber auch die Meinung, dass für funktionale Merkmale eine bessere genetische Differenzierung erfolgt, wenn die produzierenden Kuh herausfordernden Umweltbedingungen "challenge situation" (siehe u.a. Brügemann et al., 2013; Schierenbeck et al., 2011) ausgesetzt ist.

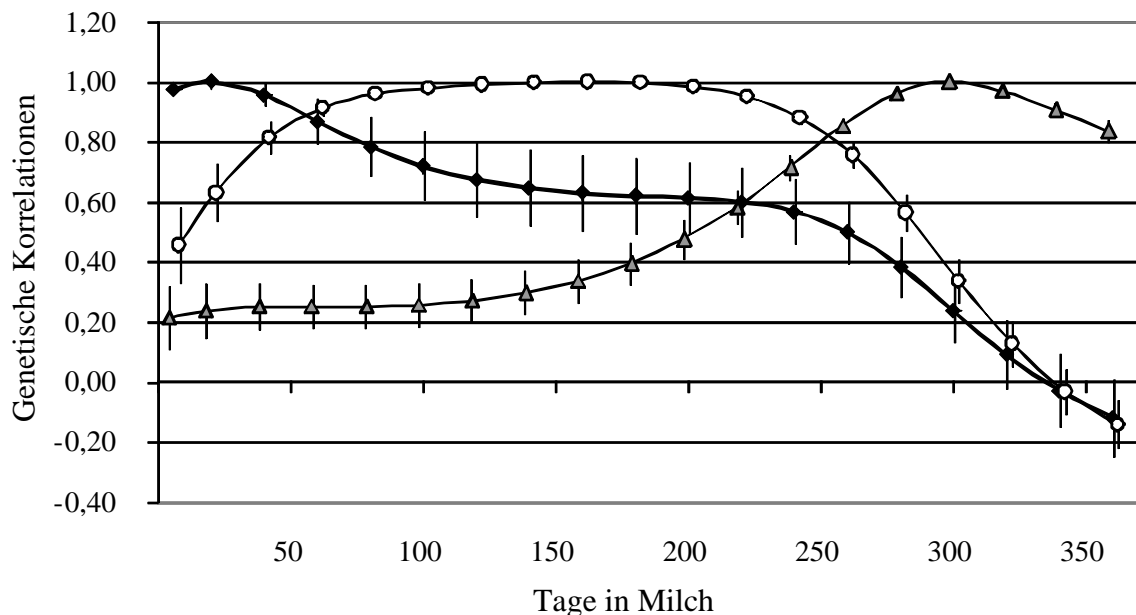


Abb. 2. Genetische Korrelation zwischen Mastitis an Tag 20 und allen übrigen Testtagen (schwarze Rauten), zwischen Mastitis an Tag 160 und allen übrigen Testtagen (weiße Kreise) und zwischen Mastitis an Tag 300 und allen übrigen Testtagen (graue Dreiecke)

Im Gegensatz zu rekursiven Modellen können mittels RRM auch genetische Beziehungen für Mastitis zwischen allen möglichen Testtagen (Abb. 2) oder zwischen Mastitis und anderen

Merkmale wie in dieser Studie Zellzahl und Eiweiß-kg für alle Testtagskombinationen (Abb. 3 und Abb. 4) abgebildet werden.

Die genetischen Korrelationen im gleichen Merkmal zeigen (Abb. 2), dass benachbarte Testtage für das gleiche Merkmal klinische Mastitis sehr eng miteinander korreliert sind. Hier spiegeln sich somit die Erkenntnisse für normalverteilte Produktionsmerkmale wider (u.a. Gernand et al., 2007; Brügemann et al., 2012). Die genetischen Korrelationen zwischen Mastitis und dem somatischen Zellgehalt, welcher routinemäßig als Indikator der Eutergesundheitsmerkmale in Milchrinderzuchtprogrammen genutzt wird, liegt im erwarteten Bereich von $r_g = 0,70$ (Abb. 3). Hier bestätigen sich Ergebnisse früherer Studien mit einfacheren statistischen Modellen. Lediglich zu Laktationsende werden die genetischen Korrelationen deutlich schwächer. Hier ist aber auch zu berücksichtigen, dass diese später Laktationsphase durch eine sehr niedrige Krankheitsinzidenz charakterisiert ist, was auch Auswirkungen auf die Qualität der statistischen Modellierung haben kann.

Mittels RRM können weiterführend etwaige genetische Antagonismen zwischen Eiweiß-kg und klinischer Mastitis im Laktationsverlauf abgebildet werden. Für Abb. 4 wurden ausgewählte Testtage für klinische Mastitis extrahiert (Tag 20, Tag 160, Tag 300) und diese mit allen Laktationstagen für Eiweißmenge genetisch korreliert. Ein deutlicher genetischer Antagonismus konnte hier allerdings nicht nachgewiesen werden.

Die Anwendung von RRM zeigt somit deutliche Alternativen der genetisch-statistischen Modellierung auf, um Beziehungen zwischen Merkmalen unter variierenden Umweltbedingungen (hier: Laktationsverlauf) abbilden zu können. Somit konnte in der Analyse eine vollständige longitudinale binäre Datenstruktur genutzt werden, während im rekursiven Ansatz lediglich zwei wiederholte Messungen je Einzeltier berücksichtigt bzw. modelliert wurden. Allerdings sind RRM nicht in der Lage, auf phänotypischer Ebene etwaige Rückkoppelungseffekte zwischen Merkmalen so abzubilden, wie das mit rekursiven Modellen möglich ist. Weitere Überlegungen sollten in die Richtung gehen, genetisch-statistische Modelle zu testen und zu evaluieren, die beide Aspekte miteinander kombinieren. Das würde heißen, dass Rückkoppelungseffekte zwischen allen aufeinanderfolgenden Testtagen modelliert werden. Weiter hat der Ausblick der statistischen Modellierung mittels RRM

zeigt, dass der Herdentesttageeffekt noch weiter in Melkfrequenz und Behandlungsklassen wie der antibiotischen Applikation aufgesplittet werden kann.

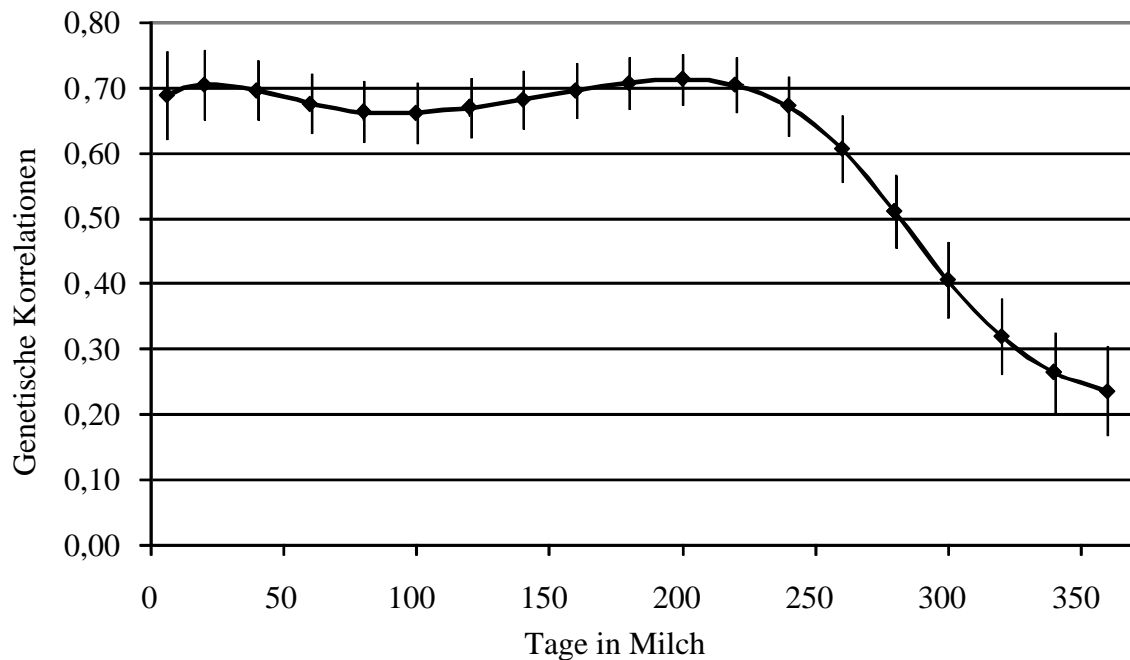


Abb. 3. Genetische Korrelationen zwischen klinischer Mastitis und somatischem Zellgehalt (SCS) am gleichen Testtag.

Somit kann die spezielle Umwelt der Kuh noch weiter spezifiziert werden, da auch innerhalb einer Herde verschiedene Umwelteffekte wie eben die Melkfrequenz oder tierärztliche Anwendungen auf das Einzeltier einwirken. Lösungen dieser "Umwelteffekte" werden in diesem genetisch-statistischen Ausblick nicht weiter diskutiert aber sollen Anregung dafür geben, dass in Zukunft noch weitere Umwelteffekte auf Herdenebene erfasst werden. Es gilt nicht nur, die genetische Komponente basierend auf zunehmend detaillierter Information wie z.B. von Hochdurchsatztypisierungen genauer zu erfassen, sondern auch die Produktionsumwelt im Detail zu beschreiben. Mit einer derartigen Vorgehensweise könnte die Restvarianz weiter reduziert und Lösungen für genetische Effekte und Umwelteffekte

genauer geschätzt werden. Hierzu haben König et al. (2005) schon erste Gedanken zur genaueren Schätzung von genetischen Parametern in Großbetrieben der Neuen Bundesländer formuliert.

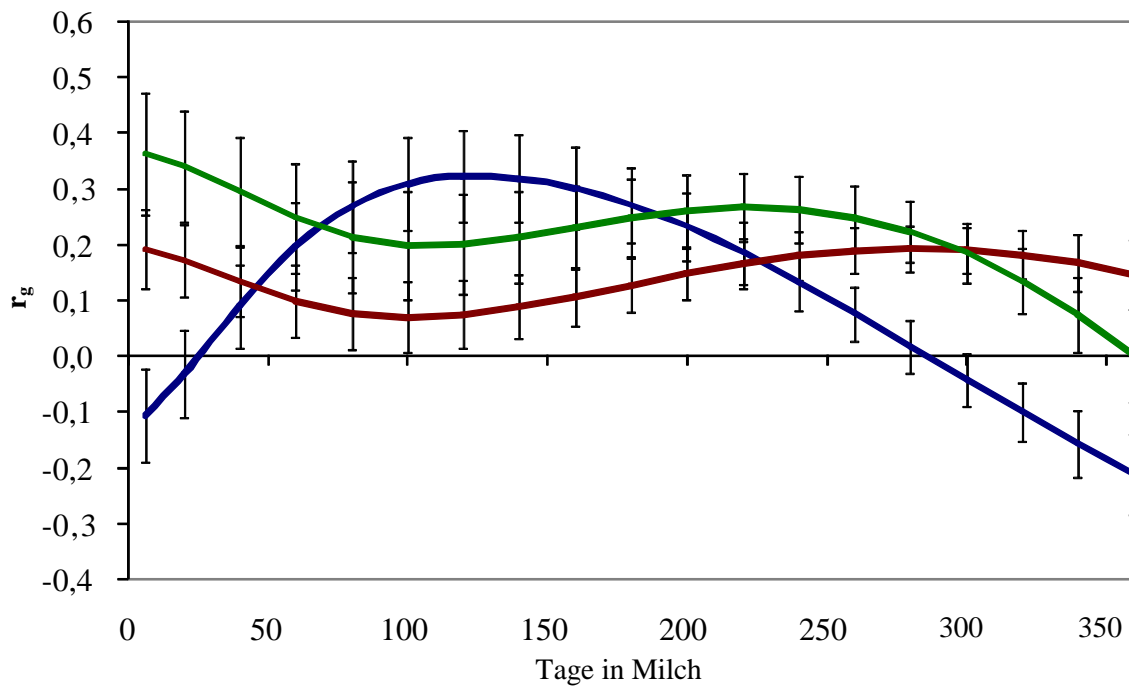


Abb. 4. Genetische Korrelationen zwischen Mastitis an Tag 20 und täglichen Eiweiß-kg (blaue Kurve), zwischen Mastitis an Tag 160 und täglichen Eiweiß-kg (braune Kurve) und zwischen Mastitis an Tag 300 und täglichen Eiweiß-kg (grüne Kurve).

9.7 Literaturverzeichnis

- Barlow, J. W., L. J. White, R. N. Zadoks, Y. H. Schukken. (2009): A mathematical model demonstrating indirect and overall effects of lactation therapy targeting subclinical mastitis in dairy herds. *Prev. Vet. Med.* 90:31–42
- Bohmanova, J., Miglior, F., Jamrozik, J., Misztal, I., Sullivan, P.G. (2008): Comparison of random regression models with legendre polynomials and linear splines for production traits and somatic cell score of Canadian Holstein cows. *J. Dairy Sci.*,91, 3627-3638.
- Borm, A. A., L. K. Fox, K. E. Leslie, J. S. Hogan, S. M. Andrew, S. P. Oliver, Y. H. Schukken, D. D. Hancock, C. T. Gaskins, W. E. Owens, C. Norman. (2006): Effects of prepartum intramammary antibiotic therapy on udder health, milk production, and reproductive performance in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 89:2090–2098.
- Brügemann, K., E. Gernand, U. U. von Borstel, S. König (2012): Defining and evaluating heatstress thresholds in different dairy cow production systems. *Archiv Tierzucht* 55: 13-24.
- Brügemann, K., E. Gernand, U.U. v. Borstel, S. König (2013): Application of random regression models to infer the genetic background and phenotypic trajectory of binary conception rate by alterations of temperature x humidity indices. *Livest. Sci.* doi: 10.1016/j.livsci.2013.08.009.
- Bryan, M., und K. Taylor (2009): Periparturient use of parenteral micronised procaine penicillin to reduce the risk of clinical mastitis in heifers after calving. *Vet. Microbiol.* 134:143–149
- Cammack, K.M., Mesa, H., and Lamberson, W.R. (2006): Genetic variation in fertility of heat-stressed male mice. *Theriogenology* 66(9), 2195-2201.

- Cammack, K.M., Antoniou, E., Hearne, L. and Lamberson, W.R. (2009): Testicular gene expression in male mice divergent for fertility after heat stress. *Theriogenology* 71(4), 651-661.
- Collard, B. L., P.J. Boettcher, J. C. M. Dekkers, D. Petitclerc, and L. R. Schaeffer. (1999): Relationships between energy balance and health traits of dairy cattle in early lactation. *J. Dairy Sci.* 83:2683-2690.
- De Kruif, A., R. Mansfeld und M.Hoedemaker (1998): Tierärztliche Bestandsbetreuung beim Milchrind. Enke Verlag, Stuttgart
- Feucker W., Staufenbiel R. (2003): Zentraler Diagnoseschlüssel. http://www.portal-rind.de/index.php?module=Downloads&func=prep_hand_out&lid=17. Access 16.03.2010.
- Gernand, E., R. Waßmuth, U.U. von Borstel, and S. König (2007): Heterogeneity of variance components for production traits in large-scale dairy farms. *Livest. Sci.* 112: 78-89.
- Giraud, J. A., A. Calzolari, H. Rampone, A. Rampone, A. T. Giraud, C. Bogni, A. Larriestra, R. Nagel. (1997): Field trials of a vaccine against bovine mastitis. 1. Evaluation in heifers. *J. Dairy Sci.* 80:845–853
- Jamrozik, J., L.R. Schaeffer und J.C.M. Dekkers (1997): Genetic evaluation of dairy cattle using test day yields and random regressions. *J. Dairy Sci.* 80, 1217-1226.
- König, S., Dietl, G., Raeder, I., Swalve, H.H., (2005): Genetic relationships for dairy performance between large-scale and small-scale farm conditions. *J. Dairy Sci.* 88, 4087-4096.
- Kreiger, M., G. Fritton, J. Hofer, K. Fuchs, and P. Winter. (2007): Effects of periparturient systemic treatment with penethamate hydriodide on udder health and milk yield of dairy heifers. *J. Dairy Res.* 74:392–398.
- McDougall, S., K. I. Parker, A. M. Weir, and C. W. R. Compton. (2008): Effect of application of an external teat sealant and/or oral treatment with a monensin capsule pre-calving on

- the prevalence and incidence of subclinical and clinical mastitis in dairy heifers. *N. Z. Vet. J.* 56:120–129
- Nickerson, S. C., W. E. Owens, G. M. Tomita, and P. Widel. (1999): Vaccinating dairy heifers with a *Staphylococcus aureus* bacterin reduces mastitis at calving. *Large Anim. Pract.* 20:16–28.
- Nickerson, S. C. (2009): Control of heifer mastitis: Antimicrobial treatment—An overview. *Vet. Microbiol.* 134:128–135.
- Nyman, A.-K., T. Ekman, U. Emanuelson, A.H. Gustafsson, K. Holtenius, K. Persson Waller, C. Halle'n Sandgren (2007): Risk factors associated with the incidence of veterinary-treated clinical mastitis in Swedish dairy herds with a high milk yield and a low prevalence of subclinical mastitis. *Preventive Veterinary Medicine* 78 (2007) 142–160
- Parker, K. I., C. W. Compton, F. M. Aniss, A. Weir, C. Heuer, and S. McDougall. (2007a): Subclinical and clinical mastitis in heifers following the use of a teat sealant precalving. *J. Dairy Sci.* 90:207–218
- Parker, K. I., C. W. Compton, F. M. Aniss, C. Heuer, and S. McDougall. (2008): Quarter-level analysis of subclinical and clinical mastitis in primiparous heifers following the use of a teat sealant or an injectable antibiotic, or both, precalving. *J. Dairy Sci.* 91:169–181.
- Pyörälä Hanna Kaarina, S., Kaartinen, L., Simojoki, H., Kivilahti- Mäntylä, K. (2012): Use of intramammary antimicrobials in Finland- towards lower consumption and targeted treatments of mastitis. XXVII world buiatrics congress Lisbon Portugal 2012.
- Sampimon, O. C., S. De Vliegher, H. W. Barkema, J. Sol, and T. J. G. M. Lam. (2009a): Effect of prepartum dry cow antibiotic treatment in dairy heifers on udder health and milk production. *J. Dairy Sci.* 92:4395–4403.
- Schaeffer, L.R., (2004): Application of random regression models in animal breeding. *Livest. Prod. Sci.* 86, 35-45.

Schierenbeck, S., Reinhardt, F., Reents, R., Simianer, H., König, S., (2011): Identification of informative cooperator herds for progeny testing based on yield deviations. *J. Dairy Sci.* 94, 2071-2082.

Tenhagen, B. A., D. Edinger, B. Baumgartner, P. Kalbe, G. Klunder, W. Heuwieser. (2001): Efficacy of a herd-specific vaccine against *Staphylococcus aureus* to prevent postpartum mastitis in dairy heifers. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* 48:601–607

Winter, Petra (2009): *Praktischer Leitfaden Mastitis- Vorgehen beim Einzeltier und im Bestand.* Parey Verlag. 1. Auflage

[www.vetidata.de \(http://139.18.70.138/vetidata/praeparate.php\)](http://139.18.70.138/vetidata/praeparate.php): aufgerufen am 10.12.2013

Kapitel X

Schlussfolgerungen

Die zentralen Schlussfolgerungen der durchgeführten wissenschaftlichen Studie zum Thema "Analyse von unerwünschten Arzneimittelwirkungen antibiotikahaltiger Applikationen von Mastitiden bei Kühen der Rasse Holstein- Friesian unter Berücksichtigung von Leistungsniveau, Genetik und Produktionsbedingungen" basierend auf den durchgeführten statistischen Modellierungen, den Recherchen und Befragungen in partizipierenden landwirtschaftlichen Praxisbetrieben und Tierarztpraxen, den Analysen bestehender Datenbanksysteme sowie den initiierten Versuchsdesigns stellen sich wie folgt dar:

1. Die Frequenz unerwünschter Arzneimittelwirkungen nach antibiotischen Applikationen ist verschwindend gering. Es gibt keine Anzeichen für signifikante Unterschiede bezogen auf die eingesetzten Medikamentkategorien.
2. Dennoch ist es ein dringendes Gebot, Landwirte und Veterinäre zu einer intensiveren Kontrolle der Tiere nach medikamentöser Applikation und insbesondere zur Meldung etwaiger UAW an die entsprechenden Stellen zu mobilisieren. Hierzu hat das durchgeführte Forschungsvorhaben erste Impulse generiert.
3. Um Zuchtstrategien auf Grundlage von Gesundheitsmerkmalen entwickeln zu können, haben sich Testherden auf Großbetrieben bewährt. Auf diesen wurden qualitativ hochwertige Phänotypen mittels Herdenmanagementsoftware dokumentiert, die in einem zweiten Schritt für genetische Berechnungen herangezogen werden können.
4. Mastitis zeigt auch in den hier durchgeführten Analysen das schon bekannte multifaktorielle Erscheinungsbild. Der Beitrag der Genetik ist gering mit einer Erbllichkeit von unter 10%. Deutliche genetische Antagonismen zwischen Mastitis und Produktionsmerkmalen konnten in den hier vorliegenden Einzelstudien sowohl für das Datenmaterial von Hochleistungskühen aus Thüringen der Rasse Holstein Friesian als auch von niedrigleistenden Braunviehkühen aus "low input" Betrieben in der Schweiz nicht nachgewiesen werden.

5. Rekursive Schwellenwertmodelle verifizierten die Schätzwerte für genetische Parameter des eher "robusten" Wiederholbarkeitsmodells. Rekursive Modelle, die die Interaktionen zwischen Phänotypen in einer zeitversetzten Wirkung abbilden, sind somit geeignet, physiologische Zusammenhänge mittels genetisch-statistischer Modellierung zu erklären.
6. Erstmals wurde bezüglich der statistischen Modellierung mittels rekursiver Schwellenwertmodelle in allgemeine und tierspezifische Umwelteffekte unterschieden. Die tierspezifischen Umwelteffekte sind die antibiotischen Applikationen. Das erprobte statistische Modell hat somit Modellcharakter für ähnlich gelagerte Folgestudien.
7. Effekte der antibiotischen Applikationen wurden in Bezug auf die Änderungsraten von Produktionsmerkmalen und funktionalen Merkmalen im Laktationsverlauf evaluiert. Hier zeigte sich ein positiver Effekt (= geringste Leistungsdepressionen) für homöopathische Behandlungen, insbesondere bei der Detailanalyse auf Basis von Longitudinaldaten der täglichen Milchmengenmessungen.
8. Generell ist die antibiotische Behandlung eine effektive Massnahme, um Mastitis zu behandeln. Allerdings führen antibiotische Behandlungen, die nicht auf Grundlage eines AntibioGRAMMS erfolgen, häufig zu einem deutlichen Milchleistungsrückgang. Schon daher sollte ein AntibioGRAMM immer die Grundlage bilden für eine antibiotische Applikation.
9. Analysen mittels rekursiver Strukturgleichungsmodelle haben ergeben, dass Mastitisbehandlungen mit Beta Laktam Antibiotika die besten Resultate geliefert hat. Kriterium zur Beurteilung war die weitere Entwicklung des somatischen Zellgehalts, der als direkter Indikator für Eutergesundheit gesehen wird.

10. Die durchgeführte Studie gibt weitere Impulse und Anregungen für Forschungstätigkeit auf diesem Gebiet. Hierzu gehört u.a. die hier vorgestellte Methodik von sogenannten Random Regression Modellen für Binärdaten und einer detaillierteren Spezifizierung des sogenannten Herdentesttagseffekts mit u.a. der Modellierung von tierindividuellen antibiotischen Applikationen.
11. Jegliche innovative Forschungstätigkeit zu der unter 10.) vorgestellten Thematik impliziert aber die Verfügbarkeit geeigneter Datensätze mit Information zu Produktionsmerkmalen, funktionalen Merkmalen, sogenannten "neuen" Phänotypen der Tiergesundheit und des Tierwohlbefindens, der veterinärmedizinischen Behandlungen incl. etwaiger UAW sowie die Abstammungsinformation in elektronischer Form. Hierzu müssen vorhandene Erfassungssystemen auf den landwirtschaftlichen Betrieben mit entsprechenden Schnittstellen erweitert werden und Milchkuhhalter, Herdenmanager sowie Tierärzte zur detaillierten Eingabe motiviert und mobilisiert werden.

Kapitel XI

Annex

11.1 Fragebogen-Unerwünschte Arzneimittelwirkungen nach der Verabreichung von Antibiotika zur Behandlung von Mastitiden (in Anlehnung an vet-uaw.de)



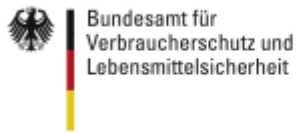
1. Daten zum Absender

1.1 Tierbesitzer (Angabe freiwillig)

Landwirtschaftl. Betrieb	<input type="text"/>
Straße/ Hausnummer	<input type="text"/>
PLZ/ Ort	<input type="text"/>
Ansprechpartner	<input type="text"/>
Telefon/ Handy	<input type="text"/>

1.2 Tierarzt (Angabe freiwillig)

Praxis	<input type="text"/>
Straße/ Hausnummer	<input type="text"/>
PLZ/ Ort	<input type="text"/>
Ansprechpartner	<input type="text"/>
Telefon/ Handy	<input type="text"/>



2. Daten zum Tier

2.1 Anzahl behandelter Tiere

Anzahl reagierender Tiere

Anzahl toter Tiere

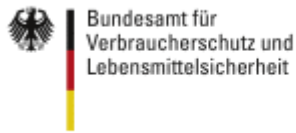
2.2 Rasse

Gewicht

Alter

Behandelte(s) Euterviertel

2.3 Grund der Behandlung (Mastitis, Trockenstellen, Wiederholungsbehandlung Mastitis)



3. Daten zum Arzneimittel (siehe Arzneimittelanwendungs- und Abgabebeleg)

3.1 Name des Arzneimittels

3.2 Chargennummer

3.3 Dosis/ Einheit der Dosis

Dosen pro Zeiteinheit

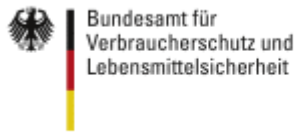
Dosen gesamt

3.4 Wer hat das Arzneimittel angewendet (Tierarzt, Betriebsleiter, ...)

3.5 Beginn der Behandlung

Ende der Behandlung

3.6 Weitere Angaben zur Behandlung (Begründung warum Sie meinen, dass die Reaktion auf das o.g. AM zurückzuführen ist: z.B. Tier wurde schonmal mit gleichem AM behandelt, zeigte bereits bei anderen AM Reaktionen etc. ...)



U N I K A S S E L
V E R S I T Ä T
Universität Kassel, Nordbahnhofstraße 1a
37213 Witzenhausen

4. Angaben zur unerwünschten Arzneimittelwirkung

4.1 Symptome (kurze Beschreibung der unerwünschten Reaktion auf das AM)

4.2 Dauer der Symptome

Dauer der Symptome	
Beginn	
Ende	

11.2 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig, ohne unerlaubte Hilfe Dritter angefertigt und andere als die in der Dissertation angegebenen Hilfsmittel nicht benutzt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder unveröffentlichten Schriften entnommen sind, habe ich als solche kenntlich gemacht. Dritte waren an der inhaltlich materiellen Erstellung der Dissertation nicht beteiligt; insbesondere habe ich hierfür nicht die Hilfe eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Kein Teil dieser Arbeit ist in einem anderen Promotions- oder Habilitationsverfahren verwendet worden.

Witzenhausen, den

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich bei einigen Personen bedanken, ohne die es nicht zur Erstellung dieser Dissertation gekommen wäre.

Ein besonderer Dank gilt dem Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit in Berlin, das die Finanzierung des Projekts sichergestellt hat und in diesem Zusammenhang insbesondere Dr. Annette Wilke für die Organisation und Unterstützung bei der Datenerhebung.

Mein größter Dank gilt Prof. Dr. Sven König, der mich während der gesamten Promotionsphase begleitet hat und mir immer bei inhaltlichen und methodischen Fragen zur Seite stand. In den richtigen Momenten war er für mich eine große Unterstützung. Außerdem danke ich ihm, nicht nur für die Begutachtung und Betreuung, sondern auch für den Freiraum, den er mir für die Fertigstellung der Arbeit eingeräumt hat, wenn es mal wieder schwierig war, Familie, Beruf und Dissertation in Einklang zu bringen. Ebenfalls möchte ich Dr. Kerstin Brügemann herzlich danken für ihre Unterstützung in allen statistischen Fragen und für gute zwischenmenschliche Gespräche, die in einigen Momenten für neue Motivation gesorgt haben.

Ein weiterer ganz besonderer Dank geht an meine Kollegen des Fachgebiets Tierzucht für das außerordentlich gute Miteinander und die vielen netten Gespräche.

Meiner kleinen Familie danke ich insbesondere. Meiner Tochter Amelie für ihr fröhliches, unkompliziertes und selbständiges Wesen, das es mir ein wenig erleichtert hat. Für die ablenkenden Momente und die schönen Stunden und dafür, dass sie mich regelmäßig wieder zurück holt in „das richtige Leben“ und meinem Lebensgefährten Peter dafür, dass er mir den Rücken frei hält und Verständnis hat, wenn die Zeit manchmal knapp ist.