Milchprüfring Bayern e.V.

Innovative Analysemöglichkeiten aus der Milch

27. Baumgartenberger Fachgespräche – 8./9. Mai 2014

Christian Baumgartner

Einleitende Gedanken zum Thema

- Im Kontext dieser 27. Baumgartenberger Fachgespräche geht es um die Gewinnung von Daten im direkten Umfeld der Kühe und direkt von den Kühen, u.a. mittels moderner Sensorik.
- Im Mittelpunkt steht dabei die Absicht, den Manager der Milchkuhherde mit möglichst umfassenden Informationen in die Lage zu versetzen, seine Herde optimal zu führen hinsichtlich
  - Wirtschaftlichkeit / (Lebensmittel)Qualität
  - Tiergesundheit / Tierkomfort
  - Umweltverträglichkeit (environmental and social compliance)

Was macht die Milch so interessant?

- Milch ist eine leicht zu gewinnende Körperflüssigkeit mit hohem Informationsgehalt
  - zur Leistung(sfähigkeit) der Kühe ➔ Menge, Fett, Eiweiß, Laktose, Harnstoff, Proteinmuster, Fettmuster, …
  - zur Gesundheit ➔ Eutergesundheit, Stoffwechsellage, Infektionskrankheiten, …
  - zur Umwelt der Kuh ➔ Fütterung, „Stress“, …
- Milch unterliegt aber auch als Lebensmittel bestimmten Anforderungen (LMHygVOen, MilchGüV) und ist Indikator für Umweltbelastungen.

Milch als Informationsquelle …

- … hat eine hohe Verfügbarkeit
  ➔ stehende Logistiksysteme nutzbar
  - MilchGüV (Gütebewertung und -bezahlung)
    ➔ flächendeckende Bestandsmilchproben
  - MLP ➔ in D mehr als 80% aller Kühe mit 9 individuellen Proben jährlich
- … ist analytisch eine gut zugängliche Matrix
- … kann mittels chemometrischer Methoden im Hochdurchsatz untersucht werden

Milch als Informationsquelle …

- … hat eine hohe Verfügbarkeit
  ➔ stehende Logistiksysteme nutzbar
  - MilchGüV (Gütebewertung und -bezahlung)
    ➔ flächendeckende Bestandsmi
  - MLP ➔ in D mehr al
    Proben jährlich
- … ist analytisch e
- … kann mittels ch
  Hochdurchsatz un

MLP – der monatliche unblutige Gesundheitscheck für unsere Kühe

Logistiksystem von MilchGüV und MLP

- Bewertung der Anlieferungsmilch nach MilchGüV
  - Flächendeckende Beprobung und Kontrolle aller 80.111 milchliefernden Betriebe in Deutschland
  - Definierte Probenahmestandards (DIN 11868)
  - Ständiger fachlicher Austausch in Projektgruppen des DLQ e.V.
- Milchleistungsprüfung (MLP)
  - Standardisierte Durchführung nach internationalen Normen ➔ in D ausschließlich ICAR-zertifizierte Organisationen
  - Flächendeckende personelle Abdeckung mit direktem Zugang zu Betrieben und Einzelkühen ➔ einzigartiges nationales System

Datendichte in Bayern

* n Einzelergebnisse

Bereich	Erläuterung	2011*	2012*
MLP (9,1 Mio. Proben)	Fett, Eiweiß, Laktose, Zellzahl, Harnstoff	45.938.520	45.673.885
MilchGüV (4,4 Mio. Proben)	Fett, Eiweiß, Gefrierpunkt, Hemmstoff, Zellzahl, Keimzahl	13.891.163	15.097.758
Sonstige	MilchGüV ← Laktose, Harnstoff, pH, ungesättigte Fettsäuren; MLP ← pH, ungesättigte Fettsäuren; diverse andere validierte Untersuchungen	31.091.948	33.798.386
Summe		**90.921.631**	**94.570.029**

Neue Projekte und Entwicklungen

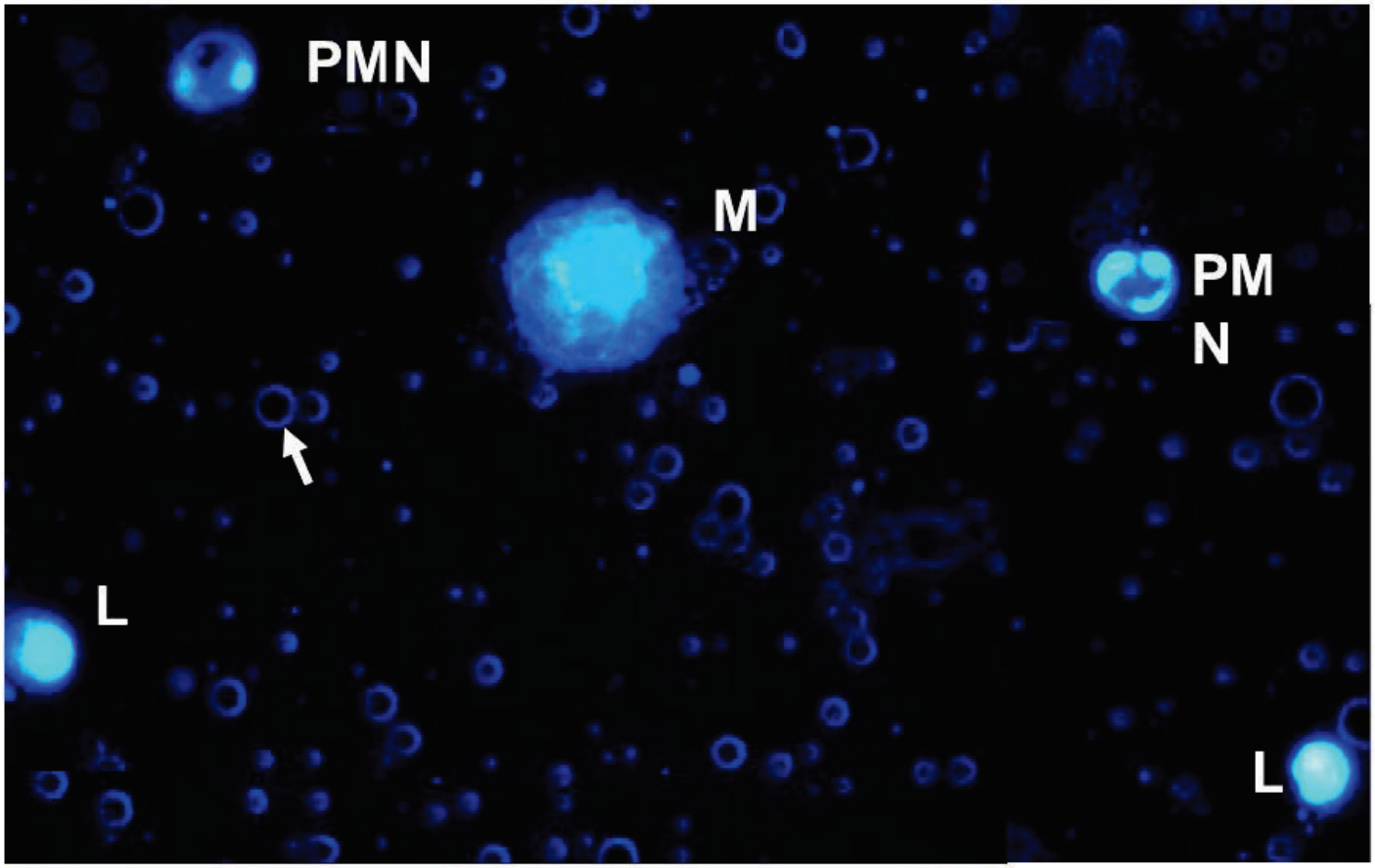
- milchQplus – bundesweites Projekt zur Verbesserung der Eutergesundheit und Nachhaltigkeit der Milchproduktion (Innovation ➔ **Zelldifferenzierung**)
- Intensivere Nutzung von ➔ **FTIR-Spektren** für
  - Trächtigkeitsnachweis aus MLP-Proben
  - Frühwarnsystem für Energiestoffwechselstörungen (Ketosen)
  - [denkbar: Kalibrierungen als Zusatzinformationen für die Detektion von Mastitiden, „Stress“, Mangelsituationen etc.]
  - Screening auf „abnorme Milch“ / Kontaminationen bei der Anlieferungsmilch
  - Beurteilung der Käsereitauglichkeit von Milch (Labfähigkeit, Gerinnungseigenschaften)

milch Q plus

- Nicht mehr, sondern bessere Daten für das Gesundheitsmanagement der Herde
- Schwerpunkt „Eutergesundheit“
  - Kennzahlen zur Bewertung der Herde und konkrete Handlungsempfehlungen
  - Kennzahlen zur Bewertung der Erfolgschancen von antibiotischen Euterbehandlungen
  - Ziele ➔ gesündere, langlebigere Kühe und ➔ weniger Antibiotikaeinsatz, dadurch ➔ besseres Image der Milcherzeugung bei Politik und Verbraucher
- MPR kümmert sich um Teilprojekt Zelldifferenzierung

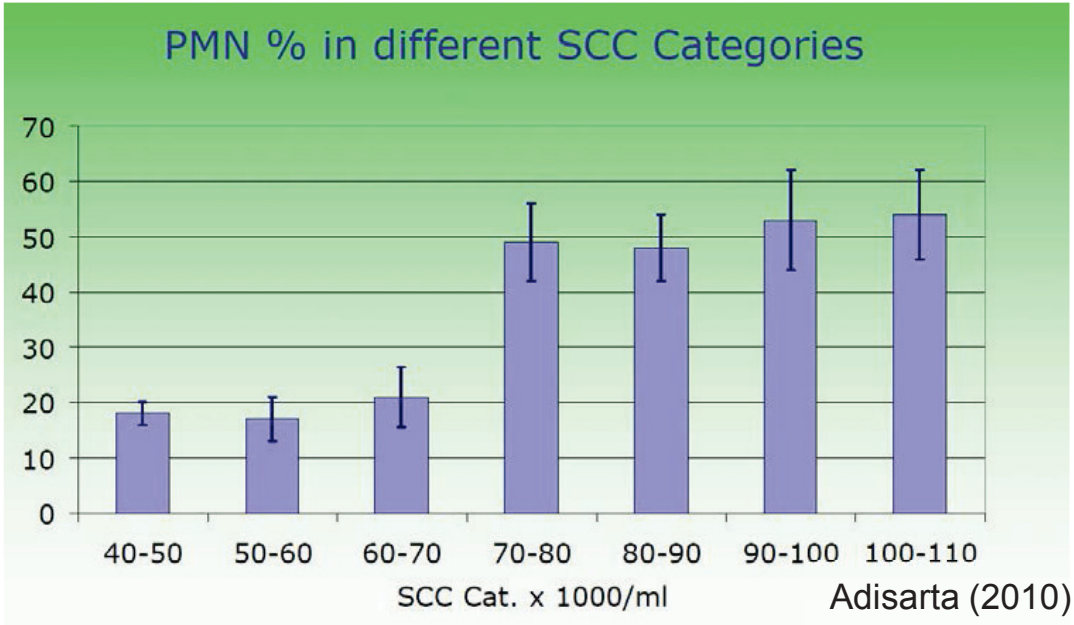
Zelltypen

milch Q plus



PMN = **P**olymorphkernige **N**eutrophile **G**ranulozyten; M = Makrophagen;
L = Lymphozyten

Euterentzündungen



Bei Mastitis: Erhöhung des Zellgehalts (SCC) durch PMNs, Lymphozyten und Makrophagen

Bei akuter Mastitis: deutliche Erhöhung des Zellgehalts, PMN auf bis zu 95% des SCC

Chronische Mastitiden:

- ab etwa 7 Tagen nach der Infektion
- hoher SCC, Makrophagen +++ , PMNs ---
- bekommen etwa 40 % aller antibiotischen Therapeutika bei Kühen

… können aber häufig nicht durch Antibiotikabehandlung geheilt werden

⇨ **Ziel:** identifizieren und nicht weiter antibiotisch therapieren

nach Prof. Dr. Volker Krömker

Examples: How Can Cell Differentiation Be Exploited To Evaluate Udder Health?

Table 1. Cellular characteristics of milk recovered from healthy, chronic and acute mastitis-affected quarters (data are presented as mean ± SEM).

	Healthy (n = 25)	Chronic (n = 40)	Acute (n = 8)
SCC × 1000/ml	40.0 ± 4.5†	2019.8 ± 350.1*†	>9999*
Macrophages, %	35.2 ± 4.7†	19.3 ± 1.9*	10.0 ± 3.6*
Lymphocytes, %	18.4 ± 3.6†	1.4 ± 0.8*	0.3 ± 0.3*
Neutrophils, %	34.2 ± 7.5†	71.1 ± 2.8*†	88.5 ± 3.2*
Epithelial cells, %	12.2 ± 3.0†	8.2 ± 1.1	1.2 ± 1.2*

Chronic mastitis differs from acute mastitis:
PMNs ---
Macrophages +++

(Boutet et al., 2003)

Infection stage	L %	(PMN+M) / L	PMN / L	PMN %	PMN / M
healthy	>64.2	<0,55	<0,42		
1-8 dai		0,73-8,04	>4,95	>48.2	
4-14 dai					< 2.39
9-14 dai	43.8-60			<48.1 >24.3	

dai: days after infection

Differential somatic cell counts allow to identify different stages of infection (Rivas et al., 2005)

Wie könnte die Zelldifferenzierung genutzt werden um die Heilungschancen zu beurteilen?

Prof. Dr. Volker Krömker, Universität Hannover, arbeitet an einem mathematischen Modell zur Schätzung der Heilungschancen unter Nutzung der MLP-Daten mit folgenden Variablen:

- Alter der Kuh
- Laktationstag
- letzte Zellzahl (SCC)
- Zellzahlverlauf (SCC patterns)
- DSCC ???

⇨ bei Mastitiserkrankung: ist eine antibiotische Behandlung Erfolg versprechend??
Mögliche Darstellung im MLP-Bericht: **Ja** – **eingeschränkt** – **nein**

nach Prof. Dr. Volker Krömker

Was bedeutet Zelldifferenzierung?

milch Q plus

Fraktion 1:
enthält Makrophagen
65.490 Zellen (22,2 %)

Fraktion 2:
enthält PMNs
229.510 Zellen (77,8 %)

1. Bestimmung der Zellzahl: Jeder Punkt steht für eine Zelle
2. Aufteilung der Zellen in zwei Fraktionen
3. Anteil der oberen Fraktion an der Zellzahl

   = **D**ifferential **S**omatic Cell Count (DSCC) hier 22,2 %

Auswertung bereits vorhandener Daten

milchQplus

Konservierungsmittelversuche: Zelldifferentialbilder von mehr als 250 Einzeltierproben sind vorhanden

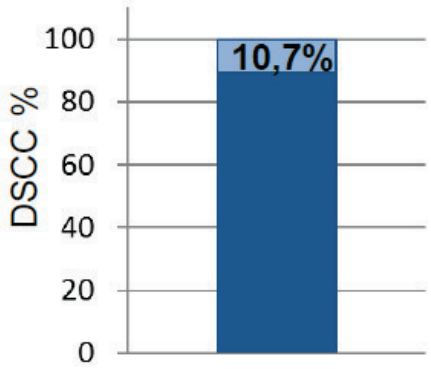
↓

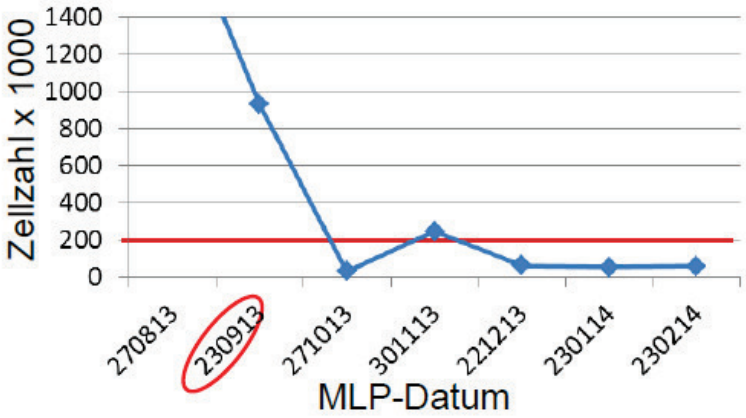
Auswertung der MLP-Historie dieser Tiere:
Selektion von Tieren, die zum Zeitpunkt der Untersuchung

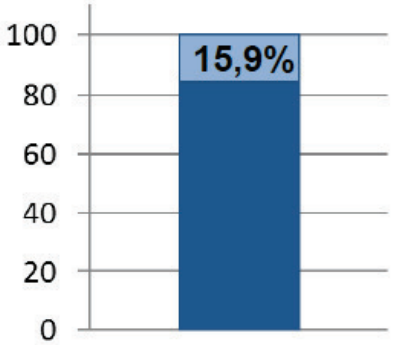
chronisch erkrankt waren (=erhöhte ZZ in aufeinanderfolgenden MLPs)	nicht chronische erkrankt waren (=kurzfristig erhöhte ZZ)

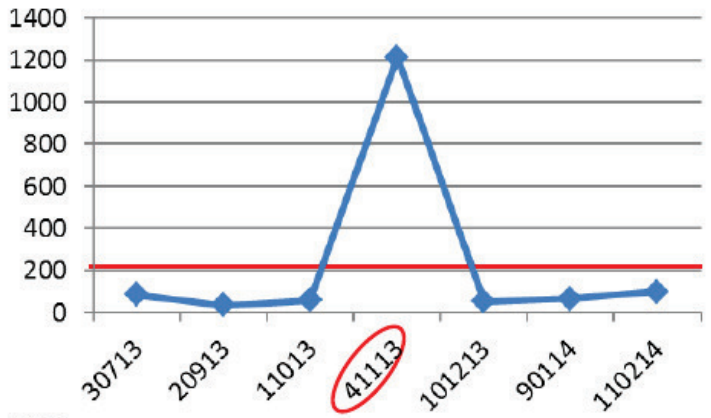
↓

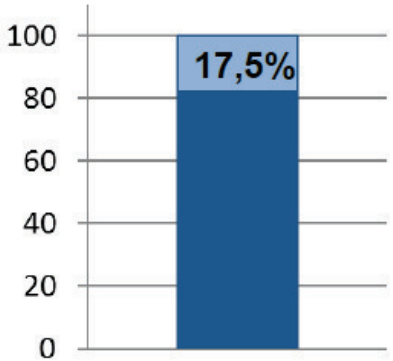
Wie unterscheiden sich die Zelldifferentialbilder beider Gruppen voneinander?

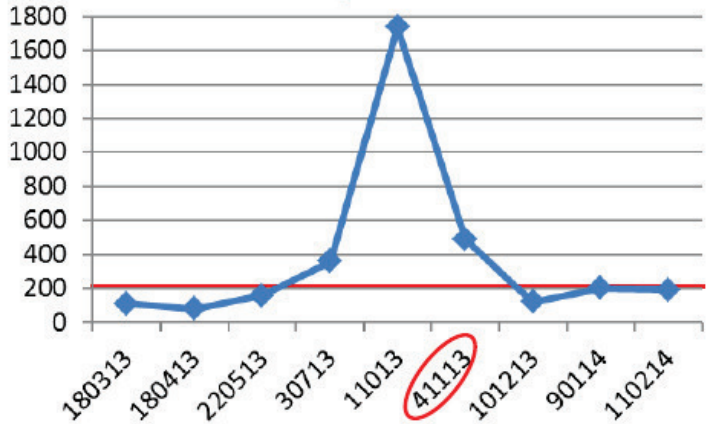




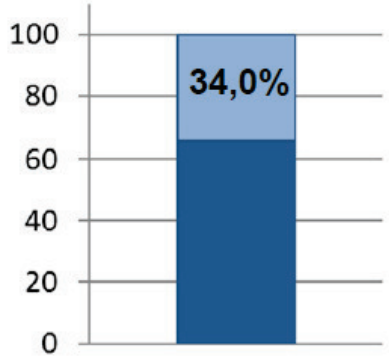


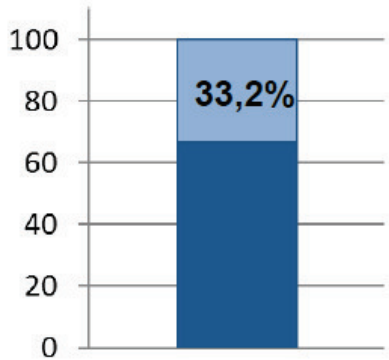


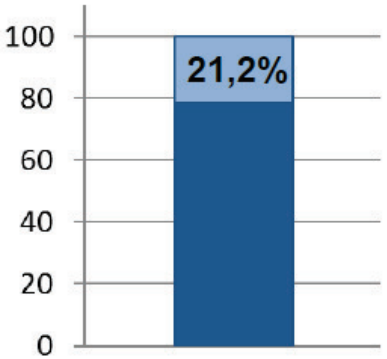


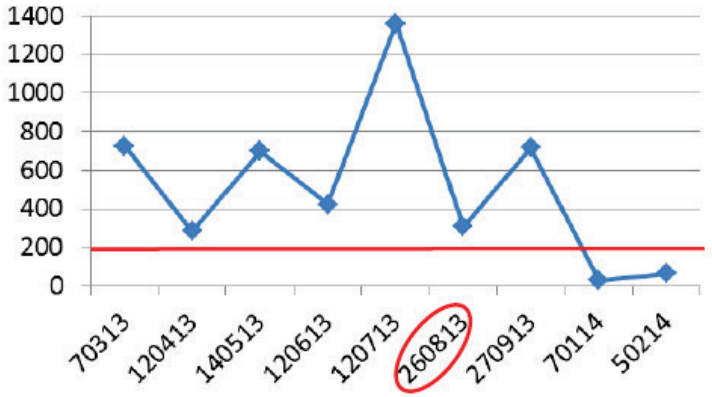


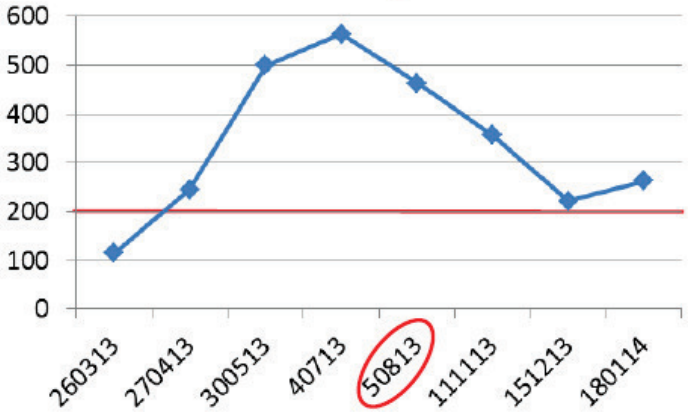
Zelldifferenzierungs-ergebnisse (s. Grafiken links) und dazugehörige MLP-Zellzahlverläufe nicht chronisch erkrankter Tiere

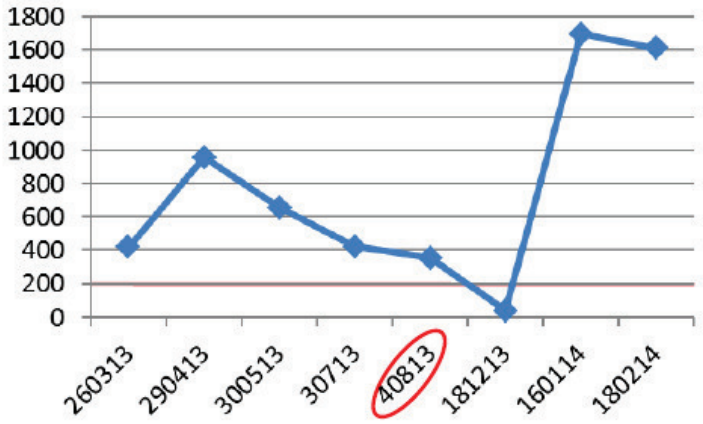












Zelldifferenzierungs-ergebnisse (s. Grafiken links) und dazugehörige MLP-Zellzahlverläufe chronisch erkrankter Tiere

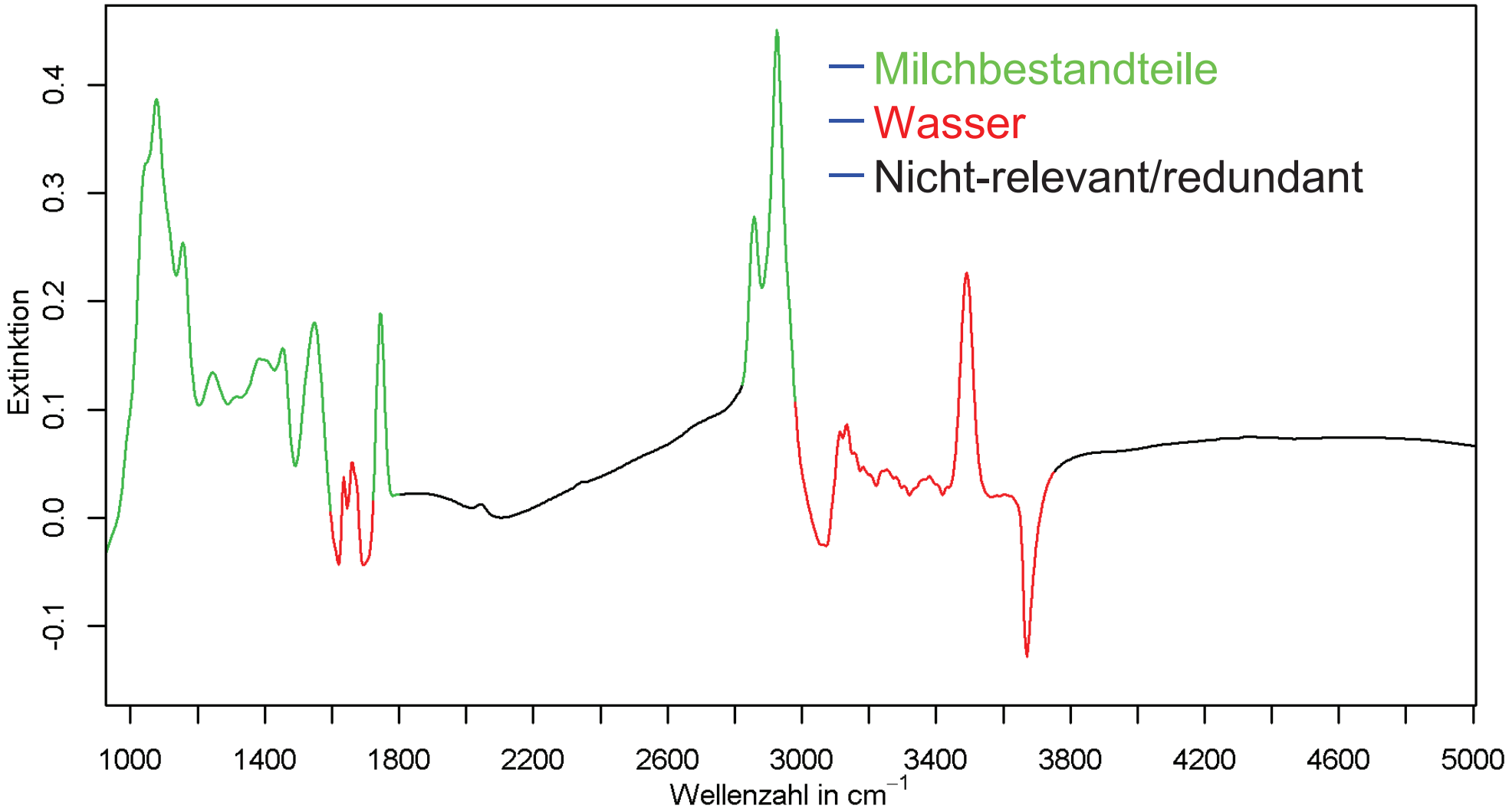
Intensivere Nutzung von FTIR-Spektren

- FTIR-Absorptionsspektroskopie ist heute die Methode der Wahl für die Hochdurchsatz-Analytik von Milch
- Aus IR-Spektren werden per Fourier-Transformation und spezifischen Kalibrierungen z.B. Fett, Eiweiß, Laktose, Harnstoff, der pH-Wert, einzelne Fettsäuren oder Casein bestimmt.
- IR-Spektren sind wie ein „Fingerabdruck“ der Milch.
- Der MPR versucht gemeinsam mit dem LKV für weitere Anwendungen Kalibrierungen zu erstellen.

Trächtigkeitsstatus

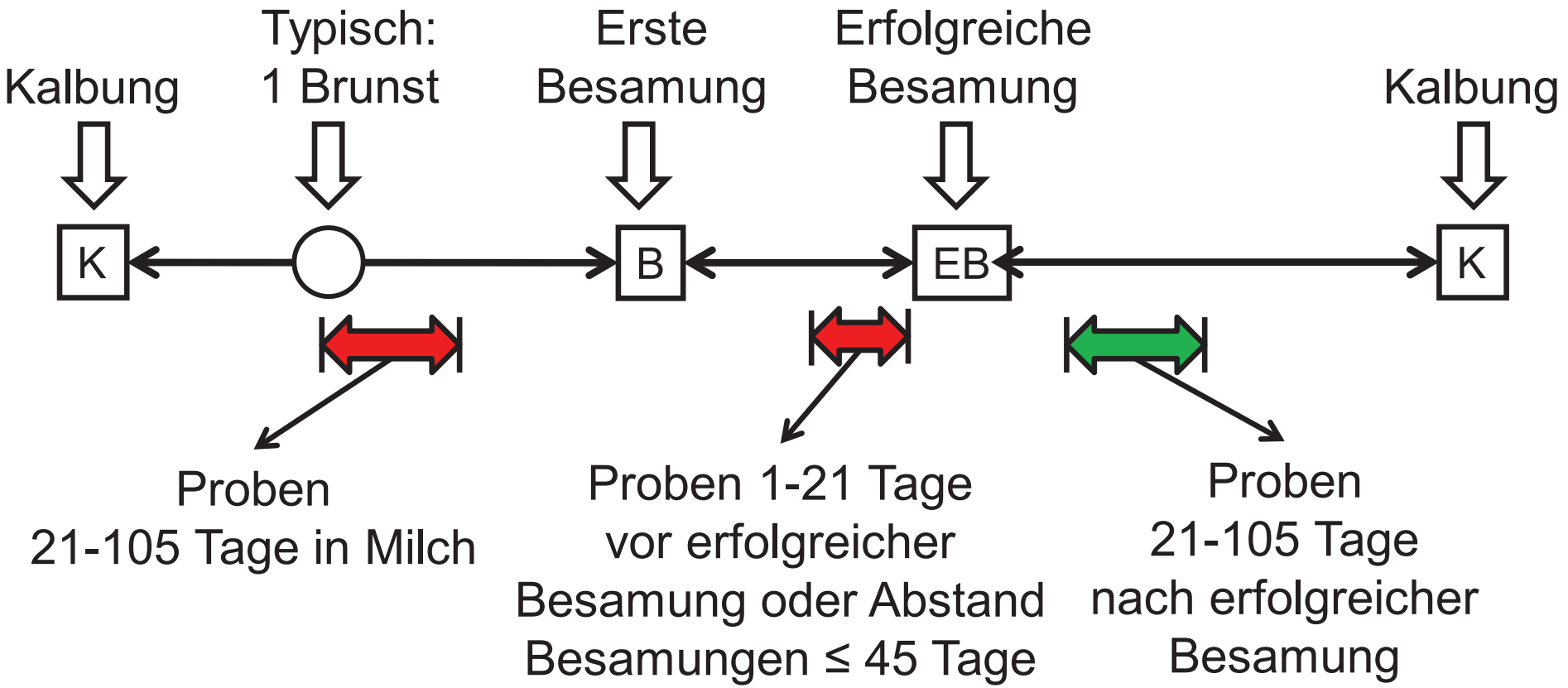
- Für die Entwicklung von Anwendungen sind mathematische Verfahren/Modelle notwendig
  ➔ Dr. Martin Kammer
- **Es sind Referenzdaten notwendig**
- IR-Spektren der MLP-Proben jeder Kuh sind ab 07.05.2012 beim LKV in der Datenbank verfügbar
- Ziel ist eine neue Dienstleistung für Landwirte ohne großen Zusatzaufwand; es soll kein Ersatz für den Tierarzt oder den Besamungstechniker sein!

IR-Spektren Überblick



– Datenreduktion durch Wahl des Wellenzahlbereichs

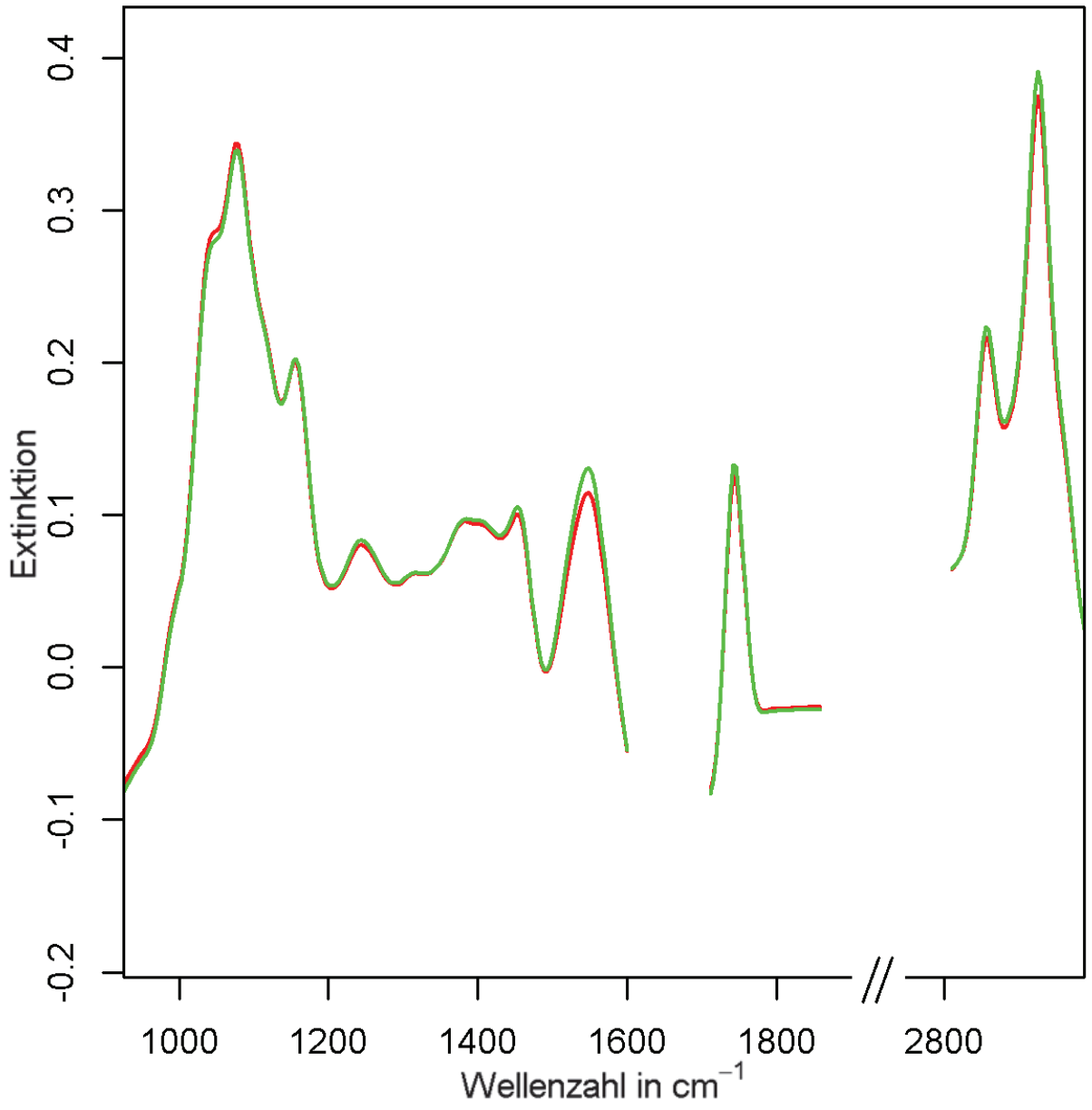
Zeitachse und Datenauswahl



- 50% Proben/Tiere für Trächtigkeits-Modell
- 50% Proben/Tiere für Überprüfung des Modells
- Verfahren: Lineare Diskriminanz Analyse (LDA)

Unterschiede in IR-Spektren

- IR-Spektren von 129081 trächtigen und 141521 nicht-trächtigen Kühen
- trächtig (grün) / nicht-trächtig (rot)
- Kleine Unterschiede, zum Teil aufgrund Lakatationsverlauf

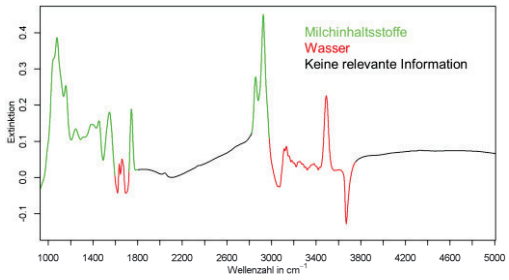


Zusammenfassung

- Erste Ergebnisse zeigen: es ist möglich IR-Daten für die Trächtigkeitsdiagnose zu verwenden.
  Aber keine absolute Diagnose ➔ Hinweise.
- Richtige Zuordnungen liegen aktuell bei ca. 90%.
- Korrektur für Laktationsverlauf notwendig
- Lineare Modelle nicht ausreichend
- Lineare gemischte Modelle mit Tier als zufälliger Effekt am vielversprechendsten
- Rechenaufwand ist hoch, Daten von jeder Kuh erforderlich

Frühwarnsystem für Stoffwechselstörungen

- 3-jähriges Gemeinschaftsprojekt von MPR und LKV; Co-Finanzierung (50%) durch BayStMELF.
- Der MPR ist für die Probenerfassung zuständig und stellt die IR-Spektren zur Verfügung.
- Das LKV organisiert den Probentransport, die Vollständigkeit der Datenbank und führt die Auswertung der IR-Daten durch.
- Die mitwirkenden Tierärzte liefern Daten zu Kühen bzw. Beständen mit Energiestoff-wechselstörungen zur Erstellung von Kalibrierungen.



Frühwarnsystem für Stoffwechselstörungen

- Projektleiterin Dr. Melanie Streit (LKV) ist aktuell mit der Akquise von Milcherzeugerbetrieben (mit Melkroboter) im Umkreis von München beschäftigt.
- Zwei Tierärzte (Doktoranden) betreuen die Betriebe ab 1. Mai 2014 vom MPR aus und erfassen Daten;
- Prof. Zerbe und Prof. Mansfeld (LMU) betreuen die beiden Doktoranden.

2014

IDF/ISO Analytical Week and ICAR/INTERBULL Conference

Germany | Berlin

IDF/ISO	15–20 May
ICAR	19–23 May
Interbull	20–21 May

www.icar2014.de

Supported by:

Federal Ministry of Food, Agriculture and Consumer Protection

based on a decision of the Parliament of the Federal Republic of Germany