

11 mei 2022

Invloed mastitis kliniek op ziekteverschijnselen

Afstudeerwerkstuk – onderzoeksverslag



Leon Jansen
Agrarisch ondernemerschap dier &
veehouderij
Aeres Hogeschool Dronten
Docent: Louise Molendijk

Invloed mastitis kliniek op ziekteverschijnselen

Auteur

Leon Jansen

Student agrarisch ondernemerschap dier & veehouderij

Aeres Hogeschool Dronten

Opdrachtgever

Aeres Hogeschool Dronten

Bezoekadres: De Drieslag 4, 8251 JZ Dronten

Postadres: Postbus 374, 8250 AJ Dronten

Docent: Louise Molendijk

In samenwerking met

Gezondheidsdienst voor dieren (GD)

Bezoekadres: Arnsbergstraat 7, 7418 EZ Deventer

Postadres: Postbus 9, 7400 AA Deventer

Contactpersoon: Thijs Derkman



Voorwoord

Voor u ligt het afstudeerwerkstuk over de invloed van mastitis kliniek op ziekteverschijnselen. Dit is een onderzoek uitgevoerd als eindproduct van de studie dier & veehouderij aan de Aeres Hoge School in Dronten en wordt geschreven voor de examencommissie van Aeres Hoge School. Daarnaast wordt dit onderzoek geschreven met behulp van een dataset van de Gezondheidsdienst voor dieren (GD) in Deventer. Dit vooronderzoek bevat enkel het breder kader en het theoretisch kader van het vooronderzoek en een materiaal en methode als introductie van het onderzoek.

Het rapport richt zich tot het vakgebied uiergezondheid en daarin specifiek de invloed van de kliniek in het melkmonster op de ziekteverschijnselen van de koe. Daarom is dit rapport mogelijk interessant voor rundveedierenartsen, melkveehouders, studenten en een ieder die door werk of interesses te maken heeft met de uiergezondheid van melkvee.

Vooraf aan dit rapport wil ik daarom mijn begeleidend docent vanuit Aeres Hogeschool, Louise Molendijk bedanken voor de begeleiding bij het schrijven van dit rapport. Tevens wil ik de Gezondheidsdienst voor Dieren en in het bijzonder Thijs Derkman bedanken voor de ondersteuning en het leveren van de gebruikte data. Als laatste wil ik iedereen die heeft geholpen bij het verzamelen van de data en een ieder die op welke manier dan ook heeft bijgedragen aan het opstellen van dit rapport bedanken voor zijn / haar inzet.

Zonder deze mensen had ik dit rapport niet en niet in deze staat kunnen opstellen.

Ik wens u veel leesplezier toe!

Leon Jansen
Juni, 2022

DISCLAIMER

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

Inhoudsopgave

Voorwoord.....	3
Inhoudsopgave.....	4
Samenvatting	5
Summary.....	6
Begrippenlijst.....	7
1. Inleiding.....	8
1.1 In de praktijk	8
1.2 Afweer van een rund	8
1.3 Mastitis	9
1.4 Parameters	11
1.5 In samenwerking met GD.....	15
1.6 Hoofd- en deelvragen	16
2. Materiaal en methode.....	17
2.1 Parameters	17
2.2 Hoofd- en deelvragen	22
2.2.1 Hoofdvraag.....	22
2.2.2 Deelvragen	23
3. Resultaten.....	25
3.1 Deelvraag 1	25
3.2 Deelvraag 2	26
3.3 Deelvraag 3	26
3.4 Hoofdvraag	29
4. Discussie.....	33
4.1 Aanpak	33
4.2 Resultaten.....	34
5. Conclusie	36
5.1 Deelvraag 1	36
5.2 Deelvraag 2	36
5.3 Deelvraag 3	37
5.4 Hoofdvraag	38
6. Literatuurlijst.....	40
7. Bijlagen	43
7.1 Output SPSS Chi-kwadraat toets deelvraag 1.....	43
7.2 SPSS output gepaarde t-toets deelvraag 2	44
7.3 Output SPSS ANOVA test mastitisobservaties uier en KVE.....	45
7.4 Output SPSS ANOVA test mastitisobservatie melk en KVE	47
7.5 Output SPSS correlaties hoofdvraag.....	49

Samenvatting

Uiergezondheid is een belangrijk thema in de melkveehouderij en heeft invloed op aspecten als diergezondheid, dierwelzijn, voedselveiligheid, bedrijfsfinanciën, antibioticagebruik en werkplezier van de melkveehouder/ster. Dit onderzoek geeft antwoord op de vraag wat de invloed van de hoeveelheid kolonievormende eenheden *Streptococcus Uberis* in de melk is op de gezondheidsfactoren van de koe. De gezondheidsfactoren betreffen parameters waaraan een klinische mastitis kan worden aangetoond.

Een dataset, verkregen door een samenwerking met Royal GD, welke is verzameld uit een studie naar de invloed van een onnatuurlijke *Streptococcus Uberis* infectie, is gebruikt voor het beantwoorden van enkele vraagstukken op het gebied van uiergezondheid. Zo is aangetoond dat er geen verschil bestaat tussen een kwartier met een laag of verhoogd celgetal, dat gezond is bevonden na bacteriologisch onderzoek, in het risico op het oplopen van een klinische mastitis infectie met *Streptococcus Uberis* in de droogstand. Wel is er een significante stijging van het celgetal in gezonde kwartieren voor het droogzetten aangetoond, zonder dat hier een voor de hand liggende oorzaak voor is. Voor vervolg onderzoek wordt geadviseerd onderzoek te doen naar de ontwikkeling van het celgetal in de laatste weken voor droogstand.

Ziekteverschijnselen bij een *Streptococcus Uberis* infectie treden niet allen tegelijk op, pas 60 uur na infectie bereikt de pro-inflammatoire ontstekingsreactie een piek. Een verschil in geur, kleur en melkconsistentie is al eerder waar te nemen en hierdoor een betrouwbaardere parameter voor het vroegtijdig opsporen van een klinische mastitis met *Streptococcus Uberis* in de droogstand. Celgetal stijging is ook vroegtijdig waar te nemen, maar moet in de droogstand onderscheiden worden van de natuurlijke celgetalstijging door actieve involutie.

Ziekteverschijnselen die de meeste invloed op de gezondheid van de koe hebben door een verhoogde hoeveelheid kolonievormende eenheden *Streptococcus Uberis* in de melk tijdens de droogstand zijn mastitisobservaties van de uier en de melk en het celgetal. Deze ziekteverschijnselen worden significant heftiger bij het verhogen van de hoeveelheid kolonievormende eenheden in de melk. Door de betreffende droogstand, zijn tijdens de actieve involutie, uierdruk en uierzwellig niet betrouwbaar genoeg om een klinische mastitis met *Streptococcus Uberis* aan af te leiden. Schommelingen in rectale temperatuur zijn zo laag gecorreleerd met de hoeveelheid kolonievormende eenheden *Streptococcus Uberis* in de melk, dat het geen betrouwbare parameter is om klinische mastitis mee vast te stellen.

Summary

Udder health is an important theme in dairy farming and influences aspects such as animal health, animal welfare, food safety, company finances, use of antibiotics and job satisfaction of the dairy farmer. This research answers the question of what the influence of the amount of colony-forming units of *Streptococcus Uberis* in the milk is on the health factors of the cow. The health factors concern parameters on which a clinical mastitis can be determined.

A dataset, obtained through a collaboration with Royal GD, collected from a study on the influence of an unnatural *Streptococcus Uberis* infection, has been used to answer some questions related to udder health. For example, it has been shown that there is no difference between a quarter of the udder with a low or increased cell count, which has been found to be healthy after bacteriological examination, in the risk of contracting a clinical mastitis infection with *Streptococcus Uberis* in the dry period. However, a significant increase in the cell count in healthy quarters before drying off has been determined, without an obvious cause. For further research, it is recommended to conduct research into the development of the cell count in the last weeks before the dry off period.

Symptoms of a *Streptococcus Uberis* infection do not all occur at the same time, the pro-inflammatory inflammatory response only reaches a peak 60 hours after infection. A difference in smell, color and milk consistency can be observed earlier and therefore it is a more reliable parameter for the early detection of clinical mastitis with *Streptococcus Uberis* in the dry period. Cell count increase can also be observed early, but must be distinguished in the dry period from the natural cell count increase due to active involution.

Symptoms of disease that have the most influence on the health of the cow due to an increased amount of colony-forming units *Streptococcus Uberis* in the milk during the dry period are mastitis observations of the udder and milk and somatic cell count. These disease symptoms become significantly more severe with increasing the amount of colony forming units in the milk. Due to the dry period, during active involution, udder pressure and udder firmness are not reliable enough to infer a clinical mastitis with *Streptococcus Uberis*. Fluctuations in rectal temperature are so lowly correlated with the amount of colony forming units of *Streptococcus Uberis* in the milk, that it is not a reliable parameter to diagnose clinical mastitis.

Begrippenlijst

In de hoofdstuk is een begrippenlijst bijgevoegd. Hierin zijn begrippen opgenomen die meermaals in dit vooronderzoek voorkomen en welke een context dienen te krijgen om het lezen van dit rapport te verduidelijken.

Actieve involutie – Eerste fase van de droogstand (21-30 dagen), deze bevat het stopzetten van de melkproductie en het verhogen van de afweer in de uier. In 50% van de gevallen wordt er een keratineplug in het slotgat gevormd, welke deze afsluit (Lam & de Vliegheer, 2017, p. 203)

Inoculatie – Onnatuurlijke besmetting met een mastitisbacterie

Kliniek – Het aantal kolonievormende eenheden van een mastitisbacterie in het melkmonster

Meetniveau schaal (interval) – Numerieke variabele, zonder absoluut nulpunt (Scribbr, 2021)

Meetniveau schaal (ratio) – Numerieke variabele, met een absoluut nulpunt (Scribbr, 2021)

Meetniveau ordinaal – Gecategoriseerde data met een aanwezige rangorde (Scribbr, 2021)

Meetniveau nominaal – Gecategoriseerde data zonder aanwezige rangorde (Scribbr, 2021)

Streptococcus Uberis – Omgeving gebonden mastitisbacterie, die zich ook koe gebonden kan gedragen (GD, 2020)

Ziekteverschijnselen – In dit rapport vallen onder de ziekteverschijnselen, de gemeten parameters; rectale temperatuur, uierdruk, uierzwellings, celgetal en de mastitisobservaties van de uier en de melk

1. Inleiding

Dit hoofdstuk zal door middel van literatuur een beeld vormen over uiergezondheid, mastitisinfecties en het doel van dit onderzoek. Dit wordt gedaan door eerst de bredere context van het vakgebied toe te lichten, gevold door het theoretisch literatuur gespecificeerd op uiergezondheid met een toelichting van hetgeen nog niet bekend is in de literatuur, ook wel de knowledge gap genoemd. De hoofd- en deelvragen worden hierna geïntroduceerd. Vooraf zal de aanleiding voor dit onderzoek worden toegelicht.

1.1 In de praktijk

Een dier dat besmet is met een mastitis leidt tot hoge economische verliezen, gemiddeld kost een koe met klinische mastitis 254 euro. Dit komt onder andere door productiedaling, niet geleverde melk, behandelingskosten, loonkosten, vroegtijdige afvoer en door besmetting van andere koeien, waarbij alle boven genoemde kosten opnieuw optreden. Ook het verminderte dierwelzijn, de melkqualiteit en het verhoogde antibioticagebruik bij mastitis spelen een steeds grotere rol op bedrijven en in de maatschappij (Lam & de Vliegheer, 2017, p.145 & 303).

Uiergezondheidsproblemen vormen samen met klauwproblemen en uiergezondheidsproblemen de top 3 van afvoerredenen op een melkveebedrijf. In de afgelopen decennia is een trend te zien waarin de prevalentie van meer koe gebonden bacteriën als *Streptococcus agalactiae* en *Stafylococcus aureus* daalt. Het voorkomen van meer omgeving gebonden bacteriën als *Streptococcus uberis* is in diezelfde tijd gelijk gebleven, waardoor het voorkomen van deze mastitis veroorzakers relatief is gestegen (Lam & de Vliegheer, 2017. P.23 & p.303).

In algemene zin geldt dat hoe sneller een infectie kan worden opgespoord, hoe sneller deze ook succesvol behandeld kan worden, waardoor een hoger percentage genezing mogelijk zou moeten zijn. Klinische signalen van uierontsteking zijn zichtbaar en opvallend, maar treden pas op wanneer het lichaam al volop bezig is om de infectie te overwinnen. Voor zowel koe als veehouder is het wenselijk eerder infecties te kunnen opsporen, zodat eerder ingegrepen kan worden en hiermee de koe het lijden te besparen, de veehouder kosten en irritatie te besparen en koppelgenoten extra infectiedruk te besparen. Uiteindelijk zal dit ook resulteren in een gezonder product voor de consument, in melk met een hoog celgetal kunnen gifstoffen voorkomen en ook de houdbaarheid van (gepasteuriseerd) hoog celgetalmelk is minder lang (Smolders et al., 2004).

1.2 Afweer van een rund

De spenen van de melkkoeien zijn minimaal twee maal per dag open tijdens het melken, bij koeien die melk uitliggen is dit nog vaker. Het moment dat de spenen / het slotgat open staan, is een risicovol moment voor de uier omdat ziektekiemen dan makkelijk de uier kunnen betreden. De meeste infecties komen de uier binnen via het slotgat aan het eind van het tepelkanaal (4-12mm). Daarom is het van belang dat de koe een goede afweer in de uier heeft (Daniëls et al., 2017).

Mechanische afweer in de uier

Het eerste afweer mechanisme in de uier is de mechanische afweer. Dit betreft het tepelkanaal met het slotgat en de uitstroom van melk. De binnenzijde van het tepelkanaal is bedekt met weefselcellen die de wasachtige stof keratine uitscheiden. Deze keratine heeft een bacterieremmende werking. Tevens sluit de keratine het slotgat af tussen de verschillende melk uitstroom momenten door. Naast de afweer door middel van de aanmaak van keratine, bevatten het tepelkanaal en het slotgat sterke kringspieren, die de speen dicht houden. Per dier verschilt de kracht van de kringspier waarmee het tepelkanaal en slotgat dicht gehouden wordt, dit heeft ook invloed op de melksnelheid, als het uitliggen van melk

tussen de melkbeurten door. Tot 8 uur na de melkbeurt kan het tepelkanaal nog vergroot zijn, door het uitzetten van de kringspieren tijdens het melken (Lam & de Vliegheer, 2017, p.217).

Immunologische afweer in de uier

Wanneer de mechanische afweer van de uier, haar werk om welke reden dan ook niet goed heeft uitgevoerd, treedt de immunologische afweer in werking. De immunologische afweer in de uier kan opgedeeld worden in twee soorten afweer: aangeboren (innate) immuniteit en de verkregen (adaptive) immuniteit. Vaak zorgt een werking van beide soorten afweer voor de aanpak van binnendringende kiemen.

De mechanische afweer, die eerder in dit hoofdstuk besproken werd, is een onderdeel van de aangeboren / innate immuunrespons. Naast de mechanische afweer bevat de innate immuunrespons de humorale afweer, deze bestaat uit eiwitten en chemokines (samentrekking van chemotactische cytokines) die de groei van bacteriën remmen en eventueel bacteriën doden. De belangrijkste eiwitten en chemokines zijn: lactoferrine, complementsystemen, transferrine, lysozymen, cytokines en andere antibacteriële eiwitten. Door melkproductie verdwijnen dagelijks veel van deze stoffen uit de uier, daarom is de concentratie van deze stoffen in de droogstand veel hoger.

Het laatste onderdeel van de innate immuunrespons is de cellulaire afweer, dit zijn de afweercellen die voorkomen in de melk. De drie belangrijkste groepen afweercellen zijn de macrofagen, de polymorfkernige neutrofielen (PMN's) en de lymfocyten. Ook komen er dendritische cellen en enkele andere immuun cellen in de melk voor. 75-85% van het celgetal van de koe wordt bepaald door bovengenoemde cellen, de overige 15-25% van het celgetal bevat epitheelcellen uit de binnenkant van de uier en speenkanaal.

Wanneer het immuunrespons niet goed functioneert, om welke reden dan ook, kan er een klinische mastitis ontstaan, met alle gevolgen van dien (Lam & de Vliegheer, 2017, p. 129-133).

Ineffectieve afweer

De uier van een gezonde koe heeft een celgetal tussen de 50.000 en 100.000 cellen per ml melk. Dit kan per lactatiestadium verschillen, de eerste dagen na afkalven is het celgetal bijvoorbeeld verhoogd door de biesproductie. Ook aan het eind van de lactatie lijkt het celgetal iets verhoogd te zijn door indikking van de melk. Oudere koeien hebben over het algemeen een hoger celgetal, dan jonge dieren. Later in dit hoofdstuk komt het celgetal uitgebreid aan bod.

Wanneer de mechanische en immunologische afweer niet voldoende werken op de mastitisbacteriën buiten te houden en of te doden, zal een koe last krijgen van klinische of subklinische uierontsteking. Dit uit zich bij subklinische mastitis in een verhoogd celgetal en bij klinische mastitis in een verhoogd celgetal, melk met een afwijkende consistentie, melkproductie vermindering, verminderde eetlust, koorts en een vergroot, hard, rood en pijnlijk getroffen kwartier. Deze aandoeningen kunnen in grote of geringe mate optreden. Ook kunnen er op langere termijn klauwaandoeningen optreden als gevolg van de toxines die tijdens de mastitis in de bloedbaan terecht komen. Deze toxines werken vervolgens in op de bloedbanen in de klauwwand. Het meest voorkomende klauwprobleem als gevolg van deze toxines is het witte lijn defect (GD, 2020).

1.3 Mastitis

Uierontsteking, oftewel mastitis, is de immunologische reactie van het lichaam van de koe op irritatie van de uier of het uierweefsel. Deze irritatie kan een mechanische oorzaak (ongeluk) of een chemische oorzaak hebben. Echter wordt mastitis meestal veroorzaakt door een bacteriële infectie. Een uierontsteking veroorzaakt door virussen, schimmels of algen komt niet vaak voor, maar is mogelijk (Lam & de Vliegheer, 2017, p. 129).

Men onderscheidt twee soorten mastitis, klinische mastitis en subklinische mastitis. Klinische mastitis is zichtbaar met het blote oog, er is sprake van melk met een afwijkende consistentie, bijvoorbeeld vlokjes / klontjes in de melk, heel waterige melk of zelfs bloed in de melk. Het aangetaste kwartier van de koe kan warm en hard aanvoelen, ook kan het kwartier rood ogen en voor de koe pijnlijk of gevoelig zijn. Bij een heftige mastitis infectie kan de koe ziek zijn. Subklinische mastitis is niet zichtbaar met het blote oog en kan vastgesteld worden door celgetal bepaling. Koeien met zowel klinische als subklinische mastitis hebben een verhoogd celgetal. In Nederland is veel onderzoek gedaan naar het normale celgetal in koemelk. Gezonde koeien die langdurig zijn gevolgd bleken een celgetal van 50.000 tot 100.000 cellen per ml melk te hebben. Bij een celgetal hoger dan ongeveer 200.000 cellen per ml spreekt men van subklinische mastitis, mits er geen zichtbare uierontstekingsverschijnselen zijn. Wanneer een subklinische mastitis niet behandeld / genezen wordt, kan deze over gaan in een chronische mastitis. Het celgetal bij een geïnfecteerd uier is hoog omdat het lichaam continue witte bloedcellen naar de uier en de melk stuurt (GD, 2020).

Streptococcus Uberis

De *streptococcus Uberis* bacterie is een gram-positieve mastitis veroorzaker. De bepaling van een bacterie als zijnde gram-positief of gram-negatief ligt aan de verkleuring die toegepast wordt bij het bekijken van de bacterie. Bij de gram-positieve bacteriën kleur deze donker blauw, t.o.v. rood bij gram-negatieve bacteriën. Gram-negatieve bacteriën als *E-coli* zijn ongevoelig voor penicilline (natuurlijke ongevoeligheid). *Streptococcus Uberis* is als gram-positieve bacterie in bijna alle stammen wel gevoelig voor penicilline. Het is hierbij wel zaak direct te behandelen bij het optreden van de mastitis. Chronische infecties, bijvoorbeeld ontstaan door het inkapselen van de bacterie in de uier tijdens een subklinische mastitis, zijn moeilijker te behandelen. Het genezingspercentage na behandeling tegen *Streptococcus Uberis* ligt tussen de 50% en 70%. Echter is behandeling gedurende droogstand effectiever met een genezingspercentage van 85%. Bij een te lage dosis of een te kort durende behandeling kan de bacterie stam ongevoelig worden voor een bepaald soort antibioticum (verkregen ongevoeligheid). Deze verkregen ongevoeligheid kan worden doorgegeven aan de volgende generatie bacteriën van het zelfde soort, maar ook aan andere soorten bacteriën (GD, 2020).

Streptococcus Uberis is een omgevingsbacterie die leeft in de omgeving van de koe, zoals in mest of strooisel. Maar de bacterie kan ook op de huid van of op de slijmvliezen van de koe leven. Naast de bacteriestammen die zich als omgevingsbacterie gedragen, zijn er ook bacteriestammen die zich koe gebonden gedragen. Dit houdt in dan ze besmetting kunnen veroorzaken door contact met de melk, dit vindt vooral plaats in de melkstal (GD, 2020). Om de infectiedruk van de *Streptococcus Uberis* zoveel mogelijk te beperken is het vooral van belang om naar de leefomgeving van de koe te kijken, omdat de bacterie zich vooral omgeving gebonden gedraagt. Hygiëne is hierbij dus cruciaal, vooral in de looppaden van de koeien, waar zich de mest bevindt en in de ligboxen, waar het strooisel zich bevindt. Ook de droogstand is een cruciale periode op het gebied van uiergezondheid. 50% van de klinische mastitis vindt haar oorsprong in de droogstand, waarbij de instabiele fases aan het begin en eind van de droogstand het meest risicovol zijn. Vlak na de droogstand, wanneer de calciumspiegel in het lichaam lager kan zijn, is de kans op mastitis groter, doordat witte bloedcellen minder goed werken bij een laag calcium (Melkveebedrijf, 2020). Ook in de eerste 75 dagen van de lactatie is er een verhoogde kans op mastitis (Hipra, 2018).

Binnen de melkveehouderij zijn er twee melksystemen te onderscheiden, het conventioneel melken in een melkstal (CMS) en het automatisch melken met een robot (AMS). Uit een onderzoek van Zhaoju Deng aan de Universiteit van Utrecht (2021) is gebleken dat de meeste risicofactoren voor mastitis tussen AMS en CMS bedrijven gelijk zijn. In het proefschrift van Deng komt wel naar voren dat op AMS bedrijven de omgevingskiemen beter in de gaten moeten worden gehouden dan op CMS bedrijven. De hygiëne van de koeien en de hygiëne van de melkmachine dient hier beter op orde te zijn. Wanneer dit niet op orde is,

kunnen omgevingskiemen als *Streptococcus Uberis*, eerder een risico vormen. Koe gebonden mastitis verwekkers lijken zich op AMS bedrijven juist minder snel te verspreiden dan op CMS bedrijven.

In de laatste decennia is er binnen mastitiscontroleprogramma's vooral gefocust op het verminderen / bedwingen van de koe gebonden mastitisveroorzakers. Dit heeft tot gevolg gehad dat in de afgelopen decennia de omgeving gebonden mastitisbacteriën relatief zijn toegenomen. *Streptococcus Uberis* is een van deze omgeving gebonden bacteriën. In Engeland, Wales en Nieuw-Zeeland zijn in die periode de besmettingen met *Streptococcus Uberis* toegenomen van 15% naar 24,5%. Onderzoeken uit Finland en de Verenigde Staten ondersteunen deze wereldwijde trend, waarin de koe gebonden mastitisverwekkers een dalende trend laten zien, terwijl de omgeving gebonden mastitisverwekkers een stijgende trend laten zien (Sietsema en van Werven, 2018).

Voor een goede genezing is het van belang om zo snel mogelijk na besmetting te behandelen met antibiotica. Bij niet tijdig behandelen van de mastitis kan de *Streptococcus Uberis* over gaan in een chronische mastitis. Ook kan het voorkomen dat de betreffende bacteriestam 'verkregen ongevoeligheid' heeft opgebouwd tegen de gebruikte antibiotica. Het kan daarom voor vergelijkbare besmettingen in de toekomst handig zijn om bacterie onderzoek van de melk te doen, om vast te stellen welk antibioticum het beste werkt tegen de mastitisverwekker. Het kan voorkomen dat na bacteriologisch onderzoek er geen groei vastgesteld wordt. Dit kan meerdere oorzaken hebben. Wanneer het kwartier wel is geïnfecteerd met *Streptococcus Uberis*, maar geen groei laat zien bij het bacteriologisch onderzoek, kan dit komen doordat de kiem zich heeft ingenesteld in het uierweefsel en daarom niet altijd met de melk (in het melkmonster) afgegeven wordt (Veldman, 2021).

Sinds 2018 heeft farmaceut Hipra een vaccinatie tegen *Streptococcus Uberis* op de markt. Tijdens het onderzoek naar de werking van dit vaccin kwam naar voren dat dit vaccin significant goede resultaten boekt op het gebied van klinische mastitis, maar ook op het gebied van subklinische mastitis waren positieve gevolgen (minder groot dat bij klinische mastitis) zichtbaar (Collado et al., 2018).

1.4 Parameters

Op elke gezondheidsgebied heeft een koe normaalwaardes, dit zijn de waardes die worden gemeten, wanneer de koe gezond en in rust is. Echter kunnen door omstandigheden deze waardes verschillen, indien dit het geval is, wordt dit aangegeven. Daarnaast wordt aangegeven hoe je zowel klinische als subklinische mastitis kan herkennen aan de hand van deze parameters. In dit hoofdstuk worden de parameters toegelicht, die worden gebruikt in dit onderzoek.

Kliniek in melkmonster

Naast dat mastitis een dierwelzijnsprobleem en een economisch probleem oplevert, is het ook schadelijk voor de voedselveiligheid. De bacteriële besmetting maakt de melk ongeschikt voor humane consumptie en kan zorgen voor de verspreiding van zoönose zoals tuberculose, Q-koorts, bruceilose en Leptospirose. *Mycobacterium avium* subsp. en Paratuberculose bij runderen is in verband gebracht met de ziekte van Crohn bij mensen. Men loopt het grootste risico op ziekten door het consumeren van een slechte kwaliteit melk door het niet of onjuist pasteuriseren van de melk. Hierdoor kunnen ziekteverwekkers en gifstoffen direct worden overgedragen op de mens (Sharma et al., 2011).

Daarnaast kan het problemen opleveren tijdens de directe verwerking tot kaas of yoghurt, o.a. door een korte houdbaarheid. Het niveau van vrije vetzuren in de melk wordt hoger na een besmetting, wat een ongewenste smaak tot gevolg heeft. Andere veranderingen in de melk door een besmetting met een mastitis bacterie zijn in tabel 1 weergegeven. Uit enquêtes blijkt dat zuivelproducenten en hun gezinnen demografisch gezien tot de groep horen met het hoogste risico op door voedsel overdraagbare ziekten door consumptie van

ongepasteuriseerde melk. Melk is gepasteuriseerd wanneer het minimaal gedurende 20 seconden een temperatuur van 72 graden Celsius heeft bereikt (Firma Kaas, 2020).

Tabel 1, Verandering samenstelling melk bij verhoging celgetal (SCC) (Sharma et al., 2011)

Milk constituent	SCC (×10 ³ cells/ml)				Reason for change
	<100	<250	500-1,000	>1,000	
Decrease (in g/100 ml)					
Lactose	4.90	4.74	4.60	4.21	Reduced synthesis
Casein	2.81	2.79	2.65	2.25	
Fat	3.74	3.69	3.51	3.13	
Increase (in g/100 ml)					
Whey proteins (Total)	0.81	0.82	1.10	1.31	Leakage from blood
Serum albumins	0.02	0.15	0.23	0.35	
Immunoglobulins	0.12	0.14	0.26	0.51	
Chloride	0.091	0.096	0.121	0.147	
Sodium	0.057	0.062	0.091	0.105	
Potassium	0.173	0.180	0.135	0.157	
pH	6.6	6.6	6.8	6.9	

De meest gangbare wijze op melkveebedrijven om direct te bepalen of een koe mastitis heeft en in welk kwartier, is door gebruik te maken van de California Mastitis Test (CMT). Dit is een test waarbij een zeepoplossing (T-pol) aan een kwartiermonster op een vierkwartierenschaaltje wordt toegevoegd. Na het mengen kan door de mate van slijmerigheid van de substantie bepaald worden of het kwartier wel of niet besmet is met een dergelijke mastitis bacterie. De vuistregel hierin geldt: hoe slijmeriger de substantie, hoe hoger het celgetal in het melkmonster van het kwartier (GD, z.d.).

Rectale temperatuur

Een rund regelt zijn / haar lichaamstemperatuur via de hersenen. Het dier moet een evenwicht vinden tussen productie, behoud van lichaamswarmte en het verlies van warmte door straling en zweten. Voor een volwassen melkkoe ligt de normaalwaarde voor temperatuur tussen de 38,0 en 39,3 graden Celsius. Een volwassen zoogkoe heeft een grotere spreiding, namelijk tussen de 36,7 en 39,1 graden Celsius. Kalveren hebben over het algemeen een hogere temperatuur, dit is weergegeven in tabel 2.

Tabel 2, Normaalwaarden lichaamstemperatuur rund (Rundveeloket, z.d.)

	Normale temperatuur (°C)
Zoogkoe	36,7 - 39,1
Melkkoe	38,0 - 39,3
Kalveren	38,6 - 39,4
12 - 36 u voor kalven	Daling met 0,5 - 1,0

Bij het rectaal meten van de lichaamstemperatuur moet met verschillende zaken rekening gehouden worden. Zo verandert de temperatuur gedurende de vruchtbaarheidscyclus van een rund. In de laatste week voor de eisprong zakt de lichaamstemperatuur, 24 tot 48 uur voor de eisprong (wanneer tocht zichtbaar is) stijgt deze juist weer terug. Ook is de temperatuur van een rund in de ochtend lager dan in de avond en is de temperatuur in de zomer hoger dan in de winter (Rundveeloket, z.d.).

Mastitis observatie uier kwartierniveau

Voor het tijdig opsporen van een kwartier dat is geïnfecteerd met mastitis is het van belang de uier en daarbij de individuele kwartieren dagelijks te controleren. Verschijnselen die optreden bij een mastitisinfectie zijn het opzwellen en hard worden van het geïnfecteerde kwartier en daarbij een eventuele rode verkleuring. Ook kan het kwartier warmer aanvoelen

dan een gezond kwartier. De mate waarin de verschijnselen optreden heeft te maken met de ernst van de mastitis infectie. Zo zijn er bij subklinische mastitis geen veranderingen aan het kwartier zichtbaar, maar bij klinische mastitis wel. De ernst van de klinische mastitis heeft invloed op de mate waarin de verschijnselen aanwezig zijn (Zoetis, 2022).

Naast bovengenoemde symptomen kan een mastitisinfectie ook voor een pijnlijk en oncomfortabel kwartier zorgen. Uit een onderzoek van C. Medrano-Galarza, J. Gibbons, S. Wagner, M. de Passilé en J. Rushen (2012) naar de veranderingen van gedrag van koeien bij een mastitisinfectie is gebleken dat koeien met een klinische mastitisinfectie in de eerste dagen van deze mastitis minder tijd besteden aan liggen dan koeien met een gezond uier. Hierbij verschilde het liggedrag van de mastitiskoeien niet in de ligzijde in verband met de kant van de uier waar de mastitisinfectie zich voor deed. Verder zijn er geen verschillen waargenomen tussen de gezonde en geïnfecteerde koeien in het aantal stappen dat de koeien op één dag zetten. Wel zijn er grote verschillen waargenomen in onrustig gedrag in de melkstal tussen het begin van de klinische mastitis en de daaropvolgende dagen, wanneer de antibioticakuur zijn werk doet. Ditzelfde geldt voor de gewichtsverdeling van beide achterpoten tijdens het melken. De koeien met geïnfecteerde kwartieren oefenden meer druk uit op het been aan de kant van het geïnfecteerde kwartier. Maar ook deze verdeling van het gewicht werd gelijk naarmate de mastitisinfectie afnam. Te concluderen hieruit valt dat de ernst van de mastitisinfectie wel degelijk invloed heeft op de ligtijd en het gedrag tijdens het melken.

Mastitis observatie melk kwartierniveau

De melk van een koe zonder infecties in de uier is een homogene, witte vloeistof. Het soortelijk gewicht (dichtheid) van melk ligt tussen de 1,02 en 1,04 kg / liter. Echter verschilt dit per koe door het produceren met verschillende gehalten. Logisch te redeneren valt wel dat koeien met een hoger percentage vet in de melk, een lagere dichtheid hebben (gram / milliliter). Dit komt doordat water zwaarder is dan vet, waardoor een hoger aandeel vet resulteert in een lager gewicht (Brouwens et al., 2013, tabel 11).

Een koe met klinische mastitis produceert geen homogene melk, doordat deze vervuult is met vlokjes / klontjes, etter of bloed en de melk kan waterig ogen. Ook kan de melk een vreemde geur en een afwijkende kleur hebben. In dit geval van een afwijkende kleur is de melk niet meer helder wit, maar meer dof (GD, 2020).

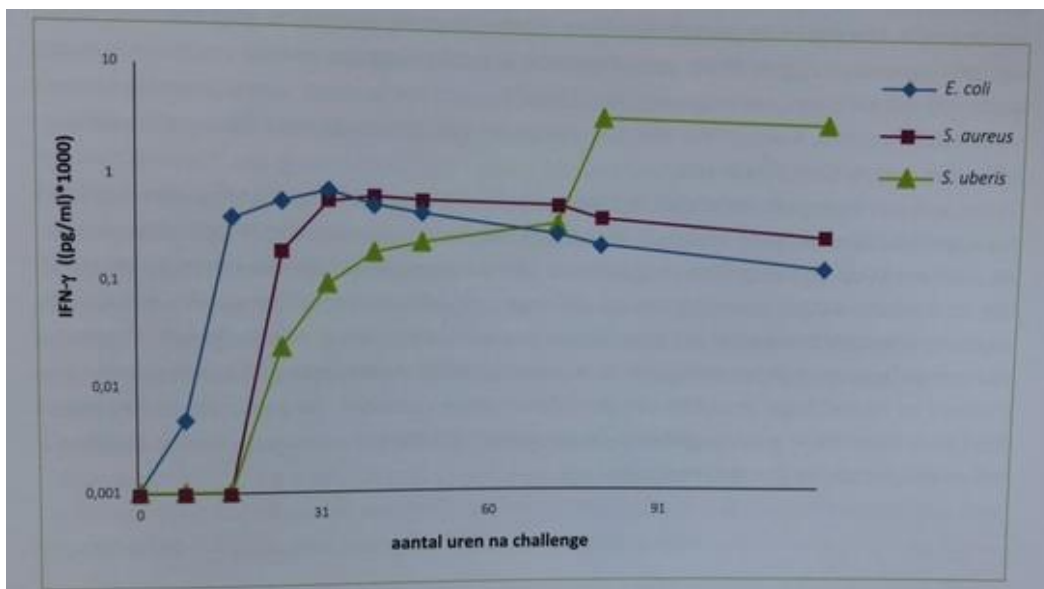
Uierdruk achterkwartieren

De intra mammaire druk in een gezond uier is vanaf de start van de lactatie tot ongeveer 120 dagen in lactatie het hoogst. Hierna neemt de uierdruk af tot ongeveer 50% van het oorspronkelijke niveau (Mayer et al., 2009).

Ook op het moment van droogzetten neemt de intra mammaire druk in de uier toe. Een onderzoek van Ulrich Blau, Lisa Zanini en Rupert M. Bruckmaier uit 2019 toont aan wat er met de intra mammaire druk in de uier gebeurt bij het droogzetten. In het onderzoek is onderscheid gemaakt tussen het voeren van een speciaal droogstandsrantsoen en het doorvoeren van het rantsoen van het einde van de lactatie. De uierdruk van een droge koe met een droogstandsrantsoen bereikt een piek op 24 uur na de laatste melkbeurt. Wanneer een koe geen droogstandsrantsoen krijgt, wordt deze piek pas zes uur later bereikt. Dit valt te wijten aan het eerder stopzetten van de melksecretie in een rantsoen zonder krachtvoer en met minder energie uit ruwvoer. Ook de gemiddelde uierdruk in de periode van 10 tot 72 uur na de laatste melkbeurt is lager wanneer een koe een droogstandsrantsoen gevoerd krijgt. Het oplopen van de uierdruk in het secretieweefsel wordt gezien als stimulans voor het proces van actieve involutie. De actieve involutie is de eerste fase van de droogstand en start direct na de laatste melkbeurt (Lam & de Vliegher, 2017, p. 203).

Bij het binnendringen van een mastitisinfectie in de uier, treedt het immuunrespons in werking. Beginnend met de mechanische afweer in het tepelkanaal, welke de speenpunt, het slotgat en het tepelkanaal met antibacteriële keratinelaag. Wanneer de mechanische afweer

niet (voldoende) beschermd, treedt de humorale afweer in werking. Een onderdeel van dit afweersysteem zijn cytokines (Lam & de Vliegheer, 2017, p. 130). Bij een infectie met *Streptococcus Uberis* worden de pro-inflammatoire cytokine IFN- γ en de anti-inflammatoire cytokine IL-10 geactiveerd. Een pro-inflammatoire cytokine bevordert een ontsteking, anti-inflammatoire cytokinen remmen juist de ontsteking (Van der Poll et al., 1998). Bij een infectie met *E. coli* is er een heel snelle IFN- γ respons te zien, terwijl de IFN- γ respons bij *Streptococcus Uberis* pas 70 uur na besmetting een cytokine concentratiepiek bereikt. Deze piek is tot wel tien keer zo hoog als bij *S. aureus* en *E. coli* (zie figuur 1). Pas 50 uur na infectie komt de productie van de IL-10 cytokine op gang, welke de ontsteking weer doet remmen. De ziekteverschijnselen van deze pro-inflammatoire ontsteking zijn het opzwellen en hard en pijnlijk worden van het aangetaste kwartier, dit zorgt er voor dat de uierdruk gedurende de periode van een hoge concentratie IFN- γ sterk verhoogd is. In de droogstand zal de uierdruk extra verhoogd zijn bij een infectie ten opzichte van een infectie tijdens de lactatie. Dit is het gevolg van het wegnemen van de cytokinen in de uier tijdens het melken, hierdoor zal de concentratie van de cytokine tijdens de lactatie minder hoog worden, wat resulteert in een minder erge zwelling van het kwartier tijdens de lactatie ten opzichte van de droogstand (Lam & Schukken, 2017, p. 134 & 135).



Figuur 1, Cytokine profielen IFN- γ na challenge infecties met *E. coli*, *S. uberis* & *S. aureus* (Lam & de Vliegheer, 2017, p. 135)

Uierzwellig achterkwartieren

Zwelling van de uier (uieroedeem) treedt normaalgesproken op rond het afkalfmoment. Jonge koeien hebben meer last van zwelling van de uier dan oudere koeien, waarbij verlengde draagtijd, hoge BCS, gebrek aan lichaamsbeweging, genetica en voeding ook een rol (kunnen) spelen in het extra ontwikkelen van uierzwellig. Een erg zoutrijk rantsoen in de droogstand, bevordert de opname van water, wat resulteert in meer uierzwellig bij het afkalveren. Chronisch / langdurige uieroedeem bemoeilijkt het aansluiten van het melkstel, dit heeft negatieve gevolgen voor de speenconditie en kan doordoor resulteren in uiergezondheidsproblemen (Hillerton, 2022).

De zwelling van een kwartier is ook een goede manier om klinische mastitis te detecteren. Bij het trekken van een verticale lijn door het kwartier, is het midden van het kwartier de meest stevige en stabiele plek wat betreft uierzwellig bij een gezond kwartier en ook bij een kwartier met klinische mastitis. Na een melkbeurt is een gezond kwartier minder stevig dan een kwartier met klinische mastitis, dit kan komen door de pro-inflammatoire ontstekingsreactie van de mastitis. Deze ontstekingsreactie zorgt voor extra zwelling in het kwartier, welke vooral zichtbaar is na het melken. De stevigheid dat een kwartier met

klinische mastitis behoud na het melken, heeft geen invloed op het gezonde naastgelegen kwartier (Fisher-Tenhagen et al., 2016).

Celgetal (SCC)

Het celgetal in de melk, ook wel somatic cell count (SCC) genoemd, is een maat voor het aantal ontstekingscellen in de melk. Deze bevatten de somatische cellen: neutrofielen, epitheelcellen en mononucleaire cellen. Het celgetal wordt aangeduid met een aantal cellen per milliliter melk maal duizend. Een celgetal van 85 bijvoorbeeld, geeft aan dat het melkmonster 85.000 somatische cellen per milliliter melk bevat. Doordat het celgetal op een relatief goedkope en makkelijke manier bepaald kan worden, wordt deze veel gebruikt in de monitoring en advisering van uiergezondheid en het bewaken van de melkqualiteit (Lam & de Vliegheer, 2017, p. 75).

Een uier met een celgetal onder de 100.000 cellen / ml op koe niveau, dus alle productieve kwartieren samen, wordt gezien als een gezond uier. Een celgetal boven de 100.000 cellen / ml wordt aangeduid als een verdacht uier. Pas vanaf een celgetal hoger dan 150.000 cellen / ml voor vaarzen een celgetal hoger dan 250.000 cellen / ml voor oudere koeien kan er vrijwel zeker gesproken worden van minimaal één geïnfecteerd kwartier (GD, 2020).

Door te spreken over celgetal op koe niveau, neem je alle productieve kwartieren in zekere mate gelijkmatig mee. Hierdoor wordt het celgetal van een eventueel geïnfecteerd kwartier verdund door de overige gezonde kwartieren. Als het celgetal van een besmet kwartier boven de 400.000 cellen / ml komt, zal het totale celgetal in de uier ook boven de 150.000 cellen / ml stijgen. In een dergelijk geval zijn de overige kwartieren dan wel gezond met een celgetal op kwartierniveau onder de 100.000 cellen / ml (De Lange, 2019).

Gedurende de involutiefase van de droogstand daalt de concentratie melk-specifieke componenten in de melk (secretum), zoals melkvet, caseïne en lactoglobuline. Het aandeel immuuncellen in het secretum stijgt juist vanaf de eerste drie dagen na droogzetten, deze bevat macrofagen, lymfocyten en polymorfkernige neutrofielen. Ook de concentratie serum-specifieke componenten zoals immuunglobulinen, lactoferrine en albumine stijgen in de eerste week van de involutie. Deze immuuncellen en serum-specifieke componenten maken onderdeel uit van het celgetal (Lam et al., 2017, p. 203). Hierdoor valt te verklaren dat het celgetal in het begin van de droogstand significant stijgt. Waarbij koeien met een droogstandsrantsoen een minder grote stijging van het celgetal doormaken dan koeien zonder droogstandsrantsoen (Blau et al., 2019).

In de melkveehouderij is uiergezondheid een belangrijk thema. Naast dat het een grote kostenpost is door melkproductiederving en behandelingskosten, zorgt het voor meer antibiotica gebruik, minder dierwelzijn en minder werkplezier. Daarom is het van belang dat er kennis is over uiergezondheid en ook de ernst van uiergezondheidsproblemen. Welke symptomen treden er op bij een uierinfectie en in welke mate? Verergeren symptomen lineair met het aantonen van meer kliniek in het melkmonster, of zijn er ook symptomen die bij een zwaardere infectie niet ernstiger worden? Het handelingsvraagstuk / de knowledge gap uit dit onderzoeksrapport luidt:

Hoe kan er in beeld worden gebracht wat de invloed is van de ernst van een uierinfectie op de symptomen die optreden bij een uierinfectie? Welke symptomen worden erger bij een zwaardere infectie en welke symptomen blijven mild aanwezig terwijl de infectie erger wordt?

1.5 In samenwerking met GD

Dit onderzoek kijkt naar het verband tussen de hoeveelheid kliniek aan mastitisbacterie dat in het melkmonsteraanwezig is en de parameters die betrekking hebben op de gezondheid van het dier, oftewel de ziekteverschijnselen die ontstaan door een besmetting met een mastitis bacterie. Dit splitst zich op in de snelheid waarin ziekteverschijnselen ontstaan na een besmetting en wat het verband is tussen de ernst van de ziekteverschijnselen en de hoeveelheid kliniek in het melkmonster.

Het onderzoek is uitgevoerd bij de Gezondheidsdienst voor dieren (GD) en maakt ook gebruik van een dataset van de gezondheidsdienst voor dieren. Deze dataset komt uit een studie omtrent *Streptococcus Uberis*, in deze studie zijn 32 melkkoeien gedurende 40 dagen gevolgd. Hierbij zijn verschillende metingen gedaan naar ziekteverschijnselen na een besmetting met *Streptococcus Uberis*. Parameters die relevant zijn voor dit onderzoek zijn: rectale temperatuur, mastitis observatie op kwartier niveau van de uier (visueel), mastitis observatie van de melk op kwartierniveau (visueel), uierdruk (gemeten), uierzwellings (gemeten) en celgetal. Daarnaast is de kliniek van de mastitisbacterie in het melkmonster gemeten, dit vormt de basis waar de andere parameters mee vergeleken worden.

1.6 Hoofd- en deelvragen

De hoofdvraag die in dit onderzoek centraal staat, luidt als volgt:

*In welke mate heeft de hoeveelheid kliniek in een melkmonster door een *Streptococcus Uberis* infectie invloed op de gezondheid van de koe?*

Voor het beantwoorden van de hoofdvraag, zijn drie deelvragen opgesteld. Deze luiden als volgt:

Heeft de groep kwartieren met het laagste celgetal voor inoculatie een grotere kans op een klinische mastitis?

Is er een significant verschil tussen het celgetal op studiedag -7 en studiedag 0?

Is er een verschil in tijd tussen het optreden van de ziekteverschijnselen onderling?

In hoofdstuk 5 zal per hoofd- en deelvragen worden besproken, op welke wijze deze beantwoord zal worden. Ook wordt per parameter aangegeven hoe de betreffende data verkregen wordt.

2. Materiaal en methode

De dataset die voor dit onderzoek is gebruikt, is verkregen uit een studie die is uitgevoerd door de Gezondheidsdienst voor dieren in november en december 2021. In deze studie zijn 32 melkkoeien gedurende 40 dagen geobserveerd, hiervan zijn ze de eerste 14 dagen in lactatie gevolgd, waarna de koeien zijn drooggezet. Bij aanvang van de studie dienden alle koeien vrij te zijn van problemen aan het hart, aan het maag- en darmstelsel, aan het luchtwegenstelsel en aan de voorplantingsorganen en de uier. Ook mochten de koeien geen gebreken hebben aan de klauwen en of benen en aan de huid. Verdere criteria van de koeien zijn geweest dat ze niet drachtig waren, tussen de tweede en de zesde lactatie zaten, met een minimaal aantal lactatiedagen van 150 dagen, afkomstig van een commercieel Nederlands melkveebedrijf en een bloedvoering van minimaal 50% Holstein hadden. Ook mochten de geselecteerde koeien in de laatste 30 dagen voor de studie geen operatie, antibiotica of pijnstilling hebben gehad.

Hieronder is het studieschema weergegeven, waarin is getoond welke data is verzameld op welke dag in de studie. De bovengenoemde gezondheidscriteria zijn onderzocht tijdens het veterinaire onderzoek op studiedag -7 (GD, 2021).

Tabel 3, Studieschema data verzameling (GD, 2021)

	Arrival			Study day				Inclusion	Study day						Dry-off	Study day																Exclusion
Activity	-14	-13	-12	-11	-10	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
Milking (no quarter milk production)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1																	
Bodyweight (tape)				1																												
Veterinary examination								1																								
Challenge - teat dip															1	2	2	2	2													
Rectal temperature								1							1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Mastitis observations (quarter)								1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Udder pressure (hind quarters)								1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1										
Udder engorgement (hind quarters)								1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1											
Mastitis observations (milk)								1	1	1	1	1	1	1	1						1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Milk samples for Standard microbiology & SCC								1														1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Milk samples for SUB cfu/ml & SCC								1							1																	

Voor aanvang van de studie zijn de humane eindgrenzen vastgesteld voor de koeien in de studie. Na het overschrijden van deze eindgrenzen zou een koe worden behandeld en heeft het de studie moeten verlaten. Omdat het een studie naar een mastitisbacterie betrof, is bij milde mastitisverschijnselen dus niet behandeld. De vastgestelde humane eindgrenzen waren als volgt:

- 48 uur aaneen volgend minimaal 40,5 graden koorts
- 48 uur aaneen volgend ernstige klinische mastitis
- Symptomen van bacteriële bloedvergiftiging of shock langer dan 12 uur

Bij het niet reageren op antibiotica en geen verbetering in de situatie zou zijn over gegaan op euthanasie. Wanneer een dier in de studie overleed, zou er altijd een post mortem onderzoek / sectie plaats hebben gevonden bij de pathologie van de GD (GD, 2021).

2.1 Parameters

Per parameter uit de dataset is aangegeven hoe deze gemeten is en welke materialen hiervoor nodig zijn geweest. Aan het eind van dit hoofdstuk is een complete lijst met het alle gebruikte materialen bijgevoegd.

Rectale temperatuur

De rectale temperatuur is op dag -7 van de studie één keer gemeten om de gezondheid van de koe op dat moment te controleren. Vanaf het droogzetten is de rectale temperatuur iedere dag minimaal één keer gemeten. Na het overschrijden van 39,5 graden Celsius koorts, is naast één keer per dag in de ochtend, ook een extra keer in de avond getemperatuurd. Dit is gebeurd tot de koorts weer onder 39,5 graden Celsius daalde.

De temperatuur is gemeten met een digitale rundveethermometer, welke gangbaar is in de rundveehouderij. De temperatuur is vervolgens genoteerd op een zogeheten crf-formulier, welke later na controle is gedigitaliseerd.

Rectale temperatuur is een variabele op meetniveau schaal (interval).

Mastitisobservatie uier kwartierniveau

Mastitisobservaties op kwartierniveau zijn zowel visueel als tastbaar beoordeeld, per kwartier. Voorafgaand aan de studie is gezamenlijk vastgesteld, welke score tussen 1-4 een kwartier kreeg bij een dergelijke afwijking in het kwartier door een mastitisinfectie. Ook deze bevindingen zijn genoteerd op een crf-formulier, waarna na goedkeuring, deze zijn gedigitaliseerd. Onderstaand staan de scores gedefinieerd, als in de onderzoeksopzet.

- Score 1: Normaal kwartier, geen zwelling
- Score 2: Lichte zwelling
- Score 3: Gematigde zwelling en pijnlijk bij uitoefenen van druk
- Score 4: Ernstige zwelling en pijn en reactie bij aanraking

Het meetniveau van bovenstaande variabele is ordinaal. Het betreft gecategoriseerde data met een aanwezige rangorde.

Uierdruk achterkwartieren

De uierdruk op de achterkwartieren is gemeten met behulp van een Commander Echo Algometer. Met behulp van deze algometer is de uierdruk van beide achterkwartieren drie maal, gedurende vijf seconden gemeten. De Algometer berekende vervolgens zelf het gemiddelde uit deze drie metingen, de algometer gaf de berekende uierdrukwaarde weer in de eenheid kg. Achterop het kwartier is door middel van verf een stip zichtbaar gemaakt, waar elk meetmoment, op exact dezelfde plaats gemeten kon worden. Iedere dag is deze stip bijgeverfd, om het goed zichtbaar te houden. Daarnaast gaf de algometer een variatiecoëfficiënt aan, aangeduid in een percentage (cv%). Dit getal gaf aan hoe groot het gemeten verschil was tussen de drie metingen. Als cv% hoger was dan 10%, diende de meting van het betreffende kwartier opnieuw uitgevoerd te worden. Dit kwam omdat de betrouwbaarheid met een variatiecoëfficiënt van meer dan 10% niet hoog genoeg was. Zowel de meetresultaten, als de cv% zijn vervolgens weer genoteerd op een crf-formulier. Alle crf-formulieren volgden dezelfde procedure, van invullen, controle en digitalisatie. In figuur 2 is een foto van een Commander Echo Algometer getoond, om een beeld te geven hoe deze er uit ziet (Kempe, 2021).



Figuur 2, Commander Echo Algometer (3B Scientific, 2022)

De uierdrukwaarde is weergegeven in de eenheid kg, dit is op het meetniveau schaal (ratio). Het variatiecoëfficiënt is aangeduid met een percentage, ook dit is op het meetniveau schaal (ratio).

Uierzwellings achterkwartieren

Voor het meten van de uierzwellings is er op de beide achterkwartieren van de uier, met dezelfde verf als voor de uierdruk, twee kruisjes aangebracht, welke ook beide iedere dag zijn bijgeverfd. De kruisjes zijn bij aanvang van het eerste meetmoment op dag -07 op een afstand van 5cm van elkaar aangebracht, dit is gedaan op een hoogte van 15cm boven de speenbasis (figuur 3). Met een meetlint is vervolgens op elk meetmoment gemeten wat de huidige afstand tussen de kruisjes was. Deze gemeten waarden zijn ingevuld op het crf-formulier.



Figuur 3, Locaties kruisjes op achteruier voor meten uierzwellings (GD, 2021)

Het meetniveau betreft in dit geval schaal (ratio).

Mastitis observatie melk kwartierniveau

Met behulp van een vierkwartierenschaaltje, kon de melk van elk kwartier afzonderlijk worden opgevangen op een zwarte en gladde ondergrond. Op deze manier kon makkelijk worden gezien of de melk uit een dergelijk kwartier een afwijkende kleur, geur of consistentie had en of het een homogene- of heterogene samenstelling had. Aan de hand van deze visuele beoordeling is voor de melk op kwartierniveau een beoordeling gegeven tussen score 1 en 4. De scores zijn voor elk kwartier weer individueel ingevuld op een crf-formulier. Hieronder is weergegeven hoe de scores 1 tot 4 in de onderzoeksopzet zijn gedefinieerd.

- | | |
|----------|---|
| Score 1: | Normale melk |
| Score 2: | Vlokjes aanwezig, licht afwijkende melk |
| Score 3: | Klonten aanwezig, sterk afwijkende melk |
| Score 4: | Waterige melk of serum-achtige componenten met eventuele aanwezigheid van bloed |

Het meetniveau van de mastitisobservatie van de melk betreft ordinaal.

In figuur 4 is een voorbeeld van een vierkwartierenschaaltje te zien.



Figuur 4, Vierkwartieren schaal voor gebruik van mastitis observaties van de melk (Landbouwleven, 2019)

Het krijgen van een waterige samenstelling van de melk, kon ook gebeuren als gevolg van het droogzetten. Het is mogelijk dat een kwartier een score 4 voor waterige melk heeft gekregen, terwijl het kwartier gezond is. Deze foutmetingen zijn later door vergelijking met andere parameters als celgetal en de hoeveelheid kliniek in het melkmonster, veranderd naar een score 1. Dit kon pas achteraf gebeuren, omdat er dan met zekerheid vastgesteld kon worden dat het daadwerkelijk geen gevolg van een mastitis infectie is geweest.

Celgetal / SCC

Voor bepaling van het celgetal zijn melkmonsters genomen, deze monsters zijn opgevangen in melkmonsterbuisjes van 50ml, waarin minimaal 20 ml melkmonster verzameld diende te worden. De melkmonsterbuisjes zijn bij aanvang van de studie gekoppeld aan een koe en een van haar kwartieren. Vooraf aan het opvangen van de melk in de melkmonsterbuisje zijn de spenen schoon gemaakt met eerst een papieren doek voor het grove vuil, hierna een alcohol doekje voor ontsmetting en als laatste nog een extra desinfectie met watjes die volgezogen zijn met Sterillium MED handdesinfectans. De alcohol van de laatste twee schoonmaakfases moest hierna eerst verdampen alvorens het melkmonster genomen kon worden, omdat een melkmonster met al een heel beperkte hoeveelheid alcohol niet meer bruikbaar was. Bij het nemen van de melkmonsters was het verplicht melkershandschoentjes te dragen en deze na elke koe te wisselen. De melkmonsters werden na bemonstering gekoeld vervoerd naar het laboratorium van de GD, waar het melkmonster is gesplitst voor verschillende doeleinden. De splitsing van het melkmonster voor de bepaling van het celgetal zijn vervolgens naar Qlip gaan, dit bedrijf heeft het celgetal bepaald.

Ook voor de registratie van de melkmonsters is gebruik gemaakt van een crf-formulier.

Het celgetal is een variabele op het meetniveau schaal (ratio).

Melkmonsters voor kliniek

De kliniek in het melkmonster is bepaald middels een kwantitatieve kweek. De methode die hiervoor gebruikt is, is de track dilution methode. Bij deze methode werd van een verdunningsreeks een druppel medium genomen die over een agarplaat is geleid, waarna de groei op deze entstreep is bepaald.

Voor deze handeling is gebruik gemaakt van een afsplitsing van het melkmonster voor celgetal. Het melkmonster dat verzameld is, is voor meerdere doeleinden gebruikt.

De procedure voor het bepalen van het aantal *Streptococcus Uberis* bacteriën in de melk werd uitgevoerd door een analist van het routine laboratorium of van het R&D laboratorium en werd uitgevoerd conform het protocol van de GD. Aan de hand van ditzelfde protocol is dit deelhoofdstuk geschreven.

Uit het melkmonster werd vijf keer het aantal kolonievormende eenheden (kve) geteld. Dit gebeurde onverdund en met vier verschillende verdunningen. In iedere verdunning die gemaakt is, werd de melk tienvoudig verdund met pepton fysiologisch zout oplossing. De

resultaten van het tellen werden ingevuld op de daarvoor bestemde tabellen, welke later digitaal in Excel zijn overgenomen. Op de tabel zijn vooraf de betreffende kwartieren en de verdunning waar het op dat moment over gaat, genoteerd. Hierdoor konden kwartieren of verdunningen niet worden verwisseld.

Heet meetniveau van de kolonievormende eenheden is schaal (ratio). De waarden van de kolonievormende die geteld zijn, konden erg verschillen van heel laag tot heel hoog. Om een normale verdeling van de waarden te creëren, is besloten om het getelde aantal kolonievormende eenheden om te zetten naar logaritmische waarden. Hiermee kon in de statistieke toepassingen makkelijker gewerkt worden.

Materialenlijst

In onderstaande tabel 4 zijn alle gebruikte materialen weergegeven voor het verzamelen van de data. Onder tabel 4 zijn de overige benodigdheden van de studie weergegeven. De stal waarin de koeien gehuisvest zijn, huurde de GD. De stal was inclusief inrichting en een melkstal, ook was er een kantoor aanwezig om de administratie te kunnen doen.

Tabel 4, lijst van gebruikte materialen tijdens data verzameling

Rectale temperatuur	Digitale rundvee thermometer
Uierdruk achterkwartieren	Commander Echo Algometer
	Verf / inkt en een wattenstaafje
Uierzwelling achterkwartieren	Meetlint
	Verf / inkt en een wattenstaafje
Mastitis observatie melk kwartierniveau	Vierkwartierenschaaltje
Celgetal / SCC	Gestickerde melkmonsterbuisjes 50ml
	Papieren schoonmaakdoek
	Alcohol doekje
	Watjes in Sterillium MED handdesinfectans
	Melkershandschoenen
	Koelbox (vervoer)
Bepaling kliniek in het melkmonster	Pipet
	Pipetpuntjes
	Pepton fysiologisch zoutoplossing (pfz)
	Multichannel pipet
	Microtiterplaat
	Vierkante platen met schapenbloedagar
	Incubator (37 graden Celsius)
	Koelkast
	Vortex
	MALDI-TOF (matrix assisted laser desorption/ionisation)
	Invultabellen
Iedere meting / monsternamen	Specifiek crf-formulier
Tellen kolonie vormende eenheden	Invultabel

- Stal inclusief stalinrichting, melkstal en kantoor
- 32 Gezonde koeien
- Voer en strooisel
- Bedrijfskleding

Voor het berekenen van de statistiek bij de hoofd- en deelvragen zal gebruik gemaakt worden van SPSS.

2.2 Hoofd- en deelvragen

Per hoofd- en deelvraag is aangegeven hoe deze vraag beantwoord is en welke materialen hier uit hoofdstuk 5.1 voor nodig zijn geweest.

2.2.1 Hoofdvraag

In welke mate heeft de hoeveelheid kliniek in een melkmonster door een Streptococcus Uberis infectie invloed op de gezondheid van de koe?

Zoals in hoofdstuk 5.1 aangegeven, is de data van de verschillende parameters verzameld volgens strikte protocollen van de studie van de GD. De kliniek in het melkmonster is bepaald uit een uitsplitsing van het melkmonster voor celgetal. Door gebruik te maken van de MALDI-TOF laser van de GD is van elk melkmonster het aantal kolonievormende eenheden geteld en genoteerd. Zo kon de ernst van de kliniek in een melkmonster opgedeeld worden in verschillende fases. Waarbij een niet te tellen (n.t.t.) aantal kolonievormende eenheden de maximale ernst betrof.

Iedere parameter is apart vergeleken met het aantal kolonievormde eenheden en ook voor iedere parameter is een aparte statistische toets uitgevoerd.

Op studiedag -7 is een laatste veterinaire examen gedaan voor toelating van de studie voor alle 32 koeien en hun vier kwartieren. Op deze dag zijn de waarden van alle parameters gemeten op het moment dat de koeien gezond zijn. Ook de standaard microbiologie van de uier is op die dag vastgesteld. *Door een te hoog celgetal is van één koe, één kwartier afgekeurd en niet toegelaten voor de studie. Dit komt op een totaal van 32 koeien in de studie, die met 127 kwartieren deel hebben genomen.*

Aan de hand van een correlatiecoëfficiënt, welke de correlatie tussen het aantal kolonievormende eenheden en de gemeten waarden van de parameters weergeeft, is in kaart gebracht of er een negatieve of positieve correlatie tussen deze variabelen is en of deze correlatie groot of klein was. Hoe dichter het correlatiecoëfficiënt tegen de nul ligt, des te kleiner is het verband tussen variabele x (het aantal kolonievormende eenheden) en variabele y (parameter). Er is berekend in hoeverre de waarde van de parameter (y) wordt bepaald door de waarde van het aantal kolonievormende eenheden (x). Deze statistische toets kon echter alleen uitgevoerd worden tussen twee variabelen die beiden de meeteenheid schaal hadden. Dit betrof de rectale temperatuur, uierdruk, uierzwellings en celgetal. De toets is uitgevoerd met behulp van het computerprogramma SPSS.

Voor de mastitis observaties van de melk en de uier, welke de meeteenheid ordinaal hebben, is een andere statistische toets gebruikt. Met de ANOVA toets kon er vastgesteld worden of er een verband was tussen het aantal kolonievormende eenheden in het melkmonster en de gegeven score voor de mastitis observatie van de uier en de mastitis observatie van de melk.

Voor het gebruiken van de ANOVA toets was het van belang dat de data normaal verdeeld was. Dit is bij kolonievormende eenheden vaak niet het geval. Je hebt namelijk te maken met heel lage en heel hoge waarden. Voor het gebruiken van de kolonievormende eenheden bij de ANOVA toets zijn daarom logaritmische waarden gebruikt. Hierdoor is de data meer normaal verdeeld. Deze logaritmische waarden zijn opgedeeld in vier groepen, zodat je groepen creëerde die je kon gebruiken voor het toepassen van de ANOVA toets. De vier groepen zijn opgedeeld in een groep met de 25% kwartieren met de meeste kolonievormende eenheden, de 25% kwartieren met de minste kolonievormende eenheden en twee groepen van 25% die links en rechts van het midden lagen. Door middel van het computerprogramma SPSS is de ANOVA toets uitgevoerd.

2.2.2 Deelvragen

Deelvraag 1

Heeft de groep kwartieren met het laagste celgetal voor inoculatie een grotere kans op een klinische mastitis?

Het beantwoorden van deze deelvraag is gebeurt door gebruik te maken van het bepaalde celgetal op studiedag 0, op deze dag startte ook de inoculatie. De inoculatie duurde vijf dagen en bevatte negen inoculatie momenten. De eenheid waarmee gewerkt is, is per kwartier, de inoculatie is ook per kwartier gedaan en ook het celgetal is per kwartier bepaald.

Voor een duidelijke beantwoording van deze vraag, is het belangrijk de definitie van klinische mastitis vast te stellen, welke af te leiden viel uit de gemeten data. De rectale temperatuur is niet meegenomen in de vaststelling van klinische mastitis omdat je met deze parameter niet met zekerheid kon zeggen dat het door een mastitis kwam en ook de normaalwaarden per koe zijn niet vastgesteld. De uierdruk en uierzwellings zijn maar tot studiedag 7 gemeten, daarnaast zullen deze waarden moeilijk uit te drukken zijn in een grens voor klinische mastitis, omdat dit ook voor iedere koe anders is. Beide parameters zijn geschikt om als symptoom te gebruiken, er is echter gekozen om ze niet mee te nemen in de beoordeling van klinische mastitis.

Hieronder staan de grenswaarden van de twee meegenomen parameters voor het vaststellen van klinische mastitis weergegeven, met een korte uitleg.

Mastitis observatie melk op kwartier niveau = / > score 2

Bij het beoordelen van de melk per kwartier op een vierkwartierenschaaltje is met zekerheid te zeggen dat het kwartier een klinische mastitis heeft, wanneer het een score twee heeft gekregen.

Mastitis observatie uier op kwartier niveau = / > Score 3

Aan de mastitisobservatie is moeilijker een klinische mastitis af te leiden, omdat de uier druk opbouwde door het droogzetten. Wanneer een koe duidelijk liet zien dat het uitoefenen van druk ook pijnlijk was, was het mogelijk dat de zwelling kwam door een ontsteking. Om dit extra betrouwbaarheid te geven is in eerste instantie bepaald om het celgetal ook mee te nemen in deze beoordeling. Echter is tijdens het inzien van de resultaten het inzicht gekomen dat het celgetal al erg snel een erg hoge stijging door maakte, waardoor het niet mogelijk was een realistische grenswaarde voor celgetal vast te stellen, om daar uit op te maken dat het een klinisch mastitis betrof.

Nu is vastgesteld wanneer er sprake was van een klinische mastitis, kon er getoetst worden of er sprake is van een grotere kans op een klinische mastitis, bij een lager celgetal voor inoculatie.

Voor het aantonen van een significant verband is gebruik gemaakt van de statistische Chi-kwadraat toets. Voor deze toets is de variabele van het celgetal ingedeeld in groepen. Er is gekozen om drie nagenoeg gelijke groepen te maken. In de proef deden 32 koeien mee, deze hadden bij aanvang van de inoculatie op één koe na, vier gezonde kwartieren, die ene koe had drie gezonde kwartieren. In totaal deden er 127 kwartieren en dus 127 celgetalwaarnemingen mee in de proef. Dit maakte een groep verdeling van 42-43-42. De 42 kwartieren met het hoogste celgetal voor inoculatie werden in één groep gezet, de 42 kwartieren met het laagste celgetal werden in één groep gezet en de 43 koeien met een 'gemiddeld' celgetal werden ook in één groep gezet. Nu kon er met drie groepen, gebaseerd op celgetal, een Chi-kwadraat toets uitgevoerd worden, waarin de andere variabelen inhield dat het kwartier wel (ja) of niet (nee) een klinische mastitis door heeft gemaakt tussen de inoculatie en het einde van de studie. De statistische toets is uitgevoerd door middel van het statistische programma SPSS.

Deelvraag 2

Is er een significant verschil tussen het celgetal op studiedag -7 en studiedag 0?

Tijdens het inzien van de gemeten data kwam op het eerste oog een erg duidelijk verschil naar voren in de celgetallen op kwartierniveau op studiedag -7 en studiedag 0. Beide meetmomenten waren voor inoculatie. Om aan te tonen of het verschil in celgetal tussen deze beide studiedagen ook daadwerkelijk significant was, is gebruikt gemaakt van de gepaarde t-toets. Met deze t-toets is berekend of de celgetallen op studiedag 0 significant afwijken van het gemiddelde celgetal op studiedag -7. Door middel van SPSS is de gepaarde t-toets uitgevoerd.

Wanneer er een significant verschil is aangetoond is het mogelijk om in het hoofdstuk discussie in te gaan op de reden van deze significantie. Deze op het eerste oog lijkende celgetal stijging heeft namelijk invloed gehad op de betrouwbaarheid van de gemeten celgetallen later in de studie.

Voor de uitvoering van het onderzoek betrof deelvraag 2 een andere vraag. Echter door ontbreken van digitalisatie van de melkproductie, is besloten een nieuwe en relevantere deelvraag op te stellen.

Deelvraag 3

Is er een verschil in tijd tussen het optreden van de ziekteverschijnselen onderling?

Naar aanleiding van de data verwerking is er gekozen om deelvraag 3 te behandelen met descriptieve statistiek in plaats van het uitvoeren van de statistiek door middel van een ANOVA toets. De ANOVA toets was niet realistisch toe te passen, doordat er geen specifieke waarde kon worden toegevoegd aan het verschijnen van een ziekteverschijnsel.

Aan de hand van descriptieve statistiek is van iedere parameter het verloop gedurende de studie onderzocht, dit is in de resultaten getoond door middel van grafieken, waarin iedere parameter en ook de kliniek is uitgezet tegen de studiedagen. Aan de hand van deze grafieken is te concluderen welke parameters snel verhoogde waardes hebben getoond en welke parameters minder snel of geen verhoogde waardes hebben getoond. Hierna is dit vergeleken met het verloop van de kliniek in het melkmonster, welke ook op een bepaald moment een stijging heeft doorgemaakt.

3. Resultaten

Binnen de resultaten zullen eerste de resultaten van de drie deelvragen getoond worden. Hierna zullen de resultaten van de hoofdvraag gepresenteerd worden.

3.1 Deelvraag 1

Heeft de groep kwartieren met het laagste celgetal voor inoculatie een grotere kans op een klinische mastitis?

In onderstaande tabel staan de celgetallen van de kwartieren op studiedag 0 (laatste celgetal bepaling voor inoculatie) weergegeven. Deze zijn bij Qlip gemeten. De volgnummers zijn opgebouwd aan de hand van de volgende indeling: koenummer_kwartier_studiedag. Van 10_RV_0 is geen celgetal bepaald, dit kwartier heeft niet deelgenomen aan de studie door een negatieve uitslag bij de bepaling van de standaard microbiologie.

De kwartieren die rood gekleurd zijn, hebben een klinische mastitis tussen studiedag 0 en 16 gedurende minimaal één dag doorgemaakt. Dit is bepaald aan de hand van de weergegeven criteria in hoofdstuk 7.2.

Tabel 5, celgetallen per kwartier op studiedag 0

Volgnummer	Celgetal	Volgnummer	Celgetal	Volgnummer	Celgetal	Volgnummer	Celgetal
01_RV_0	1014	02_RV_0	45	03_RV_0	1032	04_RV_0	8
01_RA_0	2110	02_RA_0	6	03_RA_0	726	04_RA_0	6
01_LA_0	831	02_LA_0	5	03_LA_0	960	04_LA_0	4
01_LV_0	499	02_LV_0	9	03_LV_0	851	04_LV_0	9
05_RV_0	604	06_RV_0	281	07_RV_0	303	08_RV_0	393
05_RA_0	677	06_RA_0	307	07_RA_0	148	08_RA_0	178
05_LA_0	129	06_LA_0	237	07_LA_0	133	08_LA_0	114
05_LV_0	539	06_LV_0	237	07_LV_0	369	08_LV_0	603
09_RV_0	369	10_RV_0		11_RV_0	60	12_RV_0	19
09_RA_0	150	10_RA_0	43	11_RA_0	166	12_RA_0	6
09_LA_0	128	10_LA_0	43	11_LA_0	567	12_LA_0	19
09_LV_0	572	10_LV_0	73	11_LV_0	20	12_LV_0	16
13_RV_0	51	14_RV_0	53	15_RV_0	500	16_RV_0	274
13_RA_0	98	14_RA_0	27	15_RA_0	161	16_RA_0	116
13_LA_0	67	14_LA_0	90	15_LA_0	189	16_LA_0	43
13_LV_0	141	14_LV_0	46	15_LV_0	225	16_LV_0	391
17_RV_0	899	18_RV_0	35	19_RV_0	28	20_RV_0	156
17_RA_0	1245	18_RA_0	12	19_RA_0	101	20_RA_0	249
17_LA_0	297	18_LA_0	15	19_LA_0	138	20_LA_0	114
17_LV_0	911	18_LV_0	21	19_LV_0	18	20_LV_0	13
21_RV_0	162	22_RV_0	567	23_RV_0	11	24_RV_0	66
21_RA_0	24	22_RA_0	92	23_RA_0	13	24_RA_0	162
21_LA_0	11	22_LA_0	38	23_LA_0	12	24_LA_0	123
21_LV_0	69	22_LV_0	152	23_LV_0	23	24_LV_0	54
25_RV_0	408	26_RV_0	222	27_RV_0	149	28_RV_0	649
25_RA_0	177	26_RA_0	407	27_RA_0	173	28_RA_0	166
25_LA_0	737	26_LA_0	309	27_LA_0	126	28_LA_0	54
25_LV_0	1268	26_LV_0	286	27_LV_0	87	28_LV_0	86
29_RV_0	147	30_RV_0	184	31_RV_0	360	32_RV_0	33
29_RA_0	161	30_RA_0	171	31_RA_0	41	32_RA_0	39
29_LA_0	237	30_LA_0	34	31_LA_0	23	32_LA_0	23
29_LV_0	200	30_LV_0	173	31_LV_0	146	32_LV_0	36

De kwartieren zijn ingedeeld in de driegroepen zoals in hoofdstuk 7.2 aangegeven. Uit deze groepen is een gemiddeld celgetal berekend. Deze luiden als volgt:

42 kwartieren met het laagste celgetal:	gemiddeld celgetal van 24,643 (groep laag)
43 meest gemiddelde kwartieren:	gemiddeld celgetal van 132,000 (groep gemiddeld)
42 kwartieren met het hoogste celgetal:	gemiddeld celgetal van 583,857 (groep hoog)

Door de celgetallen in drie groepen in te delen, worden de variabelen van de groepen nominaal. Hiermee kan de Chi-kwadraat toets uitgevoerd worden. De output van de Chi-kwadraat toets door middel van het statistiek programma SPSS zijn bijgevoegd in de bijlagen aan het eind van dit rapport.

Uit de resultaten blijkt dat de Pearson Chi-square een waarde heeft van 0,919, dit is groter dan de kritische waarde van 0,05, bij een betrouwbaarheidsdrempel van 95%.

3.2 Deelvraag 2

Is er een significant verschil tussen het celgetal op studiedag -7 en studiedag 0?

Het celgetal op studiedag 0 is in tabel 5, op de vorige pagina getoond voor het beantwoorden van deelvraag 1. Het gemiddelde celgetal op studiedag -7 over alle 127 deelnemende kwartieren was 107,866. Het gemiddelde celgetal op studiedag 0 over alle 127 deelnemende kwartieren was 245,929.

De output van de berekeningen van de gepaarde t-toets in SPSS is bijgevoegd in de bijlage aan het einde van dit rapport. Uit de output blijkt dat de significantie tussen beide celgetaldagen kleiner dan 0,01 is.

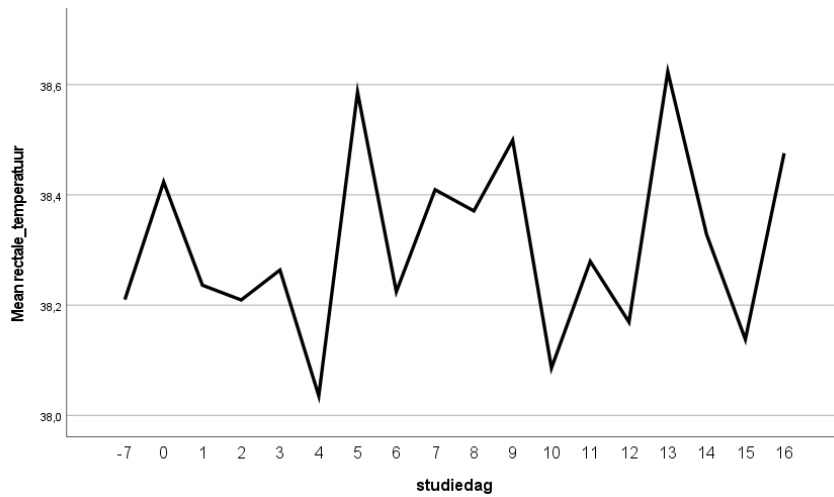
3.3 Deelvraag 3

Is er een verschil in tijd tussen het optreden van de ziekteverschijnselen onderling?

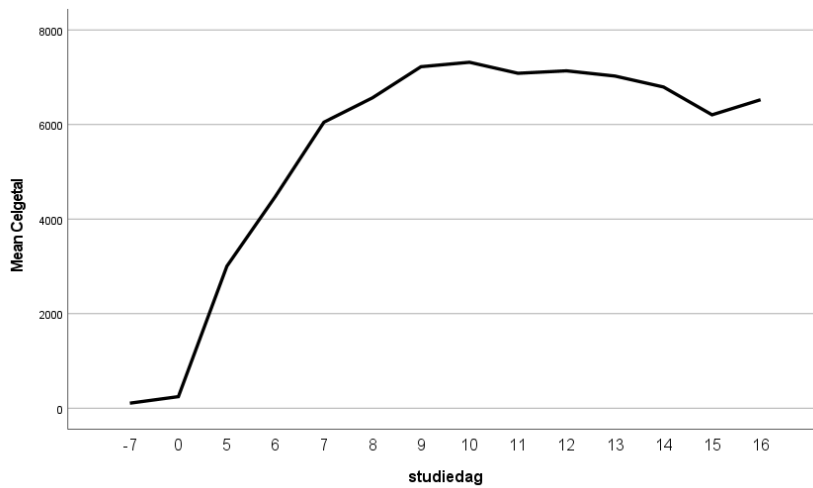
Van de zes parameters wordt hieronder eerst een grafiek getoond, zodat duidelijk wordt hoe de data zich ontwikkelt en op welk moment er een piek in de metingen is ontstaan. Hierna zal een grafiek worden getoond welke de ontwikkeling van de logaritmische waarden van de kolonievormende eenheden uitgezet tegen de studiedagen toont.

Parameters

In figuur 5 is de rectale temperatuur uitgezet tegen de studiedag. In het figuur is te zien dat rond studiedag 5 een piek wordt bereikt, waarna het tot het einde van de studie hoger blijft dan voor de piek.

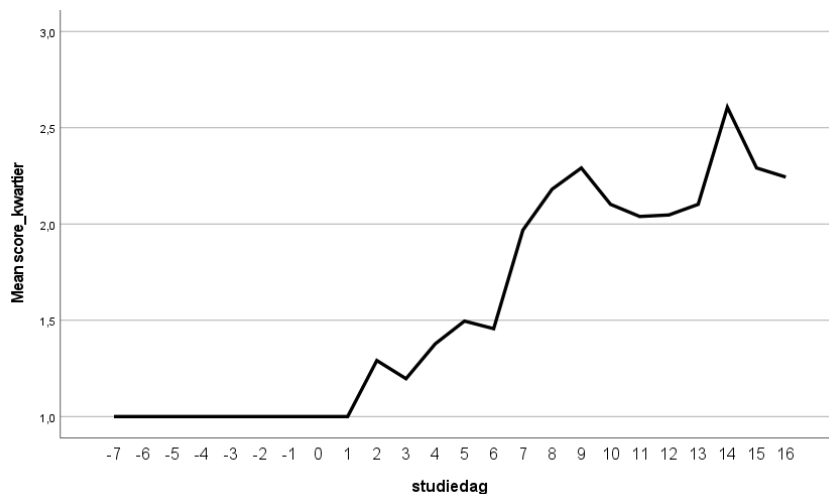


Figuur 5, Ontwikkeling rectale temperatuur in graden Celsius uitgezet tegen de studiedagen



Figuur 6, Ontwikkeling celgetal x 1000 uitgezet tegen de studiedagen

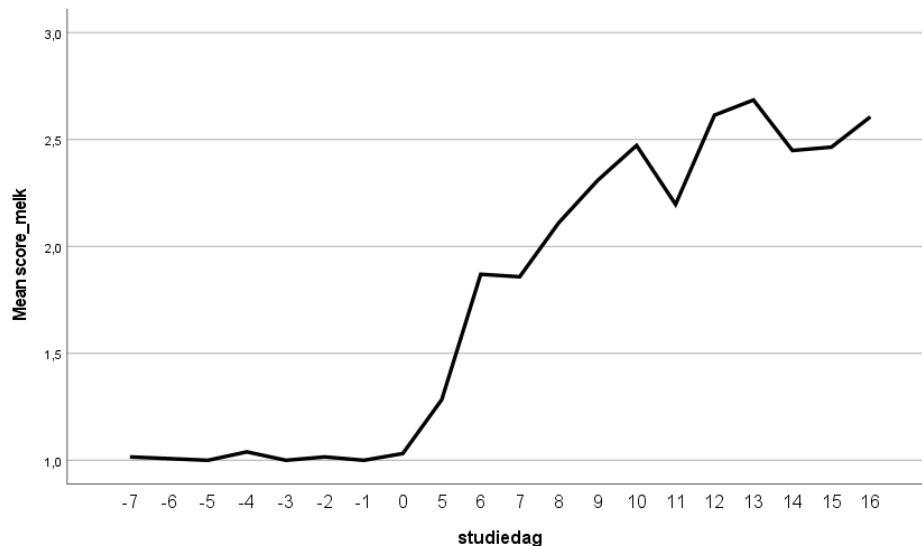
In de ontwikkeling van het celgetal is te zien dat vanaf studiedag 0 een sterke stijging waar te nemen is, welke een piek bereikt rond studiedag 10, waarna het licht afneemt. Ook valt op dat tussen studiedag -7 en studiedag 0 er al een (beperkte) stijging zichtbaar is. Dit is weergegeven in figuur 6



Figuur 7, Ontwikkeling mastitisobservatie score per kwartier uitgezet tegen de studiedagen

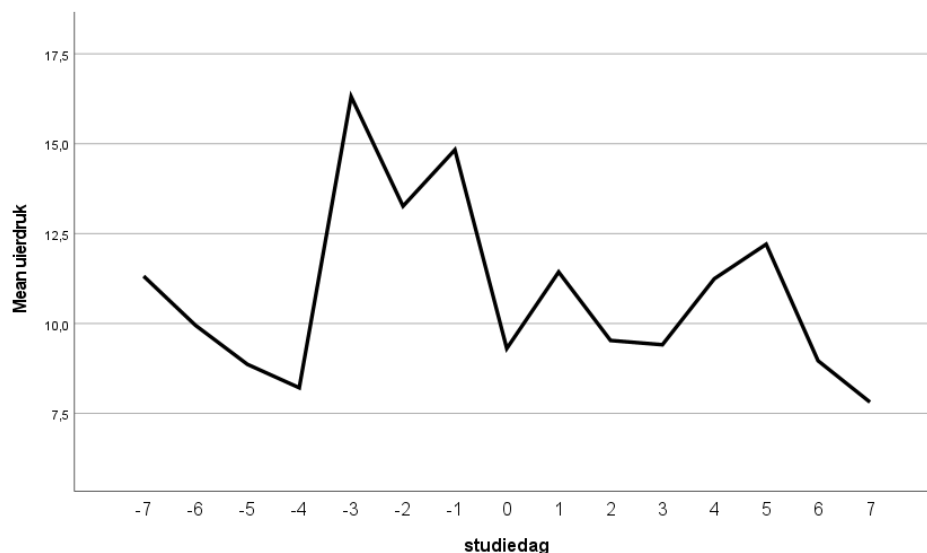
De mastitisobservaties van de kwartieren bereiken op studiedag 9 een piek, waarna het enkele dagen licht daalt. Op studiedag 14 bereikte de mastitisobservaties op kwartierniveau opnieuw een piek.

Als er wordt gekeken naar de mastitisobservaties van de melk, loop deze grafiek grotendeels synchroon met de mastitisobservaties van de kwartieren. Echter zet de stijging hier iets eerder in, rond studiedag 0. Dit is te zien in figuur 8.



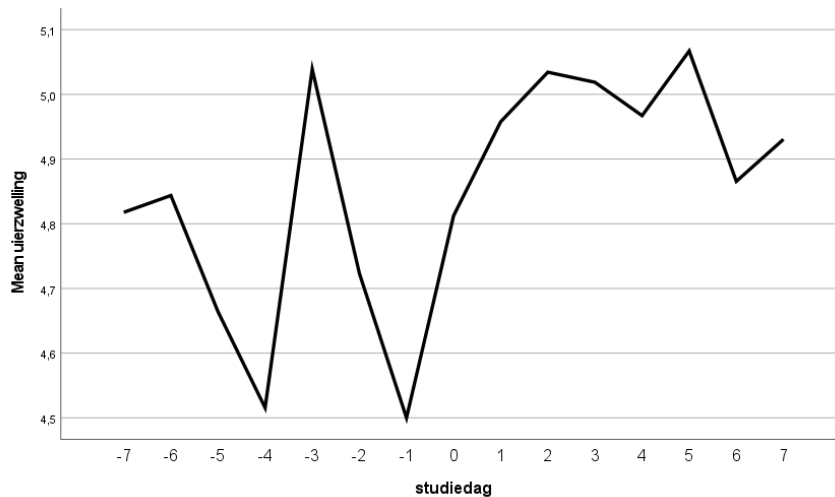
Figuur 8, Ontwikkeling mastitisobservatie score melk uitgezet tegen de studiedagen

In tegenstelling tot de hiervoor behandelde parameters, bereikt de uierdruk al voor studiedag 0 een piek, dit is te zien in figuur 9. Vanaf studiedag 0 neemt de uierdruk af, waarna het gedurende zes dagen stabiel blijft, tot er opnieuw een daling te zien is.



Figuur 9, Ontwikkeling uierdruk achterkwartieren in kg uitgezet tegen de studiedagen

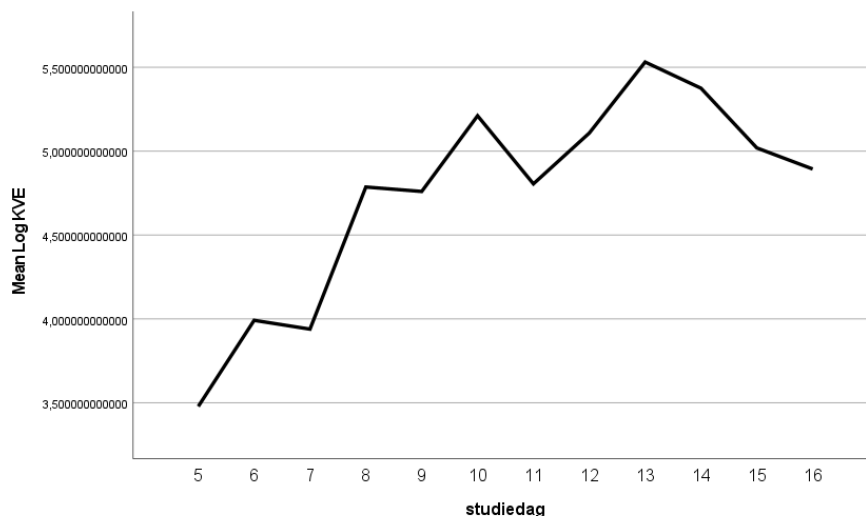
In de ontwikkeling van de uierzwellings is een stabiele stijging te zien vanaf studiedag -1, waarna na studiedag 5 weer een daling zichtbaar is. Echter is het opvallend dat rond studiedag -3 een grote stijging is waargenomen in uierzwellings, welke de volgende dag direct weer af is genomen, zie figuur 10.



Figuur 10, Ontwikkeling uierzwelling achterkwartieren in cm uitgezet tegen de studiedagen

Kliniek in het melkmonster

In onderstaande figuur is de kliniek in het melkmonster uitgezet tegen de betreffende studiedagen. De eerste metingen zijn gedaan op studiedag 5, dit is het gevolg van de lopende inoculatie tot studiedag 5. Vanaf studiedag 5 is er een evenredige stijging te zien tot studiedag 10, waarna het nog doorstijgt tot studiedag 13. Tussen studiedag 13 en 16 is er een daling zichtbaar van het aantal kolonievormende eenheden in het melkmonster.



Figuur 11, Ontwikkeling kliniek in het melkmonster uitgezet tegen de studiedagen

3.4 Hoofdvraag

In welke mate heeft de hoeveelheid kliniek in een melkmonster door een Streptococcus Uberis infectie invloed op de gezondheid van de koe?

Voor het toepassen van de ANOVA toets worden de kwartieren met een x hoeveelheid kolonie vormende eenheden, welke al zijn omgezet naar logaritmische waarden, voor een normale verdeling, opgedeeld in vier groepen. Deze vier groepen zijn in onderstaande tabel weergegeven.

Tabel 6, KVE verdeeld over vier groepen

Groep	Indeling	Aantal variabelen	Gemiddelde KVE groep	Logaritmische waarde KVE
A	25% meeste KVE	144 variabelen	10.356.049	7,015
B	25% meeste van gemiddelde KVE	143 variabelen	530.010	5,725
C	25% minste van gemiddelde KVE	143 variabelen	15.889	4,201
D	25% minste KVE	143 variabelen	510	2,708

Voor het gebruik van de ANOVA test zijn de logaritmische waarden van de kolonievormende eenheden (KVE) vergeleken met de parameters, welke het meetniveau ordinaal hebben. Dit betreft de mastitisobservaties van de uier en de melk.

Mastitisobservaties uier

Na het uitvoeren van de ANOVA toets tussen de logaritmen van de KVE en de mastitisobservaties van de uier op kwartierniveau is er een output uit gekomen, deze is bijgevoegd in de bijlagen.

De Levene Statistic heeft een significantie van kleiner dan 0,01. Dit houdt in dat de significantie kleiner is dan de kritieke waarde van 0,05. De variantie binnen de scores 1,2,3 en 4 (de scores voor mastitisobservatie) is significant even groot.

Door het wel significant zijn van de Levene Statistic, is gekeken of de Brown-Forsyth wel of niet significant is. Deze geeft aan of er verschil is tussen de vergeleken scores. De Brown-Forsyth heeft ook een waarde kleiner dan 0,01, wat inhoudt dat het verschil tussen de vergeleken scores ook significant is.

Bij het één op één vergelijken van de vier scores komt naar voren dat enkel score 1 en 2 geen significant verschil onderling tonen. Verder tonen alle scores onderling wel een significant verschil.

Mastitisobservaties melk

Binnen de vergelijking van de scores van mastitisobservaties van de melk en de logaritmen van de KVE komt er een Levene Statistic significantie uit van 0,01. Dit houdt in dat ook hier de variatie binnen de scores 1, 2, 3 en 4 significant even groot is. De Brown-Forsyth heeft een significantie kleiner dan 0,01, het verschil tussen de vergeleken scores is ook significant.

Bij het vergelijken van de scores één op één, komt naar voren dat de scores 1 en 2 een onderlinge significantie hoger dan 0,05 hebben. Ditzelfde geldt voor de scores 3 en 4. De verdere onderlinge verhoudingen hebben een significantie van 0,05 of lager.

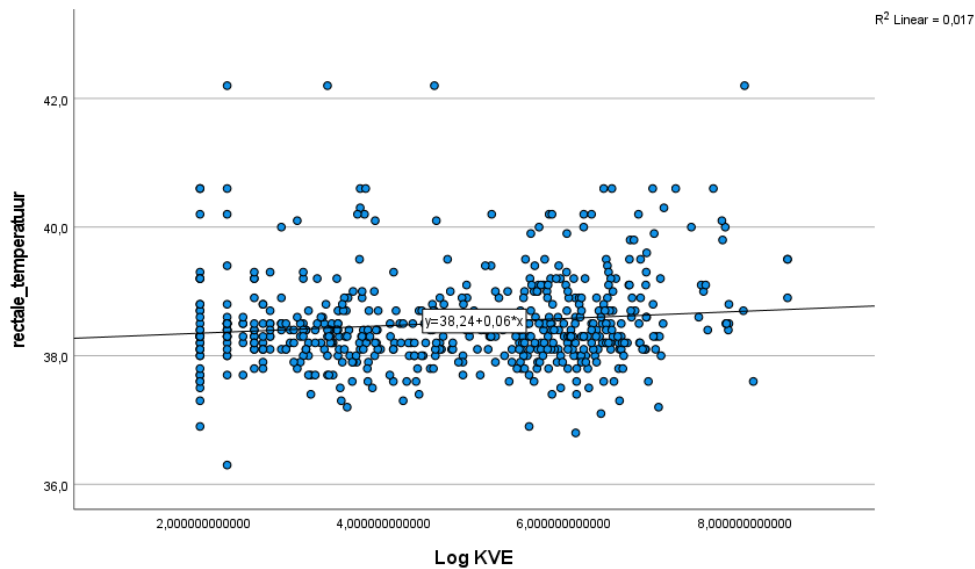
In de bijlage is de output van de ANOVA analyse bijgevoegd.

Rectale temperatuur

De rectale temperatuur is vergeleken met de kolonievormende eenheden door middel van het correlatiecoëfficiënt. Ook hierbij is gebruik gemaakt van logaritmische KVE's, om zo een normale verdeling te bewerkstelligen.

In onderstaande figuur is de verdeling van alle gemeten punten weergegeven. Hier is te zien dat op het eerste oog geen direct verband te vinden is. De lineaire lijn door het midden geeft aan dat er wel degelijk een licht verband is, met een correlatiecoëfficiënt van 0,130 en een significantie van 0,02.

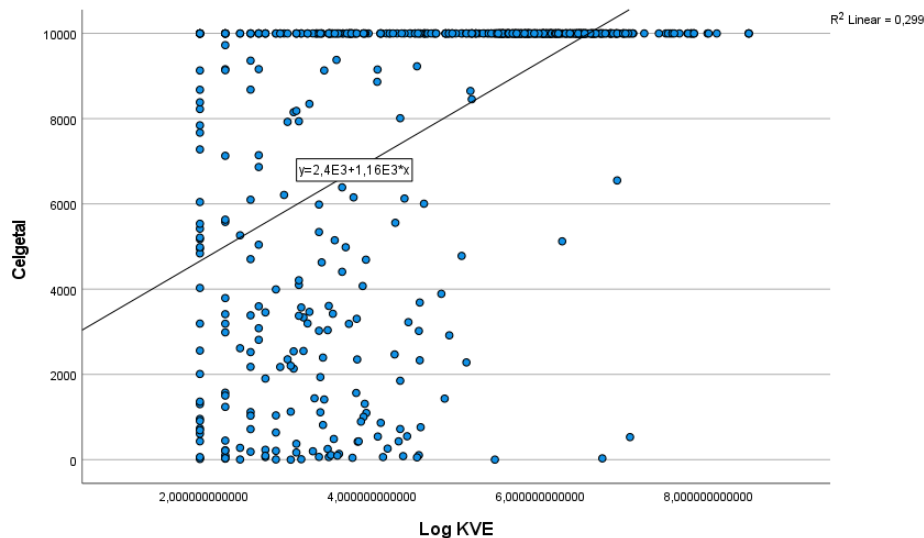
In de bijlage is de output van SPSS weergegeven.



Figuur 12, verdeling meetpunten rectale temperatuur in graden Celsius en logaritmische KVE's

Celgetal

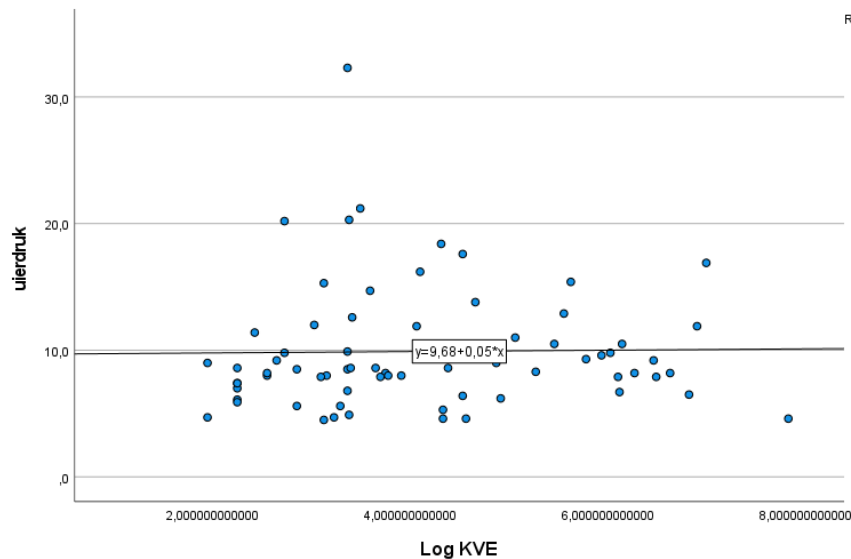
De celgetal bepalingen, uitgevoerd door Qlip, hebben een maximale waarde van 10.000 (10.000.000 cellen / ml). Dit is te zien in figuur 13, waarin de meetpunten zijn getoond. In het figuur is ook te zien dat er een duidelijkere correlatie tussen celgetal en kolonievormende eenheden is, dan bij de rectale temperatuur. Het correlatiecoëfficiënt betreft 0,547 met een significantie kleiner dan 0,01, de SPSS output is weergegeven in de bijlage.



Figuur 13, Verdeling meetpunten celgetal x 1000 en logaritmische KVE;s

Uierdruk

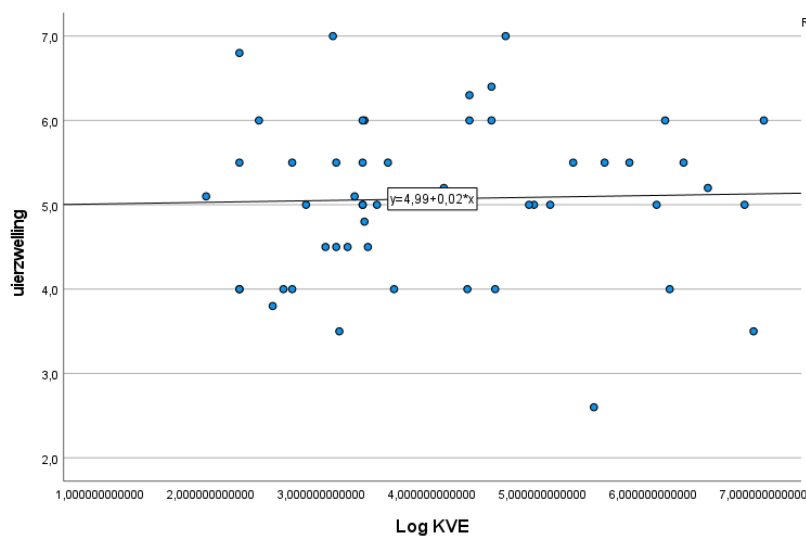
Het aantal meetpunten van de uierdruk is beperkter dan bij de hiervoor behandelde parameters. In figuur 14 is de verdeling van de meetpunten te zien, hier hoort een correlatie bij van 0,016. Daarnaast laat de SPSS output zien dat de significantie 0,893 is, dit is hoger dan 0,05. De output van SPSS is weergegeven in de bijlage.



Figuur 14, Verdeling meetpunten uierdruk in kg en logaritmische KVE's

Uierzwellung

In figuur 15 is de verdeling van de meetpunten weergegeven, net als bij de uierdruk is het aantal gebruikte meetpunten beperkt. In de output van SPSS, weergegeven in de bijlage, is te zien dat de correlatie tussen de uierzwellung en kolonievormende eenheden slechts 0,030 is, met een bijbehorende significantie van 0,832.



Figuur 15, Verdeling meetpunten uierzwellung in cm en logaritmische KVE's

4. Discussie

Dit hoofdstuk beschrijft een reflectie van de gekozen aanpak en de daarbij verkregen resultaten. Er wordt ingegaan op zaken die anders hadden gekund en ook op zaken die eventueel naar aanleiding van de literatuur een andere verwachte uitkomst hadden gehad. Per hoofd- en deelvragen wordt samengevat wat de resultaten zijn en waarom deze wel of niet verwacht hadden kunnen worden bij aanvang van het onderzoek.

Doelstelling van het onderzoek was het in kaart brengen in welke mate de hoeveelheid kliniek in een melkmonster als gevolg van een inoculatie met *Streptococcus Uberis* invloed heeft op de vooraf beschreven parameters, welke de mastitisobservaties van melk en uier, de rectale temperatuur, het celgetal, de uierdruk en de uierzwellings betroffen.

4.1 Aanpak

Zaken waar gereflecteerd op is tijdens de aanpak, vallen onder de materiaal en methode. Achteraf zijn er vooral zaken met betrekking tot de methode en daarbij horende dataverzameling, welke anders of beter uitgevoerd hadden kunnen worden.

Binnen het proces van dataverzameling tijdens de studie zijn in de loop van de tijd enkele zaken naar voren gekomen welke beter voorbereid hadden kunnen worden of voor wat andere materialen gebruikt konden worden. Na het enkele keren uitstellen van de startdatum van de studie, kwam de aanvangsdatum erg kort na het krijgen van groen licht voor de studie. Dit heeft als gevolg gehad dat het erg druk is geweest met het regelen van de laatste zaken en daarom het niet meer heeft kunnen lukken om een meeting vooraf te houden met alle betrokken data verzamelende medewerkers. In een dergelijke meeting had aan de hand van foto's vooraf een duidelijk beeld geschept kunnen worden op welk moment een bepaalde score werd toegekend aan de kwartierbeoordelingen van de uier en de melk. Tijdens het verzamelen van de data, kwam naar voren dat verschillende medewerkers, ook een verschillende interpretatie van de scores aanhielden.

In een dergelijke vergadering hadden ook andere zaken met betrekking tot een betrouwbare dataverzameling naar voren kunnen komen. Bijvoorbeeld dat de inkt waarmee de stippen achter op de achterkwartieren werd aangebracht bleek te vervagen in de ligboxen. Dit werd in de eerste dagen van de droogstand tijdens het melk uit liggen zo erg dat stippen soms volledig verdwenen.

Uit de literatuur is gebleken dat de normaalwaarden van rectale temperatuur van melkkoeien, kan schommelen tussen de 38,0 en 39,3 graden Celsius (zie hoofdstuk 4.4). Dit terwijl de koeien in de studie al bij een verhoging vanaf 39,5 graden Celsius extra temperatuur observaties zijn ondergaan. Om ze uit voorzorg beter in de gaten te houden. Dit kan betekenen dat een koe met een normale temperatuur van 39,3 graden Celsius al bij een verhoging van 0,2 graden Celsius kon worden aangemerkt als risico koe. Als hierin wordt meegenomen dat er temperatuurverschillen tussen ochtend en avond zijn en ook de temperatuur rondom de eisprong schommelt is een verschil van 0,2 graden Celsius erg minimaal. De koeien in de studie waarin niet drachtig, maar wel gezond aan de geslachtsorganen, dit betekent dat normaal gezien iedere koe in ieder geval één keer tochtig zal zijn geweest tijdens de studie. De tochtigheden zijn echter niet geregistreerd, ook de normaalwaardes van de individuele koeien zijn niet vastgesteld, er kan zoals in hoofdstuk 4.4 aangegeven een verschil van 1,3 graden Celsius tussen individuen zitten.

De uierdruk en uierzwellings zijn in droogstand maar een beperkt aantal dagen gemeten. Dit geeft ook een beperkt aantal data om een statistische toets over uit te voeren. Daarnaast is de overlap van deze data met het nemen van de melkmonsters voor de bepaling van de KVE nog kleiner, slechts twee studiedagen (zie figuur 3, pagina 17). Wanneer er met weinig data een statistische toets wordt uitgevoerd, is de kans ook groter dat er geen significant verband wordt aangetoond. In vervolgstudies zal er voor deze parameters gekozen moeten worden

om langer te meten of om deze parameters uit de studie weg te laten. De toegevoegde waarde in deze studie is door de beperkte data niet groot.

4.2 Resultaten

Per deelvraag worden hieronder de resultaten bediscussieerd.

Deelvraag 1

In de resultaten van deelvraag 1 is naar voren gekomen dat er geen significant verband bestaat tussen het celgetal voor inoculatie en het wel of niet doormaken van een klinische mastitis, beoordeeld op vooraf zelf opgestelde richtlijnen. Zowel de groep kwartieren met het hoogste celgetal voor inoculatie, als de groep kwartieren met het laagste celgetal voor inoculatie heeft geen significant grotere of kleinere kans op een klinische mastitis.

Naar aanleiding van de literatuur was dit ook de verwachting. De literatuur met betrekking tot het celgetal toont, dat kwartieren met een celgetal onder de 400.000 cellen per milliliter, als gezond kwartier gedefinieerd worden. Niet ieder kwartier had voor inoculatie een celgetal onder de 400.000 cellen per milliliter, echter is er tijdens het microbiologische onderzoek voor aanvang van de studie wel vastgesteld dat alle deelnemende kwartieren gezond waren. Deze gezonde kwartieren hebben dus significant aangetoond ook niet meer of minder kans op een klinische mastitis.

Deelvraag 2

Waar bij deelvraag 1 is aangetoond dat alle kwartieren gezond zijn geweest bij aanvang van de studie en daarbij niet meer of minder kans op een klinische mastitis hadden, afhankelijk van het celgetal. Is er door middel van een gepaarde t-toets wel aangetoond dat tussen studiedag -7 en studiedag 0 een significante stijging is geweest in het celgetal van de deelnemende kwartieren.

In deze laatste week van inoculatie, welke vanaf studiedag 0 plaatsvond, zijn er geen veranderingen in voeding, huisvesting of andere dergelijke zaken geweest. Afgaand op de literatuur is het dan ook niet logisch dat het celgetal in de laatste week voor droogzetten een significante stijging doormaakt. Dit gebeurt normaal gesproken in de actieve involutie fase van de droogstand zelf.

Uit de inleiding in het begin van dit rapport is geen logische verklaring af te leiden, waarom het celgetal in deze laatste week voor het droogzetten significant is gestegen. In een vervolg onderzoek zou onderzocht kunnen worden of dit een natuurlijk proces is dat vaker bij melkkoeien voorkomt, of dat er in deze situatie toch iets anders heeft gespeeld. Daarnaast hoeft de stijging van het celgetal gezien de resultaten van deelvraag 1 niet per definitie negatief te zijn.

Deelvraag 3

Tijdens het tonen van de grafieken van de ontwikkeling van de parameters, afgezet tegen de studiedagen komt bij de meeste parameters naar voren dat de grafiek een soortgelijke stijging doormaakt, deze stijging is vergelijkbaar met de grafiek van het aantal logaritmische KVE's uitgezet tegen de studiedagen.

De rectale temperatuur heeft op het eerste oog, een niet erg duidelijke ontwikkeling doorgemaakt gedurende de studie. De verschillen in temperatuur bij een klinische mastitis hoeven dus niet per definitie een verhoogde temperatuur op te leveren. Ook door het niet vaststellen van de normaal waardes van rectale temperatuur voor ieder individueel rund, kan niet met zekerheid gezegd worden of er wel of niet een significante stijging is doorgemaakt.

Een ander opvallende zaak is de plotselinge stijging van de uierzwellig op studiedag -3. Deze valt niet te verklaren uit de literatuur, aangezien er geen gezondheidsveranderingen bij de deelnemende dieren zijn geweest en ook de koeien hetzelfde rantsoen kregen als voorheen en nog iedere dag twee maal gemolken werden. Het is eventueel mogelijk dat dit te koppelen valt aan de significante stijging van het celgetal tussen studie dag -7 en 0,

besproken bij deelvraag 2. Dit gebeurde in hetzelfde tijdsbestek en is daarom voor eventuele vervolgstudie te onderzoeken.

Ook de uierdruk begon ook zonder duidelijke reden enkele dagen voor het droogzetten en de inoculatie te stijgen. Het is mogelijk om dit in vervolg onderzoek te koppelen aan het verhogen van het celgetal in dezelfde periode, net als bij de uierzwellings.

5. Conclusie

Dit rapport, betreffend een afstudeerwerkstuk, geeft een volledig beeld van een onderzoek naar de invloed van de hoeveelheid kliniek (het aantal kolonievormende eenheden) in een melkmonster en de invloed hiervan op gezondheidsfactoren die kunnen duiden op een klinische uierontsteking. In het onderzoek is gewerkt met een onnatuurlijke besmetting met de *Streptococcus Uberis* bacterie op kwartierniveau.

Inleidend aan de aanpak van het onderzoek is door middel van een literatuur studie kenbaar gemaakt wat er al bekend is over de afweer in het lichaam van de koe, over uiergezondheid in het algemeen en over mastitisinfecties met *Streptococcus Uberis*. Ook is er van de belangrijkste symptomen van een klinische mastitis uitgezocht wat normaalwaardes zijn en welke veranderingen optreden bij verschillende veranderingen in gezondheid of leefomgeving en leefomstandigheden.

Aan de hand van de resultaten en discussie zal in dit hoofdstuk antwoord worden gegeven op de opgestelde deelvragen, gevolgd door een beantwoording van de hoofdvraag.

5.1 Deelvraag 1

Heeft de groep kwartieren met het laagste celgetal voor inoculatie een grotere kans op een klinische mastitis?

Voorafgaand aan de studie naar de invloed van een *Streptococcus Uberis* besmetting op de gezondheid van een koe, is bepaald dat alle deelnemende kwartieren gezond zijn. Er bestond echter wel een verschil in celgetal tussen deze gezonde kwartieren. Zodoende zijn deze opgedeeld in drie gelijke groepen, welke als volgt een groep met de laagste celgetallen, een groep met de gemiddelde celgetallen en een groep met de hoogste celgetallen. Aan de hand van Chi-Kwadraat toets is vastgesteld dat de hoogte van een celgetal in een gezond kwartier geen significante invloed heeft op het wel of niet doormaken van een klinische mastitis met *Streptococcus Uberis* in de droogstand. Daarmee wordt ook geconcludeerd dat de groep kwartieren met het laagste celgetal, dus geen grotere of kleinere kans op het doormaken van een klinische mastitis met *Streptococcus Uberis* in de droogstand.

Deze conclusie is gebaseerd op het feit dat de Pearson Chi-square een waarde heeft van 0,919, dit is groter dan de kritische waarde van 0,05, bij een betrouwbaarheidsdrempel van 95%. De waarde groter dan de kritische waarde geeft aan dat er geen significant verschil bestaat tussen de hoogtes van de celgetallen bij aanvang van de studie en het wel of niet doormaken van een klinische mastitis tussen studiedag 0 en 16 binnen de studie.

Aan de hand van deze resultaten kan in de melkveehouderij in het droogstandsmanagement rekening gehouden worden dat een gezond uier met een celgetal boven de in de literatuur genoemde grenswaarde van 400.000 cellen per milliliter niet meer kans heeft om een klinische mastitis met *Streptococcus Uberis* door te maken dan een kwartier met een lager celgetal. Dus hoeft het preventief droogzetten van koeien uit een dergelijke groep niet per definitie nodig te zijn en zou er eventueel eerst bacteriologisch onderzoek gedaan kunnen worden. In de droogstand zijn omgeving gebonden kiemen als *Streptococcus Uberis* de meest risicovolle kiemen, doordat koeien niet meer in de melkstal besmet kunnen worden met koe gebonden kiemen. Anderzijds heeft een koe met een celgetal uit de groep met laagste celgetallen dus niet minder of meer kans om deze klinische mastitis door te maken en dus niet per definitie minder recht op een preventieve droogzetting met antibiotica.

5.2 Deelvraag 2

Is er een significant verschil tussen het celgetal op studiedag -7 en studiedag 0?

Aan de hand van een gepaarde t-toets is er daadwerkelijk een significant verschil in celgetal aangetoond tussen studiedag -7 en studiedag 0 (significatie $< 0,01$). Het celgetal heeft in deze zeven dagen een significante stijging doorgemaakt, zonder dat hier een duidelijke reden voor is. Dat het celgetal in de eerste fase van de droogstand, de actieve involutie, stijgt is bekend, maar onbekend is of dit voor de droogstand ook in een dergelijke korte termijn kan gebeuren.

Dat er een significante stijging van het celgetal bij de deelnemende kwartieren in dit onderzoek is vastgesteld is een feit. Echter kan er over betwist worden of dit per definitie negatief is. Door de beantwoording van deelvraag 1 is naar voren gekomen dat gezonde kwartieren met een hoger celgetal niet meer of minder kans op een klinische mastitis met *Streptococcus Uberis*. Aangezien de kwartieren naast het doormaken van een significante stijging van het celgetal, wel gezond bevonden zijn bij aanvang van het onderzoek, is deze stijging van het celgetal, ondanks de onbekende oorzaak, niet per definitie risicovol.

5.3 Deelvraag 3

Is er een verschil in tijd tussen het optreden van de ziekteverschijnselen onderling?

Als er wordt gekeken naar de figuren die zijn getoond in hoofdstuk 8.3 vallen enkele zaken op. De rectale temperatuur schommelt gedurende de studiedagen voortdurend, hierdoor kan er niet vastgesteld worden of de rectale temperatuur daadwerkelijk is gestegen op een bepaald moment na het optreden van een hoeveelheid kliniek in het melkmonster.

Het celgetal en de mastitisobservaties van de melk beginnen met stijgen direct na droogzetten en dus het begin van de inoculatie. Het stijgen van de scores van de mastitisobservaties van de melk duidt direct op klinische mastitis met *Streptococcus Uberis*. Het stijgen van het celgetal zal ongetwijfeld hier ook mee te maken hebben, maar het celgetal in de nog gezonde kwartieren stijgt ook door het starten van de actieve involutie fase van de droogstand.

De mastitisobservaties van het kwartier beginnen pas met stijgen op studiedag 1, dit is één dag na het stijgen van de mastitisobservaties van de melk. Hieruit kan geconcludeerd worden dat een klinische mastitis met *Streptococcus Uberis* eerder opgespoord kan worden door controle van de melk, dan controle van het kwartier aan de buitenzijde. Dit loopt in lijn met hetgeen er in figuur 1 op bladzijde 13 getoond wordt. Daar wordt aangegeven dat de pro-inflammatoire cytokines bij een *Streptococcus Uberis* infectie pas veel later zorgen voor de ontstekingsreactie van het weefsel dan bij infecties met bijvoorbeeld *E. Coli* en *S. Aureus*.

De uierdruk en uierzwellig begonnen beide te stijgen voor studiedag 0 en dus voor de droogstand. Hier is gezien de literatuur of de opzet van het onderzoek geen duidelijke reden voor. Het is in ieder geval niet het gevolg van een besmetting met *Streptococcus Uberis*, omdat de kwartieren op dat moment nog gezond waren en gezien figuur 11, de grote stijging in kolonievormende eenheden in de melk pas begint na studiedag 5. Door deze stijging voor studiedag 0 en dus voor de besmetting is het moeilijk vergelijken wanneer dit optreedt in vergelijking met de andere parameters tijdens een besmetting met de betreffende mastitisinfectie.

Wel is het aannemelijk dat door het late opgang komen van de pro-inflammatoire cytokinen bij *Streptococcus Uberis*, met een piek pas 60 uur na besmetting, ook de uierdruk en uierzwellig, die afhankelijk zijn van de ontsteking van het weefsel, pas na die periode tot een piek komen.

Als antwoord op de bovenstaande onderzoeksvraag of de ziekteverschijnselen van elkaar verschillen in het moment van optreden. Is er zeker te zeggen dat er binnen de mastitisobservaties van de melk een eerste signaal van klinische mastitis kan worden geconstateerd en dat door het late optreden van de ontsteking van het weefsel pas twee à

drie dagen na besmetting met *Streptococcus Uberis* verschijnselen in mastitisobservaties van het kwartier, uierzwellings en uierdruk kan worden geconstateerd.

Celgetal is minder betrouwbaar om te vergelijken door het normale stijgen in het begin van de droogstand. De rectale temperatuur laat geen stabiele stijging zien en lijkt in ieder geval bij milde klinische mastitisinfecties niet direct te veranderen.

5.4 Hoofdvraag

In welke mate heeft de hoeveelheid kliniek in een melkmonster door een Streptococcus Uberis infectie invloed op de gezondheid van de koe?

Door middel van een ANOVA toets is aangetoond dat zowel de scores voor de mastitisobservaties van de uier als van de melk significant hoger zijn bij een grotere hoeveelheid kolonievormende eenheden in het melkmonster. De significantie heeft een dermate hoge betrouwbaarheid (significantie $<0,001$) dat het verband tussen de kliniek in het melkmonster en de mastitisobservaties van de uier en de melk erg groot is. Dit houdt in dat de hoeveelheid kliniek het melkmonster in grote mate invloed heeft op de gezondheid van de koe, aangezien de staat van de uier en de melk in significante mate veranderd bij een verhogende hoeveelheid kliniek in het melkmonster.

Bij de mastitisobservaties van de uier is het verschil tussen score 1 & 2 niet significant. Bij de mastitisobservaties van de melk is het verschil tussen zowel de scores 1 & 2, als het verschil tussen de scores 3 & 4 niet significant. Dit houdt in dat bij een kleine hoeveelheid kliniek in het melkmonster voor de mastitisobservaties van uier en melk de score voor niet iedere koe hetzelfde zal zijn en kan verschillen tussen geen ziekteverschijnselen tot lichte ziekteverschijnselen. Juist bij een heel hoge hoeveelheid kliniek in het melkmonster zal het verschil in ernst van de mastitisobservaties van de melk niet voor iedere koe gelijk zijn, waarbij de eventuele aanwezigheid van bloed bij de ene koe wel komt en bij de andere koe uit blijft.

Op het eerste oog is er tussen de rectale temperatuur en de kliniek in het melkmonster geen verband te zien, dit in tegenstelling tot de mastitisobservaties hierboven toegelicht. Dit verband blijkt in zeer kleine mate echter wel en significant aanwezig te zijn. Met een correlatiecoëfficiënt van 0,130 heeft de mate van kliniek in het melkmonster maar een zeer kleine invloed op de rectale temperatuur. Hierdoor is rectale temperatuur geen betrouwbare parameter om een klinische mastitis bij een melkkoe vast te stellen. Echter kan het wel gebruikt worden als extra bevestiging dat er een ontstekingsreactie in het lichaam aanwezig is, welke in lichte, maar significante mate temperatuursverhoging veroorzaakt.

Ten opzichte van de rectale temperatuur, is de correlatie tussen celgetal en kliniek in het melkmonster wel hoog, namelijk 0,547, en significant. Een deel van de celgetal stijging is het gevolg van de actieve involutiefase van de droogstand. Maar die stijging neemt niet de mate aan welke te zien zijn in figuur 13 op bladzijde 30. De hoge correlatie geeft aan dat de gezondheid van de koe sterk aangetast wordt door hoge kliniek in het melkmonster. Echter kan een hoog celgetal ook een subklinische mastitis veroorzaken, wat het welzijn van de betreffende melkkoe niet dermate aantast, omdat een subklinische mastitis geen tot weinig invloed heeft op de andere onderzochte parameters.

De correlatie tussen de kliniek in het melkmonster en de uierdruk en uierzwellings is erg laag en niet significant. Dit kan, zoals in de discussie besproken, het gevolg zijn van een onverwacht resultaat in de data. Echter aan de hand van de literatuur is een verhoging van uierdruk en uierzwellings wel degelijk het geval bij een klinische mastitis. Het verschil tussen de reactie van kwartieren onderling is in dit onderzoek echter te groot om het significant aan te tonen. Verhoging van uierdruk en uierzwellings door een verhoogde hoeveelheid kliniek in het melkmonster heeft geen significante invloed op de gezondheid van de koe.

Aan de hand van de onderzochte parameters blijkt dat de mastitisobservaties van de uier en de melk en de bepaling van het celgetal, de meeste invloed hebben op gezondheid van de koe. Aan de hand van deze ziekteverschijnselen kan een melkveehouder dan ook het betrouwbaarst een klinische mastitis in de droogstand door *Streptococcus Uberis* vaststellen. Een melkveehouder dient te kijken naar de geur, kleur en consistentie van de melk en naar het pijnlijk zijn van het betreffende kwartier. Het verhard of vergroot zijn van het kwartier in de droogstand hoeft niet per definitie een klinische mastitis te beteken dan wel uit te sluiten.

6. Literatuurlijst

Aeres Hogeschool, (2021, 25 januari). *Aeres Hogeschool Dronten groeit uit haar kas*. <https://www.akkervbouwbedrijf.nl/duurzaamheid/kringlooplandbouw/aeres-hogeschool-dronten-groeit-uit-haar-kas/>

Blau, U., Bruckmaier, M. Rupert. & Zanini, L. (2019). Intramammary pressure and udder firmness during a 72-h interruption of milking to simulate dry-off, with and without feed restriction. *Journal of dairy science*, volume 102 (issue 8), p. 7548-7555. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16333>

Brouwens, R.E.A., de Groot, P.A.M., Kranendonk, W., van Lune, J.P., Prop – van den Berg, C.M., van Riswick, J.A.M.H., Westra, J.J. (2013). *BINAS havo / vwo*. (6^e editie). Geraadpleegd op 30 maart 2020. Noordhoff Uitgevers Groningen.

Collado, R., Montbrau, C., Sitjà, M. & Prenafeta, A. (2018). Study of the efficacy of a *Streptococcus uberis* mastitis vaccine against an experimental intramammary infection with a heterologous strain in dairy cows. *Journal of dairy science*, volume 101 (issue 11), p. 10290-10302. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14840>

De Lange, D. (2019). *Koecelgetal*. Veeapotheek.nl. Geraadpleegd op 31 maart 2022, van <https://www.veeapotheek.nl/veetips/koecelgetal#:~:text=Celgetal%20metingen%20per%20kwartier%20in,tot%20boven%20de%20400.000%20cellen.>

Deng, Z. (2021). *Improving udder health management in dairy herds with automatic milking systems* (1^e editie). Utrecht University. <https://doi.org/10.33540/772>

3B Scientific, (2022). *Commander Echo Algometer*. 3bscientific.com. Geraadpleegd op 4 april 2022, van https://www.3bscientific.com/us/commander-echo-algometer-w68204-jtech-medical-cm307,p_911_23425.html

Firma Kaas, (2020). *Rauwe melk versus gepasteuriseerde melk*. Defirmakaas.nl. Geraadpleegd op 1 april 2022, van <https://defirmakaas.nl/rauwe-melk-vs-gepasteuriseerde-melk/#:~:text=Pasteuriseren%20is%20het%20verhitten%20van,melk%20rechtstreeks%20van%20de%20koe.>

Fisher-Tenhagen, C., Heuwieser, W. & Rees. A., (2016). Udder firmness as a possible indicator for clinical mastitis. *Journal of dairy science*, volume 100 (issue 3), p. 2170-2183. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11940>

Hillerton, J. Eric., (2022, april). *Physiologic Disorders of the Udder in Cows*. Msdvetmanual.com. Geraadpleegd op 4 mei 2022, van <https://www.msdvetmanual.com/reproductive-system/udder-diseases-in-cows/physiologic-disorders-of-the-udder-in-cows>

Hipra, (2018, 18 april). *Streptococcus Uberis – Wat is uw advies?*. Veearts.nl. Geraadpleegd op 13 maart 2022, van <https://www.veearts.nl/kennispartner/streptococcus-uberis-wat-is-uw-advies/>

Mayer, H., Bruckmaier, R. & Schams, D. (2009). Lactational changes in oxytocin release, intramammary pressure and milking characteristics in dairy cows. *Journal of dairy research*, volume 58 (issue 2), p.159-169. <https://doi.org/10.1017/S0022029900029708>

Madrano-Galarza, C., Gibbons, J., Wagner, S., de Passil , A.M. & Rushen, J. (2012). Behavioral changes in dairy cows with mastitis. *Journal of dairy science*, volume 95 (issue 12), p. 6994-7002. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-5247>

Lam, T. & De Vliegheer, S. (2017). *Handboek uiergezondheid rund*. Communication in Practise, Nijmegen.

GD, (z.d.). *California Mastitis Test (CMT)*. Gddiergezondheid.nl. Geraadpleegd op 1 april 2022, van <https://www.gddiergezondheid.nl/diergezondheid/management/uiergezondheid/infectiedruk/diagnostiek/celgetal>

GD, (2020). *Celgetal*. Gddiergezondheid.nl. Geraadpleegd op 31 maart 2022, van <https://www.gddiergezondheid.nl/diergezondheid/management/uiergezondheid/infectiedruk/diagnostiek/celgetal>

GD, (2020). *De gevoeligheidsbepaling (antibiogram)*. Gddiergezondheid.nl. Geraadpleegd op 15 maart 2022, van <https://www.gddiergezondheid.nl/nl/Diergezondheid/Management/Uiergezondheid/Behandelen/Klinische-mastitis/De-gevoeligheidsbepaling>

GD, (2020). *GD diergezondheid*. gddiergezondheid.nl. Geraadpleegd op 2 maart 2022, van <https://www.gddiergezondheid.nl/>

GD, (2020). *Klauwaandoeningen*. Gddiergezondheid.nl. Geraadpleegd op 14 maart 2022, van <https://www.gddiergezondheid.nl/nl/Diergezondheid/Management/Klauwaandoeningen/Aandoeningen>

GD, (2020). *Klinische mastitis*. Gddiergezondheid.nl. Geraadpleegd op 29 maart 2022, van <https://www.gddiergezondheid.nl/nl/Diergezondheid/Management/Uiergezondheid/Behandelen/Klinische-mastitis>

GD, (2021). *SOP-04-036 uierzwellig*. Gddiergezondheid.nl. Geraadpleegd op 26 april 2022, van Gezondheidsdienst voor Dieren

GD, (2020). *Streptococcus Uberis (SUB)*. Gddiergezondheid.nl. Geraadpleegd op 15 maart 2022, van <https://www.gddiergezondheid.nl/nl/Diergezondheid/Management/Uiergezondheid/Behandelen/Specifieke-mastitis-verwekkers/Streptococcus-uberis>

GD, (2021). *Studieschema SUB studie*. Gddiergezondheid.nl. Geraadpleegd op 4 april 2022, van Royal GD.

GD, (2020). *Subklinische mastitis*. Gddiergezondheid.nl. Geraadpleegd op 15 maart 2022, van <https://www.gddiergezondheid.nl/nl/Diergezondheid/Management/Uiergezondheid/Behandelen/Subklinische-mastitis>

Jansen, L. (2020). *Eigen foto*, Geraadpleegd op 2 maart 2022.

Kempe, (2021). Verschillende meetmethodes voor druk op de uier bij melkkoeien. *HBO kennisbank*. <https://hbo-kennisbank.nl/details/aereshogeschool:oai:www.greeni.nl:VBS:2:148874?has-link=yes&q=Verschillende+meetmethodes+voor+druk+op+de+uier+bij+melkkoeien&c=0>

Landbouwleven, (2019, 15 februari). *Subklinische mastitis opsporen via celgetal*. Landbouwleven.be. Geraadpleegd op 4 april 2022, van <https://www.landbouwleven.be/4669/article/2019-02-15/subklinische-mastitis-opsporen-celgetal>

Melkveebedrijf, (2020, 29 december). *Moet ik mijn droogstandsrantsoen aanzuren?*. Melkveebedrijf.nl. Geraadpleegd op 13 maart 2022, van

<https://www.melkveebedrijf.nl/fokkerij-melkvee/droogstand/moet-ik-mijn-droogstandsrantsoen-aanzuren/>

Rundveeloket, (z.d.). *Lichaamstemperatuur van rundvee*. Rundveeloket.be. Geraadpleegd op 31 maart 2022, van

<https://www.rundveeloket.be/kenniscentrum/diergezondheid/temperatuur>

Scribbr, (2021, 7 juli). *Meetniveaus: nominaal, ordinaal, interval en ratio | Voorbeelden*.

Scribbr.nl. Geraadpleegd op 13 april 2022, van <https://www.scribbr.nl/statistiek/meetniveaus/>

Sharma, N. Singh, N.K. & Bhadwal, M.S. (2011). Relationship of Somatic Cell Count and Mastitis: an overview. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, volume 24 (issue 3), p. 429-438. <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.10233>

Sietsema, S. & van Werven, T. (2018, 1 juni). *Streptococcus Uberis: Een lastig te bestrijden mastitis probleem*. Uu.nl. Geraadpleegd op 15 maart 2022, van

<https://www.uu.nl/nieuws/streptococcus-uberis-een-lastig-te-bestrijden-mastitisprobleem>

Smolders, E.A.A., Baars, T., Sol, J., Wemmenhove, H., Plomp, M., Ellinger, L. & Plomp, J. (2004). *Uiergezondheid 'Voorkomen is beter dan genezen' Behandelen vanuit een biologische benadering*. (Eerste druk 2004, oplage 1000). Animal science group / praktijkonderzoek. <https://edepot.wur.nl/44323>

Speelman, P., van der Poll, T. & van Deventer, S.J.H., (1998). *Immunologie in de medische praktijk*. VIII. De rol van cytokinen in de pathogenese van bacteriële infectieziekten.

Nederlands tijdschrift voor diergeneeskundigen, volume 142 (issue 1), p. 16 & 17.

<https://www.ntvg.nl/artikelen/immunologie-de-medische-praktijk-viii-de-rol-van-cytokinen-de-pathogenese-van-bacteriele>

Zoetis, (2022). *Mastitis*. 2.zoetis.nl. Geraadpleegd op 29 april 2022, van

[https://www2.zoetis.nl/diersoort/rundvee/aandoeningen/mastitis-uierontsteking#:~:text=De%20klinische%20verschijnselen%20\(koorts%2C%20sloomheid,wat%20erig%2C%20sereus%20of%20etterig%20zijn](https://www2.zoetis.nl/diersoort/rundvee/aandoeningen/mastitis-uierontsteking#:~:text=De%20klinische%20verschijnselen%20(koorts%2C%20sloomheid,wat%20erig%2C%20sereus%20of%20etterig%20zijn).

7. Bijlagen

In dit onderdeel zijn de bijlagen bijgevoegd, waarnaar in de tekst is verwezen.

7.1 Output SPSS Chi-kwadraat toets deelvraag 1

Case Processing Summary

	Valid		Cases Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Groep * Een klinische mastitis doorgemaakt?	127	100,0%	0	0,0%	127	100,0%

Groep * Een klinische mastitis doorgemaakt?

Crosstabulation

Count

		Een klinische mastitis doorgemaakt?		Total
		Ja	Nee	
Groep	Gemiddeld	25	18	43
	Hoog	26	16	42
	Laag	26	16	42
Total		77	50	127

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)
Pearson Chi-Square	,169 ^a	2	,919
Likelihood Ratio	,168	2	,919
N of Valid Cases	127		

a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 16,54.

Symmetric Measures

		Value	Approximate Significance
Nominal by Nominal	Phi	,036	,919
	Cramer's V	,036	,919
N of Valid Cases		127	

7.2 SPSS output gepaarde t-toets deelvraag 2

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Cel std -7	107,87	127	158,522	14,067
	Cel std 0	245,93	127	324,422	28,788

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Significance	
				One-Sided p	Two-Sided p
Pair 1	Cel std -7 & Cel std 0	127	,745	<,001	<,001

Paired Samples Test

		Paired Differences							Significance	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	One-Sided p	Two-Sided p
					Lower	Upper				
Pair 1	Cel std -7 - Cel std 0	-138,063	231,760	20,565	-178,761	-97,365	-6,713	126	<,001	<,001

Paired Samples Effect Sizes

		Standardizer ^a		Point Estimate	95% Confidence Interval	
					Lower	Upper
Pair 1	Cel std -7 - Cel std 0	Cohen's d		231,760	-,596	-,784
		Hedges' correction		233,151	-,592	-,779

a. The denominator used in estimating the effect sizes.

Cohen's d uses the sample standard deviation of the mean difference.

Hedges' correction uses the sample standard deviation of the mean difference, plus a correction factor.

7.3 Output SPSS ANOVA test mastitisobservaties uier en KVE

Descriptives

Log KVE

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	94	3,3791453403	1,2110200003	,12490717580	3,1311044440	3,6271862366	1,9542468537	7,8260747768
2	173	3,7534059055	1,4620166500	,11115506756	3,5340022342	3,9728095768	1,9542468537	7,7923916615
3	151	5,3670013788	1,4085402635	,11462538101	5,1405124774	5,5934902802	1,9542468537	8,4771212547
4	159	5,9459474254	1,0587735993	,08396620818	5,7801064332	6,1117884175	2,2552768493	8,4771212547
Total	577	4,7188938171	1,6726820064	,06963466305	4,5821249999	4,8556626343	1,9542468537	8,4771212547

Tests of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Log KVE	Based on Mean	10,124	3	573	<,001
	Based on Median	8,052	3	573	<,001
	Based on Median and with adjusted df	8,052	3	561,090	<,001
	Based on trimmed mean	9,602	3	573	<,001

ANOVA

Log KVE

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	632,815	3	210,938	123,491	<,001
Within Groups	978,756	573	1,708		
Total	1611,570	576			

ANOVA Effect Sizes^a

		Point Estimate	95% Confidence Interval	
			Lower	Upper
Log KVE	Eta-squared	,393	,332	,444
	Epsilon-squared	,389	,328	,441
	Omega-squared Fixed-effect	,389	,328	,440
	Omega-squared Random-effect	,175	,140	,208

a. Eta-squared and Epsilon-squared are estimated based on the fixed-effect model.

Robust Tests of Equality of Means

Log KVE

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Brown-Forsythe	126,534	3	524,283	<,001

a. Asymptotically F distributed.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Log KVE

Tukey HSD

(I) score_kwartier	(J) score_kwartier	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-,3742605652	,16746671995	,115	-,8057529245	,05723179413
	3	-1,987856039*	,17170798967	<,001	-2,430276393	-1,545435684
	4	-2,566802085*	,17004255954	<,001	-3,004931316	-2,128672854
2	1	,37426056519	,16746671995	,115	-,0572317941	,80575292451
	3	-1,613595473*	,14555289296	<,001	-1,988624979	-1,238565968
	4	-2,192541520*	,14358441067	<,001	-2,562499062	-1,822583978
3	1	1,987856039*	,17170798967	<,001	1,5454356842	2,4302763929
	2	1,613595473*	,14555289296	<,001	1,2385659677	1,9886249790
	4	-,5789460465*	,14850930750	<,001	-,9615930076	-,1962990854
4	1	2,566802085*	,17004255954	<,001	2,1286728542	3,0049313159
	2	2,192541520*	,14358441067	<,001	1,8225839776	2,5624990621
	3	,5789460465*	,14850930750	<,001	,19629908542	,96159300763

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Log KVE

Tukey HSD^{a,b}

score_kwartier	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1	94	3,3791453403		
2	173	3,7534059055		
3	151		5,3670013788	
4	159			5,9459474254
Sig.		,085	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 136,377.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

7.4 Output SPSS ANOVA test mastitisobservatie melk en KVE

Descriptives

Log KVE

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	110	3,2802308245	1,0664675752	,10168369356	3,0786970496	3,4817645993	1,9542468537	6,9030899870
2	115	3,6676740215	1,5139406316	,14117569184	3,3880060633	3,9473419797	1,9542468537	8,4771212547
3	158	5,4964569133	1,4401386852	,11457128213	5,2701569584	5,7227568681	1,9542468537	7,9999999653
4	191	5,5398920426	1,2817823060	,09274651262	5,3569469327	5,7228371526	1,9542468537	8,4771212547
Total	574	4,7198039645	1,6721024478	,06979220771	4,5827242041	4,8568837249	1,9542468537	8,4771212547

Tests of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Log KVE	Based on Mean	5,385	3	570	,001
	Based on Median	4,346	3	570	,005
	Based on Median and with adjusted df	4,346	3	542,020	,005
	Based on trimmed mean	4,998	3	570	,002

ANOVA

Log KVE

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	579,023	3	193,008	107,536	<,001
Within Groups	1023,043	570	1,795		
Total	1602,066	573			

ANOVA Effect Sizes^a

		Point Estimate	95% Confidence Interval	
			Lower	Upper
Log KVE	Eta-squared	,361	,300	,414
	Epsilon-squared	,358	,296	,411
	Omega-squared Fixed-effect	,358	,296	,410
	Omega-squared Random-effect	,157	,123	,188

a. Eta-squared and Epsilon-squared are estimated based on the fixed-effect model.

Robust Tests of Equality of Means

Log KVE

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Brown-Forsythe	108,197	3	494,315	<,001

a. Asymptotically F distributed.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Log KVE

Tukey HSD

(I) score_melk	(J) score_melk	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-,3874431971	,17867157379	,133	-,8478129418	,07292654762
	3	-2,216226089*	,16636117437	<,001	-2,644876544	-1,787575634
	4	-2,259661218*	,16035395950	<,001	-2,672833330	-1,846489107
2	1	,38744319707	,17867157379	,133	-,0729265476	,84781294177
	3	-1,828782892*	,16421518971	<,001	-2,251903948	-1,405661836
	4	-1,872218021*	,15812647002	<,001	-2,279650726	-1,464785316
3	1	2,216226089*	,16636117437	<,001	1,7875756340	2,6448765437
	2	1,828782892*	,16421518971	<,001	1,4056618358	2,2519039477
	4	-,0434351294	,14407112681	,990	-,4146524778	,32778221910
4	1	2,259661218*	,16035395950	<,001	1,8464891067	2,6728333296
	2	1,872218021*	,15812647002	<,001	1,4647853160	2,2796507262
	3	,04343512936	,14407112681	,990	-,3277822191	,41465247782

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Log KVE

Tukey HSD^{a,b}

score_melk	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1	110	3,2802308245	
2	115	3,6676740215	
3	158		5,4964569133
4	191		5,5398920426
Sig.		,081	,993

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 136,280.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

7.5 Output SPSS correlaties hoofdvraag

Output SPSS correlatie rectale temperatuur en logaritmische KVE's

Correlations			
		rectale_temperatuur	Log KVE
rectale_temperatuur	Pearson Correlation	1	,130**
	Sig. (2-tailed)		,002
	N	2283	577
Log KVE	Pearson Correlation	,130**	1
	Sig. (2-tailed)	,002	
	N	577	577

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Output SPSS correlatie celgetal en logaritmische KVE'S

Correlations			
		Log KVE	Celgetal
Log KVE	Pearson Correlation	1	,547**
	Sig. (2-tailed)		<,001
	N	577	576
Celgetal	Pearson Correlation	,547**	1
	Sig. (2-tailed)	<,001	
	N	576	1777

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Output SPSS correlatie uierdruk en logaritmische KVE'S

Correlations			
		Log KVE	uierdruk
Log KVE	Pearson Correlation	1	,016
	Sig. (2-tailed)		,893
	N	577	69
uierdruk	Pearson Correlation	,016	1
	Sig. (2-tailed)	,893	
	N	69	960

Output SPSS correlatie uierzwellling en logaritmische KVE's

Correlations			
		Log KVE	uierzwellling
Log KVE	Pearson Correlation	1	,030
	Sig. (2-tailed)		,832
	N	577	53
uierzwellling	Pearson Correlation	,030	1
	Sig. (2-tailed)	,832	
	N	53	930