

# Untersuchungen zum Zusammenhang der Konzentrationen an essenziellen Spurenelementen in totalen Mischrationen- und Kotproben bei Holstein Friesian Milchkühen und Ableitung von Kotreferenzwerten

R. Staufenbiel<sup>1</sup>, R. Schmitt<sup>1</sup>, A. E. Müller<sup>2</sup>, L. Staufenbiel<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinik für Klauentiere der Freien Universität Berlin; <sup>2</sup> Navalis Nutraceuticals GmbH

## Zusammenfassung

Unter- und Überversorgungen von Milchkühen mit essenziellen Spurenelementen sind aus Sicht der Tiergesundheit und einer Umweltbelastung zu vermeiden. Untersuchungsziel war die Prüfung der Aussage von Kotanalysen zur Beurteilung der nutritiven Versorgungslage mit essenziellen Spurenelementen über einen Vergleich mit den Messwerten aus den TMR-(Totale Mischration)-Analysen. In einer repräsentativen multizentrischen Zufallsstichprobe wurden in 574 TMR-Proben und 600 gepoolten Kotproben von Milchkühen die Konzentrationen von Eisen (Fe), Kupfer (Cu), Zink (Zn), Mangan (Mn), Selen (Se), Kobalt (Co), Molybdän (Mo) gemessen sowie Blutproben untersucht. Der Zielbereich für den Spurenelementgehalt in der TMR wurde für Fe in 0%, Se 18%, Zn 43%, Cu 52%, Co 53% und Mn 59% eingehalten. Der Bereich einer Unterversorgung wurde in 0 bis 8%, der Bereich einer Überversorgung in 39 bis 100% der TMR-Proben festgestellt. Die Toleranzgrenze für Fe wurde in 11%, für Mo in 13% überschritten. Die Ergebnisse weisen auf die Notwendigkeit einer optimierten Rationsgestaltung hin. In den Kotproben variierten die Spurenelementkonzentrationen über einen weiten Bereich. Die Analyseergebnisse von gepoolten Kotproben (n=10 pro Pool) stimmten mit einem r<sup>2</sup>-Wert von über 0,9 eng mit denen aus den Einzelproben berechneten Mittelwerten überein. Zwischen den Elementkonzentrationen in den TMR- und Kotproben bestanden hochsignifikante Korrelationen für Fe (r=0,687), Cu (r=0,675), Zn (r=0,635), Mn (r=0,656), Se (r=0,573), Co (r=0,795) und Mo (r=0,708). Zwischen den Elementkonzentrationen in der TMR und in den Blutproben waren keine Korrelationen nachzuweisen. Die Regressionsanalysen zeigten eine hochsignifikante lineare Anpassung der Messwertverteilung um die Regressionsgeraden über den gesamten Wertebereich unter Einschluss des Nullpunktes. Es

## Analyses of the relationship between the concentrations of essential trace elements in total mixed ration and faeces samples from Holstein Friesian dairy cows and the estimation of faeces reference values

Undersupply and oversupply of dairy cows with essential trace elements should be avoided from the point of view of animal health and environmental pollution. The aim of the study was to proof the results faecal analyzes on the nutritional supply situation with essential trace elements in comparison to measurements from total mixed ration (TMR) analyses. Concentrations of iron (Fe), copper (Cu), zinc (Zn), Mangan (Mn), selenium (Se), cobalt (Co), molybdenum (Mo) were measured as representative multicentric random sample in 574 TMR, 600 pooled faecal and blood samples from dairy cows. Trace elements, Fe in 0%, Se 18%, Zn 43%, Cu 52%, Co 53% and Mn 59%, were within the target range. Undersupply was found in 0 to 8% and an oversupply in 39 to 100% of the TMR samples. The tolerance limit for Fe was exceeded in 11% and for Mo in 13%. The results indicate the need for optimized ration design. The trace element concentrations in the faecal samples varied over a wide range. Results of pooled faecal samples (n=10 per pool) corresponded closely with the mean values calculated from the individual samples (r<sup>2</sup> > 0,9). Correlation between element concentrations in the TMR and faecal samples for Fe (r=0,687), Cu (r=0,675), Zn (r=0,635), Mn (r=0,656), Se (r=0,573), Co (r=0,795), and Mo (r=0,708) were highly significant. No correlations were detected between the element concentrations in the TMR and in the blood samples. The regression analyzes showed a highly significant linear adjustment of the measured value distribution around the regression lines over the entire value range including

<https://doi.org/10.17236/sat00370>

Eingereicht: 13.09.2021  
Angenommen: 09.08.2022

Untersuchungen zum Zusammenhang der Konzentrationen an essenziellen Spurenelementen in totalen Mischrationen- und Kotproben bei Holstein Friesian Milchkühen und Ableitung von Kotreferenzwerten

R. Staufenbiel, R. Schmitt, A. E. Müller, L. Staufenbiel

wurden für die Kotkonzentrationen an Cu, Zn, Mn, Se und Co Referenzwerte kalkuliert. Für die Kotkonzentrationen an Fe und Mo wurden Referenzgrenzen für die Toleranzgrenzen in der TMR berechnet. Die Spurenelementkonzentrationen in den TMR-Proben spiegeln die nutritive Versorgungslage wider. Für die Bestandsbetreuung von Milchkuhherden ist die Kenntnis der nutritiven Versorgungslage der Herde von grosser Bedeutung. Kotprobenanalysen können alternativ zu TMR-Untersuchungen zur Beurteilung der nutritiven Versorgungslage herangezogen werden.

**Schlüsselwörter:** Bestandsbetreuung, Herdengesundheit, Labordiagnostik, Mineralstoff, Rind

the zero point. Reference values were calculated for the faecal concentrations of Cu, Zn, Mn, Se and Co. Tolerance reference limits in the TMR were calculated for the faecal concentrations of Fe and Mo. The trace element concentrations in the TMR samples reflect the nutritional supply situation. Knowledge of the nutritional supply situation of the herd is of great importance for the stock management of dairy cow. Faecal sample analyzes can be used as an alternative to TMR examinations to assess the nutritional supply situation.

**Keywords:** Stock management, herd health, laboratory diagnostics, minerals, cattle

## Einleitung

Klinisch manifeste Störungen im Spurenelementstoffwechsel haben in der kommerziellen Milchkuhhaltung eine untergeordnete Bedeutung.<sup>8, 11, 19</sup> In der veterinärmedizinischen Bestandsbetreuung steht die Kontrolle der nutritiven Versorgungslage mit Spurenelementen im Vordergrund, um frühzeitig das Risiko für die Entwicklung von subklinischen Störungen einer Unterversorgung zu erkennen.<sup>10, 23, 26</sup> Auch Überversorgungen haben negative Effekte auf die Tiergesundheit und sind auf Grund der ökologischen Effekte der Fäkalien zu vermeiden.<sup>7, 28, 48</sup> Die bedarfsgerechte Fütterung ist eine Voraussetzung für das Erreichen einer hohen Leistung und stabilen Gesundheit.<sup>10, 27, 46</sup> Landwirte unterscheiden in der Praxis drei Futtrationen: die berechnete, die gemischte, die gefressene Ration.<sup>46</sup> Rossow u. Aly<sup>44</sup> differenzieren sogar zwischen mindestens fünf Rationen (die geplante, berechnete, in den Futtermischwagen geladene, die auf den Futtertisch ausgebrachte und die von den Kühen gefressene Ration), um auf die Bedeutung der Überwachung einer berechneten Ration hinzuweisen. Deshalb werden neben einer professionellen Rationsberechnung unabhängige Untersuchungsmethoden zur Kontrolle der tatsächlich erreichten Nährstoffbedarfsdeckung beim Rind benötigt. Die Abweichungen zwischen der berechneten und der gefütterten Ration sind für die Spurenelemente besonders hoch.<sup>44, 46</sup>

Für die Kontrolle der Versorgung von Milchkühen mit essenziellen Spurenelementen (Eisen (Fe), Kupfer (Cu), Zink (Zn), Mangan (Mn), Selen (Se), Kobalt (Co), Molybdän (Mo)) werden verschiedene Untersuchungsmedien genutzt.<sup>19, 33, 49</sup> Blutprobenanalysen (Blutserum, Blutplasma) spiegeln die Selenversorgung zuverlässig und differenziert wider.<sup>1, 19, 53</sup> Für die Blutserum-Se-Konzentration lassen sich Messwertbereiche mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten verschiedener Störungen zuordnen (Nutritive Muskeldystrophie < 20 µg/l,<sup>22</sup> Nachgeburtverhalten < 60 µg/l,<sup>34</sup> Mastitis < 80µg/l,<sup>55</sup>

Risiko einer Intoxikation >100 µg/l, manifeste Intoxikation >275µg/l<sup>1</sup>). Eine Unterversorgung mit Cu und Fe wird in Blutproben sehr spät erst bei starker Ausprägung im Bereich einer klinisch manifesten Erkrankung angezeigt.<sup>19, 32, 48</sup> Zur Diagnostik einer Überversorgung mit Cu sind Blutproben nicht geeignet.<sup>54</sup> Für die Beurteilung der Versorgungslage mit Cu, Fe, Co wird die Analyse von Leberbiopsieproben empfohlen.<sup>2, 20, 39</sup> Die Diagnostik der Versorgung mit Zn und Mn wird kontrovers diskutiert. Der Analyse von Knochengewebe (Zn, Mn) und Pankreas- und Hodengewebe (Zn) wird eine Aussage zugesprochen.<sup>49</sup>

Für die praktische Routinediagnostik ist die Beurteilung der Spurenelementversorgung eine Herausforderung.<sup>19, 49</sup> Ein Lösungsansatz besteht in der Unterscheidung der Beurteilung der metabolischen und der nutritiven Versorgungslage.<sup>21</sup> Die metabolische Versorgungslage spiegelt die Verfügbarkeit des Spurenelements im Stoffwechsel zur Erfüllung der physiologischen Funktionen wider, wozu die Analysen von Blut- bzw. Organproben dienen, wobei die verschiedenen Untersuchungsmedien differenzierte Teilaspekte im Metabolismus reflektieren (Speicherpool, Transportpool, spezifische physiologische Funktion<sup>19, 49</sup>). Die nutritive Versorgungslage gibt das Spurenelementangebot über die Futtration wieder. Nicht in allen Beständen und Haltungsguppen (Weide) wird eine TMR gefüttert. Herold et al.<sup>21</sup> wiesen auf Basis einer kleinen Stichprobe auf die Möglichkeit der Kontrolle der nutritiven Versorgungslage mit essenziellen Spurenelementen über die Analyse von Kotproben alternativ zu TMR-Proben hin.

In der vorliegenden Publikation sollen in einer repräsentativen Stichprobe die quantitativen Beziehungen der Konzentrationen von sieben essenziellen Spurenelementen zwischen TMR- und Kotproben untersucht werden. Die Arbeitshypothese lautet, dass für ausgewählte Spurenelemente die Konzentration in Kotproben den Gehalt in der TMR und damit die nutritive Versor-

gungslage wiedergibt. Es werden Referenzwerte für Kotkonzentrationen abgeleitet. Zum Vergleich der Aussage zur nutritiven Versorgungslage wird zusätzlich der Zusammenhang der Spurenelementkonzentrationen in den TMR-Proben und Blutproben ausgewertet.

## Material und Methoden

### Datenherkunft

Die Daten stammen aus den durch die Arbeitsgruppe Bestandsbetreuung der Klinik für Kleintiere der Freien Universität routinemässig durchgeführten Bestandsuntersuchungen aus dem Zeitraum von 2015 bis 2021. Es wurden insgesamt 300 Herden (Holstein Friesian Milchkühe) aus den Bundesländern Sachsen (85), Thüringen (31), Sachsen-Anhalt (106), Brandenburg (57) und Mecklenburg-Vorpommern (21) einbezogen. Über 90% der Betriebe wurden regelmässig von einem professionellen Fütterungsberater ihrer Wahl betreut, in den anderen Betrieben erfolgte die Futtermittelsberechnung in eigener Verantwortung unter Nutzung eines kommerziellen Kalkulationsprogrammes. Die Fütterungsgruppen erhielten

eine Totale Mischration (TMR). Auf Anforderung der Milchviehbetriebe wurde nach einem fest geplanten Untersuchungsprogramm die Herdengesundheit mit den Schwerpunkten Fütterung und Stoffwechsel beurteilt. Von jeweils 10 pluriparen Milchkühen aus der Haltingruppe 3 bis 0 Wochen ante partum (Vorbereitung, Trockenstehgruppe 2, close up) und 6 bis 20 Wochen post partum (Hochleistungsgruppe) wurden Blutserum-, EDTA-Blutplasma, EDTA-Vollblutproben und Kotproben gewonnen.<sup>13, 47</sup> Ca. 50 g Kot pro Kuh wurden vor der Blutprobenentnahme aus der Ampulla recti entnommen und bis zur Ankunft im klinikeigenen Labor gekühlt gelagert. Vor der Probenanalyse wurde durch Vermischen von Aliquoten der Einzelproben je eine gepoolte Probe pro Gruppe und Untersuchungsmedium angefertigt.<sup>24</sup> In 25 Herden wurden von je 10 Kühen zusätzlich zu den gepoolten Kotproben die Einzelkotproben zur Überprüfung der Genauigkeit der Kotpoolprobenbildung analysiert (Tabelle 1). Nach einer betriebsinternen Routine zur Sicherung einer repräsentativen Probenentnahme<sup>43</sup> veranlassten die Betriebsleiter innerhalb von einer Woche nach dem Untersuchungstermin das Versenden je einer TMR-Probe (zirka 1 kg) aus den beiden Untersuchungs-

Untersuchungen zum Zusammenhang der Konzentrationen an essenziellen Spurenelementen in totalen Mischrationen- und Kotproben bei Holstein Friesian Milchkühen und Ableitung von Kotreferenzwerten

R. Staufenbiel, R. Schmitt, A. E. Müller, L. Staufenbiel

**Tabelle 1:** Vergleich der aus Einzelmessungen (je 10 Einzelproben aus 25 Beständen, 250 Einzelproben) berechneten Bestandsmittelwerte der Spurenelementkonzentrationen in Kotproben mit den Messwerten der gepoolten Bestandsproben (n=25 Poolproben mit je 10 Kotproben pro Poolprobe) bei Holstein Friesian Milchkühen.

Element	Masseinheit	n	Mittelwert	b	a	r <sup>2</sup>	p
Eisen (Fe)	mg/kg TM	25	575,7	1,05	-19,46	0,973	<0,001
Kupfer (Cu)	mg/kg TM	25	30,7	0,96	0,58	0,965	<0,001
Zink (Zn)	mg/kg TM	25	144,6	0,96	4,36	0,981	<0,001
Mangan (Mn)	mg/kg TM	25	273,1	0,98	5,48	0,949	<0,001
Selen (Se)	mg/kg TM	25	0,372	0,94	0,021	0,951	<0,001
Kobalt (Co)	mg/kg TM	25	0,788	1,02	-0,014	0,992	<0,001
Molybdän (Mo)	mg/kg TM	25	2,21	0,91	0,23	0,901	<0,001

TM Trockenmasse, n Anzahl an Poolprobenmesswerten, b Regressionskoeffizient für  $y = b \cdot x + a$ , y Messwert der Poolprobe, x berechneter Mittelwert aus den 10 Einzelprobenmesswerten, a Ordinatenabschnitt, r<sup>2</sup> Bestimmtheitsmass, p Signifikanz

**Tabelle 2:** Deskriptive Kennzahlen der Untersuchungsergebnisse zu den essenziellen Spurenelementen in den Totalen Mischration (TMR)-Proben von Holstein Friesian Milchkühen

Element	Masseinheit	n	Mittelwert	Median	2,5-Perzentil	97,5-Perzentil	Anteil %
Eisen (Fe)	mg/kg TM	564	315	287	151	678	0 <sup>a</sup> (89 <sup>b</sup> )
Kupfer (Cu)	mg/kg TM	574	21,2	19,1	8,3	45,2	52 <sup>a</sup> (4 <sup>c</sup> /44 <sup>d</sup> )
Zink (Zn)	mg/kg TM	574	116	104	43	239	43 <sup>a</sup> (3 <sup>c</sup> /54 <sup>d</sup> )
Mangan (Mn)	mg/kg TM	573	99	91	50	191	59 <sup>a</sup> (2 <sup>c</sup> /39 <sup>d</sup> )
Selen (Se)	mg/kg TM	538	0,47	0,41	0,10	1,20	18 <sup>a</sup> (8 <sup>c</sup> /74 <sup>d</sup> )
Kobalt (Co)	mg/kg TM	514	0,54	0,45	0,15	1,47	53 <sup>a</sup> (5 <sup>c</sup> /42 <sup>d</sup> )
Molybdän (Mo)	mg/kg TM	524	0,67	0,63	0,31	1,30	87 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Anteil an TMR-Proben im Zielbereich der Fütterungsempfehlung aus Tabelle 6

<sup>b</sup>Anteil an TMR-Proben unterhalb der Toleranzgrenze aus Tabelle 6

<sup>c</sup>Anteil an TMR-Proben unterhalb des unteren Zielbereiches aus Tabelle 6 (Unterversorgung)

<sup>d</sup>Anteil an TMR-Proben oberhalb des oberen Zielbereiches aus Tabelle 6 (Übersorgung)

TM Trockenmasse

Untersuchungen zum Zusammenhang der Konzentrationen an essenziellen Spurenelementen in totalen Mischrationen- und Kotproben bei Holstein Friesian Milchkühen und Ableitung von Kotreferenzwerten

R. Staufenbiel, R. Schmitt, A. E. Müller, L. Staufenbiel

gruppen nach einem von der Klinik vorgegebenen Untersuchungsprotokoll an ein Futtermittellabor. In 91 % wurde das empfohlene Futtermittellabor (LKS-Landwirtschaftliche Kommunikations- und Servicegesellschaft mbH, August-Bebel-Strasse 6, 09577 Niederwiesa, www.lkvsachsen.de), in 9 % zwei andere Labore (Landeskontrollverband Berlin-Brandenburg eV, Strasse zum Roten Luch 1a, 15377 Waldsiedersdorf, www.lkvbb.de; LUFA Rostock der LMS Agrarberatung GmbH, Graf-Lippe-Strasse 1, 18059 Rostock, www.lms-lufa.de) genutzt. Die drei Futtermittellabore sind Mitglied in der VDLUFA (Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten) und durch die Deutsche Akkreditierungsstelle DAkkS nach D-PL-19598-01-00 akkreditiert.

Die Bestandsuntersuchungsergebnisse wurden in einer Excel-Datei (Programm Microsoft Excel 2016, Microsoft Corporation) digital archiviert. Für diese Publikation wurden aus der Bestandsdatei folgende Daten extrahiert: Untersuchungsdatum, Untersuchungsjahr, Bundesland, Analysenergebnisse der Konzentrationen an Fe, Cu, Zn, Mn, Se, Co, Mo in den TMR- und Kotproben, Fe, Zn, Se, Vitamin B<sub>12</sub> im Blutserum, Cu im Blutplasma und Mn im Vollblut. Als Einschlusskriterium wurde das Vorhandensein von Kotanalysenergebnisse gewählt. Daraus ergab sich für die Auswertung die Stichprobenverteilung von 600 gepoolten Kotproben und 574 TMR-Proben (Tabelle 2, 3).

### Laboranalytik

Die Analyse der Spurenelementkonzentrationen in den TMR-Proben wurde in den drei akkreditierten Laboren zertifiziert nach DIN EN ISO 11885:2009-09 mit der induktiv gekoppelten Plasma-Atom-Emissionsspektrometrie (ICP-OES) durchgeführt. Die Konzentrationsangaben beziehen sich auf die Futtertrockensubstanz (TM).

Nach gründlichem Durchmischen der Gesamtprobe wurden zirka 2 g Kot in einem Porzellantiegel in einem Wärmeschrank bei 60°C für 48 Stunden getrocknet. Die

Analytik erfolgte in einem für veterinärmedizinische Labordiagnostik nach DIN EN ISO 17025 durch die DAkkS (Deutsche Akkreditierungsstelle GmbH) akkreditierten (Registrierungsnummer D-PL-13356-01-00) Untersuchungslabor (IDEXX Laboratories, Vet Med Labor GmbH, Humboldtstrasse 2, 70806 Kornwestheim, www.idexx.de). Die Elemente Fe, Cu, Zn, Mn, Mo wurden mit der induktiv gekoppelten Plasma-Atom-Emissionsspektrometrie (ICP-OES) und Se, Co mit der induktiv gekoppelten Plasma-Atom-Massenspektrometrie (ICP-MS) gemessen.<sup>21,36</sup> Die Konzentrationen werden in mg/kg Kot-Trockensubstanz (TM) angegeben. Im gleichen Labor wurden im Blutserum die Konzentrationen an Fe, Zn (ICP-OES), Se, Co (ICP-MS), Vitamin B<sub>12</sub> (CLIA Chemolumineszenz Enzym Immunoassay), im Blutplasma Cu (ICP-OES) und im Vollblut Mn (ICP-OES) analysiert. Für die Spurenelementanalysen in den Medien Kot, Blutserum, Blutplasma und Vollblut wurden entsprechende Linien und Isotope verwendet, die interferenzfrei waren: für alle Materialien wurden bei der ICP-OES folgende Emissionslinien ausgewertet: Fe 238.204 nm, Cu 324.754 nm, Zn 202.548 nm, Mn 257.610 nm, Mo 202.032 nm und für die ICP-MS-Analytik die Isotope <sup>78</sup>Se und <sup>59</sup>Co.

### Statistische Auswertung

Die Datenverwaltung erfolgte mit dem Programm Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corporation). Für die statistische Auswertung ist das Programm IBM SPSS Statistics 25 (IBM) herangezogen worden.<sup>6</sup> Als Signifikanzniveau steht eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  als signifikant, ein  $p < 0,01$  als sehr signifikant und ein  $p < 0,001$  als höchst signifikant.<sup>6</sup>

Der Vergleich der aus den Einzelmesswerten berechneten Mittelwerte mit den in den korrespondierenden Poolproben bestimmten Spurenelementkonzentrationen in den Kotproben erfolgte mit einer einfachen linearen Regressionsanalyse.<sup>6</sup> Das Bestimmtheitsmass  $r^2$  gibt an, welcher Anteil der Variation der abhängigen Untersuchungsgröße  $y$  (hier Poolmessert) vom unabhängigen Parameter  $x$  (hier kalkulierter Mittelwert) erklärt wird,

**Tabelle 3:** Deskriptive Kennzahlen der Untersuchungsergebnisse zu den essenziellen Spurenelementen in den Kotproben von Holstein Friesian Milchkühen

Element	Masseinheit	n	Mittelwert	Median	2,5-Perzentil	97,5-Perzentil
Eisen (Fe)	mg/kg TM	600	751	678	282	1534
Kupfer (Cu)	mg/kg TM	600	61,0	55,9	27,2	124,4
Zink (Zn)	mg/kg TM	600	354	326	121	770
Mangan (Mn)	mg/kg TM	600	318	298	176	601
Selen (Se)	mg/kg TM	600	0,84	0,77	0,28	1,74
Kobalt (Co)	mg/kg TM	600	1,74	1,47	0,46	4,65
Molybdän (Mo)	mg/kg TM	600	2,05	1,85	0,82	4,22

TM Trockenmasse

wobei ein  $r^2$ -Wert von 1,0 eine hundertprozentige Übereinstimmung bedeutet.

Für die analysierten Konzentrationen an Fe, Cu, Zn, Mn, Se, Co, Mo in den TMR- und Kotproben wurden die Stichprobenumfänge, die Mittel- und Medianwerte berechnet. Als Streuungsmass wurde der Interquantilbereich mit den 2,5 und 97,5 Perzentilen ausgewiesen.

Zur Beschreibung des Zusammenhanges zwischen den Elementkonzentrationen in den TMR- und Kotproben wurde eine lineare Regressionsanalyse ohne Intercept (Ordinatenabschnitt) mit den TMR-Werten als unabhängige Variable und den Kotkonzentrationen als abhängige Variable durchgeführt.<sup>6, 42</sup> Zur Prüfung der Gültigkeit der Regressionsmodelle wurden die Residuen auf Normalverteilung geprüft und zur Einschätzung der Homoskedastizität die Residuen graphisch gegen die durch das Modell vorhergesagten Werte aufgetragen und deren Verteilung visuell beurteilt. Die  $r^2$ -Werte in der Regressionsanalyse ohne Intercept werden als modifiziertes Bestimmtheitsmass bezeichnet. Sie spiegeln nicht den Zusammenhang zwischen der ausgewerteten Spurenelementkonzentration in den Kot- und TMR-Proben wider, sondern geben die Anpassungsgüte an die erzwungene Gleichung  $y = b \cdot x$  an.<sup>42</sup> Weiterhin sind die Korrelationskoeffizienten nach Pearson zwischen den Spurenelementkonzentrationen in den TMR- und in den Kot- sowie in den Blutproben berechnet worden.<sup>6</sup> Die daraus abzuleitenden  $r^2$ -Werte entsprechen dem oben beschriebenen Bestimmtheitsmass einer linearen Regressionsanalyse  $y = b \cdot x + a$ . Sie erklären welcher Variationsanteil von  $y$  durch  $x$  bestimmt wird.

Aus der Gesamtstichprobe wurden für Cu, Zn, Mn, Se, Co Teilstichproben gebildet, bei denen sich die TMR-Werte innerhalb des Zielbereiches der Fütterungsempfehlung aus Tabelle 6 befanden. Für Fe und Mo wurden die Datensätze ausgewählt, bei denen die TMR-Konzentrationen unterhalb der Toleranzgrenzen lagen. Diese reduzierten Datensätze dienen zur Kalkulation von Referenzwerten für die Spurenelementkonzentrationen in Kotproben. Aus der definierten Referenzpopulation wurden als untere bzw. obere Referenzgrenzen die 2,5 und 97,5 Perzentile berechnet.<sup>25, 29, 35</sup>

## Resultate

Die aus den Messwerten von je 10 Einzelkotproben berechneten Mittelwerte und die korrespondierenden Poolkotprobenmesswerte stimmen für alle sieben einbezogenen Elemente mit einem Bestimmtheitsmass von über 0,9 und einem Regressionskoeffizienten um 1,0 eng überein (Tabelle 1).

Als Einschlusskriterium für die Datenextraktion aus der Bestandsdatei wurde das Vorhandensein von Kotprobenanalysenwerten formuliert, woraus für die Kotproben die Stichprobenzahl von 600 gesichert wurde (Tabelle 3). Nicht für jede Untersuchungsgruppe mit einer Kotprobenanalyse lag auch ein vollständiges TMR-Analyseprotokoll vor, was zu niedrigeren und variierenden Stichprobenzahlen der TMR-Analyseergebnisse in Tabelle 2 führt. Da es sich um unabhängige Untersuchungsparameter handelt und keine Messwertwiederholungen vorliegen, besteht kein relevanter Einfluss auf die statistische Auswertung.

Die Konzentrationen der untersuchten Spurenelemente nimmt in den über 500 ausgewerteten TMR-Proben einen weiten Wertebereich ein (Tabelle 2). Die Medianwerte von Fe, Zn und Se liegen oberhalb des in Tabelle 6 ausgewiesenen Zielbereiches für die Kalkulation von Milchkuhrationen. Bei Fe befinden sich alle 564 Probenwerte oberhalb von 100 mg/kg TM, 11 % überschreiten die Toleranzgrenze von 500 mg/kg TM. Bei Mo trifft das für 13 % der 524 TMR-Proben zu, in denen Mo über ein 1 mg/kg liegt. Bei Cu, Zn, Mn und Co werden in 43 bis 59 % der TMR-Proben Konzentrationen innerhalb des Zielbereiches aus Tabelle 6 gemessen. Werteüberschreitungen sind mit 2 bis 5 % selten vertreten, es dominieren mit 39 bis 54 % Konzentrationsüberschreitungen. Bei Se werden 18 % der 538 analysierten TMR-Proben innerhalb des Zielbereiches aufgefunden. Es überwiegen mit 74 % Se-Konzentrationen oberhalb des Zielbereiches im Vergleich zu 8 % unterhalb. In Übereinstimmung damit sind die 2,5–97,5-Interperzentilbereiche weit ausgedehnt (Tabelle 2).

Die Kotkonzentrationen sind für alle sieben analysierten Elemente deutlich höher als in den TMR-Proben bei einer weiten Wertestreuung (Tabelle 3). Die lineare Regressionsanalyse ohne Intercept (Absolutglied) lässt einen engen und linearen Zusammenhang zwischen den analysierten Spurenelementkonzentrationen in den TMR- und Kotproben unter Einschluss des Nullpunktes

Untersuchungen zum Zusammenhang der Konzentrationen an essenziellen Spurenelementen in totalen Mischrationen- und Kotproben bei Holstein Friesian Milchkuhen und Ableitung von Kotreferenzwerten

R. Staufenbiel, R. Schmitt, A. E. Müller, L. Staufenbiel

**Tabelle 4:** Lineare Regressionsanalyse zwischen den Spurenelementkonzentrationen in der Totalen Mischration (TMR) und im Kot von Holstein Friesian Milchkuhen

Element	n	b	s <sub>b</sub>	r <sup>2</sup>	p
Eisen (Fe)	544	2,24	0,030	0,909	<0,001
Kupfer (Cu)	554	2,71	0,036	0,911	<0,001
Zink (Zn)	554	2,90	0,899	0,899	<0,001
Mangan (Mn)	553	3,08	0,038	0,923	<0,001
Selen (Se)	518	1,56	0,032	0,825	<0,001
Kobalt (Co)	495	3,06	0,049	0,886	<0,001
Molybdän (Mo)	505	2,87	0,037	0,924	<0,001

b Regressionskoeffizient für  $y = b \cdot x$ ,  $y$  Kotkonzentration,  $x$  TMR-Konzentration, s<sub>b</sub> Standardfehler von b, r<sup>2</sup> modifiziertes Bestimmtheitsmass

Untersuchungen zum Zusammenhang der Konzentrationen an essenziellen Spurenelementen in totalen Mischrationen- und Kotproben bei Holstein Friesian Milchkühen und Ableitung von Kotreferenzwerten

R. Staufenbiel, R. Schmitt, A. E. Müller, L. Staufenbiel

erkennen (Regression durch den Ursprung). Die modifizierten  $r^2$ -Werte zwischen 0,825 und 0,924 zeigen eine gute Anpassungsgüte des Modells (Tabelle 4). Die Regressionskoeffizienten spiegeln den quantitativen Zusammenhang wider. Die Spurenelementkonzentrationen sind im Kot 1,56 (Se) bis 3,08 (Mn) mal höher als in der TMR (Tabelle 4).

Zum Vergleich der Beziehungen der Elementkonzentrationen in den TMR-Proben mit denen in den korrespondierenden Kot- und Blutproben wurden die Korrelationskoeffizienten berechnet (Tabelle 5). Wie bereits für die TMR-Proben erläutert, resultieren die variierenden Stichprobennzahlen, weil nicht für jede Untersuchungsgruppe für alle Blutparameter ein vollständiger Datensatz vorlag. Auf Grund der Unabhängigkeit der Parameter und der Stichprobengröße bestehen keine relevanten Effekte auf die statistische Auswertung. Zwischen TMR- und Kotproben bestehen für die sieben Spurenelementkonzentrationen hochsignifikante Korrelationsbeziehungen zwischen 0,573 (Se) und 0,795 (Co), zwischen den TMR-Proben und den Blutkonzentrationen sind keine signifikanten Zusammenhänge nachweisbar (Tabelle 5).

Tabelle 6 enthält die aus den Teilstichproben auf Basis der 2,5- und 97,5 Perzentile kalkulierten Referenzwerte.

## Diskussion

Die Spurenelementanalytik ist kostenintensiv. Deshalb wurden in 25 Untersuchungsgruppen von je 10 Kühen die aus den 10 Einzelkotprobenanalysen berechneten Mittelwerte mit den Messwerten der dazugehörigen gepoolten Kotproben verglichen. Die Übereinstimmung zwischen den berechneten Gruppenmittelwerten und den Poolwerten beträgt über 90% (Tabelle 1). Das bestätigt, dass in der Bestandsüberwachung auch bei der

Analyse der Spurenelementkonzentrationen in Kotproben Poolproben verwendet werden können, analog zur Analytik von klinisch-chemischen Parametern in Blut<sup>5, 24</sup> und Harnproben.<sup>14, 41</sup>

Herdt u. Hoff<sup>19</sup> beschreiben für die essenziellen Spurenelemente die differenzierte diagnostische Aussagekraft der verschiedenen Untersuchungsmedien zur Beurteilung der Versorgungslage. Auf Grund der komplexen Zusammenhänge empfehlen sie für die Bestandsüberwachung alternativ zur Analyse von Blut- und Organproben die Bestimmung der Spurenelementkonzentrationen in der Futtermischung zur Kontrolle der Spurenelementversorgung auf Herdenebene. Die praktische Umsetzung dieser Empfehlung wird durch eine in grösseren Milchkuhbeständen regelmässig verwandte totale Mischration (TMR) unterstützt,<sup>9, 12, 45</sup> eine repräsentative Gewinnung der TMR-Probe vorausgesetzt.<sup>17, 37, 43</sup>

Die Ergebnisse aus Tabelle 2 belegen die Notwendigkeit der Überwachung der tatsächlich über die Futtermischung angebotenen Spurenelementkonzentrationen in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Rossow u. Aly<sup>44</sup> und Sova et al.<sup>46</sup>. Es ist hervorzuheben, dass die gefütterten Rationen auf eine professionelle Rationsberechnung auf Grundlage von Futtermittelanalyseprotokollen basieren. Der im Vergleich zu den aktuell gültigen Empfehlungen der GfE<sup>15</sup> erweiterte Zielbereich für die TMR (Tabelle 6) wird in 0% (Fe) bis 59% (Mn) eingehalten (Tabelle 2). Unterversorgungen sind die Ausnahme, es überwiegen Überversorgungen, was auf eine grosszügige Ergänzung der TMR mit Mineralstoffgemischen schliessen lässt.<sup>48, 54</sup> Castillo et al.<sup>7</sup> finden in der TMR ähnlich hohe und weit gestreute Spurenelementkonzentrationen (Medianwerte in mg/kg TM Fe 350, Cu 17,2, Se 0,44). Das Überangebot einzelner Spurenelemente kann über eine antagonistische Verwertungsstörung das Entstehen einer sekundären Unterversorgung mit einem anderen Spurenelement unterstützen.<sup>49</sup> Mit Rücksicht auf die ökologischen Effekte der im Pflanzenbau eingesetzten Fäkalien werden hohe Spurenelementangebote ebenfalls kritisch gesehen.<sup>7</sup> Diese Problematik wird von Steinhöfel et al.<sup>48</sup> intensiv diskutiert. Die Werte aus Tabelle 3 geben den weiten Wertebereich der Kotkonzentrationen wieder.

Wird keine TMR gefüttert (Teil-TMR, Komponentenfütterung, Weidehaltung), dann stellt sich die Frage, ob alternativ über Kotanalysen das Spurenelementangebot über die Fütterung (nutritive Versorgungslage) beurteilt werden kann. Auf diese Möglichkeit haben bereits Herold et al.<sup>21</sup> hingewiesen. Nach der Einteilung von Brosius<sup>6</sup> besteht zwischen den Konzentrationen der untersuchten essenziellen Spurenelemente in den TMR- und Kotproben eine starke Korrelation (Tabelle 5), die für einen engen Zusammenhang zwischen diesen beiden labordi-

**Tabelle 5:** Korrelationen zwischen den Spurenelementkonzentrationen in der Totalen Mischration (TMR) und im Kot sowie in Blutproben von Holstein Friesian Milchkühen

TMR Element	Kot		Blutserum	
	n	r	n	r
Eisen (Fe)	544	0,687***	563	0,023
Kupfer (Cu)	554	0,675***	571 <sup>a</sup>	0,029 <sup>a</sup>
Zink (Zn)	554	0,635***	573	0,070
Mangan (Mn)	553	0,656***	334 <sup>b</sup>	0,067 <sup>b</sup>
Selen (Se)	518	0,573***	537	0,056
Kobalt (Co)	495	0,795***		
Molybdän (Mo)	505	0,708***		
Vitamin B <sub>12</sub> <sup>c</sup>			296 <sup>c</sup>	0,090 <sup>c</sup>

r Korrelationskoeffizient nach Pearson, \*\*\*  $p < 0,001$ , <sup>a</sup>Blutplasma, <sup>b</sup>Vollblut, <sup>c</sup>Ersatzparameter für Cobalt im Blutserum

agnostischen Parametern spricht. Die nutritive Versorgungslage kann über Kotanalysen eingeschätzt werden. Im Unterschied dazu zeigen sich zwischen den Spurenelementkonzentrationen in der TMR und im Blutserum keine signifikanten Zusammenhänge (Tabelle 5).

Zwischen den Spurenelementkonzentrationen in den TMR- und Kotproben besteht ein sehr enger linearer Zusammenhang unter Einschluss des Nullpunktes (Tabelle 4). Daraus leitet sich als wichtige praktische Schlussfolgerung ab, dass aus dem Produkt der TMR-Konzentration und dem entsprechenden Regressionskoeffizienten direkt auf die zu erwartende Kotkonzentration des Spurenelements geschlossen werden kann. Auf der anderen Seite weisen die Korrelationskoeffizienten aus Tabelle 5 auf die Punktestreuung um die Regressionsgeraden hin. Die quantitative Beziehungen zwischen den Konzentrationen der untersuchten Spurenelemente in den TMR- und Kotproben unterscheiden sich zwischen den Beständen, weil verschiedene Faktoren (Zusammensetzung der Futtermittel, chemische Verbindung, Elementkonzentrationen, Bedarf, Antagonisten, Exkretionswege) die Resorptionsraten und die Kotkonzentrationen modifizieren. Diese Zusammenhänge sind für die einzelnen Elemente ausführlich bei Suttle<sup>50</sup> und McDowell<sup>33</sup> dargestellt. Korrelationen zwischen biologischen Merkmalen zwischen 0,6 bis 0,8 werden als „stark“ bewertet,<sup>6</sup> was eine praktische Anwendung zur Beurteilung der nutritiven Versorgungslage mit essenziellen Spurenelementen über die Kotkonzentrationen unterstützt.

Die Streuung der Einzelwerte in einer Bestandsuntersuchung zur Beurteilung der Spurenelementversorgungslage einer Herde bzw. einer Tiergruppe innerhalb einer Herde wurde von Herdt et al.<sup>18, 19, 20</sup> wiederholt thematisiert. Es wird die Anwendung eines Stichprobentests empfohlen, um den Effekt der individuellen Wertestreuung zu reduzieren und die Schätzung des wahren Bestandsmittelwertes zu verbessern. Die Zufallsstichprobe

soll 7 bis 12 repräsentative Probanden umfassen.<sup>18, 30, 38, 40, 51, 52</sup> Wir empfehlen für die Anwendung in der Bestandsuntersuchung eine Zufallsstichprobe von  $n = 10$  Probanden.<sup>3, 4, 47</sup> Da für die Bestandsbeurteilung der Stichprobenmittelwert massgebend ist, können gepoolte Gruppenproben analysiert werden, was eine deutliche Reduktion der Laborkosten bewirkt.<sup>5, 24, 41</sup> Das ermöglicht unter Beachtung der Kosten, das Spektrum der analysierten Elemente zu erweitern, um mögliche Antagonisten zu erkennen.<sup>19</sup> Auch Moritz<sup>35</sup> empfiehlt für die labordiagnostische Überwachung von Nutztierbeständen zur Verringerung der zufälligen Streuung die Analyse von Stichproben. Es ist zu beachten, dass Stichprobentests ab Herdengrößen von 150 Milchkühen effektiv sind.

Für die praktische Anwendung von Kotanalysen zur Beurteilung der nutritiven Versorgungslage sind Referenzwerte notwendig. Für die Berechnung von Referenzwerten ist eine repräsentative Stichprobengröße erforderlich. In der Humanmedizin werden Stichprobenumfänge zwischen 40 und 2000 empfohlen,<sup>31</sup> in der Veterinärmedizin Stichproben zwischen 80 und 120 Tieren.<sup>35, 42</sup> In dieser Publikation wurde den gut begründeten Forderungen von Ichihara u. Boyd<sup>25</sup> gefolgt, die eine Stichprobengröße von 400 vorgeben, wobei die Probanden zufällig in einem multizentrischen Ansatz ausgewählt werden. Die Milchviehbestände verteilen sich auf die Region von der Ostsee bis in die Mittelgebirgslagen des Erzgebirges und des Thüringer Waldes. Die Referenzpopulation besteht aus Holstein-Friesian-Milchkühen. Es wurden gleich verteilt trockenstehende und hochlaktierende Kühe ausgewählt. Über Varianzanalysen wurde der Einfluss des Bundeslandes, des Untersuchungsjahres und der Untersuchungsgruppe (Vorbereitung, Hochlaktation) auf die Spurenelementkonzentrationen in den TMR- und Kotproben geprüft. Es ergaben sich keine oder nur schwach signifikante Effekte (nicht dargestellt). Das kann mit der Allgemeingültigkeit der Bedarfsempfehlungen der unter-

Untersuchungen zum Zusammenhang der Konzentrationen an essenziellen Spurenelementen in totalen Mischrationen- und Kotproben bei Holstein Friesian Milchkühen und Ableitung von Kotreferenzwerten

R. Staufenbiel, R. Schmitt, A. E. Müller, L. Staufenbiel

**Tabelle 6:** Ableitung von Referenzwerten für die Spurenelementkonzentrationen in Kotproben über den Interquantilbereich der Teilstichproben mit einer bedarfsangepassten Versorgung bei Holstein Friesian Milchkühen

Element	Masseinheit	Zielbereich TMR Milchkühe	n	Kot Kalkulation des Interquantilbereiches	
				2,5-Perzentil	97,5-Perzentil
Eisen (Fe)	mg/kg TM	50 <sup>a</sup> – 100 <sup>b</sup> (500 <sup>c</sup> )	500		1379 <sup>e</sup>
Kupfer (Cu)	mg/kg TM	10 <sup>a</sup> – 20 <sup>b</sup>	287	29	90
Zink (Zn)	mg/kg TM	50 <sup>a</sup> – 100 <sup>b</sup>	237	146	456
Mangan (Mn)	mg/kg TM	50 <sup>a</sup> – 100 <sup>b</sup>	324	176	415
Selen (Se)	mg/kg TM	0,15 <sup>a</sup> – 0,30 <sup>b</sup>	93	0,27	1,37
Kobalt (Co)	mg/kg TM	0,20 <sup>a</sup> – 0,50 <sup>b</sup>	263	0,57	2,86
Molybdän (Mo)	mg/kg TM	– (1 <sup>d</sup> )	454		3,37 <sup>e</sup>

<sup>a</sup>Bedarfsempfehlung nach GfE (2001)<sup>15, 27</sup>, <sup>b</sup>oberer Wert aus der Fütterungsberatung, notwendig, um für die praktische Rationsberechnung einen anzustrebenden Wertebereich einzuhalten, <sup>c</sup>Toleranzgrenze nach GfE (2001)<sup>15, 27</sup>, <sup>d</sup>Toleranzgrenze nach Dirksen et al. (2006)<sup>11</sup>, <sup>e</sup>Toleranzgrenze

Untersuchungen zum Zusammenhang der Konzentrationen an essenziellen Spurenelementen in totalen Mischrationen- und Kotproben bei Holstein Friesian Milchkühen und Ableitung von Kotreferenzwerten

R. Staufenbiel, R. Schmitt, A. E. Müller, L. Staufenbiel

suchten Spurenelemente in der Milchkuhfütterung begründet werden.<sup>15, 27</sup> Die Ergebnisse stimmen mit denen von Herold et al.<sup>21</sup> in der Weise überein, dass auch diese Autoren nur zum Teil signifikante Effekte der Jahreszeit und der Laktationsgruppe gefunden haben, die ebenfalls quantitativ gering ausgeprägt waren. Damit ist die Gesamtstichprobe zur Kalkulation der Referenzwerte geeignet (Tabelle 6).<sup>25</sup> Auch Herold et al.<sup>21</sup> kalkulieren Referenzwerte für die Spurenelementkonzentrationen in Kotproben von Holstein Friesian Milchkühen, die sich zwar von denen aus Tabelle 6 numerisch unterscheiden, aber sich aus praktischer Sicht im gleichen Bereich bewegen. Die Berechnung der Referenzwerte in den beiden Studien basiert auf unterschiedliche, voneinander unabhängige Datensätze. Auf Grund der besseren Erfüllung der von Ichihara u. Boyd<sup>25</sup> aufgestellten Kriterien zur Berechnung von Referenzwerten sind die hier angeführten Referenzwerte denen von Herold et al.<sup>21</sup> vorzuziehen.

Grundsätzlich gelten Referenzwerte immer nur für die zugrundeliegende Referenzpopulation, also hier für Holstein Friesian Milchkühe, die unter Stallbedingungen im Gebiet der fünf ostdeutschen Bundesländern gehalten werden. Korrekterweise müssten für jede anders charakterisierte Referenzpopulation eigene Referenzwerte ermittelt werden, was aber praktisch nicht möglich ist. Es gibt jedoch Argumente, die für eine allgemeine Gültigkeit der Kotreferenzwerten für die Spurenelementkonzentrationen für Milchkühe sprechen. An erster Stelle ist die Allgemeingültigkeit der Bedarfsnormen der sieben Spurenelemente für Milchkühe anzuführen.<sup>15, 27</sup> Zweitens werden die Regressionsbeziehungen zwischen den Spurenelementkonzentrationen in den TMR- und Kotproben in dieser Studie nicht von der Fütterungsgruppe (antepartale Transitgruppe, Hochleistungsgruppe) beeinflusst (Ergebnisse nicht dargestellt). Bei der Anwendung der Referenzwerte aus Tabelle 6 sollte das Ziel sein, sowohl eine Unterversorgung als auch eine Überversorgung zu vermeiden. Mit Rücksicht auf die Bedeutung der ökologischen Wirkungen der Fäkalien sollte man den unteren mittleren Referenzbereich anstreben.

Die Kotkonzentrationen der Spurenelemente sind eine alternative Untersuchungsgröße zur TMR-Analyse zur Beurteilung der nutritiven Versorgungslage. Eine primäre Mangelversorgung (zu geringes Angebot) und eine Überversorgung können sicher erkannt werden. Ein sekundärer Mangel wird durch eine Überversorgung mit einem oder mehreren Antagonisten verursacht. Die relevanten Antagonisten sind für die verschiedenen Spurenelemente bekannt.<sup>16, 27, 49</sup> Im Vordergrund stehen andere Mengen- und Spurenelemente, die die Resorption des Zielelements stören. Mit Einführung der ICP (ion coupled plasma spectrometry, induktiv gekoppelte Plasma-Atom-Spektrometrie) als Routinemethode in die Mineralstoffanalytik wird die gleichzeitige und kosten-

günstige Messung eines breiten Spektrums an Mengen- und Spurenelementen möglich.<sup>36, 50</sup> Dies eröffnet den Weg, um über die Kotanalyse als Alternative zur Rationsanalyse auch das Risiko für einen sekundären Mangel abschätzen zu können.

## Schlussfolgerungen

Alternativ zu TMR-Analysen geben die Kotkonzentrationen eine Aussage zur nutritiven Versorgungslage mit den essenziellen Spurenelementen Fe, Cu, Zn, Mn, Se, Co und Mn beim Einzeltier und auf Herdenebene. Zur Verringerung der Wertestreuung wird in der Bestandsüberwachung die Anwendung eines Stichprobentests mit 10 repräsentativen Probanden pro Untersuchungsgruppe empfohlen. Die Aussagekraft von Poolproben steigt mit der Bestandsgröße und erreicht ab einer Herdengröße von 150 Milchkühen ihre volle Effektivität. Die Analyse von gepoolten Kotproben je Untersuchungsgruppe reduziert die Laboranalysekosten deutlich. Es wurden Referenzwerte für die Spurenelementkonzentrationen in Kotproben kalkuliert. Bei Bedarf ist das Untersuchungsprofil um Parameter zur Beurteilung der metabolischen Versorgungslage zu ergänzen.

## Etudes de la relation entre les concentrations d'oligo-éléments essentiels dans la ration totale mélangée et les échantillons de fèces de vaches laitières Holstein Friesian et la déduction de valeurs de référence des fèces.

Les sous-apprivoisements et les surapprivoisements des vaches laitières en oligo-éléments essentiels doivent être évités du point de vue de la santé animale et de la pollution de l'environnement. L'objectif de cette étude était de vérifier la pertinence des analyses de fèces pour évaluer l'apport nutritionnel en oligo-éléments essentiels en les comparant aux valeurs mesurées dans les analyses de RTM (ration totale mélangée). Dans un échantillon aléatoire multicentrique représentatif, les concentrations de fer (Fe), de cuivre (Cu), de zinc (Zn), de manganèse (Mn), de sélénium (Se), de cobalt (Co) et de molybdène (Mo) ont été mesurées dans 574 échantillons de RTM et 600 échantillons de fèces regroupés de vaches laitières et des échantillons de sang ont été analysés. La plage cible pour la teneur en oligo-éléments dans la RTM a été respectée pour Fe à 0%, Se à 18%, Zn à 43%, Cu à 52%, Co à 53% et Mn à 59%. La plage de sous-alimentation a été constatée dans 0 à 8% des échantillons de RTM, la plage de suralimentation dans 39 à 100%. La limite de tolérance pour le Fe a été dépassée dans 11%, pour le Mo dans 13%. Ces résultats indiquent la nécessité d'optimiser les rations. Dans les échantillons de fèces, les concentrations en oligo-éléments variaient sur une large plage. Les résultats d'analyse des échantillons de fèces regroupés (n=10 par pool) correspondaient étroitement, avec une valeur r<sup>2</sup> supérieure à 0,9, aux valeurs moyennes calculées à partir des échantillons individuels. Il y avait des corrélations très significatives entre les concentrations d'éléments dans les échantillons de RTM et de fèces pour Fe (r=0,687), Cu (r=0,675), Zn (r=0,635), Mn (r=0,656), Se (r=0,573), Co (r=0,795), et Mo (r=0,708). Aucune corrélation n'a pu être établie entre les concentrations d'éléments dans le RTM et dans les échantillons de sang. Les analyses de régression ont montré un ajustement linéaire hautement significatif de la distribution des valeurs mesurées autour de la droite de régression sur l'ensemble de la plage de valeurs, y compris le point zéro. Des valeurs de référence ont été calculées pour les concentrations de Cu, Zn, Mn, Se et Co dans les fèces. Pour les concentrations de Fe et Mo dans les fèces, des limites de référence ont été calculées pour les limites de tolérance dans la RTM. Les concentrations en oligo-éléments dans les échantillons de RTM reflètent la situation nutritionnelle. Pour le suivi des troupeaux de vaches laitières, il est très important de connaître l'état nutritionnel du troupeau. Les analyses d'échantillons de fèces peuvent être utilisées comme alternative aux analyses de RTM pour évaluer la situation nutritionnelle.

**Mots-clés :** suivi d'exploitation, santé des troupeaux, diagnostics de laboratoire, minéraux, bovins

## Indagine sulla relazione tra le concentrazioni di oligoelementi essenziali in campioni di razione mista totale e di feci nelle vacche da latte Frisona e derivazione dei valori di riferimento fecali

L'insufficiente o eccessivo apporto di oligoelementi essenziali alle vacche da latte deve essere evitato dal punto di vista della salute degli animali e dell'inquinamento ambientale. Lo scopo dello studio è quello di verificare i risultati delle analisi fecali sulla situazione dell'apporto nutrizionale di oligoelementi essenziali rispetto alle misurazioni effettuate con le analisi della razione mista totale TMR (Total Mixed Ration). Le concentrazioni di ferro (Fe), rame (Cu), zinco (Zn), manganese (Mn), selenio (Se), cobalto (Co) e molibdeno (Mo) sono state misurate come campione rappresentativo multicentrico casuale in 574 TMR, 600 campioni fecali e di sangue nelle vacche da latte. L'intervallo di valori target per il contenuto di oligoelementi è stato raggiunto per Fe 0%, Se 18%, Zn 43%, Cu 52%, Co 53% e Mn 59%. Una sotto-alimentazione è stata riscontrata dallo 0 all'8% e una sovra-alimentazione dal 39 al 100% dei campioni di TMR. Il limite di tolleranza per il Fe è stato superato nell'11% e per il Mo nel 13%. I risultati indicano la necessità di ottimizzare la pianificazione della razione. Le concentrazioni di oligoelementi nei campioni fecali oscillavano in un ampio intervallo. I risultati dei campioni fecali in pool (n=10 per pool) corrispondevano strettamente ai valori medi calcolati dai singoli campioni (r<sup>2</sup> > 0,9). Le relazioni tra le concentrazioni di elementi nel TMR e nei campioni fecali erano altamente significative per Fe (r=0,687), Cu (r=0,675), Zn (r=0,635), Mn (r=0,656), Se (r=0,573), Co (r=0,795) e Mo (r=0,708). Non sono state rilevate relazioni tra le concentrazioni di elementi nel TMR e nei campioni di sangue. Le analisi di regressione hanno mostrato un adattamento lineare altamente significativo della distribuzione dei valori misurati intorno alle linee di regressione per l'intero intervallo di valori, compreso il punto zero. Sono stati calcolati valori di riferimento per le concentrazioni fecali di Cu, Zn, Mn, Se e Co. Per le concentrazioni fecali di Fe e Mo sono stati calcolati i limiti di tolleranza di riferimento nel TMR. Le concentrazioni di oligoelementi nei campioni di TMR riflettono la situazione dell'approvvigionamento nutrizionale. La conoscenza della situazione nutrizionale della mandria è di grande importanza per la gestione delle vacche da latte. L'analisi dei campioni fecali può essere utilizzata come alternativa all'esame del TMR per valutare la situazione dell'apporto nutrizionale.

**Parole chiave:** Gestione della mandria, salute della mandria, diagnostica di laboratorio, minerali, bovini

Untersuchungen zum Zusammenhang der Konzentrationen an essenziellen Spurenelementen in totalen Mischrationen- und Kotproben bei Holstein Friesian Milchkühen und Ableitung von Kotreferenzwerten

R. Staufenbiel, R. Schmitt, A. E. Müller, L. Staufenbiel

Untersuchungen zum Zusammenhang der Konzentrationen an essenziellen Spurenelementen in totalen Mischrationen- und Kotproben bei Holstein Friesian Milchkühen und Ableitung von Kotreferenzwerten

R. Staufenbiel, R. Schmitt, A. E. Müller, L. Staufenbiel

## Literaturnachweis

- 1 Aitken P: Selenium toxicity. In *Pract.* 2001; 23(5): 286–289. doi: 10.1136/inpract.23.5.286.
- 2 Akins MS, Bertics SJ, Socha MT, Shaver RD: Effects of cobalt supplementation and vitamin B12 injections on lactation performance and metabolism of Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2013; 96(3): 1755–1768. doi: 10.3168/jds.2012–5979.
- 3 Bender S, Staufenbiel R: Methodische Einflüsse auf ausgewählte Parameter des Säure-Basen-Haushaltes in Harnproben von Milchküherden. *Berl. Munch. Tierarztl. Wschr.* 2003; 116 (9–10): 432–435. PMID: 14526474.
- 4 Bender S, Staufenbiel R: Einsatz der Harnuntersuchung zur Beurteilung des Säure-Basen-Haushaltes in der Bestandsbetreuung von Milchküherden. *Tierarztl. Prax. Ausg. G Grosstiere Nutztiere* 2003; 31(3): 132–142. doi: 10.1055/s-0038-1623018.
- 5 Borchardt S., Staufenbiel R: Evaluation of the use of nonesterified fatty acids and ss-hydroxybutyrate concentrations in pooled serum samples for herd-based detection of subclinical ketosis in dairy cows during the first week after parturition. *JAVMA* 2012; 240(6): 1003–1011. doi: 10.2460/javma240.8.1003.
- 6 Brosius F: *SPSS Umfassendes Handbuch zu Statistik und Datenanalyse*. 8. Auflage, Mitp Verlags GmbH & Co. KG, Frechen, DE. 2018. ISBN 978-3-95845-668-6.
- 7 Castillo A, St-Pierre NR, Silva R, Weiss WP: Mineral concentration in diets, water, and milk and their value in estimating on-farm excretion of manure minerals in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2013; 96(5): 3388–3398. doi: 10.3168/jds.2012-6121.
- 8 Constable P, Hinchcliff KW, Done SH, Gruenberg W: *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 11. ed., Saunders Ltd, Philadelphia, US. 2016. ISBN 978-0702052460.
- 9 Coppock CE, Bath DL, Harris B: From feeding to feeding systems. *J. Dairy Sc.* 1981; 64(6): 1230–1249.
- 10 Daniel JB, Kvidera SK, Martin-Tereso J: Total-tract digestibility and milk productivity of dairy cows as affected by trace mineral sources. *J. Dairy Sci.* 2020; 103(10): 9081–9089. doi: 10.3168/jds.2020-18754.
- 11 Dirksen G, Gründer HD, Stöber M: *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*. 5. unveränderte Auflage, Verlag Paul Parey, Stuttgart, DE. 2006: 1271–1272. ISBN 978-3830441694.
- 12 Eastridge ML: Major advances in applied dairy cattle nutrition. *J. Dairy Sci.* 2006; 89(4): 1311–1323. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72199-3.
- 13 Gelfert CC, Staufenbiel R: Zur Stoffwechselüberwachung in Milchviehherden. *Tierarztl. Umschau* 2007; 62(4): 176–182.
- 14 Gelfert CC, Goebbels M, Staufenbiel R: Der Harn-pH-Wert aus Einzel- und Poolproben zur Überwachung des Einsatzes saurer Salze in Milchviehherden. *Tierarztl. Umschau* 2009; 64(5): 231–235.
- 15 GfE: *Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchtinder*. DLG-Verlags-GmbH, Frankfurt am Main, DE. 2001. ISBN 3-7690-0591-0.
- 16 Goff JP: Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid-base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. *J. Dairy Sci.* 2018; 101(4): 2763–2813. doi: 10.3168/jds.2017-13112.
- 17 Hall, MB: Feed analyses and their interpretation. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2014; 30(3): 487–505. doi: 10.1016/j.cva.2014.07.001.
- 18 Herdt TH, Rumble W, Braselton WE: The use of blood analysis to evaluate trace mineral status in ruminant livestock. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2000; 16(3): 423–444. doi: 10.1016/s0749-0720(15)30078-5.
- 19 Herdt TH, Hoff B: The use of blood analysis to evaluate trace mineral status in ruminant livestock. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2011; 27(2): 255–286. doi: 10.1016/j.cvfa.2011.02.004.
- 20 Herdt TH, Wisniewski L, Buchweitz J: Random-effects linear model application to herd-level assessment of bovine hepatic trace mineral concentration. *J. Vet. Diag. Invest.* 2021; 33(3): 469–478. doi: 10.1177/1040638721999368.
- 21 Herold A, Müller AE, Staufenbiel R, Pieper L: Konzentration von Spurenelementen beim Rind in verschiedenen Probenmedien unter besonderer Berücksichtigung von Kotproben. *Tierarztl. Prax. Ausg. G Grosstiere Nutztiere* 2020; 48(1): 5–14. doi: 10.1055/a-1418-3562.
- 22 Hidioglou M, Proulx J, Jolette J: Intraruminal selenium pellet for control of nutritional muscular dystrophy in cattle. *J. Dairy Sci.* 1985; 68(1): 57–66. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(85)80797-9.
- 23 Horst EA, Mayorga EJ, Al-Qaisi M, Abeyta MA, Goetz BM, Ramirez HA, Kleinschmidt DH, Baumgard LH: Effects of dietary zinc source on the metabolic and immunological response to lipopolysaccharide in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2019; 102(12): 11681–11700. doi: 10.3168/jds.2019-17037.
- 24 Hussein HA, Westphal A, Staufenbiel R: Pooled serum sample metabolic profiling as a screening tool in dairy herds with a history of ketosis or milk fever. *Comp. Clin. Pathol.* 2013; 22(6): 1075–1082. doi: 10.1007/s00580-012-1530-6.
- 25 Ichihara K, Boyd JC: An appraisal of statistical procedures used in derivation of reference intervals. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2010; 48(11): 1537–1551. doi: 10.1515/CCLM.2010.319.
- 26 Jalali S, Lippolis KD, Ahola JK, Waner JJ, Spears JW, Couch D, Engle TE: Influence of supplemental copper, manganese, and zinc source on reproduction, mineral status, and performance in a grazing beef cow-calf herd over an 2-year period. *Appl. Anim. Sci.* 2020; 36(5): 745–753. doi: 10.15232/aas.2020-01982.
- 27 Jeroch H, Drochner W, Rodehutsord M, Simon A, Simon O: *Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere: Ernährungsphysiologie, Futtermittelkunde, Fütterung*. 3. Auflage, utb GmbH, Stuttgart, DE. 2020. ISBN 978-3825287634.
- 28 Kendall NR, Holmes-Pavord HR, Bone PA, Ander EL, Young SD: Liver copper concentration in cull cattle in the UK: are cattle being copper loaded? *Vet. Rec.* 2015; 177(19): 493. doi: 10.1136/vr.103078.
- 29 Koduah M, Iles TC, Nix BJ: Centile Charts I: New Method of assessment for univariate reference intervals. *Clin. Chem.* 2004; 50(5): 901–906. doi: 10.1373/clinchem.2003.023762.
- 30 Laven RA, Nortje R: Diagnosis of the Cu and Se status of dairy cattle in New Zealand: how many samples are needed? *N. Z. Vet. J.* 2013; 61(5): 269–173. doi: 10.1080/00480169.2012.753568.

- <sup>31</sup> Lucke S: Methoden zur Bestimmung von medizinischen Referenzbereichen für labordiagnostische Parameter. Dissertation: Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, 2013.
- <sup>32</sup> Maas J: Diagnostic consideration for evaluating nutritional problems in cattle. *Vet Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2007; 23(3): 527–539. doi: 10.1016/j.cvfa.2007.07.004.
- <sup>33</sup> McDowell LR: Minerals in animal and human nutrition. 2th ed., Elsevier Science B.V., Amsterdam, NL. 2003. ISBN 0 444 51367 1.
- <sup>34</sup> Moeini MM, Karami H, Mikaeili E: Effect of selenium and vitamin E supplementation during the late pregnancy on reproductive indices and milk production in heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 2009; 114(1–3): 109–114. doi: 10.1016/j.anireprosci.2008.09.012.
- <sup>35</sup> Moritz A: Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 7. Auflage, Schattauer Verlag, Stuttgart, DE. 2014. ISBN 978-3-7945-2737-3
- <sup>36</sup> Müller A, Bertram A, Moschos A: Saisonale und überregionale Unterschiede der Selenversorgung bei Pferden. *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* 2012; 40(3): 157–166. doi: 10.1055/s-0038-1623113.
- <sup>37</sup> Oelberg TJ, Stone W: Monitoring total mixed rations and feed delivery systems. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2004; 30(3): 721–744. doi: 10.1016/j.cvfa.2014.08.003.
- <sup>38</sup> Oetzel GR: Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2004; 20(3): 651–674. doi: 10.1016/j.cvfa.2004.06.006.
- <sup>39</sup> Osorio JS, Trevisi E, Li C, Drackley JK, Socha MT, Looor JJ: Supplementing Zn, Mn, and Cu from amino acid complexes and Co from cobalt glucoheptonate during the peripartur period benefits postpartur cow performance and blood neutrophil function. *J. Dairy Sci.* 2016; 99(3): 1868–1883. doi: 10.3168/jds.2015-10040.
- <sup>40</sup> Payne JM, Dew SM, Manston R, Faulks M: The use of a metabolic profile test in dairy herds. *Vet. Rec.* 1970; 87(6): 150–158. doi: 10.1136/vr.87.6.150.
- <sup>41</sup> Pothmann-Reichl H, Kukla P, Drillich M: Exemplarische Untersuchung zum Einfluss der Poolprobengröße auf die Aussagekraft der Messung der Netto-Säuren-Basen-Ausscheidung bei Milchkühen in Österreich. *Wien Tierarztl. Mschr.* 2011; 98(7–8): 183–188.
- <sup>42</sup> Ring C, Ryll A, Gaus W: Das Bestimmtheitsmass R<sup>2</sup> bei linearen Regressionsmodellen mit und ohne Intercept – die Tücken der Statistikprogramme. *WiSt.* 2006; Heft 11, 607–612. doi: 10.15358/0340-1650-2006-11-607.
- <sup>43</sup> Robinson PH, Meyer D: Total mixed ration (TMR) sampling protocol. University of California, Agriculture and Natural Resources, ANR Publication 8413, August 2010. <http://anrcatalog.ucdavis.edu>.
- <sup>44</sup> Rossow HA, Aly SS: Variation in nutrients formulated and nutrients supplied on 5 California dairies. *J. Dairy Sci.* 2013; 96(11): 7371–7381. doi: 10.3168/jds.2013-7084.
- <sup>45</sup> Schingoethe DJ: A 100-year review: total mixed ration feeding of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2017; 100(12): 10143–10150. doi: 10.3168/jds.2017-12967.
- <sup>46</sup> Sova AD, LeBlanc SJ, McBridge BW, DeVriese TJ: Accuracy and precision of total mixed rations fed on commercial dairy farms. *J. Dairy Sci.* 2014; 97(1): 562–571. doi: 10.3168/jds.2013-6951.
- <sup>47</sup> Staufenbiel R, Gelfert CC, Panicke L: Prophylaktische veterinärmedizinische Bestandsbetreuung als Massnahme im Management von Milchküherden. *Züchtungskd.* 2004; 76(6): 475–493.
- <sup>48</sup> Steinhöfel, O, Fröhlich B, Zentek J, Kriesten A, Männer K: Untersuchungen zur Spurenelementversorgung von Milchkühen. *Schriftenreihe des LfULG*, Heft 14: 1–50, 2013. ISSN 1867-2868.
- <sup>49</sup> Suttle NF: Mineral nutrition of livestock. 4th ed., CAB International Publishing, Wallingford, Oxfordshire, UK. 2010. ISBN 978-1845934729. 223-475
- <sup>50</sup> Suttle NF: Mineral nutrition of livestock. 5th ed., CABI Publishing, Wallingford, UK. 2020. ISBN 978-1-78924-092-4.
- <sup>51</sup> Van Saun RJ: Metabolic profiling. In: Anderson DE, Rings DM (eds), *Current Veterinary Therapy: Food Animal Practice*. 5th ed., Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, US, 2008: Chapter 40, 153–155. ISBN 978-1-4160-3591-6.
- <sup>52</sup> VanSaun RJ: Indikatoren für Risiken bei Kühen in der Transitphase – eine Übersicht zu metabolischen Profilen. *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* 2016; 44(2): 118–126. doi: 10.15653/TPG-150947.
- <sup>53</sup> Villar DJ, Arthur R, Gonzalez JM: Selenium status in cattle: Interpretation of laboratory results. *Bov. Pract.* 2002; 36(1): 73–80. doi: 10.21423/bovine-vol36no1p73-80.
- <sup>54</sup> Weber J, Roder A, Müller AE, Pieper R, Staufenbiel R: Chronische Kupfervergiftung als mögliches Bestandsproblem in einer deutschen Milchviehherde. *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* 2021; 49(3): 203–209. doi: 10.1055/a-1418-3562.
- <sup>55</sup> Weiss WP, Hogan JS, Smith KL, Hoblet KH: Relationships among selenium, vitamin E, and mammary gland health in commercial dairy herds. *J. Dairy Sci.* 1990; 73(2): 381–390. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(90)78684-5.
- Untersuchungen zum Zusammenhang der Konzentrationen an essenziellen Spurenelementen in totalen Mischrationen- und Kotproben bei Holstein Friesian Milchkühen und Ableitung von Kotreferenzwerten
- R. Staufenbiel, R. Schmitt, A. E. Müller, L. Staufenbiel

## Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Rudolf Staufenbiel  
 Klinik für Klautiere, Fachbereich Veterinärmedizin,  
 Freie Universität Berlin  
 Königsweg 65  
 DE-14163 Berlin  
 Telefon: +49 174 1668671  
 E-Mail: [rudolf.staufenbel@fu-berlin.de](mailto:rudolf.staufenbel@fu-berlin.de)