

Pilotstudie zum sequentiellen Einsatz von Reinigungsmittel AquaJet® Catholyte und Desinfektionsmittel AquaJet® Anolyte in separaten Klauenbädern zur Bekämpfung der Moderhinke beim Schaf

Nathalie Zwahlen, Maher Alsaad, Adrian Steiner

Zusammenfassung

Das Ziel dieser Pilotstudie ist die *in-vivo* Testung des Reinigungsmittels AquaJet® Catholyte und des Desinfektionsmittels AquaJet® Anolyte als Klauenbäder bei der Bekämpfung der Moderhinke bei 3 an Moderhinke erkrankten Schafherden. Beide Mittel entstehen bei der elektrochemischen Aktivierung von Salzwasser und können bedenkenlos via Abwasserkanal oder Güllegrube entsorgt werden.

Eine Eliminierung von *D. nodosus aprV2* durch wöchentliche Klauenbäder war bei zwei von drei infizierten Herden erfolgreich. Bei der dritten Herde wurde eine klinische Abheilung erreicht, jedoch blieb das PCR-Resultat im Labor positiv für den virulenten Stamm von *D. nodosus*. Die Sanierung mit dem Reinigungsmittel AquaJet® Catholyte und dem Desinfektionsmittel AquaJet® Anolyte ist also möglich – es dauert im Mittelwert 11.7 Fussbäder bis zur klinischen Abheilung.

Einleitung

Die Moderhinke der Schafe ist eine schmerzhaftes Klauenerkrankung, ausgelöst durch das anaerobe Bakterium *Dichelobacter (D.) nodosus*. Die Krankheit kommt weltweit endemisch vor und ist eine der häufigsten Lahmheitsursachen beim Schaf. Sie wirkt sich negativ auf das Wohlergehen der Tiere aus und führt zu grossen wirtschaftlichen Einbüssen, hauptsächlich durch verlängerte Mastperioden und verminderte Fruchtbarkeit.

Entsprechend der Expression der Gene *aprB2* (thermolabile Protease) respektive *aprV2* (thermostabile Protease) kann *D. nodosus* als gutartig oder virulent eingestuft werden (Stauble et al. 2014). Die gutartige Form kann zu einer leichten interdigitalen Dermatitis führen, während die virulente Form das charakteristische Bild der Moderhinke mit Ablösen der Hufkapsel zeigt. Es gibt jedoch auch Trägartiere von *D. nodosus*, welche keine klinische Ausprägung zeigen. Entsprechend des Schweregrades werden verschiedene Stadien der Moderhinke unterschieden. Das Scoring-System reicht von Score 0 (gesunde Klaue) bis Score 5 (ausschuhen) (BGK adaptiert von Egerton und Roberts).

Die Bekämpfung der Moderhinke ist mit einem aufwändigen Verfahren durch vorsichtige Klauenpflege und regelmässige Klauenbäder möglich. Häufig verwendete Desinfektionsmittel von Klauenbädern beinhalten Zinksulfat (ZnSO₄; 10% (Greber et al., 2016)), Kupfersulfat (CuSO₄; 5%) und Formaldehyd (4%). Eine neue Studie hat gezeigt, dass das nicht-kanzerogene und umweltfreundliche Desinfektionsmittel Desintec® Hoofcare Special D erfolgreich eingesetzt werden kann (Schmid et al., 2022).

Mit dieser Proof-of-concept-Studie soll ein alternatives, kosteneffektives, umweltfreundliches und nicht-kanzerogenes Mittel für die Klauenbadbehandlung getestet werden. AquaJet® Catholyte und AquaJet® Anolyte entstehen bei der elektrochemischen Aktivierung von Salzwasser und erfüllen alle genannten Kriterien. Dieses Desinfektionsmittel ermöglicht (i) Bakterienwachstum zu reduzieren, und (ii) die produzierte hypochlorige Säure (HOCL) zerstört die Bakterienmembranen (Chen und Wang, 2020; Yan et al. 2021).

Beide Mittel können über den Abwasserkanal oder die Güllegrube entsorgt werden. Es soll abgeklärt werden, ob 3 infizierte Schafherden mit maximal 20 Klauenbadbehandlungen im Abstand von 7 Tagen vollständig saniert werden können (alle Schafe der Herde frei von virulenten Stämmen von *D. nodosus*) und falls dies möglich ist, wie lange die Sanierung durchschnittlich dauert.

Material und Methoden

Behandlungs-Protokoll

Die Studie dauerte vom Dezember 2021 bis Mai 2022. Beim ersten Betriebsbesuch werden die Klauen aller Schafe der Herde klinisch untersucht, einer professionellen Klauenpflege unterzogen und danach gescort (Moderhinke-Score (MHS) 0 bis 5). Alle Klauen mit MHS >1 wurden zudem fotografiert und anschliessend mit AquaJet® Anolyte-Gel (AquaJet AG, Reichenburg SZ, Schweiz) behandelt. Dabei werden Tupfer-Proben von maximal 10 Tieren entnommen (10 Tiere = 1 Pool), um virulente Stämme von *D. nodosus* nachweisen zu können. Nach diesem ersten Betriebsbesuch werden vom Tierhalter wöchentlich Klauenbäder mit der ganzen Herde durchgeführt: die Tiere stehen zuerst 10 Minuten im Reinigungsmittel AquaJet® Catholyte und anschliessend 10 Minuten im Desinfektionsmittel AquaJet® Anolyte (AquaJet AG, Reichenburg SZ, Schweiz). Nach der Klauenbad-Behandlung müssen die Tiere eine Stunde lang auf festem, nicht kontaminiertem Untergrund stehen (trockener Boden, z.B. Beton, Teer), damit eine bessere Wirkung der Behandlung erreicht werden kann und das Desinfektionsmittel nicht sofort durch Einstreu oder Gras abgestreift wird.

Neben den Klauenbädern werden regelmässig im zweiwöchigen Abstand Betriebsbesuche durchgeführt, wobei jeweils die Klauen betroffener Tiere und neu lahmender Tiere klinisch untersucht und neu gescort werden. Alle untersuchten Klauen werden mit AquaJet® Anolyte-Gel behandelt und alle Klauen mit MHS >1 werden fotografiert.

Die Besuche werden weitergeführt, bis keine Anzeichen von klinischer Moderhinke mehr erkennbar sind (MHS <2). Nachdem alle Tiere klinisch frei sind, werden nach einer Wartezeit von mindestens 10 Tagen Tupfer-Proben bei allen Schafen entnommen und mittels PCR im Labor untersucht (Kuhnert et al. 2019). Bei einem positiven Resultat werden weitere 2 Klauenbäder durchgeführt, alle Klauen erneut kontrolliert und bei Fehlen von Anzeichen von Moderhinke frühestens 10 Tage nach dem letzten Klauenbad die Entnahme von Tupferproben wiederholt.

Besonderheiten Betrieb 1

- Woche 0: Tupferproben-Entnahme (2 Pools), PCR positiv (CT 30.0, 25.3)
- Woche 2: ein Schaf mit Schmerzmittel und Antibiotika behandelt, ein Schaf hat ein Sohlengeschwür entwickelt.
- Woche 4: ein Schaf hat einen Klauenverband, Schmerzmittel und Antibiotika erhalten.
- Woche 7: ein Schaf hat einen Klauenverband, Schmerzmittel und Antibiotika erhalten.
- Woche 9: ein Schaf hat Antibiotika aufgrund einer anderen Krankheit erhalten.
- Woche 12: Tupferproben-Entnahme (4 Pools), PCR positiv
- Woche 14: letztes Klauenbad
- Woche 15: Tupferproben-Entnahme (4 Pools), PCR negativ
- Die Einstreu war zu Beginn der Behandlung sehr feucht und verschmutzt. Der Tierhalter hat dann die Frequenz des Entmistens erhöht und zusätzlich Kalk gestreut. Die Einstreu war jedoch auch bei den weiteren Betriebsbesuchen eher feucht. Der Betrieb hat keine Tiefstreu verwendet.

Besonderheiten Betrieb 2

- Woche 0: Tupferproben-Entnahme, PCR positiv (CT 21.5)
ein Schaf hat einen Klauenverband erhalten
- Woche 7: Aufgrund eines Verdachts von CODD (contagious ovine digital dermatitis)
Wurden die Klauen eines Schafs mit Chlortetrazyklin-Spray behandelt (Alsaod et al. 2022)

- Woche 9: Klauen von fünf Schafen wurden aufgrund CODD-Verdachts mit Chlortetrazyklin-Spray behandelt
- Woche 10: Klauenbad mit Zink und Formalin (Mittel von AquaJet® fehlte)
- Woche 11: Noch betroffene Schafe wurden mit Intra Hoof fit Gel behandelt (auf Wunsch des Tierhalters)
- Woche 14: letztes Klauenbad
- Woche 16: Tupferproben-Entnahme (4 Pools), PCR negativ
- Die Einstreu war zu Beginn der Behandlung sehr feucht und verschmutzt (Tiefstreu). In Woche 4 wurde der Stall komplett ausgemistet und neu eingestreut, zusätzlich wurde Kalk verwendet. Von da an war die Einstreu bei den Betriebsbesuchen trocken und sauber.

Besonderheiten Betrieb 3

- Woche 0: Tupferproben-Entnahme, PCR positiv (CT 21)
- Woche 5: zwei Schafe haben Antibiotika und Schmerzmittel erhalten
- Woche 9: nur noch zwei Schafe betroffen, diese wurden mit Intra Hoof fit Gel behandelt
- Woche 13: letztes Klauenbad
- Woche 14: Tupferproben-Entnahme (6 Pools), PCR positiv
- Woche 16: Kontroll-Besuch, alle Tiere klinisch frei. Klauenbad wird wieder gemacht.
- Woche 20: Tupferproben-Entnahme (6 Pools), PCR positiv
- Die Einstreu war von Anfang an sehr trocken, es wurde Kalk auf Tiefstreu verwendet.

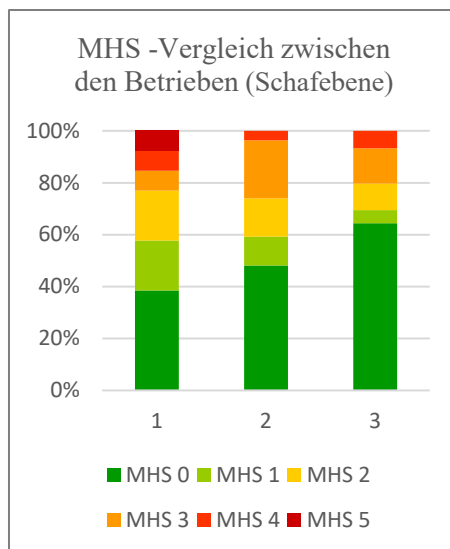
Resultate

Bei der Auswertung der Resultate ist zu beachten, dass immer die *klinische Abheilung* gemeint ist. Die Bestätigung der Eliminierung von *D. nodosus aprV2* durch PCR-Diagnostik erfolgte auf allen Betrieben erst 2 bis 4 Wochen nach der klinischen Abheilung. Auf allen drei Betrieben konnte eine klinische Abheilung erreicht werden, auf zwei Betrieben waren auch die Tupfer-Proben PCR-negativ sowohl für den benignen wie auch den virulenten Stamm von *D. nodosus*. Der dritte Betrieb war nach der dritten Tupferproben-Entnahme immer noch positiv, jedoch waren alle Tiere klinisch abgeheilt. Der Tierhalter hat sich dann gegen den Einsatz weiterer Klauenbäder entschieden und ist auf eigenen Wunsch aus dem Projekt ausgetreten.

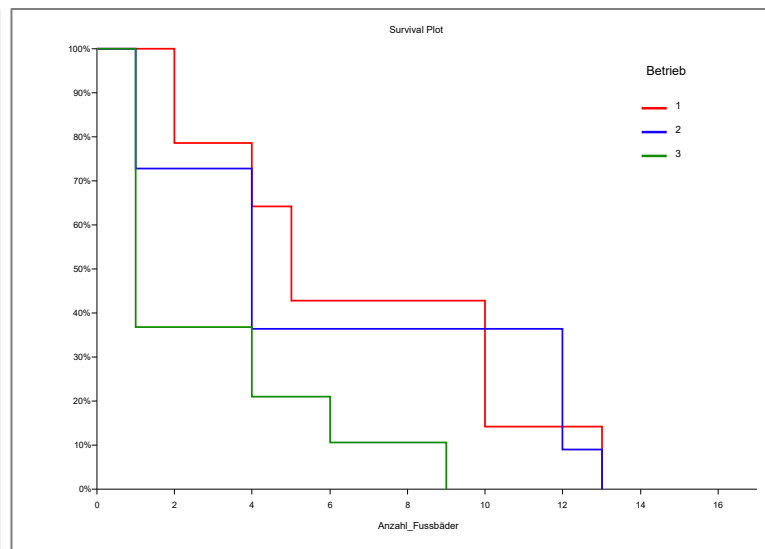
Tabelle 1 | Vergleich zwischen den Betrieben

Betrieb	Betroffene Tiere	Total Tiere	Prävalenz	Anzahl Bäder	Geschlachtete Tiere aufgrund MH
1	11	26	42.31%	13	3/26 = 11.5%
2	11	27	40.74%	13	5/27 = 18.5%
3	18	59	30.51%	9	0
Mittelwert:			37.85%	11.7	
Median:			40.74%	13	
Standartabw.:			0.06	2.4	

Tabelle 1: Die Prävalenz der an Moderhinke erkrankten Tiere liegt bei den 3 Betrieben im Mittelwert bei 37.9%. Wie stark betroffen die einzelnen Tiere waren, variierte von Betrieb zu Betrieb (Grafik 1). Im Schnitt brauchte es 11.7 Klauenbäder bis zur klinischen Abheilung aller Tiere einer Herde. Die Anzahl der Schafe, die aufgrund der Moderhinke geschlachtet wurden, ist sehr unterschiedlich (0% bis 18.5%).



Grafik 1 | Prävalenz der MH-Scores zu Beginn der Sanierung von 3 Herden mit Moderhinke



Grafik 2 | Survival Plot: klinisch betroffene Tiere vs. Anzahl Fussbäder von 3 Herden mit Moderhinke

Der Betrieb 3, der von Beginn an trockene Einstreu hatte, brauchte deutlich weniger Klauenbäder bis zur klinischen Abheilung und hatte auch die schnellsten klinischen Therapieerfolge gezeigt; die meisten Schafe (15 von 18) waren nach den ersten 4 Klauenbädern bereits klinisch abgeheilt. (Grafik 2)

Diskussion & Schlussfolgerungen

Die Behandlung der Moderhinke der Schafe mit den Mitteln AquaJet® Catholyte und AquaJet® Anolyte ist möglich. Alle drei Herden der vorliegenden Studie sind klinisch abgeheilt, zwei von drei Herden sind vollständig saniert worden (negative Tupferproben für benignen und virulenten Stamm von *D. nodosus* bei allen Tieren). Es wurde keine risikobasierte Tupferprobe-Entnahme durchgeführt, sondern jedes einzelne Tier wurde beprobt (Betrieb 1: 4 Pools à jeweils maximal 10 Tiere, Betrieb 2: 4 Pools, Betrieb 3: 6 Pools).

Nach bestem Wissen der Autoren ist dies die erste Studie, welche die Effektivität von Elektrolysewasser zur Behandlung von Moderhinke beim Schaf untersucht. Eine Studie von Himmelmann et al. (2017) hat die Wirksamkeit von Elektrolysewasser in Kombination mit Kupfersulfat zur Behandlung von Dermatitis digitalis beim Milchvieh untersucht.

Die Vorreinigung der Klauen mit dem Reinigungsmittel AquaJet® Catholyte ist ein wichtiger Vorteil gegenüber einem Klauenbad ohne Vorreinigung der Klauen. Durch das erste Klauenbad wird Schmutz an- und zwischen den Klauen entfernt, wodurch das Desinfektionsmittel AquaJet® Anolyte als zweites Fussbad im Anschluss eine bessere Wirkung erzielen kann. Dies weil das Desinfektions-Bad durch die saubereren Klauen viel weniger stark verschmutzt wird und somit eine längere und bessere Wirkung entfalten kann, aber auch weil das Desinfektionsmittel direkt mit der ganzen Klauenoberfläche in Kontakt kommt da der störende Schmutz bereits weg ist.

Die beiden Mittel AquaJet® Catholyte und AquaJet® Anolyte wirken schonend und werden von den Tieren gut toleriert. Während den Klauenbad-Behandlungen standen die Tiere ruhig mit allen vier Beinen im Klauenbad. Ein schmerzhaftes Zurückzucken von Gliedmassen beim Kontakt mit den Klauenbadflüssigkeiten wurde nicht beobachtet, auch nicht bei den stark betroffenen Tieren bei denen Klauenhorn bis auf die Lederhaut entfernt werden musste.

Bei der Behandlung mittels Zinksulfat nach Greber et al., 2016 wurde eine erfolgreiche Herdensanierung im Mittelwert mit 11 Fussbädern erreicht. Bei der Behandlung mit Desintec Hoofcare

Special D nach Schmid et al., 2022 wurde eine Herdensanierung nach 14.6 Bädern (ohne vorwaschen) respektive 11.3 Bädern (mit vorwaschen) erreicht. Mit den Produkten von AquaJet® (Reinigungsmittel AquaJet® Catholyte und Desinfektionsmittel AquaJet® Anolyte) wurden im Mittelwert 11.7 Bäder benötigt. Es gibt also keinen wesentlichen Unterschied bezüglich Effektivität der Behandlung. Dabei ist jedoch zu beachten, dass in der hier durchgeführten Pilotstudie nur 3 Betriebe verfolgt wurden, wovon 1 Betrieb das Projekt verliess, nachdem keine klinischen Veränderungen mehr erkennbar, die Tupferprobenresultate aber noch positiv waren. Für wissenschaftlich belastbarere Resultate müsste eine grösser angelegte Studie durchgeführt werden.

Wichtigste Erkenntnisse sind somit, (i) dass Schafhalter weiter motiviert werden sollten, Klauenbäder zur Behandlung und Vorbeugung der Moderhinke einzusetzen, und (ii) dass ein Ersatz der aktuell benutzten Desinfektionsmittel durch Substanzen, welche für Mensch, Tier und Umwelt nicht toxisch sind, unbedingt erforderlich ist (Hardi-Landerer et al. 2019).

In dieser Studie hat der Faktor von trockener Einstreu einen grossen Unterschied bei der klinischen Abheilungsdauer bewirkt. Um dies jedoch bestätigen zu können und andere mögliche Faktoren ausschliessen zu können, müssten weitere Studien durchgeführt werden.

Literatur

1. Schmid RM, Steiner A, Becker J, Baumberger S, Durr S, Alsaaod M: **Field Validation of a Non-carcinogenic and Eco-Friendly Disinfectant in a Stand-In Footbath for Treatment of Footrot Associated With aprV2-Positive Strains of Dichelobacter nodosus in Swiss Sheep Flocks.** *Frontiers in Veterinary Science* 2022, **9**.
2. Alsaaod M, Schmid RM, Zwahlen N, Soto S, Wildi N, Seuberlich T, Steiner A: **[First case description of contagious ovine digital dermatitis in Switzerland].** *Schweiz Arch Tierheilkd* 2022, **164**:851-859.
3. Chen BK, Wang CK: **Electrolyzed Water and Its Pharmacological Activities: A Mini-Review.** *Molecules* 2022, **27**.
4. Kuhnert P, Cippa V, Hardi-Landerer MC, Schmicke M, Ulbrich S, Locher I, Steiner A, Jores J: **Early Infection Dynamics of Dichelobacter nodosus During an Ovine Experimental Footrot In Contact Infection.** *Schweiz Arch Tierheilkd* 2019, **161**:465-472.
5. Hardi-Landerer MC, Stoffel A, Durr S, Steiner A: **[Footbath as treatment of footrot in sheep. Current -situation on Swiss sheep farms].** *Schweiz Arch Tierheilkd* 2019, **161**:377-386.
6. Greber D, Bearth G, Luchinger R, Schuepbach-Regula G, Steiner A: **Elimination of virulent strains (aprV2) of Dichelobacter nodosus from feet of 28 Swiss sheep flocks: A proof of concept study.** *Vet J* 2016, **216**:25-32.
7. Himmelman HK, Jones BW, Bewley JM: **Effects of the addition of electrolyzed water to a footbath solution on digital dermatitis incidence.** *J Dairy Vet Anim Res* 2017, **6**.
8. Stauble A, Steiner A, Frey J, Kuhnert P: **Simultaneous Detection and Discrimination of Virulent and Benign Dichelobacter nodosus in Sheep of Flocks Affected by Foot Rot and in Clinically Healthy Flocks by Competitive Real-Time PCR.** *Journal of Clinical Microbiology* 2014, **52**:1228-1231.
9. Yan PP, Daliri EBM, Oh DH: **New Clinical Applications of Electrolyzed Water: A Review.** *Microorganisms* 2021, **9**.