

3 Material und Methoden

3.1 Beschreibung der Studienbetriebe

Die Feldstudie wurde in Niedersachsen auf 38 Milchviehbetrieben im Landkreis Friesland und auf zwei Betrieben im Gebiet der Stadt Wilhelmshaven durchgeführt. Die ausgewählten Betriebe waren dem Landeskontrollverband zur regelmäßigen Milchleistungsprüfung angeschlossen. Die Belegung brünstiger Tiere erfolgte auf den Studienbetrieben durch künstliche Besamung. Alle therapeutischen Maßnahmen vor Ort wurden im Rahmen der üblichen Praxistätigkeit der betreuenden Tierarztpraxis durchgeführt. Die Dokumentation auf den Betrieben erfolgte durch den jeweiligen Betriebsleiter sowie durch sonstiges Personal.

3.1.1 Studientiere

Die Herden bestanden überwiegend aus Tieren der Rasse Deutsche Schwarzbunte mit einem geringen Anteil an Tieren der Rasse Deutsche Rotbunte. Die Herdengröße schwankte auf den Betrieben zwischen 28 und 166 Milchrindern. Die weibliche Nachzucht wurde jeweils auf dem eigenen Betrieb aufgezogen. Die männliche Nachzucht der Betriebe wurde zur Mast verkauft. Auf drei Betrieben wurde die männliche Nachzucht betriebseigen gemästet.

3.1.2 Haltungsform

In sechs Betrieben wurden die Tiere in Anbindung gehalten (Hängegurt-Anbindung). In 34 Betrieben erfolgte die Haltung in Boxenlaufställen mit Spaltenböden, Liegeboxen und Gummimatten. Während der Sommermonate hatten alle Milchrinder ganztägigen Weidegang. Hochtragende Kühe und Färsen wurden während der Sommermonate sechs Wochen vor der Abkalbung auf separate Weiden gebracht. In den Wintermonaten wurden diese Tiere in einem separaten Bereich der Boxenlaufställe untergebracht. Die Kalbungen erfolgten in Abkalbeboxen beziehungsweise in Anbindeställen im Stand. Die frisch abgekalbten Tiere in den Laufställen verblieben zur Gewinnung der Kolostralmilch beziehungsweise zur Überwachung des Frühpuerperiums für ein bis zwei Tage in den Abkalbeboxen.

3.1.3 Melktechnik

Die Milchrinder in Laufstallhaltung wurden in unterschiedlichen Melkständen (Side-by-Side-/ Durchtreibe-/ Doppeltandem-/ Fischgräten-Melkstand) gemolken. Der maschinelle Milchentzug der Kühe in Anbindehaltung erfolgte mittels einer Rohrmelkanlage. Alle laktierenden Tiere wurden zweimal täglich gemolken.

3.1.4 Fütterung

Das Grundfutter bestand aus den betriebseigenen Komponenten Weidegras (Sommermonate) und Grassilage (ad libitum). Die Rationen wurden leistungsbezogen mit zugekauftem Kraftfutter (Getreide-, Soja-, Rapsextraktionsschrot) sowie mit Mineralfutter ergänzt. In Laufstallhaltung erfolgte die Kraftfuttergabe leistungsbezogen über Transponder-Stationen beziehungsweise als Lockfutter im Melkstand. In Anbindeställen erfolgte die Zuteilung individuell von Hand.

Auf drei Betrieben erfolgte die Fütterung als Totale Mischration (TMR), die mit einem Futtermischwagen vorgelegt wurde. Der aus betriebseigenem Anbau stammende Grundfutteranteil der Ration bestand aus den beiden Komponenten Gras- und Maissilage. Kraft- und Mineralfuttermittel sowie Biertreber aus einer nahegelegenen Brauerei wurden zugekauft.

3.1.5 Milchleistung und Milch Inhaltsstoffe

Die durchschnittliche Leistung der Kühe auf den verschiedenen Betrieben lag bei 7450 kg (6100 - 9500 kg) Milch pro Kuh im Jahr. Der Milchfettgehalt lag bei durchschnittlich 3,89 % (4,00 - 4,57 %) und der Milcheiweißgehalt bei durchschnittlich 3,13 % (3,27 - 3,52 %).

3.1.6 Management

Die Brunstbeobachtung erfolgte durch den Betriebsleiter, das Personal oder den Besamungstechniker. Brünstige Tiere wurden dem Besamungstechniker zur künstlichen Besamung vorgestellt. In vier Betrieben erfolgte die Belegung der Kühe im Studienzeitraum nicht mehr durch künstliche Besamung, sondern durch einen in der Kuhherde befindlichen Deckbullen. Daher wurde die Aufnahme von Tieren in die Studie zu diesem Zeitpunkt

beendet. In die Auswertung wurden nur Tiere aufgenommen, die mittels künstlicher Besamung belegt worden waren. Vereinzelt wurden Tiere mit mehreren erfolglosen Besamungen von einem betriebseigenen Deckbullen gedeckt. Über die weitere Nutzung der Tiere (Zucht/ Abgänge) entschied der Betriebsleiter nach Absprache mit dem Tierarzt. Die Trächtigkeitsuntersuchungen wurden vom Tierarzt ab dem 42. Tag nach der Besamung mittels Palpation des Uterus vom Rektum her durchgeführt.

3.2 Studiendurchführung

3.2.1 Versuchszeitraum

Im Zeitraum vom 25. September 2003 bis zum 31. Dezember 2005 wurden alle den Einschlusskriterien entsprechenden Tiere in die Studie aufgenommen.

3.2.2 Einschlusskriterien

Es wurden alle zur weiteren Zucht vorgesehenen Rinder in die Untersuchung aufgenommen, deren Nachgeburt nicht innerhalb von 12 Stunden post partum abgegangen war.

3.2.3 Ausschlusskriterien

Aus der Studie wurden alle Tiere ausgeschlossen, die innerhalb der ersten 10 Studientage aus anderen Gründen als einer Nachgeburtshaltung beziehungsweise einer akuten Metritis systemisch mit Antibiotika und/ oder Antiphlogistika behandelt worden waren. Des Weiteren wurden keine Tiere mit Schnittentbindung, Gebärmuttervorfall oder Fetotomie in die Studie aufgenommen. Gleiches galt für Tiere, die nicht für die weitere Zucht vorgesehen waren.

3.3 Versuchsanordnung

3.3.1 Gruppeneinteilung und Behandlungen

Die den Einschlusskriterien entsprechenden Kühe wurden auf jedem Betrieb alternierend vier Behandlungsgruppen zugeordnet. Die erste Kuh wurde z.B. Gruppe D zugeordnet, die zweite Kuh Gruppe C, die dritte Gruppe A und die vierte Kuh Gruppe B usw.

Anhand eines Erhebungsbogens (Anlage 1) wurden während der ersten fünf bis zehn Tage nach der Abkalbung täglich die rektale Körpertemperatur, die Milchmenge sowie ein eventuell beobachteter Nachgeburtsabgang protokolliert. Des Weiteren wurden alle Behandlungen sowie sonstige Erkrankungen und Abgänge vermerkt.

Studiengruppe A

Bei Tieren, die der Studiengruppe A zugeordnet wurden, erfolgte kein Versuch der manuellen Abnahme der Nachgeburt. Aus der Vulva heraushängende Teile der Nachgeburt wurden gekürzt. Die Kühe wurden an drei aufeinanderfolgenden Tagen intramuskulär mit 4800 FIP-E Chymotrypsin, 480 FIP-E Trypsin sowie 60 FIP-E Papain/ 100 kg KGW behandelt. Bei einem Körpergewicht von 600 kg/ Tier entspricht dies einer Menge von 24 ml Nekro Veyxym[®] (Veyx Pharma GmbH, Schwarzenborn). Die Injektion erfolgte mit einer 30 ml Plastikeinmalspritze (Transcoject[®], Neumünster) und aufgesetzter Einmalkanüle (1,6 mm x 25 mm Neobject[®], Dispomed Witt oHG, Gelnhausen) in die Halsmuskulatur. Tiere, die eine rektale Körpertemperatur von mehr als 39,5°C aufwiesen, wurden zusätzlich an mindestens drei aufeinanderfolgenden Tagen mit 1 mg Ceftiofur/ kg KGW subkutan behandelt. Bei einem Körpergewicht von 600 kg/ Tier entspricht dies 600 mg Ceftiofur beziehungsweise einer Menge von 12 ml Excenel[®] RTU (Pfizer Tiergesundheit, Karlsruhe). Wiesen die Tiere nach dreimaliger Applikation noch Fieber auf, wurde die Behandlung für zwei weitere Tage fortgesetzt. Die Injektion erfolgte mit einer 12 ml Plastikeinmalspritze (Norm-Ject[®], HenkeSass Wolf GmbH, Tuttlingen) und aufgesetzter Einmalkanüle (1,6 mm x 25 mm Neobject[®]).

Studiengruppe B

In die Studiengruppe B aufgenommene Tiere wurden keinem manuellem Abnahmeversuch der Nachgeburt unterzogen. Heraushängende Nachgeburtsteile wurden gekürzt. Kühe, die eine rektale Körpertemperatur von mehr als 39,5°C aufwiesen, wurden an mindestens drei bis maximal fünf aufeinanderfolgenden Tagen mit 1 mg Ceftiofur/ kg KGW subkutan behandelt. Die Behandlung wurde auf insgesamt fünf Behandlungstage ausgedehnt, wenn bei den Kühen nach dreimaliger Applikation noch eine Körpertemperatur von über 39,5°C festgestellt wurde.

Studiengruppe C

Bei den Tieren dieser Gruppe wurde am ersten Studientag ein Versuch der manuellen Abnahme der Nachgeburt unternommen. Vor Beginn des Abnahmeversuchs der Eihäute wurde die äußere Scham mit Wasser und Seife gereinigt. Die Tiere erhielten an drei aufeinanderfolgenden Tagen intrauterin jeweils drei Uterusstäbe (insgesamt 6000 mg Tetracyclinhydrochlorid pro Tag, Tetracyclin Uterus Stab[®], Medistar Arzneimittel- Vertrieb GmbH, Holzwickede). Überschritt bei Tieren dieser Gruppe die rektal gemessene Körpertemperatur 39,5°C, erfolgte zusätzlich eine mindestens dreitägige intramuskuläre Behandlung mit 6000 mg Amoxicillin-Trihydrat (Veyxyl[®]LA 20%, Veyx Pharma GmbH, Schwarzenborn) pro Tier und Tag. Die Applikation wurde um zwei auf insgesamt fünf Tage ausgedehnt, wenn die Tiere am vierten Behandlungstag noch Fieber aufwiesen.

Studiengruppe D

Am ersten Studientag wurde bei Tieren dieser Gruppe ein Abnahmeversuch der Nachgeburt unternommen. Die Reinigung der äußeren Scham wurde in der oben beschriebenen Weise vorgenommen. Die intrauterine und antibiotische Behandlung erfolgte wie in Gruppe C. Zusätzlich wurden alle Tiere an drei aufeinanderfolgenden Tagen intramuskulär mit 4800 FIP-E Chymotrypsin, 480 FIP-E Trypsin sowie 60 FIP-E Papain/ 100 kg KGW (Nekro Veyxym[®], Veyx Pharma GmbH, Schwarzenborn) behandelt.

Eine Übersicht über die durchgeführten Behandlungen in den Studiengruppen ist in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4: Behandlungen in den Studiengruppen

Behandlung	Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C	Gruppe D
Nachgeburtsabnahme	Nein	Nein	Ja	Ja
Uterusstäbe	Nein	Nein	Ja	Ja
Enzymbehandlung	Ja	Nein	Nein	Ja
Systemische Antibiose	Falls $\geq 39,5^{\circ}\text{C}$ Ceftiofur		Falls $\geq 39,5^{\circ}\text{C}$ Amoxicillin	

3.3.2 Einheitliche Behandlung aller Gruppen

Die rektale Körpertemperatur wurde bei allen Studientieren bis mindestens zwei Tage nach Therapieende gemessen. Als Fieber wurde eine rektal gemessene Körpertemperatur von mindestens 39,5°C definiert. Tiere, die am sechsten Tag nach Behandlungsbeginn eine Körperinnentemperatur von mehr als 39,5°C aufwiesen, wurden als Therapiemisserfolg gewertet und einer Ausweichtherapie unterzogen. Als Therapiemisserfolge wurden auch solche Tiere bewertet, deren rektal gemessene Körpertemperatur innerhalb der ersten zehn Tage post partum erneut über 39,5°C anstieg. Anhand klinischer Untersuchungen der betroffenen Tiere konnte ausgeschlossen werden, dass dem wiederholten Anstieg der Körperinnentemperatur Erkrankungen anderer Organsysteme zugrunde lagen.

Am 28. bis 34. Tag post partum wurde eine gynäkologische Untersuchung vorgenommen (Puerperalkontrolle). Durch rektale Palpation wurden Uterus und Ovarien untersucht. Bei der Palpation des Uterus dienten die Größe, Kontraktilität und Symmetrie sowie eventuell vorhandener Ausfluss zur Einschätzung einer eventuell vorhandene Endometritis (Grunert, 1990). Die palpatorische Untersuchung der Ovarien diente der Feststellung vorhandener Funktionskörper oder zystischer Entartungen. Unabhängig von den erhobenen Befunden erhielten alle Tiere zum Zeitpunkt der Puerperalkontrolle sowie 14 Tage später 500 µg Cloprostenol (2 ml PGF Veyx® forte, Veyx Pharma GmbH, Schwarzenborn).

Die freiwillige Wartezeit (FWZ), d.h. die Zeit von der Abkalbung bis zur ersten Besamung, für die Studientiere in den verschiedenen Betrieben betrug im Mittel 57,2 Tage (40 bis 90 Tage).

Alle angewandten Medikamente sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Tabelle 5: Alle angewandten Medikamente der Studie im Überblick

Wirkstoff	Medikament	Hersteller	Wartezeit	
			Milch	Fleisch
Ceftiofur	Excenel [®] RTU	Pfizer Tiergesundheit, Karlsruhe	0 Tage	8 Tage
Amoxicillin	Veyxyl [®] LA 20%	Veyx, Schwarzenborn	3 Tage	50 Tage
Tetracyclin	TC Uterus Stab [®]	Medistar, Holzwickede	4 Tage*	10 Tage*
Trypsin, Chymotrypsin, Papain	Nekro Veyxym [®]	Veyx, Schwarzenborn	0 Tage	0 Tage
Cloprostenol	PGF Veyx [®] forte	Veyx, Schwarzenborn	0 Tage	2 Tage

* Nach der Applikation von jeweils drei Uterusstäben wurde die Wartezeit auf 7 Tage (Milch) beziehungsweise 28 Tage (Fleisch) festgelegt.

3.4 Dokumentation

Zu Beginn der Behandlung wurden Ohrmarke, Stallnummer, Studiengruppe, Kalbedatum, Kalbeverlauf, Zahl bisheriger Abkalbungen, Verlauf der letzten Laktation (kg, Fett, Eiweiß), Zwischenkalbe- sowie Trockenstehzeit aufgenommen. Der Kalbeverlauf wurde mit den Zahlen 1 (Spontangeburt), 2 (leichte Geburtshilfe), 3 (schwerer Auszug) oder 4 (Totgeburt) verschlüsselt (Anlage 1). Auf dem entsprechenden Befundbogen (Anlage 2) wurden auch Körpertemperatur, Behandlung und Milchmenge sowie ein eventuell beobachteter Abgang der Nachgeburt innerhalb der ersten 10 Studientage vermerkt.

Des Weiteren wurden die Daten der ersten drei Milchleistungsprüfungen (Anlage 3) post partum sowie alle künstlichen Besamungen innerhalb eines Beobachtungszeitraumes von 200 Tagen post partum protokolliert.

Eine Übersicht über den zeitlichen Ablauf der Untersuchungen und Behandlungen wird in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Übersicht über den zeitlichen Ablauf der Untersuchungen und Behandlungen

Tag post partum	Ereignis
0	Partus
1 bis 10	Aufnahme in die Studie gemäss Einschlusskriterien Behandlungen dem Studienprotokoll entsprechend Beginn der Dokumentation
28 bis 34	Puerperalkontrolle und erste PGF _{2α} -Injektion
42 bis 48	Zweite PGF _{2α} -Injektion
40 bis 90	Ende der freiwilligen Wartezeit
200	Ende des Dokumentationszeitraumes

3.4.1 Puerperalkontrolle

Bei der Puerperalkontrolle wurden Größe, Kontraktilität und Symmetrie des Uterus, Funktionskörper der Ovarien, Allgemeinbefinden, Milchleistung und Therapie auf einem Befundbogen (Anlage 2) vermerkt. Das Allgemeinbefinden wurde mit Noten 0 (ungestört), 1 (geringgradig gestört), 2 (mittelgradig gestört) oder 3 (hochgradig gestört) beurteilt.

Der Scheidenausfluss wurde nach Qualität eingeschätzt: 0 (kein Ausfluss), 1 (klarer Brunstschleim), 2 (trüber Brunstschleim), 3 (Eiter).

Die bei der rektalen Untersuchung erhobenen Befunde hinsichtlich Beurteilung der Größe, Kontraktilität und Symmetrie des Uterus erfolgte nach dem Schlüssel von Grunert (1990).

Um eine Endometritis handelte es sich definitionsgemäß, sofern Ausfluss zweiten oder dritten Grades und/ oder ein rektal palpierter Uterus der Größe G IV/ G V und/ oder eine deutliche Asymmetrie der Gebärmutterhörner auftraten.

3.5 Fruchtbarkeitskennzahlen

Zur Beurteilung der Fruchtbarkeit der Studiengruppen wurden die in Tabelle 7 aufgeführten Fruchtbarkeitskennzahlen berechnet.

Tabelle 7: Fruchtbarkeitskennzahlen

Kennzahl	Abkürzung	Definition
Rastzeit	RZ	Intervall Kalbung - erste Besamung
Güstzeit	GZ	Intervall Kalbung - erster Trächtigkeitstag
Brunstnutzungsrate 1	BNR 1	Anzahl Kühe, die innerhalb von 21 Tagen nach Ablauf der FWZ besamt worden sind/ Anzahl aller Tiere nach der FWZ
Brunstnutzungsrate 2	BNR 2	Anzahl Kühe, die zwischen 22 und 42 Tagen nach Ablauf der FWZ besamt worden sind/ Anzahl aller Tiere nach der FWZ
Anzahl KB	nKB	Summe aller künstlichen Besamungen
Erstbesamungserfolg	EBE	(Anzahl tragender Tiere nach Erstbesamung/ Anzahl Erstbesamungen) x 100
Konzeptionsrate	KR	(Anzahl tragender Tiere/ Anzahl aller Besamungen) x 100
Anzahl tragender Tiere	nTU+	Summe aller Tiere tragend befundeten Tiere
Anzahl Abgänge	nAB	Summe aller Abgänge

3.6 Statistische Methoden

Die Bearbeitung aller für die Auswertung relevanten Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS[®] (Version 12.0, SPSS Inc. 2003) sowie dem Tabellenkalkulationsprogramm Excel[®] (Version 2000, Microsoft).

Der Vergleich prozentualer Häufigkeiten zwischen den Studiengruppen erfolgte mittels des Chi-Quadrattests mit jeweils zwei Gruppen. Der Vergleich der Milchleistungen wurde mit einem allgemeinen linearen Modell mit der Funktion Messwiederholungen durchgeführt. Diese Auswertung basierte auf allen Fällen mit gültigen Daten für alle Variablen im Modell. Als Zwischensubjektfaktoren wurden die Behandlungsgruppen (A bis D), die Altersklasse (Altkuh/ Erstkalbin) sowie der Betrieb angegeben. Der Vergleich der Rast- und Gützeiten der Studiengruppen A bis D erfolgte mit dem Kruskal-Wallis-H-Test. Sofern mit diesem Test Unterschiede gefunden wurden, erfolgte die weitere Analyse jeweils für zwei Gruppen mittels Mann-Whitney-U-Tests. Mittels binärer logistischer Regression wurden mögliche Einflussfaktoren auf den Erstbesamungserfolg untersucht. Als Kovariaten wurde der Einsatz von Nekro Veyxym[®] (0=nein, 1=ja), mögliche intrauterine Behandlungen (0=nein, 1=ja), die Altersklasse (0=Altkuh, 1=Erstkalbin) sowie das Auftreten einer Endometritis bei der Puerperalkontrolle (0=nein, 1=ja) getestet. In einer Cox-Regressionsanalyse wurde der Einfluss der Faktoren Einsatz von Nekro Veyxym[®] (0=nein, 1=ja), Gruppenzugehörigkeit (0=AB, 1=CD), Fieber (0=nein 1=ja), Altersklasse (0=Altkuh, 1=Erstkalbin) sowie das Auftreten einer Endometritis (0=nein, 1=ja) auf den Zeitpunkt der erfolgreichen Besamung untersucht.

Für die logistische Regression sowie die Cox-Regression wurde ein Konfidenzintervall von 95 % gewählt. Das Signifikanzniveau wurde mit $\alpha=0,05$ festgelegt.

Die Ergebnisse dieser Studie gelten nur für die vorliegende Arbeit und sind nicht ohne weiteres zu verallgemeinern.