

3 Material und Methoden

3.1 Beschreibung des Versuchsbetriebs

Die Studie wurde auf einem Milchviehbetrieb in Brandenburg mit etwa 2650 Milchkühen der Rasse Deutsche Schwarzbunte durchgeführt. Organisatorisch war der Betrieb in die zwei Bereiche „Pflanzenproduktion“ und „Tierproduktion“ aufgeteilt. Zum Zeitpunkt der Studie betrug die Milchleistung der Herde 7500 kg bei einem Milchfettgehalt von 4,2 % und einem Milcheiweißgehalt von 3,5 %. Die Remontierungsrate des Betriebes (Anzahl selektierter Tiere x 100 / Anzahl Abkalbungen) lag im Untersuchungszeitraum bei 45 Prozent. Die tierärztliche Betreuung wurde von zwei niedergelassenen Tierärzten übernommen. Tabelle 9 zeigt einige wichtige Daten des Versuchsbetriebes.

Tabelle 9: Beschreibung des Versuchsbetriebes

Betriebsstruktur	Betriebsdaten
Landwirtschaftlich Nutzfläche	etwa 7000 Hektar
Arbeitskräfte in der Tierproduktion	50 Arbeitskräfte und 7 Auszubildende
Herdengröße	etwa 2650 Milchkühe
Rasse	Deutsche Schwarzbunte
Milchleistung kg/Kuh/Jahr (2004)	7500 kg
Milchinhaltsstoffe	4,2 % Fett, 3,5 % Eiweiß
Melktechnik	60er Melkkarussell, 40er Melkkarussell, 12er Fischgrätmelkstand
Haltungsform	Liegeboxenlaufstall mit Spaltenböden und Gummimatten, stroheingestreute Abkalbeboxen, Krankengruppe und Frischabkalber (seit 05/2004 auf Stroh) in Anbindehaltung
Fütterung	Grundfuttermischung 6 x täglich mit leistungsbezogener Kraftfuttermenge

3.1.1 Haltungsfom

Die Kühe wurden ab dem sechsten Tag der Laktation in Gruppen zu etwa 60 Tieren in einstreulosen Liegeboxenlaufställen mit Gummimatten und Spaltenboden aufgestellt.

Die Einteilung der Gruppen im Laufe der Laktation erfolgte aufgrund des Laktationsstandes und des Reproduktionsstatus.

Sechs Wochen vor dem errechneten Abkalbetermin oder bei einer täglichen Milchleistung unter 4kg wurden die Kühe intramammär mit einem Langzeitantibiotikum trockengestellt und in „Trockenstellergruppen“ zu etwa 50 Tieren zusammen aufgestellt. Die trocken gestellten Kühe wurden täglich auf äußerliche Anzeichen der bevorstehenden Geburt kontrolliert.

Wenige Tage vor der Abkalbung wurden bis zu fünf Tiere zusammen in eine mit Stroh eingestreute Abkalbebox umgestellt. Unmittelbar nach der Abkalbung wurden die Kühe in einem 12er Fischgrätmelkstand gemolken und für fünf Tage zur Kontrolle des Nachgeburtsabganges und des Auftretens von Stoffwechselerkrankungen in einen mit Stroh eingestreuten Laufstall verbracht. Am sechsten Tag nach der Abkalbung wurden die Erstkalbinnen zusammen mit den Altkühen bis zum 12. bis 14. Tag in eine Auffanggruppe mit einstreulosen Liegeboxenställen mit Gummimatten und Spaltenboden verbracht, bis die Gruppe eine Größe von 55 bis 60 Tiere hatte. Dann wurde die Gruppe umgestellt, um im 60er Melkkarussell gemolken zu werden.

Pro Monat kalbten auf dem Betrieb zwischen 230 bis 240 Kühe und Färsen. Erkrankte Kühe wurden je nach Erkrankung in jeweilige Sondergruppen (Eutererkrankungen, Gliedmaßenerkrankungen, Uteruserkrankungen) zusammengestellt. Die Aufstallung erfolgte je nach Schweregrad in Anbindehaltung oder Boxenlaufstall.

Die auf dem Betrieb geborenen weiblichen Kälber kamen im Alter von etwa acht Tagen in den betriebseigenen Aufzuchtbetrieb. Dort wurden sie nach Erreichen eines Gewichts von etwa 380 kg als Färsen künstlich besamt oder von einem Bullen gedeckt. Tragende Färsen wurden im Betrieb wieder in Liegeboxenställen aufgestellt. Männliche Kälber wurden im Alter von etwa 15 Tagen verkauft.

3.1.2 Melktechnik

Der Betrieb verfügte über drei Melkstände. Ein Melkkarussell mit 60 Melkplätzen, ein Melkkarussell mit 40 Melkplätzen und ein Fischgrätmelkstand mit 12 Melkplätzen (alle von der Firma Impulsa, Elsterwerder). Frischabkalber wurden bis etwa zum 12. bis 14.

Laktationstag im Fischgrätmelkstand gemolken. Ab dem 12. Laktationstag wurden die Kühe dreimal täglich mit einer Kapazität von 240 Tieren pro Stunde in dem 60er Melkkarussell

gemolken. Ab dem 80. bis 100. Laktationstag wurden die Kühe zweimal täglich gemolken. Die Melkarbeit wurde in zwei Schichten von jeweils vier Melkern geleistet. Altmelkende und euterkranke Kühe wurden in dem 40er Melkkarussell gemolken. Kühe in Anbindehaltung wurden mittels Rohrmelkanlage (Fa. Impulsa, Elsterwerder) zweimal täglich gemolken. Als melkhygienische Maßnahme wurden die Zitzen und gegebenenfalls das ganze Euter mittels feuchter Eutertücher gereinigt. Das Eutertuch wurde nach jeder Kuh gewechselt. Anschließend wurden die Eutertücher in eine alkalische Desinfektionslösung eingelegt, gespült und bei 40°C geschleudert. Das Vorgemelk wurde von den Melkern grobsinnlich geprüft. Nach der automatischen Abnahme des Melkzeugs wurden die Zitzen mit einem jodhaltigen (3.800 ppm Jod) Dippmittel (Ujosan[®], Kesla Pharma Wolfen, Greppin) gedippt. In dem 60er Melkkarussell geschah dies über einen Sprühbalken, im 40er Melkkarussell und im Fischgrätmelkstand manuell mit einem Dippbecher. Die Melkanlage wurde in regelmäßigen Abständen von betriebsangehörigen Technikern kontrolliert. Die Milchkontrolle führte einmal monatlich der Landeskontrollverband Brandenburg, Waldsiedersdorf durch.

3.1.3 Fütterung

Die Kühe erhielten sechsmal täglich eine je nach Leistungsstatus berechnete Grundfuttermischung, die auf Futtertischen über eine Bandfütterung angeboten wurde. Das Grundfutter enthielt Mais- und Grassilage, Mineralfutter und Corncopmix aus eigenem Anbau sowie Birtreber und zugekauftes Mais-, Raps- und Sojaschrot und Kraftfutter. Insgesamt gab es fünf verschiedene Rationen für folgende Gruppen:

- hochleistende Kühe mit etwa 40 kg Milchleistung pro Tag
- Kühe mit mittlerer Leistung mit etwa 30 kg
- Kühe mit niedriger Leistung mit etwa 20 kg und weniger
- Trockensteller und Färsen
- Trockensteller 14 Tage vor der Abkalbung erhielten eine Vorbereitungsration zusätzlich mit dem Mineralfutter Prelak[®] und 14 Tage nach der Abkalbung eine Ration mit dem Mineralfutter Frühlak[®]

Diese Rationen wurden mit Hilfe eines Futtermittelberaters und Computerprogrammen für die jeweiligen Leistungsgruppen errechnet.

3.2 Studientiere

Als Studientiere dienten laktierende Kühe der Rasse Deutsche Schwarzbunte am Ende der Laktation. Sie wurden zum Zeitpunkt des Trockenstellens den betriebsinternen Trockenstellergruppen 33 bis 40 zugeordnet. Die zu erfüllenden Aufnahmebedingungen der Studientiere waren:

- eine bestehende Trächtigkeit von 224 bis 230 Tagen
- keine Störungen des Allgemeinbefindens
- keine Anzeichen einer klinisch manifestierten Euterentzündung, d.h. keine Rötung, Schwellung, Abszesse des Drüsengewebes oder Veränderungen des physiologischen Milchcharakters wie Flocken, blutiges oder wässriges Sekret.

Die Identifizierung der Tiere erfolgte anhand der zwölfstelligen Ohrmarkennummer.

3.3 Versuchszeitraum

Im Versuchszeitraum vom 26.01.2004 bis zum 04.05.2004 wurden im Abstand von 14 Tagen Tiere in die Studie aufgenommen. Diese wurden bis zum 100. Tag nach der Abkalbung weiterverfolgt. Am 04.07.2004 kalbte die letzte in die Studie aufgenommene Milchkuh. Am 12.10.2004 hatte diese Kuh die 100 Tage nach der Abkalbung erreicht.

3.4 Versuchsanordnung

Die Feldstudie wurde kontrolliert und als Viertelvergleich im Splitted–Udder–Design durchgeführt. Im Abstand von 14 Tagen wurde jeweils eine Gruppe von circa 50 altmelkenden Kühen trocken gestellt. Sowohl am Tag vor dem Trockenstellen, als auch am Tag des Trockenstellens wurde eine Anfangsviertelgemelksprobe nach den Leitlinien der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft zur Entnahme von Milchproben (DVG, 2000) gezogen. Anschließend erfolgte von allen gewonnenen Anfangsviertelgemelksproben eine bakteriologische Untersuchung. Von den am ersten Tag gewonnenen Anfangsviertelgemelksproben wurde zusätzlich eine zytologische Untersuchung durchgeführt. Weiterhin wurde am Tag vor dem Trockenstellen eine klinische Untersuchung des Euters und der Zitzen vorgenommen und dokumentiert (Tabellen 10 und 11). Lagen Zeichen einer Euterentzündung vor, führte dies zum Ausschluss der betroffenen Tiere aus der Studie. Die klinische Untersuchung des Euters umfasste eine Adspektion des Euters und der Haut auf Form, Verfärbungen und Verletzungen. Es folgte eine Palpation des Drüsengewebes jeden Viertels, wobei Konsistenz, Härte und Homogenität Beachtung fanden. Verletzungen und

Euterekzeme wurden als Nebenbefund dokumentiert. Zur Erfassung der Befunde der klinischen Untersuchung der Eutervierviertel wurde der in Tabelle 10 modifizierte Euterbefundschlüssel (Rosenberger, 1990) verwendet. Befundschlüssel 0 entspricht dabei einem klinisch gesunden Eutervierviertel. Mit steigender Ziffer des Befundschlüssels nahm die Abweichungen vom Normalzustand zu.

Tabelle 10: Befundschlüssel zur Untersuchung des Euterdrüsengewebes

Befundschlüssel	Befund der klinischen Untersuchung
0	Insgesamt feinkörnig und weich (ohne besonderen Befund)
1	Insgesamt grobkörnig aber weich
2	Allgemein grobkörnig, derb mit einzelnen Knoten
3	Allgemein grobknotig
4	Insgesamt diffus verhärtet
5	Akut geschwollen, vermehrt warm, schmerzhaft
6	Euterödem
7	Atrophie des Gewebes
8	Pralles Eutervierviertel

Die klinische Untersuchung der Zitzen umfasste ebenfalls eine Adspektion und Palpation der Zitze und des Strichkanals. Besonderes Augenmerk wurde auf das Vorhandensein einer Hyperkeratose als Risikofaktor für eine erhöhte Infektionsgefahr gelegt. Um die Ergebnisse der klinischen Untersuchung der Zitzen erfassen zu können, wurde der in Tabelle 11 gezeigte, modifizierte Befundschlüssel zur Beschreibung des Zustandes der Strichkanalöffnung (Rosenberger, 1990) verwendet.

Tabelle 11: Beschaffenheit der Zitze und der Strichkanalöffnung

Befundschlüssel	Klinischer Befund
0	Ohne besonderen Befund
1	Leichte Hyperkeratose
2	Mittelgradige Hyperkeratose
3	Starke Hyperkeratose

3.4.1 Behandlung der Studientiere

Am Tag des Trockenstellens wurden die Tiere sofort nach der Entnahme der Anfangsviertelgemelksproben trocken gestellt. Hierzu wurde in alle Viertel das Antibiotikum Benestermycin[®] Suspension (5 ml, enthält 280 mg Benethamin-Penicillin, 100 mg Penethamathydrojodid, 100 mg Framycetinsulfat, Boehringer, Ingelheim) appliziert. Jeweils zwei Viertel wurden zusätzlich mit dem internen Zitzenversiegler OrbeSeal[®] (4 g, enthält 2,6 g schweres, basisches Bismutnitrat, Paraffin, Aluminiumhydroxid-Distearat, Siliciumdioxid, Pfizer Tiergesundheit GmbH, Karlsruhe) trocken gestellt. Es ergaben sich zwei unterschiedliche Behandlungspläne (Tabelle 12):

- Behandlung A (Versuchsviertel): Benestermycin[®] und OrbeSeal[®]
- Behandlung B (Kontrollviertel): Benestermycin[®]

Dabei dienten entweder das vordere rechte und hintere linke Viertel oder das vordere linke und das hintere rechte Viertel der Tiere als Versuchsviertel (A: OrbeSeal[®] und Benestermycin[®]), während die jeweils anderen Viertel entsprechend die Kontrollviertel (B: Benestermycin[®]) darstellten. Die Zuordnung als Kontroll- oder Versuchsviertel wechselte im 14 tägigen Rhythmus.

Tabelle 12: Behandlungsplan

Aufnahmedatum	Viertel/ Behandlung			
	VL	HL	HR	VR
1.Gruppe 27.01.2004	B	A	B	A
2.Gruppe 10.02.2004	A	B	A	B
3.Gruppe 24.02.2004	B	A	B	A
4.Gruppe 09.03.2004	A	B	A	B
5.Gruppe 23.03.2004	B	A	B	A
6.Gruppe 06.04.2004	A	B	A	B
7.Gruppe 20.04.2004	B	A	B	A
8.Gruppe 04.05.2004	A	B	A	B

A: Benestermycin[®] und OrbeSeal[®]

B: Benestermycin[®]

3.4.2 Proben- und Untersuchungsplan

Weitere Anfangsviertelgemelksproben wurden am Tag der Abkalbung unmittelbar nach der Geburt und fünf bis acht Tage nach der Abkalbung genommen. Tiere mit Anzeichen einer akuten Mastitis wurden dem Bestandstierarzt vorgestellt. Nach Entnahme einer Viertelgemelksprobe wurden sie nach dessen Anweisungen behandelt und in die Krankengruppe umgestallt.

Bis zum 100. Tag nach der Abkalbung wurde darauf geachtet, ob weitere Erkrankungen des Euters auftraten und welche Keime nach Entnahme einer Viertelgemelksprobe bei der bakteriologischen Untersuchung gefunden wurden. Hierzu wurden die Krankheitsdaten aus der Tierärztekartei dokumentiert. Danach wurden die Studientiere aus der Studie entlassen. Tabelle 13 zeigt einen Zeitplan der durchgeführten Untersuchungen und Behandlungen.

Tabelle 13: Zeitplan der durchgeführten Untersuchungen und Behandlungen

Zeitpunkt	Maßnahmen
6 Wochen vor dem errechneten Abkalbetermin	<ul style="list-style-type: none"> - Klinische Untersuchung (Aufnahmeuntersuchung) Adspektion und Palpation von Euter, -haut und Zitzen - Milchprobennahme der Anfangsviertelgemelke an zwei aufeinander folgenden Tagen - Bakteriologische Untersuchung der Milchproben - Zytologische Untersuchung der Milchproben - Trockenstellen Kontrollviertel mit Benestermycin® Versuchsviertel mit Benestermycin® und OrbeSeal®
2./3. Tag nach der Aufnahmeuntersuchung	<ul style="list-style-type: none"> - Klinische Untersuchung Adspektion und Palpation von Euter, -haut und Zitzen
Wöchentlich bis zu Abkalbung	<ul style="list-style-type: none"> - Klinische Untersuchung Adspektion und Palpation von Euter, -haut und Zitzen
Tag der Abkalbung	<ul style="list-style-type: none"> - Milchprobennahme der Anfangsviertelgemelke - Bakteriologische Untersuchung
5 bis 8 Tage nach der Abkalbung	<ul style="list-style-type: none"> - Klinische Untersuchung Adspektion und Palpation von Euter, -haut und Zitzen - Milchprobennahme der Anfangsviertelgemelke - Bakteriologische Untersuchung - Zytologische Untersuchung
Bis 100 Tage nach der Abkalbung	<ul style="list-style-type: none"> - Dokumentation auftretender Eutererkrankungen - Bei klinischer Mastitis Anfangsviertelgemelksproben zur bakteriologische Untersuchung - Dokumentation der Daten der Milchleistungsprüfung (Milchleistung, Milchinhaltstoffe, Zellgehalte) - Dokumentation von Abgangsdaten und Ursachen

3.5 Probenentnahme und Bewertung der bakteriologischen Befunde

Die Viertelgemelksproben der Aufnahmeuntersuchung wurden an zwei aufeinander folgenden Tagen entnommen. Die Probenentnahme erfolgte im Melkkarussell nach Vorreinigung der Euter mit einem feuchten Eutertuch und Desinfektion der Zitzen, besonders der Zitzenkuppe mit Zellstoff und 70%igem Alkohol. Die ersten Milchstrahlen wurden verworfen. Dann wurde von jedem Viertel ein steriles Milchprobenröhrchen aus Glas gefüllt, welches zur Konservierung mit 0,25 g Borsäuresalz beschickt war.

Die Ergebnisse der beiden bakteriologischen Untersuchungen (BU) zur Feststellung der Prävalenz von Euterinfektionen wurden wie folgt zu einem Befund zusammengefasst:

- Bei identischem Befund in einem Viertel an beiden aufeinander folgenden Tagen entsprach der Befund den beiden Einzelergebnissen.
- Bei negativer BU in einem Viertel an einem Tag und Nachweis eines euterpathogenen Keimes in demselben Viertel am anderen Tag der Probenentnahme, wurde eine Infektion mit dem Keim in dem betroffenen Viertel angenommen.
- Ein Nachweis von zwei verschiedenen Erregern bei der BU wurde als Mischinfektion gewertet, wobei das Ergebnis der Einzelbefunde zu Berechnungen berücksichtigt wurde. Das Viertel galt aber nur einmal als infiziert.
- Als bakteriell verunreinigt wurden Milchproben angesehen, deren Ergebnis der BU eine überwachsene Platte mit drei und mehr Keimen zeigte. Waren beide Proben derart verunreinigt, wurde das Ergebnis in der Auswertung nicht berücksichtigt.

Weitere Proben wurden am Tage der Abkalbung (K_0) und fünf bis acht Tage nach der Abkalbung (K_1) in den Laufställen nach Reinigung und Desinfektion der Zitzenkuppe mit 70%igem Alkohol genommen.

3.5.1 Definitionen verwendeter Ausdrücke

3.5.1.1 Neuinfektionsraten

Es wurden drei Neuinfektionsraten innerhalb folgender Zeiträume bestimmt:

- zwischen Trockenstellen und Abkalbung
- zwischen Abkalbung und fünf bis acht Tage post partum
- zwischen Trockenstellen und fünf bis acht Tage post partum

Ein Viertel galt als neuinfiziert, wenn zum ersten Beprobungszeitpunkt kein bakterieller Organismus nachgewiesen wurde, jedoch zum zweiten Beprobungszeitpunkt in demselben Viertel ein bakterieller Organismus nachgewiesen werden konnte (Huxley et al., 2002).

3.5.1.2 Heilungsraten

Es wurden drei Heilungsraten innerhalb folgender Zeiträume bestimmt:

- zwischen Trockenstellen und Abkalbung
- zwischen Abkalbung und fünf bis acht Tage post partum
- zwischen Trockenstellen und fünf bis acht Tage post partum

Ein Viertel galt als geheilt, wenn zum ersten Beprobungszeitpunkt ein bakterieller Organismus nachgewiesen wurde, jedoch zum zweiten Beprobungszeitpunkt in demselben Viertel kein bakterieller Organismus mehr nachgewiesen werden konnte (Huxley et al., 2002). Als nicht geheilt galt, wenn ein bakterieller Organismus zu zwei Beprobungszeiträumen in demselben Viertel nachgewiesen wurde.

3.5.1.3 Klinische Mastitis

Lagen bei einer Kuh äußere Anzeichen einer Mastitis oder Veränderungen der Milch vor, so wurde eine Milchprobe des betroffenen Viertels entnommen und bakteriologisch untersucht. Bei Nachweis eines bakteriellen Organismus wurde dieser als verursachender Erreger der Mastitis angenommen. Bei Nachweis zwei und mehr bakterieller Organismen wurden diese als verursachende Erreger der Mastitis angenommen und als Mischinfektion bezeichnet. Als neue klinische Mastitis wurde angesehen, wenn zwischen zwei Infektionen mindestens 14 Tage lagen, um zu vermeiden, dass man zweimal denselben Erreger derselben Infektion nachwies (Bartlett et al., 2001).

3.6 Bakteriologische Untersuchungen und Zellzahlbestimmung

Die bakteriologischen und zytologischen Untersuchungen der entnommenen Milchproben wurden vom Staatlichen Veterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt des Landes Brandenburg in Potsdam unter der Leitung von Herrn Dr. Baumgärtner durchgeführt. Die Zellzahlbestimmung erfolgte mit der Fossomatic[®] der Firma Foss-Elektrik, Hamburg. Die steril entnommenen Viertelgemelksproben wurden bei 4°C gelagert und nach spätestens drei Tagen im Labor mikrobiologisch untersucht. Pro Agarplatte wurden je vier Milchproben ausgestrichen. Von jeder Milchprobe wurden 0,01 ml entnommen und auf zwei verschiedenen Nährböden ausgestrichen.

Der erste Nährboden war ein hemmstofffreier CASO-blutagar, der Casein und Sojaprotein enthielt (Fa. Oxoid, Wesel). Der zweite im Untersuchungsamt hergestellte Nährboden war ebenfalls ein CASO-blutagar, der zusätzlich Staphylokokken- β -Toxin, Neomycin und Aeskulin enthielt.

Der erste Nährboden diente als Basisnährboden zur Anzucht von Staphylokokken (S.), Streptokokken (Sc.), *Arcanobacterium pyogenes* (*A. pyogenes*), *Escherichia coli* (*E. coli*), koliformen Keimen (k.K.), *Corynebacterium bovis* (*C. bovis*) Nocardien (N.), Hefen und Prototheken. Nach 48 Stunden Bebrütungszeit bei 37°C wurden die Agarplatten abgelesen. Es folgte eine Erregerdifferenzierung anhand der Koloniegröße, -farbe und Morphologie. Weiterhin wurde sowohl Hämolysevermögen und Hämolyseart beurteilt und eine Gramfärbung vorgenommen.

Zur Differenzierung zwischen Staphylokokken und Streptokokken diente der Katalasetest. Eine Speziesdifferenzierung erfolgte bei Aeskulin positiven Streptokokken (Sc. Aeskulin +), Aeskulin negativen Streptokokken (Sc. Aeskulin -) und Enterokokken mittels Latexdiffusionstest (Fa. Merck, Darmstadt). Staphylokokken und Koagulase negative Staphylokokken (KNS) wurden mittels Koagulasetest ausdifferenziert. *S. aureus* wurde beim Vorliegen einer β -Hämolyse durch den Latexdiffusionstest ausdifferenziert.

E. coli und koliforme Keime wurden mittels SIM-Agar (Sulfidbildung, Indolbildung und Motilität) und Malonat-Bouillon oder mit Hilfe der „bunten Reihe“ ausdifferenziert.

A. pyogenes und *C. bovis* wurden nach Vorliegen des CAMP-Phänomens und mittels Ergebnis des Löfflerserumtests und der Urease/Glukose Verstoffwechslung voneinander unterschieden. Nocardien wurden mit der Stamp-Färbung eines Sedimentausstrichs ausdifferenziert.

Lag der Verdacht auf Wachstum von Hefen vor, wurden diese auf YGC-Agar (Yeast Extract Glucose Chloramphenicol) angezüchtet und konnten anhand des mikroskopischen Bildes von Prototheken unterschieden werden.

Der zweite Nährboden diente der Ausdifferenzierung von Streptokokken. Nach 24 Stunden bei 37°C wurden die Erreger anhand des Hämolysevermögens und der Hämolyseart, sowie anhand des Äskulin-Spaltungsvermögens und des CAMP-Phänomens differenziert.

Die Feindifferenzierung erfolgte mittels serologischer Reaktionen wodurch eine Einteilung in eine Lancefield Gruppe möglich war. Die Lancefield Klassifikation beruht auf einer Antigen-Antikörper Reaktion mit dem C-Polysaccharid. Weiterhin wurde zur Ausdifferenzierung die Fähigkeit der Streptokokken zur Verstoffwechslung verschiedener Stoffe überprüft.

Alle Untersuchungen richteten sich nach den Leitlinien zur Isolierung und Identifizierung von Mastitiserregern der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG, 2000) und dem Laboratory and Field Handbook on Bovine Mastitis des National Mastitis Council (NMC, 1987).

Das Untersuchungslabor ist EU akkreditiert (Aks-P-11021-EU).

3.7 Kriterien für die Beurteilung der klinischen Wirksamkeit der zusätzlichen Applikation des Zitzenversieglers

Als Bewertungskriterien für die klinische Wirksamkeit der zusätzlichen Applikation von OrbeSeal[®] beim Trockenstellen mit einem Antibiotikum (Benestermycin[®]) wurde die Inzidenz¹ klinischer Mastitiden von der Aufnahmeuntersuchung bis zur Abkalbung und innerhalb der ersten 100 Tage nach der Abkalbung herangezogen. Hierbei wurden Kontrollviertel und Behandlungsviertel miteinander verglichen. Ebenfalls wurde als Bewertungskriterium die Prävalenz² von Eutererkrankungen zu verschiedenen Zeitpunkten (Tag der Aufnahme, Tag der Abkalbung, fünf bis acht Tage nach der Abkalbung) und unter Betrachtungen verschiedener Parameter (Milchleistung, Grad der Hyperkeratose im Bereich der Zitzenkuppe, Entwicklung des Zellgehaltes) herangezogen. Besonderes Augenmerk wurde auf Häufigkeit und Art des nachgewiesenen Erregers gelegt.

3.8 Dokumentation, Berechnungen und statistische Auswertung

Die Ergebnisse der monatlichen Milchleistungsprüfung wurden den Berichten des Landeskontrollverbands Brandenburg in Waldsievershof entnommen. Die Ergebnisse der Milchleistungsprüfung wurden zusammen mit allen anderen relevanten Daten des Betriebes mit dem Computerprogramm Herde 2.8 (Fa. DSP-Agrosoft, Paretz) erfasst und gespeichert. Die Dokumentation der Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung der Viertelgemelke erfolgte anhand der Befundbögen des Veterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamtes Potsdam. Weitere Daten zu Erkrankungen der Tiere wurden aus den Krankenkarteien der Tierärzte gewonnen.

¹Inzidenz: Relative Häufigkeit einer Neuerkrankung/ Infektion innerhalb eines definierten zeitlich begrenzten Untersuchungszeitraumes

²Prävalenz: Relative Häufigkeit einer Erkrankung/ Infektion zu einem bestimmten Untersuchungszeitpunkt

Die Dateneingabe erfolgte in das Tabellenkalkulationsprogramm Excel[®] (Microsoft Office 2003, Microsoft). Die statistische Analyse der Daten erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS[®] für Windows (Version 12.0, SPSS[®] Inc. München).

Das Signifikanzniveau wurde für alle Tests mit $\alpha = 0,05$ festgelegt. Die Inzidenz intramammärer Neuinfektionen, die Infektionsprävalenzen der Viertel und klinischen Mastitiden, die Anteile der Zellzahlen der Viertelgemelksproben in verschiedenen Zellzahlklassen sowie die Anteile der klinischen Befunde von Milchdrüse, Zitze und Zitzenhaut wurden mit dem Chi-Quadrat Test verglichen. Als Maßstab zur Bewertung der Häufigkeiten der intramammären Infektionen der verschiedenen Euterviertel (vorn links, hinten links, vorn rechts, hinten rechts) wurde ein Chi-Quadrat Test herangezogen. Dafür wurden die Euterviertel als Spaltenvariable definiert. Des Weiteren wurde der Anteil „eutergesunde Viertel“ (Viertel mit einer Zellzahl unter 200.000/ml) bei Vierteln mit unterschiedlichem Infektionsstatus mittels eines Chi-Quadrat Tests überprüft. Dabei wurden Euterviertel mit unterschiedlichem Infektionsstatus als Untergruppen definiert.

Um den Zusammenhang zwischen dem Grad der Hyperkeratose im Bereich der Zitzenkuppe und dem Infektionsstand des entsprechenden Viertels zu untersuchen, wurden vier Klassen von Vierteln gleicher Strichkanaleigenschaften gebildet (ohne besonderen Befund, leichte, mittelgradige, starke Hyperkeratose) gebildet. Die Viertelinfektionsraten wurden mittels des Chi-Quadrat Tests verglichen.

Für Neuinfektionen, Heilungsraten und Mastitiden wurden zu verschiedenen Untersuchungszeitpunkten die „relativen Chancen“ (Odds Ratio) und die dazugehörigen Konfidenzintervalle (95%) errechnet. Schloß das Konfidenzintervall 1,00 aus, so wurde der Unterschied zwischen den Gruppen als signifikant angesehen.

Für Neuinfektionen, Heilungsraten und Mastitiden wurden logistische Regressionen erstellt. Die Parameter Behandlung, BU Ergebnis zum Trockenstellen, Zellzahlklasse (1 bis 5), Trockenstelldauer (unter oder über 40 Tage), Hyperkeratose, Milchleistung (unter oder über 25 Liter), Drüsenbefund (1 bis 8), Laktationsnummer (Erstkalbin oder Altkuh) und Viertel (VL, HL, HR, VR) wurden als Kovariaten berücksichtigt. Die Kovariaten Drüsenbefunde und Viertel wurden kategorial verwendet. Ebenfalls wurde eine Varianzanalyse der logarithmierten Zellzahlen 5 bis 8 Tage post partum durchgeführt. Hier dienten Behandlung, Trockenstelldauer, Hyperkeratose, Milchleistung und Laktationsnummer als Kovariaten. Für Mastitiden innerhalb der ersten 100 Laktationstage wurden Überlebenskurven angefertigt. Die Ergebnisse sind im explorativen Sinne zu interpretieren und nicht ohne weiteres zu verallgemeinern.