

3 Material und Methode

Die Studie wurde in zwei großen Milchviehanlagen in Brandenburg durchgeführt. Sie bestand aus zwei Teilen, die jeweils auf einer der beiden Milchviehanlagen bearbeitet wurden. Der Studienteil A wurde im Zeitraum April 2003 bis Oktober 2003 und der Studienteil B im Zeitraum von Mai 2003 bis September 2004 durchgeführt.

3.1 Verwendete Arzneimittel

In beiden Studienteilen wurden das Antibiotikum Orbenin[®] extra (Pfizer Tiergesundheit GmbH) und der interne Zitzenversiegler OrbeSeal[®] (Pfizer Tiergesundheit GmbH) angewendet. Ein Euterinjektor des Antibiotikums Orbenin[®] extra enthält 6 g einer öligen Suspension, deren wirksamer Bestandteil 1,28 g Cloxacillin-Benzathin ist. Diese Menge entspricht 1000 mg Cloxacillin. Weiterhin sind dickflüssiges Paraffin, Stearinsäure und Aluminiumstearat enthalten.

Die Handelsform des internen Zitzenversieglers OrbeSeal[®] ist ebenfalls ein Euterinjektor, der auf einer Mischung aus schwerem basischen Bismuthsubnitrat, dickflüssigen Paraffin, Aluminiumhydroxid-disterat und hochdispersen Siliziumdioxid basiert. Der Hauptinhaltsstoff ist mit 2,6 g das Bismuthsubnitrat.

3.2 Studienteil A: Untersuchung zur klinischen Wirksamkeit der zusätzlichen Applikation des internen Zitzenversieglers (OrbeSeal[®]) zum antibiotischen Trockenstellen (Orbenin[®] extra)

3.2.1 Versuchsaufbau

Der Studienteil A wurde als kontrollierte Feldstudie im Splitted-Udder-Design durchgeführt. Dies bedeutet, dass es sich um einen Vergleich diagonal gegenüberliegender Eutervierteil handelte.

Es sollte hierbei die klinische Wirksamkeit einer zusätzlichen Applikation von OrbeSeal[®] beim Trockenstellen zu einem Antibiotikum (Orbenin[®] extra) untersucht werden. Als Parameter zur Beurteilung der Wirksamkeit wurden die Zellzahlentwicklung, die Entwicklung von Euterinfektionen während der Trockenstehphase sowie das Auftreten klinischer Mastitiden während der Trockenstehphase und den ersten 100 Tagen der Laktation herangezogen. Es waren vor allem Eutervierteil von Bedeutung, die eine Prädisposition für eine intramammäre Infektion (hohe Milchleistung, Hyperkeratose im Bereich des Strichkanals, Milchablaufen, hohe Zellzahlen) hatten.

3.2.2 Studienbetrieb

Die Untersuchungen wurden in einer kommerziellen Milchviehanlage mit 2700 Kühen durchgeführt. Die durchschnittliche Milchleistung lag bei 7800 Litern mit 4,0 % Fett und 3,4 % Eiweiß. Bei den Studientieren handelte es sich um laktierende Rinder der Rasse Deutsche Schwarzbunte am Ende der Laktation.

Die Fütterung erfolgte als totale Mischration (TMR) ad libitum und die Tiere hatten jederzeit freien Zugang zur Tränke.

Die Kühe wurden in einem Liegeboxenlaufstall in Gruppen zu etwa 60 Tieren gehalten, wobei die Hochboxen täglich gereinigt und mit Sägespänen eingestreut wurden. Das Melken wurde vor dem Trockenstellen zweimal täglich auf einem Melkkarussell der Firma Impulsa[®] - Melktechnik mit einer Kapazität von 60 Tieren durchgeführt.

Die Tiere wurden etwa sieben Tage vor der Abkalbung in mit Stroh eingestreute Abkalbebuchten umgestellt. Nach der Abkalbung wurden die Tiere zur besseren Beobachtung für etwa drei Tage in eine Anbindehaltung verbracht. Während dieser Zeit wurden sie mit einer Rohrmelkanlage gemolken. Danach erfolgten die Haltung wieder in dem oben beschriebenen Liegeboxenlaufstall und das Melken wieder mit dem Melkkarussell.

3.2.3 Aufnahmebedingungen

Die in diesen Studienteil aufgenommenen Tiere wiesen keine Störungen des Allgemeinbefindens auf. Es ergaben sich aus der klinischen Untersuchung vor dem Trockenstellen keine Anhaltspunkte auf das Vorliegen einer Euterentzündung, und alle vier Viertel der Tiere waren laktierend.

3.2.4 Anzahl der Tiere

Es wurden 359 Tiere mit der Aufnahmeuntersuchung in die Studie aufgenommen. Alle Tiere, die zum Zeitpunkt des Trockenstellens den betriebsinternen Haltungsgruppen 13 bis 19 zugeordnet waren und die Aufnahmebedingungen erfüllten (siehe 3.2.3), erhielten den Status „Studientier“.

3.2.5 Identifizierung der Tiere

Die Identifizierung der Tiere und die Dokumentation der erhobenen Daten erfolgte anhand der zehnstelligen Ohrmarkennummer.

3.2.6 Randomisierung

Die Studie wurde im Splitted-Udder-Design durchgeführt. Deshalb wurden zwei verschiedene Trockensteherbehandlungen vorgenommen. Die Versuchsviertel wurden mit einer Kombination aus Orbenin[®] extra und OrbeSeal[®] und die Kontrollviertel nur mit Orbenin[®] extra behandelt wurden.

Es dienten im Wechsel von Haltingruppe zu Haltingruppe das vordere rechte und hintere linke Viertel sowie das vordere linke und hintere rechte Viertel der Tiere als Versuchsviertel (OrbeSeal[®] + Orbenin[®] extra). Die jeweils anderen Viertel stellten entsprechend die Kontrollviertel (Orbenin[®] extra) dar.

Es ergaben sich zwei unterschiedliche Behandlungspläne, welche dann für zwei Tiergruppen durchgeführt wurden (Tabelle 6).

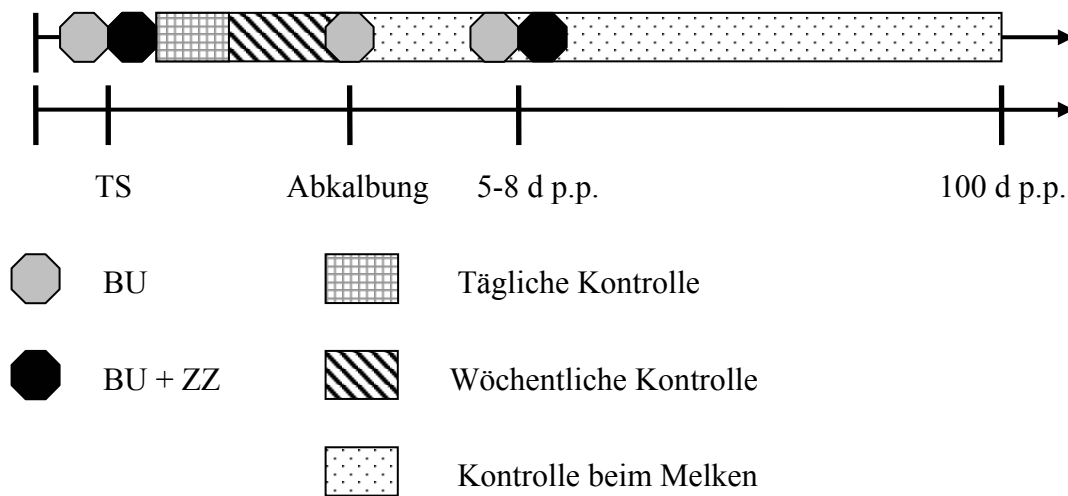
Tabelle 6: Behandlungspläne für die Studientiere

Gruppe	Viertel/ Behandlung			
	VL	HL	HR	VR
1 (n = 180 Tiere)	A ¹	B	A	B
2 (n = 179 Tiere)	B ²	A	B	A

¹ Behandlung A (Versuchsviertel): Orbenin[®] extra und OrbeSeal[®],

² Behandlung B (Kontrollviertel): Orbenin[®] extra

3.2.7 Milchprobenentnahme und weitere Untersuchungen



p.p. post partum
BU bakteriologische Untersuchung
ZZ Zellzahl
TS Trockenstellen

Abbildung 3: Untersuchungs- und Probenentnahmeschema im Studienteil A

Vor dem Trockenstellen wurden zwei Milchproben zur gleichen Melkzeit an zwei aufeinander folgenden Tagen gewonnen. Beide Proben wurden bakteriologisch untersucht (siehe 3.5). Bei der Milchprobe am Tag des Trockenstellens wurde zusätzlich die somatische Zellzahl (siehe 3.5) bestimmt. Am Tage der Abkalkung entnahm das Melkpersonal des Betriebes eine weitere Probe vor dem ersten Melken der Tiere. Fünf bis acht Tage nach der Abkalkung erfolgte wieder eine doppelte Beprobung, diesmal an zwei aufeinander folgenden Melkzeiten eines Tages. Alle Milchprobenentnahmen wurden nach den vom National Mastitis Council (1990) in den „Procedures for Collecting Milk Samples“ niedergelegten Vorgaben durchgeführt. Das Euter wurde hierbei mit einem feuchten Eutertuch gereinigt. Danach wurden die Zitzen mit einem in 70 % Ethylalkohol getränktem Zellstofftuch desinfiziert. Die Milchproben wurden mit Bohrsäure konserviert, bei 4°C gelagert und nach spätestens drei Tagen zur zytobakteriologischen Untersuchung in das Staatliche Veterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt des Landes Brandenburg in Potsdam verbracht und dort untersucht (siehe 3.5).

Vor der Injektion der Medikamente wurden die Zitzen und insbesondere die Zitzenkuppe gereinigt und mit einem in 70 % Ethylalkohol getränktem Zellstofftuch desinfiziert. Die Injektionen wurden dann nach dem oben beschriebenen Behandlungsplan (Tabelle 6) durchgeführt.

Während der Trockenstehphase wurden die Euter in den ersten sieben Tagen nach dem Trockenstellen täglich und danach in wöchentlichen Abständen auf Anzeichen akuter Euterentzündungen untersucht. Die Untersuchung des Drüsengewebes und der Zitzen zum Beginn der Studie, in wöchentlichen Abständen während der Trockenstehphase als auch fünf bis acht Tage nach der Abkalbung wurden durch Mitarbeiter der Arbeitsgruppe Bestandsbetreuung vorgenommen. Im Rahmen der täglichen Kontrolle wurde zusätzlich das Abfließen von Milch viertelspezifisch und die Anzahl der Liegeboxen mit abgelaufener Milch erfasst. Nach der Abkalbung wurde das Milchsekret beim Vormelken der Tiere einer Sinnesprüfung durch das Melkpersonal unterzogen. Diese Sinnesprüfung erfolgte dann auch bei jeder Melkzeit im gesamten Beobachtungszeitraum (bis 100 Tage p.p.). Die bei diesen Untersuchungen klinisch auffälligen Tiere wurden den Bestandstierärzten vorgestellt und nach Entnahme einer Viertelgemelksprobe nach deren Anweisungen behandelt.

Die Versuchstiere unterlagen wie die anderen Tiere des Betriebes der monatlichen Milchleistungsprüfung (MLP) durch den Landeskontrollverband (LKV) Brandenburg (Milchmenge, Fett %, Eiweiß %, Zellzahl).

3.2.8 Versuchsplan

Die Tabelle 7 enthält einen Versuchsplan, in dem die gesamten vorgenommenen Untersuchungen, Milchprobenentnahmen und Behandlungen während des Versuchszeitraum dargestellt sind.

Tabelle 7: Versuchsplan

Zeitpunkt	Maßnahmen
24 h vor dem Trockenstellen	Milchprobenentnahme (zur bakteriologischen Untersuchung) sowie eine klinische Untersuchung des Drüsengewebes, der Zitzen und der Zitzenkuppe.
Tag des Trockenstellens	Milchprobenentnahme (zur zytobakteriologischen Untersuchung) und Applikation der Medikamente.
In den ersten sieben Tagen nach dem Trockenstellen	Tägliche Kontrolle auf adspektorisch sichtbare Anzeichen einer Euterentzündung, viertelspezifische Dokumentation des unkontrollierten Milchablaufens und Dokumentation der Liegeboxenanzahl mit abgelaufener Milch.
In wöchentlichen Abständen vom Tag des Trockenstellens bis zum Tag der Abkalbung	Kontrolle auf adspektorisch und palpatorisch sichtbare Anzeichen einer Euterentzündung sowie die klinische Untersuchung des Drüsengewebes, der Zitzen, und der Zitzenkuppe.
Tag der Abkalbung	Milchprobenentnahme (zur bakteriologischen Untersuchung) und Prüfung des Vorgemelkes durch das betriebsinterne Melkpersonal.
Fünf bis acht Tage nach der Abkalbung	Zwei Milchprobenentnahmen an zwei aufeinander folgenden Melkzeiten an einem Tag (zur zytobakteriologischen Untersuchung) sowie die klinische Untersuchung des Drüsengewebes, der Zitzen und der Zitzenkuppe.
Tag der Abkalbung bis 100 Tage nach der Abkalbung	Prüfung des Vorgemelkes durch das betriebsinterne Melkpersonal. Bei Abweichungen wurden die Tiere dem Bestandstierarzt vorgestellt, eine Viertelgemelksprobe (bakteriologischen Untersuchung) entnommen und eine Behandlung eingeleitet.

3.3 Studienteil B: Vergleich der Wirksamkeit von OrbeSeal® in Kombination mit einem konventionellen Trockensteller gegenüber einer alleinigen OrbeSeal® Behandlung und einem viertelindividuellen Trockenstellen, auf der Basis des Ergebnisses im California-Mastitis-Test

3.3.1 Versuchsaufbau

Die Studie wurde in einer Milchviehanlage mit etwa 900 in mehreren Tiergruppen gehaltenen Kühen durchgeführt. Es wurden 323 Kühe in den Versuch aufgenommen, von diesen erfüllten 301 sämtliche Aufnahmebedingungen und erhielten den Status Studientier.

3.3.2 Studienbetrieb

Die Untersuchungen wurden in einer kommerziellen Milchviehanlage durchgeführt. Die Anlage hatte zum Zeitpunkt der Studie etwa 900 Kühe mit einer durchschnittlichen Milchleistung von 10.300 kg mit 3,8 % Fett und 3,3 % Eiweiß. Bei den Studientieren handelte es sich um laktierende Rinder der Rasse Holstein Friesian am Ende der Laktation.

Die Kühe wurden in einem Liegeboxenlaufstall mit Hochboxen in Gruppen zu etwa 60 Tieren gehalten. Die Hochboxen wurden bei jeder Melkzeit gereinigt und mit Kalk eingestreut. Das Melken erfolgte vor dem Trockenstellen und nach der Abkalbung dreimal täglich auf einem 28 Tiere fassenden Karussell der Firma Westfalia®.

Nach dem Trockenstellen wurden die Tiere etwa 21 Tage lang im Liegeboxenlaufstall gehalten und danach in einen mit Stroh eingestreuten Tretmiststall umgestallt.

Vor der Abkalbung wurden die Tiere in eine mit Stroh eingestreute Abkalbebuchte umgestellt, in der sie auch nach der Abkalbung für etwa drei bis fünf Tage verblieben. In der Folge fand die Haltung wieder in dem oben beschriebenen Liegeboxenlaufstall statt.

Die Fütterung erfolgte als totale Mischration (TMR) ad libitum. Außerdem hatten die Tiere freien Zugang zur Tränke.

3.3.3 Allgemeine Aufnahmebedingungen für das Tier

Die in die Studie aufgenommenen Tiere durften zum Zeitpunkt des Trockenstellens keine Störungen des Allgemeinbefindens, keine Anzeichen einer klinischen Euterentzündung und einen Zellzahlgehalt von weniger als 200.000 Zellen pro ml im arithmetischem Mittel der letzten drei Milchleistungsprüfungen aufweisen. Außerdem mussten alle vier Viertel laktierend sein, und es durften keine Abnormalitäten der Zitzen (Zitzenverletzungen, Milchfisteln, Pseudomilchfisteln) vorhanden sein.

3.3.4 Spezielle Aufnahmebedingungen

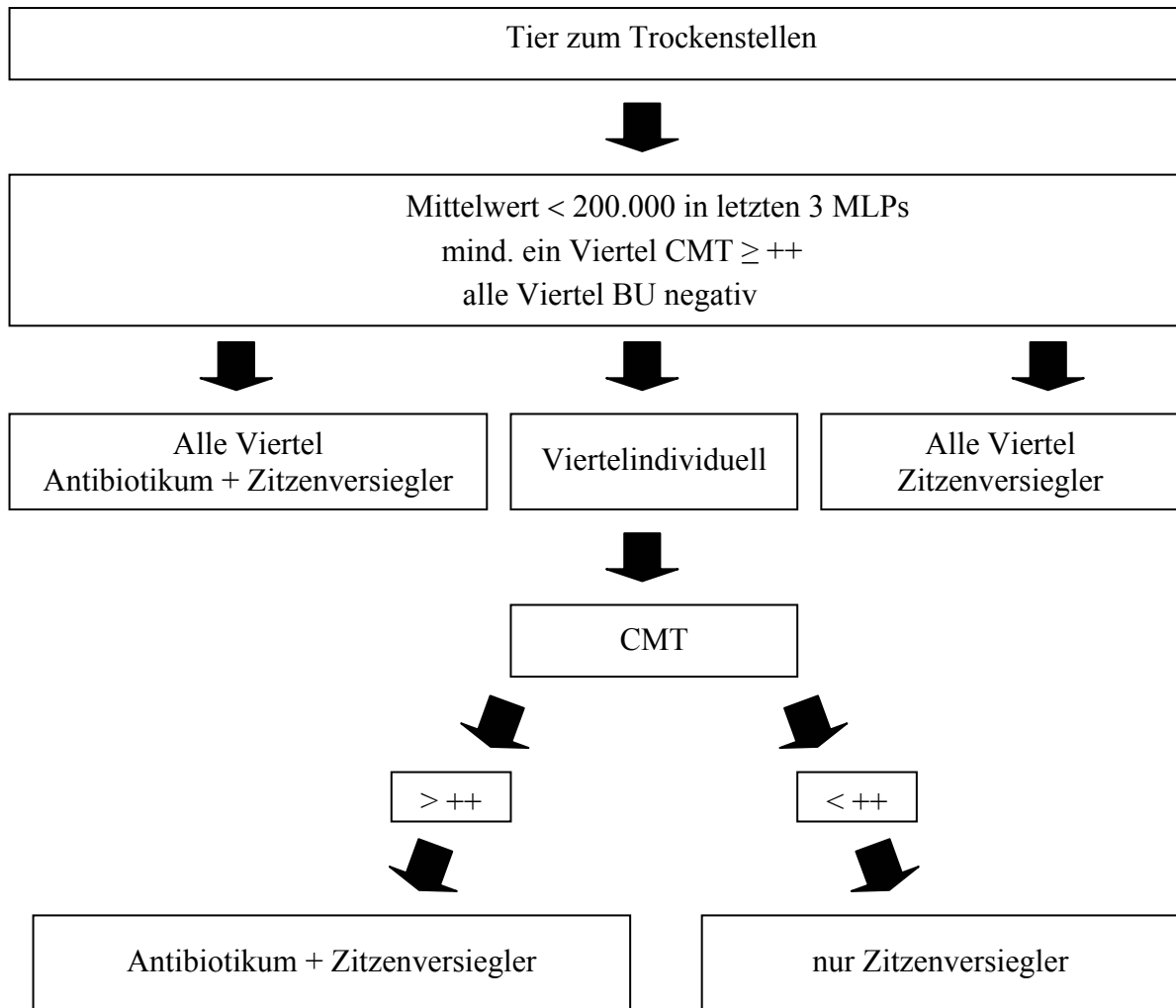
Neben den allgemeinen Aufnahmebedingungen mussten die Tiere mindestens zwei eutergesunde Viertel und mindestens ein Viertel mit einer subklinischen Euterinfektion aufweisen. Um als gesundes Euterviertel eingestuft zu werden, mussten sie ein Ergebnis von weniger als zweifach positiv im California-Mastitis-Test (entspricht < 600.000 Zellen/ml) haben und durften keinen Nachweis eines Mastitiserregers in den beiden bakteriologischen Untersuchungen vor dem Trockenstellen erbringen. Eine subklinische Euterinfektion lag dann vor, wenn ein Viertel im California-Mastitis-Test ein Ergebnis von mindestens zweifach positiv (entspricht ≥ 600.000 Zellen pro ml) aufwies und bakteriologisch kein Mastitiserreger feststellbar war.

3.3.5 Identifizierung der Tiere

Die Tiere wurden anhand der zehnstelligen Ohrmarkennummer identifiziert.

3.3.6 Behandlungsregime und Randomisierung

Die in den Versuch aufgenommenen Tiere wurden nach dem Zufallsprinzip in eine der drei Behandlungsgruppen (A, B, C) zugeteilt. Die Tiere der Behandlungsgruppe A erhielten auf allen vier Vierteln einen Euterinjektor mit Antibiotikum (Orbenin[®] extra) und einen Injektor des internen Zitzenversieglers (OrbeSeal[®]). Tiere in der Behandlungsgruppe B erhielten auf allen Vierteln nur einen Euterinjektor mit dem internen Zitzenversiegler (OrbeSeal[®]), während Tiere der Behandlungsgruppe C viertelindividuell nach Ergebnis des California-Mastitis-Testes behandelt wurden. Dies bedeutete, dass Viertel mit einem positiven ($\geq ++$) CMT-Test mit einem Injektor Antibiotikum (Orbenin[®] extra) und einem Injektor des internen Zitzenversieglers (OrbeSeal[®]) behandelt wurden, während die als gesund eingestuften Euterviertel (CMT-Test $< ++$) nur mit einem Injektor des internen Zitzenversieglers behandelt wurden.

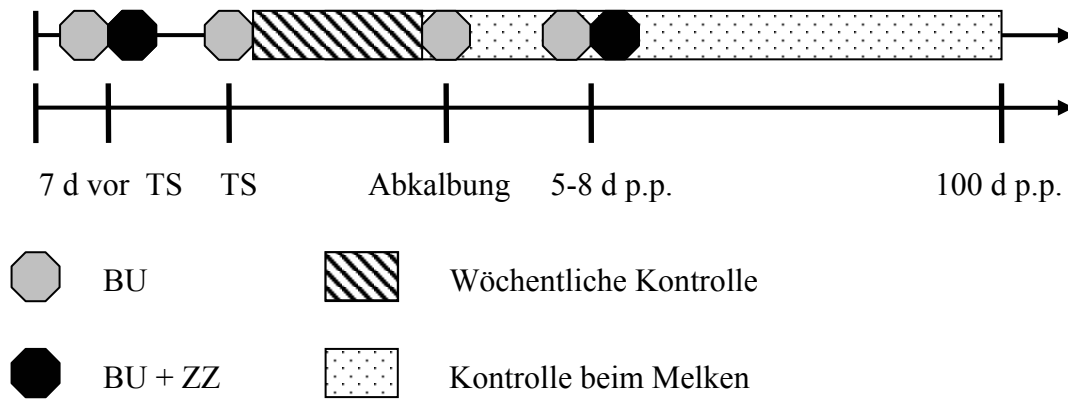


CMT = California-Mastitis-Test
MLP = Milchleistungsprüfung

BU = bakteriologische Untersuchung

Abbildung 4: Behandlungsschema im Studienteil B

3.3.7 Milchprobenentnahme



p.p. post partum

BU bakteriologische Untersuchung

ZZ Zellzahl

TS Trockenstellen

Abbildung 5: Untersuchungs- und Probenentnahmeschema im Studienteil B

Eine Woche vor dem Trockenstellen wurden zwei Milchproben an zwei aufeinander folgenden Melkzeiten gewonnen. Bei beiden Proben erfolgte eine bakteriologische Untersuchung (siehe 3.5), während bei nur je einer Probe zusätzlich die somatische Zellzahl bestimmt wurde. Unmittelbar vor dem Trockenstellen wurde eine weitere Milchprobe zur bakteriologischen Untersuchung entnommen, um mögliche Infektionen, die während der einen Woche bis zum Trockenstellen stattgefunden hatten, retrospektiv feststellen zu können. Diese Probe hatte jedoch keinen Einfluss mehr auf die Behandlung. Am Tage der Abkalbung entnahm das Melkpersonal des Betriebes eine weitere Probe vor dem ersten Melken der Tiere. Am Tag sieben bis vierzehn nach der Abkalbung erfolgte wieder eine doppelte Beprobung an zwei aufeinander folgenden Melkzeiten.

Alle Milchprobenentnahmen richteten sich nach den vom National Mastitis Council (1990) in den „Procedures for Collecting Milk Samples“ niedergelegten Vorgaben. Die Vorreinigung der Euter erfolgte hierbei mit einem feuchten Eutertuch, danach wurden die Zitzen mit einem in 70 % Ethylalkohol getränkten Zellstofftuch desinfiziert. Die Milchproben wurden mit Bohrsäure konserviert, bei 4°C gelagert und nach spätestens drei Tagen zur bakteriologischen und zytologischen Untersuchung in das Staatliche Veterinär- und

Lebensmitteluntersuchungsamt des Landes Brandenburg in Potsdam verbracht und untersucht (siehe 3.5).

Während der Trockenstehphase wurden die Euter täglich vom Melkpersonal des Betriebes und in wöchentlichen Abständen durch Mitarbeiter der Arbeitsgruppe Bestandsbetreuung auf Anzeichen akuter Entzündungen des Euters untersucht. Es erfolgte eine Untersuchung des Drüsengewebes, der Zitzen und Zitzenkuppe zum Beginn der Studie, in wöchentlichen Abständen während der Trockenstehphase und sieben bis vierzehn Tage nach der Abkalbung. Nach der Abkalbung wurde das Milchsekret beim Vormelken der Tiere einer Sinnesprüfung durch das Melkpersonal unterzogen. Diese Sinnesprüfung erfolgte auch bei jeder Melkzeit im gesamten Untersuchungszeitraum (bis 100 Tage p.p.). Klinisch auffällige Tiere wurden dem Bestandstierarzt vorgestellt und nach Entnahme einer Viertelgemelksprobe nach dessen Anweisungen behandelt.

Die Versuchstiere unterlagen wie die anderen Tiere des Betriebes der monatlichen Milchleistungsprüfung durch den LKV Brandenburg (Milchmenge, Fett %, Eiweiß %, Zellzahl).

3.3.8 Versuchsplan

Die Tabelle 8 enthält einen Versuchsplan in den alle im Versuchszeitraum vorgenommenen Untersuchungen, Probenentnahmen und Behandlungen dargestellt sind.

Tabelle 8: Versuchsplan

Zeitpunkt	Maßnahmen
Eine Woche vor dem Trockenstellen	Zwei Milchprobenentnahmen an zwei aufeinander folgenden Melkzeiten (zur bakteriologischen und zytologischen Untersuchung), eine klinische Untersuchung des Drüsengewebes, der Zitzen, der Zitzenkuppen sowie Durchführung eines California-Mastitis-Testes.
Tag des Trockenstellens	Milchprobenentnahme (zur bakteriologischen Untersuchung) und Applikation der notwendigen Medikamente.
In wöchentlichen Abständen vom Tag des Trockenstellens bis zum Tag der Abkalbung	Kontrolle auf adspektorisch und palpatorisch sichtbare Anzeichen einer Euterentzündung sowie klinische Untersuchung des Drüsengewebes, der Zitze und der Zitzenkuppe.
Tag der Abkalbung	Milchprobenentnahme (zur bakteriologischen Untersuchung) durch das betriebsinterne Melkpersonal sowie die Prüfung des Vorgemelksekretes.
7 bis 14 Tage nach der Abkalbung	Zwei Milchprobenentnahmen an zwei aufeinander folgenden Melkzeiten (zur bakteriologischen und zytologischen Untersuchung) sowie eine klinische Untersuchung des Drüsengewebes, der Zitzen und der Zitzenkuppe.
Tag der Abkalbung bis 100 Tage nach der Abkalbung	Prüfung des Vorgemelkes durch das betriebsinterne Melkpersonal, bei Abweichungen wurden die Tiere dem Bestandstierarzt vorgestellt und nach Entnahme einer Viertelgemelksprobe (bakteriologischen Untersuchung) behandelt.

3.4 Klinische Untersuchung von Euter und Zitzen

3.4.1 Befundschlüssel zur klinischen Untersuchung des Euters

Zur Erfassung der Ergebnisse der klinischen Untersuchung des Euters wurde der in Tabelle 9 gezeigte Befundschlüssel verwendet.

Tabelle 9: Befundschlüssel zur klinischen Untersuchung des Euters (nach Grunert 1990)

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	Grobknotig mit einzelnen diffusen Verhärtungen
5	Insgesamt diffus verhärtet
6	Akut geschwollen, vermehrt warm, schmerzhaft
7	Euterödem
8	Atrophie des Gewebes
9	Pralles Euterviertel

Die Auswertung des Euterschlüssels erfolgte modifiziert nach Boddie et al (1998). Befundschlüssel 0 entspricht einem klinisch gesunden Euter. Die Abweichungen vom Normalzustand werden bis zu Befund 6 mit dem Ansteigen des Befundschlüssels stärker.

3.4.2 Befundschlüssel zur klinischen Untersuchung der Zitzen

Zur Erfassung der Ergebnisse der klinischen Untersuchung der Zitzen wurde der in Tabelle 10 gezeigte Befundschlüssel zur Beschreibung des Zustandes der Strichkanalöffnung verwendet.

Tabelle 10: Beschaffenheit der Zitze und der Strichkanalöffnung

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

3.5 Datenerfassung

Die Dateneingabe und die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm SPSS[®] (Version 12.0, SPSS Inc. München).

3.6 Bakteriologische und Zellgehaltsbestimmung der Milchproben

Die mikrobiologischen Untersuchungen und Zellzahlbestimmungen wurden vom Staatlichen Veterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt des Landes Brandenburg in Potsdam unter Leitung von Herrn Dr. Baumgärtner durchgeführt. Die Zellzahlbestimmung erfolgte mit der Fossomatic, Foss-Elektrik, Hamburg.

Sämtliche Milchproben wurden auf hemmstofffreien 6 % Blutagar (Nährboden 1) und Neomycin-Staphylococcentoxin – Aesculin – Blutagar (Nährboden 2) angelegt. Nährboden 1 war Basismedium für die Anzüchtung von Staphylokokken (S.), Arcanobacterium pyogenes (A.p.), E. coli (E.c.), coliforme Keime (c. K.) und Nocardien (N). Andere Erreger wuchsen zum Teil auch, waren aber schlecht erkennbar bzw. mussten auf Selektivnährmedien subkultiviert werden. Die Grobzuordnung der Erreger erfolgte unter anderem durch Beurteilung der Koloniemorphologie, -farbe, Hämolysevermögen und das Verhalten in der Gramfärbung.

Speziesdifferenzierungen erfolgten durch biochemische Untersuchungen (E.c, c.K.), Koagulasetest (S.), Stamp-Färbung, Sedimentausstrich (N) bzw. dem biochemischen Leistungsvermögen des Stammes. Verdächtige Kolonien (z. B. Hefen, Prototheken) wurden auf Spezialnährböden subkultiviert und bestimmt. Nährboden 2 diente der Schnelldiagnostik

von *Streptococcus* spp. unter Berücksichtigung des CAMP-Phänomens, des Hämolyseverhaltens und des Aesculin-Spaltungsvermögens.

Eine weitere Differenzierung wurde über serologische Verfahren, wie den Latextest, vorgenommen. Die Untersuchungsmethoden orientierten sich an den Leitlinien zur Isolierung und Identifizierung von Mastitiserregern, DVG, Gießen, März 2000 und dem Laboratory and Field Handbook on Bovine Mastitis, National Mastitis Council, 1987, USA. Das gesamte Untersuchungslabor ist EU akkreditiert (Aks-P-11202-EU).

3.7 Probennahme und Bewertung der Befunde der bakteriologischen Untersuchung

Die Ergebnisse der beiden bakteriologischen Untersuchungen wurden wie folgt zu einem Befund zusammengefasst:

- Bei identischem Befund bei beiden aufeinander folgenden Tagen entsprach der Befund den beiden Einzelergebnissen.
- Bei negativem bakteriologischem Befund an einem Tag und Nachweis eines euterpathogenen Keimes am zweiten Tag der Probenentnahme wurde eine Infektion mit dem Keim in dem betroffenen Viertel angenommen.
- Bei bakteriologischem Nachweis eines major pathogen und eines minor pathogen in den beiden Milchproben, wurde eine Infektion mit dem major pathogen auf dem betroffenen Viertel angenommen.
- Bei Nachweis zweier major pathogens wurde von einer Mischinfektion ausgegangen.

3.8 Kriterien zur Beurteilung der Wirksamkeit der verschiedenen Trockensteherbehandlungen

Als Bewertungskriterien für die klinische Wirksamkeit der durchgeführten Maßnahmen zum Zeitpunkt des Trockenstellens wurden die Häufigkeit des Auftretens klinischer Mastitiden in der Trockenstehphase und in den ersten 100 Tagen nach der Abkalbung herangezogen. Auch die Entwicklung von Euterinfektionen während des Trockenstehens und die Entwicklung des Zellgehaltes in der Laktation dienten als Beurteilungskriterien.

3.9 Statistische Auswertung

Das Signifikanzniveau wurde bei allen Tests mit $\alpha = 0,05$ festgesetzt.

Die Zellzahlen wurden logarithmiert, um eine Normalverteilung zu erreichen. Danach wurden sie mit dem Student t-Test verglichen.

Die Inzidenz¹ klinischer Mastitiden, intramammärer Neuinfektionen, der Infektionsprävalenzen², die Anteile der Zellzahlen in den Viertelgemelksproben an verschiedenen Zellzahlklassen und die Anteile der klinischen Befunde von Milchdrüse, Zitzenhaut sowie Zitzenkuppe wurden in dem Studienteil B mit Hilfe des Chi-quadrat Testes verglichen.

Die Ergebnisse des Chi-quadrat Testes sind im explorativen Sinne zu interpretieren und nicht ohne weiteres zu verallgemeinern.

Die Berechnung der bakteriologischen Heilungsraten und der Neuinfektionsraten erfolgte für drei Zeiträume. Bei diesen handelte es sich um die Zeitspanne vom Trockenstellen bis zur Abkalbung, vom Trockenstellen bis zum Zeitpunkt ein bis zwei Wochen nach der Abkalbung und von der Abkalbung bis zum Zeitpunkt ein bis zwei Wochen nach der Abkalbung.

Eine Neuinfektion eines Euterviertels lag dann vor, wenn ein Erreger zum Ende des Berechnungszeitraumes nachgewiesen wurde, der zum Ausgangszeitpunkt nicht nachweisbar war. Dies geschah auch, wenn zum Ausgangszeitpunkt ein anderer Erreger nachgewiesen wurde.

Dagegen lag eine bakteriologische Heilung eines Euterviertels dann vor, wenn ein Erreger, der zum Ausgangspunkt des Berechnungszeitraumes nachgewiesen wurde, in der Untersuchung zum Endzeitpunkt nicht nachweisbar war. Diese Wertung war unabhängig davon, ob zum Endzeitpunkt ein anderer Erreger nachweisbar war als in der Ausgangsuntersuchung.

Die Unterschiede in der Wahrscheinlichkeit einer Neuinfektion wurden mit Hilfe des Odds Ratio berechnet. Diese Berechnungsweise der Wahrscheinlichkeitsunterschiede wurde gewählt, um eine Vergleichbarkeit dieser Werte mit denen in der Studie von Godden et al. (2003) zu erreichen.

Es wurden jeweils die Differenzen der Befunde zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt zu den Befunden bei der Aufnahmeuntersuchung berechnet, um einen Vergleich dieser zwischen den Versuchsgruppen zu erreichen. Hinsichtlich der Zellgehalte wurde zunächst die Differenz des Wertes am Untersuchungszeitpunkt zum Wert bei der Aufnahmeuntersuchung berechnet. Die Ergebnisse wurden logarithmiert und in einem Boxplotdiagramm dargestellt.

¹ Anzahl der Neuerkrankungsfälle (Neuinfektionen) innerhalb eines bestimmten Zeitraums

² Relative Häufigkeit einer Infektion zum Untersuchungszeitpunkt