

3 Material und Methoden

3.1 Studienteil I: Einfluss des Vordippens mit einem jodhaltigen Dippmittel auf den Jodgehalt des Gemelkes

In diesem Untersuchungsteil wurde der Einfluss des Vordippens mit einem jodhaltigen Präparat auf die Entwicklung des Jodgehaltes der Milch von Kühen untersucht.

Bei dieser Untersuchung handelte es sich um eine negativ kontrollierte Studie, die in der Tierklinik für Fortpflanzung, Königsweg 63, 14163 Berlin durchgeführt wurde.

3.1.1 Dippmittel

Bei dieser Studie wurde das schaumbildende Dippmittel P3-cide[®] foam (Henkel Hygiene GmbH, Düsseldorf) angewendet. Als Wirkstoffkomponente enthält es 2700 mg/l Polyvinylpyrrolidon – Jod.

3.1.2 Versuchsanordnung

Vor Versuchsbeginn wurden die Euter der Tiere klinisch untersucht und das Allgemeinbefinden beurteilt. Der Zustand des Drüsengewebes, der Haut und der Zitzen wurde dokumentiert (siehe Anhang 1). In die Studie wurden nur Tiere aufgenommen, die folgende Einschlusskriterien erfüllten.

- Ungestörtes Allgemeinbefinden
- Milchsekret auf allen Eutervierteln grobsinnlich ohne besonderen Befund
- Weniger als 400.000 Zellen pro ml Milch (Anfangsviertelgemelk)
- Milchmenge mindestens 10 kg pro Tag

9 laktierende Kühe wurden an 12 aufeinanderfolgenden Tagen täglich wechselnd mit einem schaumbildenden jodhaltigen Dippmittel vorgedippt und konventionell vorgereinigt (feuchte Reinigung mit Einmaltuch). Dabei waren die Behandlungen am Morgen und am Nachmittag desselben Tages jeweils gleich. Die Einwirkzeit des Dippmittels betrug 20 Sekunden. Zu jeder Melkzeit wurden von der ermolkenen 50 ml gewonnen und auf ihren Jodgehalt untersucht. Die Tiere dienten so als ihre eigene Negativkontrolle. Für die Untersuchung des Jodgehaltes in der Milch standen somit 216 Milchproben (108 Versuchs- und 108 Kontrollproben) zur Verfügung.

3.1.3 Methode zur Bestimmung des Jodgehaltes des Gemelksproben

Die Milchproben wurden nach der Probennahme bei -20°C tiefgefroren und gelagert und vor der Messung auf Zimmertemperatur erwärmt. Der Jodgehalt der Milch wurde im klinisch - chemischen Labor der Tierklinik für Fortpflanzung (FU Berlin) mit der ionenselektiven Sonde ph340 – Ion bestimmt (Weilheim, WTW). 50 ml Probenmaterial wurden dazu in einen 100 ml Meßkolben pipettiert und mit 2 ml Probenkonditionierlösung (5 M NaNO_3) gemischt. Der Kolben wurde bis zur Eichmarke von 50 ml mit entionisiertem Wasser aufgefüllt. Das Messen des Jodgehaltes erfolgte nach Kalibrierung des Gerätes bei konstanter Temperatur (Zimmertemperatur) unter ständigem Rühren mit konstanter Rührgeschwindigkeit mit einem elektrischen Schüttler.

3.1.4 Datenerfassung

Von den Tieren wurden im Versuchszeitraum Milchleistung beim Morgen- und Abendmelk sowie das klinische Allgemeinbefinden dokumentiert. Alle erhobene Daten wurden in einer SPSS[®]-Tabelle, (SPSS[®] 10.0 Inc., München) erfasst.

3.2 Studienteil II: Untersuchungen zur klinischen Wirksamkeit eines jodhaltigen Dippmittels in zwei unterschiedlichen Applikationsarten in der Prophylaxe von Mastitiden bei laktierenden Milchkühen

Im Studienteil II wurde die Auswirkung verschiedener Applikationsarten (manuell mit dem Non-return-Becher und die automatische Applikation mit dem Sprühbalken) eines Dippmittels auf die Häufigkeit von Euterinfektionen, klinischen Mastitiden und den Zellgehalt des Gemelkes geprüft. In einer Feldstudie wurden bei Kühen im ersten Drittel der Laktation 100 Tage zwei verschiedene Applikationsarten des gleichen jodhaltigen Dippmittels angewendet.

3.2.1 Versuchsbetrieb

Die Untersuchungen wurden in einem Milchviehbetrieb in Brandenburg mit ca. 3000 Kühen der Rasse Deutsche Schwarzbunte durchgeführt. Die durchschnittliche Milchleistung der Herde des Milchviehbetriebes betrug zum Zeitpunkt der Untersuchung ca. 7000 kg bei 4,2% Fett und 3,4% Eiweiß. Ihr Futter erhielten die Tiere als Grundfuttermischung mit leistungsbezogener transpondergestützter Kraftfutterzulage.

Zur Zeit des Studienteils II blieben die frisch abgekalbten Kühe für etwa 5 Tage in Anbindehaltung (Halsfangrahmen, Gitterrostkurzstand) und wurden danach in die Herde integriert. Die Tiere in der Anbindung wurden mit einer Rohrmelkanlage gemolken (zweimal täglich in 12stündigem Abstand). Zur Melkhygiene gehörten das Reinigen der Zitzen und ggf. des gesamten Euters mit feuchten Tüchern, die nach jeder Kuh gewechselt wurden. Die Reinigung der Tücher erfolgte durch Einlegen in eine 0,025%ige Peressigsäurelösung und anschließendes Spülen und Schleudern. Nach automatischer Abnahme der Melkzeuge fand eine Desinfektion der Zitzengummis mit Peressigsäurelösung (0,025%) statt. Das Vorgemelk wurde jeweils grobsinnlich durch das Melkpersonal geprüft. Kontrollen der Melkanlage wurden routinemäßig durchgeführt. Die Milchkontrolle oblag dem Landeskontrollverband Brandenburg, Waldsiedersdorf. Die tierärztliche Betreuung wurde von zwei niedergelassenen Tierärzten durchgeführt.

3.2.2 Studientiere

Als Versuchstiere dienten laktierende Rinder zwischen ca. dem 6. und 150. Tag der Laktation. Die Identifizierung der Studientiere erfolgte anhand ihrer zehnstelligen Ohrmarkennummer. Die Kühe wurden ab dem sechsten Tag der Laktation zu Haltungsgruppen von etwa 60 Tieren in Liegeboxenlaufställen (einstreuloser Haltung mit Gummimatten, Spaltenboden) zusammengestellt und auf einem Karussell mit 60 Plätzen (Impulsa[®]) dreimal täglich gemolken. Bei einer Frequenz von ca. 240 Abkalbungen pro Monat wurde wöchentlich eine neue Tiergruppe gebildet, welche als Versuchs- oder Kontrollgruppe in den Versuch integriert wurde. Um den 120. Tag der Laktation, den Zeitpunkt der Neusortierung der Tiergruppen entsprechend ihrem Reproduktionsstatus, wurde der Versuch beendet.

3.2.3 Dippmittel

Bei diesem Versuch wurde das jodhaltige Dippmittel Gelstadip[®] forte (Pfizer GmbH, Karlsruhe) eingesetzt. Als wirksamen Bestandteil enthält dieses Präparat 26,33 Nonoxinol (9)-Jod-Komplex/ 100 ml Lösung. In der gebrauchsfertigen Lösung beträgt der Jodgehalt 4000 ppm. Als Hautpflegekomponente sind 3% Lanolin zugesetzt.

3.2.4 Versuchsanordnung

Alle im Aufnahmezeitraum abkalbenden Kühe wurden in Abhängigkeit von ihrer Haltungsgruppe der Versuchs- und der Kontrollgruppe zugeordnet. Die Zusammenstellung der Gruppen erfolgte in der Reihenfolge der Abkalbung. Tiere der Haltungsgruppe 68 und 71

waren Versuchstiere. Diese wurden nach jedem Melken durch den automatischen Sprühbalken mit jodhaltigem Dippmittel versorgt. Die Tiere der Gruppen 69 und 70 wurden Kontrolltiere. Sie wurden nach jedem Melkvorgang von Hand mit dem gleichen Dippmittel mit einem Handdippbecher durch das Melkpersonal behandelt. Der Kontrollgruppe wurden 137 Tiere/ 548 Viertel und der Versuchsgruppe 126 Tiere/504 Viertel zugeordnet. Alle im Aufnahmezeitraum abkalbenden Kühe wurden bei ihrer Zuordnung in die Gruppen einer klinischen Untersuchung unterzogen, um die Eutergesundheit zum Zeitpunkt des Versuchsbeginns zu erfassen. Die Befunde wurden dokumentiert (siehe Anhang 1). Desweiteren erfolgte eine zytologische Untersuchung und eine doppelte bakteriologische Untersuchung von an zwei aufeinanderfolgenden Tagen gewonnenen Viertelgemelksproben aller Studientiere.

3.2.5 Kontrollpunkte im Versuchszeitraum

Das Vorgemelk der Tiere wurde bei jedem Melkvorgang grobsinnlich vom Melkpersonal geprüft.

Klinisch auffällige Tiere wurden den Bestandstierärzten zur Untersuchung vorgestellt, nach deren Anweisung behandelt und in den Krankenstall umgestallt. Hier wurden alle Kühe nach dem Melken mit einem Dippbecher gedippt. Bei Tieren mit gestörter Milchsekretion wurde vor der Behandlung mit Antiinfektiva eine Milchprobe zur mikrobiologischen Untersuchung gewonnen. Von Tieren, die aus dem Krankenabteil der Herde in ihre Gruppe zurückkehrten, wurde am Tag der Umstellung Viertelgemelksproben zur bakteriologischen Untersuchung genommen. Alle Tiere der Studie wurden im etwa vierwöchigen Abstand einer adspektorischen und palpatorischen Untersuchung der Milchdrüse unterzogen. Die Versuchstiere unterlagen wie die anderen Tiere des Betriebes der monatlichen Milchleistungsprüfung durch den LKV Brandenburg, Waldsiedersdorf.

3.2.6 Versuchsende

Zum Versuchsende wurden wiederum die Anfangsviertelgemelke und das Euter klinisch untersucht (Tabelle 12).

3.2.7 Versuchsplan

In Tabelle 12 sind alle im Versuchszeitraum unternommenen Behandlungen und tierärztlichen Untersuchungen zusammengefasst.

Tabelle 12: Zeitliche Festlegung der Untersuchungen und Behandlungen

Zeitpunkt	Maßnahmen
Januar 00 (5 - 14 Tage p.p.)	Klinische Untersuchung 1 (Aufnahmeuntersuchung) <ul style="list-style-type: none"> - Adspektion und Palpation von Euter, -haut und Zitze - Doppelprobennahme der Anfangsviertelmelke zur bakteriologischen Untersuchung - Einzelprobennahme der Viertelmelke zur zytologischen Untersuchung Behandlungsbeginn <ul style="list-style-type: none"> Dippen der Zitzen in der Kontrollgruppe mit dem Handdippbecher und Besprühen der Zitzen in der Versuchsgruppe nach jedem Melken bis zum Versuchsende
Februar 00	Klinische Untersuchung 2 <ul style="list-style-type: none"> - Adspektion und Palpation von Euter, -haut und Zitze
März 00 und April 00	Klinische Untersuchung 3 und 4 <ul style="list-style-type: none"> - Adspektion und Palpation von Euter, -haut und Zitze
26.04.00 (etwa Tag 100 p.p.)	Klinische Untersuchung 5 (Abschlussuntersuchung) <ul style="list-style-type: none"> - Adspektion und Palpation von Euter, -haut und Zitze - Doppelprobennahme der Viertelmelke zur bakteriologischen Untersuchung - Einzelprobennahme der Viertelmelke zur zytologischen Untersuchung
Januar 00 bis April 00	<ul style="list-style-type: none"> - Dokumentation auftretender Erkrankungen (insbes. Mastitiden) und Entnahme von Viertelmelkproben für die bakteriologische Untersuchung beim Verlassen der Gruppe und bei der Rückkehr - Dokumentation der Milchleistungsprüfungsdaten - Dokumentation von Abgangsdaten und Ursachen

3.3 Studienteil III: Untersuchungen zur klinischen Wirksamkeit eines schaumbildenden Dippmittels bei Einsatz im Nachdippverfahren

Im dritten Studienteil wurde die klinische Wirksamkeit eines schaumbildenden jodhaltigen Dippmittels geprüft. Diese wurde in einer positiv kontrollierten Feldstudie im Vergleich eines konventionellen Dippmittels mit dem schaumbildenden Dippmittel bewertet.

3.3.1 Versuchsbetrieb

Der Versuchsbetrieb im dritten Studienteil war der schon für den zweiten Studienteil beschriebene Betrieb. Im diesem Studienteil wurden die Tiere zweimal täglich auf einem 40er Karussell (Impulsa[®] - Melktechnik) gemolken.

3.3.2 Studientiere

Als Versuchstiere im Studienabschnitt III dienten Tiere, die sich zwischen dem 120. und 200. Tag der Laktation befanden und auf dem 40er Melkarussell (Impulsa[®] - Melktechnik) gemolken wurden.

3.3.3 Dippmittel

Bei diesem Versuch wurde das schaumbildende Dippmittel P3-cide[®] foam (Henkel Hygiene GmbH, Düsseldorf) eingesetzt. Als wirksame Komponente enthält dieses Präparat 2700 mg/l Jod. In der Kontrollgruppe kam ein konventionelles Produkt auf Wasserbasis mit der gleichen Konzentration der desinfizierenden Komponente zum Einsatz (P3-cide[®] plus, Henkel Hygiene GmbH, Düsseldorf).

3.3.4 Versuchsanordnung

Alle Kühe wurden in Abhängigkeit von ihrer Haltungsgruppe der Versuchs- und Kontrollgruppe zugeordnet. Die Zusammenstellung der Gruppen erfolgte vor Versuchsbeginn in der Reihenfolge der Abkalbung. Tiere der Haltungsgruppen 71 und 74 waren Versuchstiere. Diese Tiere wurden nach jedem Melken mit dem schaumbildenden Dippmittel im Nachdippverfahren behandelt. Tiere der Gruppen 72 und 73 wurden Kontrolltiere. Diese Tiere wurden nach jedem Melken mit einem konventionellen jodhaltigen Dippmittel gedippt. Die Applikation des schaumbildenden Dippmittels erfolgte mit einem speziellen Dippbecher, der ein automatisches Aufschäumen des Dippmittels sicherstellte. Das konventionelle

Dippmittel wurde mit einem Non-Return-Becher auf die Zitze verbracht. Der Versuchsgruppe wurden 122 Tiere/ 488 Viertel zugeordnet. Die Kontrollgruppe bestand aus 121 Tieren/ 484 Vierteln.

3.3.5 Kontrollpunkte im Versuchszeitraum

Die Kontrollpunkte im Versuchszeitraum entsprachen denen im Studienteil II.

3.3.6 Aufnahmeuntersuchung

Alle Studientiere wurden bei ihrer Zuordnung in die Gruppen einer klinischen Untersuchung unterzogen, um die Eutergesundheit zum Zeitpunkt des Versuchsbeginns zu erfassen. Die Befunde wurden dokumentiert (siehe Anhang 1). Desweiteren erfolgte eine zytologische Untersuchung und eine doppelte bakteriologische Untersuchung von an zwei aufeinanderfolgenden Tagen gewonnenen Viertelgemelksproben aller Studientiere.

3.3.7 Zwischenuntersuchung und Versuchsende

Etwa 6 Wochen nach Versuchbeginn wurden alle Tiere in den Versuchsgruppen einer Zwischenuntersuchung unterzogen, welche alle Parameter der Aufnahmeuntersuchung enthielt. Zum Versuchsende wurden die Tiere wiederum klinisch untersucht. Auch diese Untersuchung entsprach der Aufnahmeuntersuchung.

3.3.8 Versuchsplan

In der folgenden Tabelle sind alle im Versuchszeitraum unternommen Behandlungen und tierärztlichen Untersuchungen zusammengefasst.

Tabelle 13: Zeitliche Festlegung der Untersuchungen und Behandlungen

Zeitpunkt	Maßnahmen
06./ 07.07.00	<p>Klinische Untersuchung 1 (Aufnahmeuntersuchung)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Adspektion und Palpation von Euter, -haut und Zitze - Doppelprobennahme der Viertelmelke zur bakteriologischen Untersuchung - Einzelprobennahme zur zytologischen Untersuchung <p>Behandlungsbeginn</p> <p>Dippen der Zitzen in der Kontrollgruppe mit dem konventionellen Dippmittel und mit dem Foam-Präparat in der Versuchsgruppe nach jedem Melken bis zum Versuchsende</p>
30.07.00	<p>Klinische Untersuchung 2</p> <ul style="list-style-type: none"> - Adspektion und Palpation von Euter, -haut und Zitze
24./25.08.00	<p>Klinische Untersuchung 3 (Zwischenuntersuchung)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Adspektion und Palpation von Euter, -haut und Zitze - Doppelprobennahme der Viertelmelke zur bakteriologischen Untersuchung - Einzelprobennahme der Viertelmelke zur zytologischen Untersuchung
18./19.09.00	<p>Klinische Untersuchung 4 (Abschlussuntersuchung)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Adspektion und Palpation von Euter, -haut und Zitze - Doppelprobennahme der Viertelmelke zur bakteriologischen Untersuchung - Einzelprobennahme der Viertelmelke zur zytologischen Untersuchung
Juli bis September 00	<ul style="list-style-type: none"> - Dokumentation auftretender Erkrankungen (insbes. Mastitiden) und Entnahme von Viertelmelkproben für die bakteriologische Untersuchung beim Verlassen der Gruppe und bei der Rückkehr in die Gruppe - Dokumentation der Milchleistungsprüfungsdaten - Dokumentation von Abgangsdaten und Ursachen

3.4 Studienteil IV: Untersuchungen zur klinischen Wirksamkeit eines Vordippverfahrens mit einem schaubildenden, jodhaltigen Zitzendippmittel

Im Studienteil IV wurde die klinische Wirksamkeit eines Zitzendippverfahrens vor dem Melken mit einem schaubildenden, jodhaltigen Zitzendippmittel geprüft. Die Untersuchung wurde in einer negativ kontrollierten Feldstudie als Split-Udder Studie durchgeführt.

3.4.1 Versuchsbetrieb

Die Untersuchung wurde in einem Milchviehbetrieb in Brandenburg mit ca. 350 Kühen der Rasse Deutsche Schwarzbunte durchgeführt. Die durchschnittliche Milchleistung der Herde des Milchviehbetriebes betrug zum Zeitpunkt der Untersuchung ca. 10 000 kg.

Ihr Futter erhielten die Tiere als totale Mischration (TMR) ad libitum. Die Tiere hatten freien Zugang zur Tränke.

Die Kühe dieses Betriebes wurden in den ersten beiden Laktationsdritteln dreimal täglich in einem 2 mal 10er Fischgrätenmelkstand (Impulsa[®] - Melktechnik) gemolken. Im letzten Laktationsabschnitt wurden die Tiere nur noch zweimal gemolken.

3.4.2 Studientiere

Als Versuchstiere dienten alle Tiere, die im Versuchsbetrieb den Haltungsgruppen 6 und 2 zugeordnet wurden. In dieser Tiergruppe befanden sich Tiere in den ersten zwei Dritteln der Laktation. Die Identifizierung der Studientiere erfolgte anhand ihrer zehnstelligen Ohrmarkennummer. Die Kühe wurden in Liegeboxenlaufställen (Hochboxen mit Stroheinstreu) in Gruppen zu etwa 100 Tieren gehalten.

3.4.3 Dippmittel

Bei diesem Versuch wurde das jodophore Dippmittel P3-cide[®] foam (Henkel Hygiene GmbH, Düsseldorf) zum Vordippen eingesetzt. Zum Nachdippen der Versuchs- und Kontrollviertel wurde P3-cide[®] plus verwendet.

3.4.4 Ermittlung der Einwirkzeit des Dippmittels

Ein sicheres Abtöten der Keime auf der Zitzenhaut ist bei Einwirkzeiten von mehr als 20 Sekunden gesichert.

An 33 Versuchstieren wurde die Zeit vom Dippen der Zitze bis zum Abwischen des Mittels gemessen, um die mittlere Einwirkzeit für die Untersuchungen zu demonstrieren.

3.4.5 Versuchsanordnung

Die rechte Euterhälfte der Studientiere wurde vor jedem Melken nach der Vorreinigung mit einem Einmaltuch durch das Melkpersonal mit dem schaumbildenden Präparat mittels eines Dippbechers von Hand gedippt. Nach einer Einwirkzeit von mindestens 20 s wurde es mit einem Einmaleutertuch von der Zitze abgewischt. Das Dippen erfolgte mit einem speziellen Dippbecher, der ein automatisches Aufschäumen des Dippmittels sicherstellte.

Die linke Euterhälfte wurde vor jedem Melken konventionell mit einem individuellen, feuchten Eutertuch und anschließend mit Einmaleuterpapier gereinigt. Nach dem Melken wurden alle Zitzen mit einer Sprühpistole mit dem jodophoren Dippmittel P3-cide[®] plus (Henkel Hygiene GmbH, Düsseldorf) besprüht.

Es wurden 262 Tiere bei der Aufnahmeuntersuchung in die Studie aufgenommen. Die Tierzahl war über den Versuchszeitraum nicht konstant. Alle abkalbenden Tiere, die der Haltungsgruppe 6 und 2 zugeordnet wurden, erhielten den Status „Studientier“. Außerdem wurden Tiere, die aus einem anderen Betriebsteil in die Haltungsgruppe 6 und 2 umgestellt wurden, in die Studie aufgenommen. Tiere, die zum Trockenstellen anstanden, wurden nach Entnahme von Viertelgemelksproben aus der Studiengruppe entlassen.

3.4.6 Kontrollpunkte im Versuchszeitraum

Das Vorgemelk der Tiere wurde bei jedem Melken vom Melkpersonal grobsinnlich geprüft. Klinisch auffällige Tiere wurden dem Bestandstierarzt zur Untersuchung vorgestellt, nach dessen Anweisung behandelt und in eine gesonderte Haltungsgruppe umgestellt. In dieser unterlagen die Zitzen der Tiere demselben Behandlungsregime wie dem in den Haltungsgruppen 2 und 6. Bei Tieren mit gestörter Milchsekretion wurde vor der Behandlung mit Antiinfektiva eine Milchprobe zur mikrobiologischen Untersuchung gewonnen.

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

3.4.7 Aufnahmeuntersuchung

Alle Versuchstiere wurden bei Beginn der Studie einer Untersuchung unterzogen, um die Eutergesundheit zum Zeitpunkt des Versuchsbeginns zu erfassen. Die Befunde wurden dokumentiert (siehe Anhang 1). Desweiteren erfolgte eine zytologische Untersuchung und

eine doppelte bakteriologische Untersuchung von an zwei aufeinanderfolgenden Melkzeiten gewonnenen Viertelgemelksproben aller Studientiere.

3.4.8 Zwischenuntersuchungen und Versuchsende

Die Studientiere wurden viermal in etwa vierwöchigen Abständen untersucht. Diese Untersuchungen umfassten alle Parameter der Aufnahmeuntersuchung. Die bakteriologische Untersuchung fand jedoch nur einmal statt.

3.4.9 Versuchsplan

In folgender Tabelle und Abbildung 1 sind alle im Versuchszeitraum unternommen Behandlungen und tierärztlichen Untersuchungen zusammengefasst.

Tabelle 14: Zeitliche Festlegung der Untersuchungen und Behandlungen

Zeitpunkt	Maßnahmen
22.05.01	<p>Klinische Untersuchung 1 (Aufnahmeuntersuchung)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Adspektion und Palpation von Euter, -haut und Zitze - Probennahme der Viertelmelke zur bakteriologischen Untersuchung zu zwei Melkzeiten (1 und 2, s. Abb. 1)) - Einzelprobennahme zur zytologischen Untersuchung <p>Behandlungsbeginn</p> <p>Vordippen der Versuchsviertel; konventionelle Reinigung der Kontrollviertel</p>
19.06.01	Klinische Untersuchung 2 - 4 (Zwischenuntersuchung 1 - 3)
17.07.01	- Adspektion und Palpation von Euter, -haut und Zitze
21.08.01	- Einzelprobenentnahme der Viertelmelke zur bakteriologischen und zytologischen Untersuchung (3,4,5, s.Abb.1)
04.09.01	<p>Klinische Untersuchung 5 (Abschlussuntersuchung)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Adspektion und Palpation von Euter, -haut und Zitze - Einzelprobenentnahme der Viertelmelke zur bakteriologischen Untersuchung und zur zytologischen Untersuchung (6, s. Abb.1)
Mai bis September 01	<ul style="list-style-type: none"> - Dokumentation auftretender Erkrankungen (insbes. Mastitiden) - Dokumentation der Milchleistungsprüfungsdaten - Dokumentation von Abgangsdaten und Ursachen

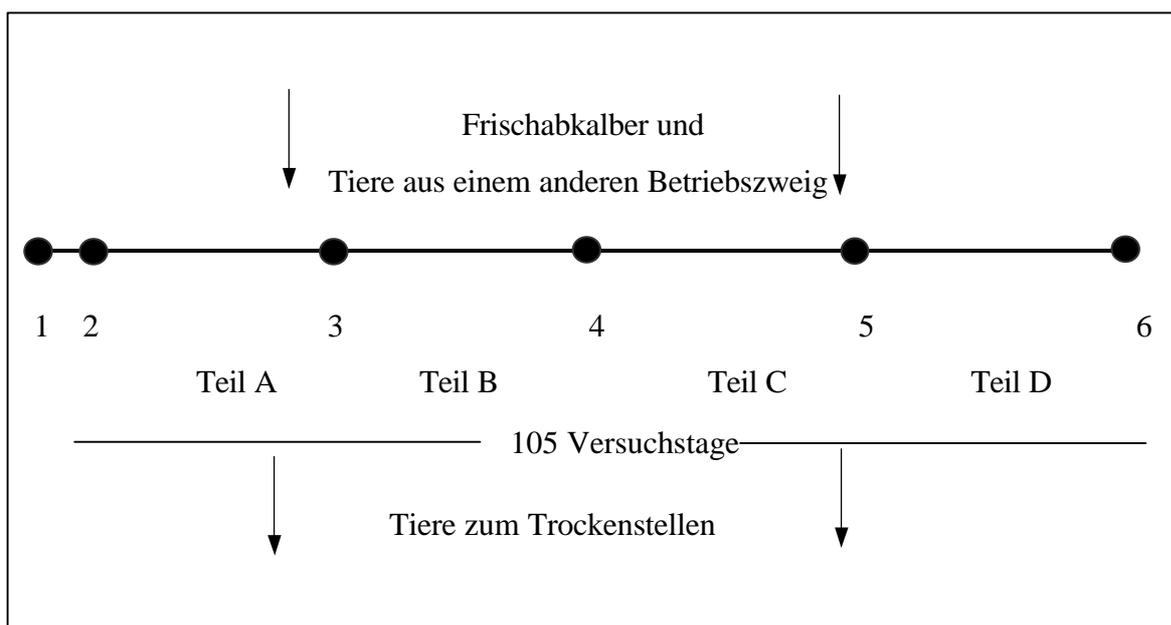


Abbildung 1: Ablauf der Untersuchungen

Auf der Zeitachse sind die Aktionen als schwarze Punkte dargestellt. Die Punkte 1 bis 6 sind die Zeitpunkte der Milchprobenentnahmen für die bakteriologische und zytologische Untersuchungen und der klinischen Untersuchungen. Die Teile A bis D kennzeichnen Versuchsteile, die sich durch das Probenraster ergeben. Die Pfeile in Richtung der Zeitachse beziehungsweise von der Zeitachse weg demonstrieren den Tierverkehr während der Untersuchung. Dabei handelte es sich um Zugänge durch abkalbende Tiere, Umstellungen von Tieren aus einem anderen Betriebszweig in Studiengruppen und Abgänge durch Trockenstellen der Tiere.

3.5 Datenerfassung in den Studienteilen II, III und IV

Die Ergebnisse der monatlichen Milchleistungsprüfung wurden den Berichten des Landeskontrollverbandes Brandenburg (Waldsiedersdorf) entnommen. Die Datenerfassung im Betrieb erfolgte mit dem Computerprogramm Herde 2.8 (DSP-Agrosoft, Paretz). Die Dokumentation der Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung der Viertelgemelke erfolgte anhand der Befundbögen des Veterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamtes Potsdam. Daten zu Erkrankungen der Tiere wurden der Krankenkartei der bestandsbetreuenden Tierärzte entnommen.

3.6 Milchprobenentnahme, mikrobiologische Untersuchung und Zellzahlbestimmung

Die Viertelgemelksproben wurden als Doppelproben an zwei aufeinanderfolgenden Tagen entnommen. Die sterile Probenentnahme erfolgte auf dem Melkkarussell nach Vorreinigung der Euter mit einem feuchten Eutertuch und Desinfektion der Zitzen mit Zellstoff und 70%igem Alkohol. Beim Verlassen der Behandlungsgruppen aufgrund einer Erkrankung und Rückkehr in die Gruppe wurden von den betroffenen Tieren einmalig Viertelgemelksproben genommen. Die Proben wurden bei 4°C gelagert und nach spätestens 3 Tagen mikrobiologisch untersucht. Die Proben wurden mit Borsäure konserviert.

Die mikrobiologischen Untersuchungen und Zellzahlbestimmungen bei der Studie zur Rückstanduntersuchung von Jodid bei Anwendung eines jodhaltigen Dippmittels im Vordippverfahren (Studienteil I) erfolgten im Milchlabor der FU Berlin.

Die mikrobiologischen Untersuchungen und Zellzahlbestimmungen bei den Studienteilen II bis IV wurden vom Staatlichen Veterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt des Landes Brandenburg in Potsdam durchgeführt. Die Zellzahlbestimmung erfolgte mit der Fossomatic (Foss-Elektrik, Hamburg).

Sämtliche Milchproben wurden auf hemmstofffreiem 6% Blutagar (Nährboden 1) und Neomycin-Staphylokokkentoxin – Aesculin – Blutagar (Nährboden 2) angelegt. Nährboden 1 ist Basismedium für die Anzüchtung von Staphylokokken (ST), *Arcanobacterium pyogenes* (A.p.), *E. coli* (E.c.), coliforme Keime (c. K.) und Nocardien (N). Andere Erreger wachsen zum Teil auch, sind aber schlecht erkennbar bzw. müssen auf Selektivnährmedien subkultiviert werden. Die Grobzuordnung der Erreger erfolgt unter anderem durch Beurteilung der Koloniemorphologie, -farbe, Hämolysevermögen und das Verhalten in der Gramfärbung.

Speziesdifferenzierungen erfolgen z. B. durch biochemische Untersuchungen (E.c., c.K.), Koagulasetest (ST), Stamp-Färbung, Sedimentausstrich (N) bzw. dem biochemischen Leistungsvermögen des Stammes. Verdächtige Kolonien (z. B. Hefen, Prototheken) werden auf Spezialnährböden subkultiviert und bestimmt.

Nährboden 2 dient der Schnelldiagnostik von Streptokokken spp. unter Berücksichtigung des CAMP-Phänomens, des Hämolyseverhaltens und des Äsculin-Spaltungsvermögens. Eine weitere Differenzierung kann über serologische Verfahren, wie den Latextest, erfolgen. Die Untersuchungsmethoden orientieren 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-11021-EU).

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

- bei gleichem Befund bei beiden aufeinanderfolgenden Tagen entsprach der Befund den beiden Einzelergebnissen
- bei negativem bakteriologischem Befund an einem Tag und Nachweis eines euterpathogenen Keimes am anderen Tag der Probenentnahme in einem Viertel wurde eine Infektion mit dem Keim angenommen
- wenn bei den zwei bakteriologischen Untersuchungen zwei unterschiedliche Ergebnisse vorlagen, wurde die subklinische Infektion als Mischinfektion gewertet
- beim Nachweis von zwei verschiedenen Erregern lag eine Mischinfektion vor

3.7 Kriterien für die Beurteilung der klinischen Wirksamkeit der verschiedenen Dippverfahren

Als Bewertungskriterien für die klinische Wirksamkeit der betrachteten Zitzendesinfektionsmaßnahmen wurden die Häufigkeit des Auftretens klinischer Mastitiden, die Entwicklung der Euterinfektionen während des Versuchszeitraumes und die Entwicklung des Zellgehaltes der Gemelke herangezogen.

Die Zahl der auftretenden klinischen Mastitiden pro 100 Behandlungstage in den Studienteilen II, III und IV wurde wie folgt berechnet:

Zunächst wurde für jedes Tier die Zahl der Behandlungstage ermittelt. Dazu wurden die Tage, an denen das Tier nicht im Versuch war, weil es noch nicht gekalbt hatte oder krank einem anderen Behandlungsregime unterlag, von den Versuchstagen abgezogen. Bei Studienteil IV entfiel die Subtraktion der Erkrankungstage, da die Tiere in den Krankengruppen wie die Studientiere behandelt wurden.

Dann wurde die Zahl der aufgetretenen Mastitiden ermittelt und mit 100 multipliziert. Dieser Wert wurde durch die Summe der Behandlungstage pro Behandlungsgruppe dividiert.

$$y = \frac{\text{Absolute Zahl der aufgetretenen Mastitiden} \times 100}{\text{Versuchstage} - \text{Krankheitstage}}$$

Nach dem gleichen Verfahren wurde auch die Inzidenz anderer Erkrankungen in den Studienteilen II und III berechnet. Diese Erkrankungen waren insofern von Bedeutung, als die Tiere bei diesen Erkrankungen die Versuchsgruppen verließen und nicht mehr dem vorgesehenen Behandlungsregime unterlagen. In diesem Zeitraum konnten Euterinfektionen stattfinden, welche nicht auf das angewendete Dippverfahren zurückzuführen waren.

3.8 Statistische Auswertung

Als Signifikanzniveau wurde für alle Tests $\alpha=0,05$ festgelegt. Die Konzentrationen von Jod in der Milch an den Versuchs- und Kontrolltagen wurden mit einem t-Test für verbundene Stichproben verglichen. Um die Faktoren Tier und Milchleistung einzubeziehen, wurde eine univariate Varianzanalyse durchgeführt. Abhängige Variable war der Jodgehalt des Gemelks als unabhängige Variablen wurden die Behandlung und die Kuh (fixe Faktoren) und die Milchleistung (Kovariable) eingesetzt. Außerdem wurden die Differenzen der Wertepaare „Jodgehalt der Milch bei Behandlung“ und „Jodgehalt der Milch am Kontrolltag“ berechnet

und statistische Kennzahlen dieser Differenzen ermittelt. Die Zellzahlen wurden logarithmiert, um eine Normalverteilung der Daten zu erreichen. Der Vergleich der Zellzahlen erfolgt mittels des Student t-Testes.

Die Korrelationen zwischen Milchleistung und Milchjodgehalt wurden nach Pearson und die zwischen Nummer des Gemelkes im Versuchszeitraum und dem Milchjodgehalt wurden nach Spearman analysiert.

Bei den Studienabschnitten II, III und IV wurde die Zahl der Behandlungstage pro Behandlungsgruppe errechnet. Damit konnte errechnet werden, wie viele Erkrankungen (Euterentzündungen und andere Erkrankungen) pro Behandlungstag auftraten (Inzidenzdichte).

Die Inzidenz intramammärer Neuinfektionen, die Infektionsprävalenzen der Viertel und klinische Mastitiden, Anteile der Zellzahlen der Viertelgemelksproben an 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) im Studienabschnitt II wurde ein Chi-quadrat Test (Vierfeldertafel) herangezogen. Dafür wurden die Euterviertel als Spaltenvariablen definiert. Desweiteren wurde im Studienabschnitt II der Anteil „eutergesunder Viertel“ (Viertel mit einer Zellzahl <100.000/ml) bei Vierteln mit unterschiedlichem Infektionsstatus mittels eines Chi-quadrat Tests (Vierfeldertafel) überprüft. Dabei wurden Euterviertel mit unterschiedlichem Infektionsstatus als Untergruppen definiert.

Im Studienabschnitt III wurde der Zusammenhang zwischen dem Grad der Hyperkeratose des Strichkanales und dem Infektionszustand des entsprechenden Viertels untersucht. Dafür wurden vier Untergruppen von Vierteln gleicher Strichkanaleigenschaften gebildet (keine, leichte, mittlere und starke Hyperkeratose) gebildet. Die Viertelinfektionsraten der Gruppen wurden mittels des Chi-quadrat Tests (Vierfeldertafel) verglichen.

Die Analyse der Daten erfolgte mit Hilfe des Programmes SPSS[®] für Windows (Version 10.0, SPSS[®] Inc. München).

Die Ergebnisse sind im explorativen Sinne zu interpretieren und nicht ohne weiteres verallgemeinerbar.