

## 4.2 Begleitende Untersuchungen

### 4.2.1 Reproduzierbarkeit

#### 4.2.1.1 Verschiedene Zählweisen

In dieser Teilstudie wurden 21 Objektträgerpräparate auf fünf verschiedene Weisen gezählt (Z 1-Z 5). Bei jedem Präparat gab es eine Zählweise, bei welcher der geringste Prozentsatz an PMN (Min. PMN-Wert) und eine Zählweise, bei welcher der höchste Prozentsatz an PMN (Max. PMN-Wert) ermittelt wurde. Tabelle 25 zeigt die Zählweisen und ihre Häufigkeit für den minimalen oder maximalen PMN-Wert, sowie die Summe dieser Extremwerte bei der jeweiligen Zählweise. Aufgrund von Überschneidungen beträgt jeweils die Summe der minimalen bzw. maximalen PMN-Werte mehr als 21. Mit der Zählweise 4 wurde bei zwei Objektträgern der minimale PMN-Wert bestimmt. Durch Zählweise 5 war dies bei zehn Objektträgern der Fall. Bei zwei Objektträgern wurde mit der Zählweise 1 der maximale PMN-Wert bestimmt und bei acht Objektträgern mit der Zählweise 4. Die Zählweisen 1 und 2 unterlagen am wenigsten extremen Schwankungen. Auf die Grenze von 5% PMN bezogen, wurden 71,4% der Objektträgerpräparate (15/21) bei allen fünf Zählweisen gleich eingestuft.

Tabelle 25: Zählweisen und ihre Häufigkeit für den minimalen oder maximalen PMN-Wert, sowie die Summe dieser Extremwerte

| Zählweise  | Min. PMN-Wert | Max. PMN-Wert | $\Sigma$ Extremwerte |
|--|---------------|---------------|----------------------|
| 1: von links oben senkrecht nach rechts, mäanderförmig   | 5             | 2             | 7                    |
| 2: von rechts unten senkrecht nach links, mäanderförmig  | 3             | 4             | 7                    |
| 3: von links oben waagrecht nach rechts, mäanderförmig   | 6             | 5             | 11                   |
| 4: von rechts unten waagrecht nach links, mäanderförmig  | 2             | 8             | 10                   |
| 5: willkürlich, dort wo Endometriumszellen zu sehen sind | 10            | 3             | 13                   |

Die Abbildungen 13 bis 15 zeigen die Ergebnisse der unterschiedlichen Zählweisen für jedes Objektträgerpräparat. Abbildung 13 zeigt die Objektträger eins bis sieben, Abbildung 14 zeigt

die Objektträger acht bis vierzehn und Abbildung 15 zeigt die Objektträger fünfzehn bis einundzwanzig. Die Abbildungen zeigen, dass Schwankungen der Zählweisen im oberen Prozentbereich höher sind als im unteren Prozentbereich.

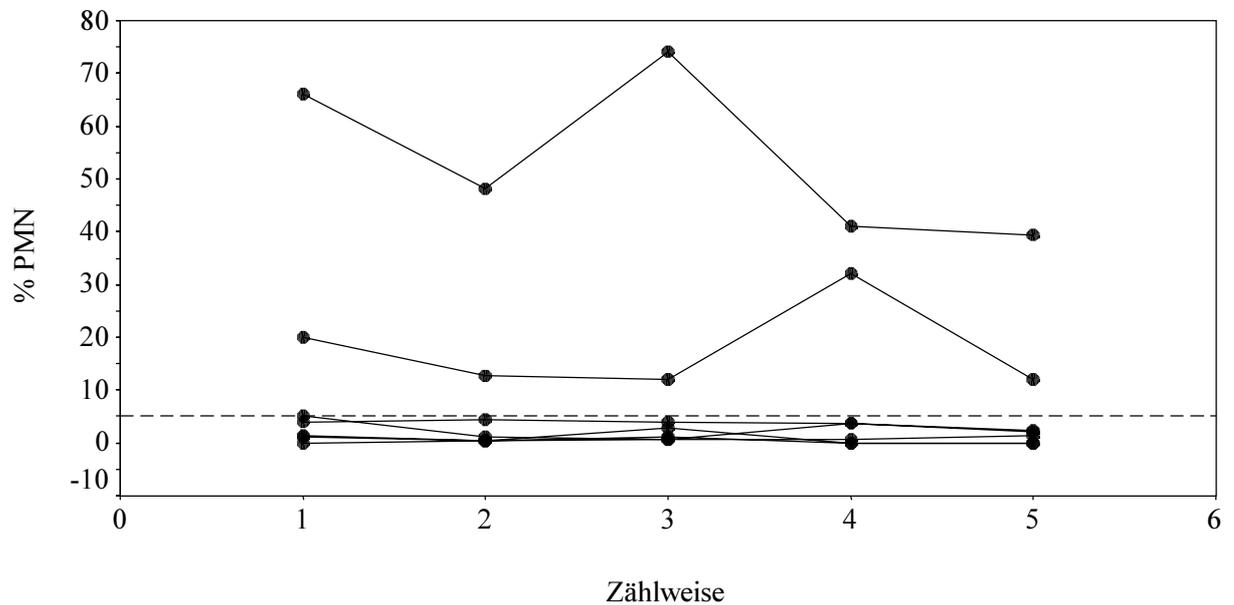


Abbildung 13: Zählergebnisse der Objektträgerpräparate 1-7; Bezugslinie (---): 5% PMN-Grenze

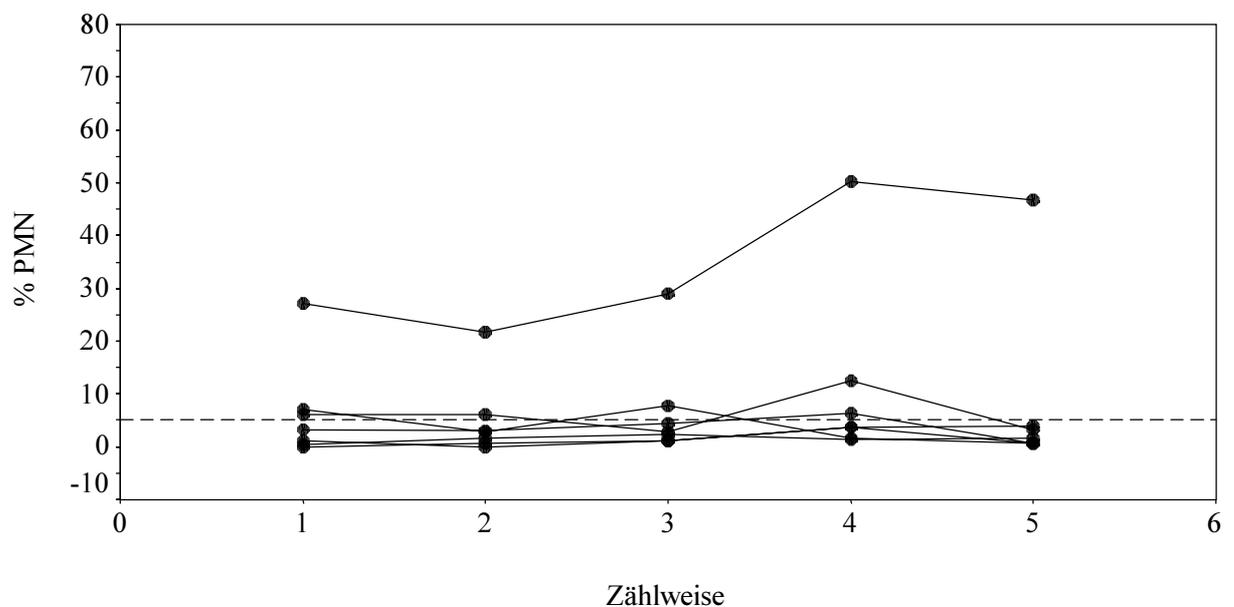


Abbildung 14: Zählergebnisse der Objektträgerpräparate 8 bis 14; Bezugslinie (---): 5% PMN-Grenze

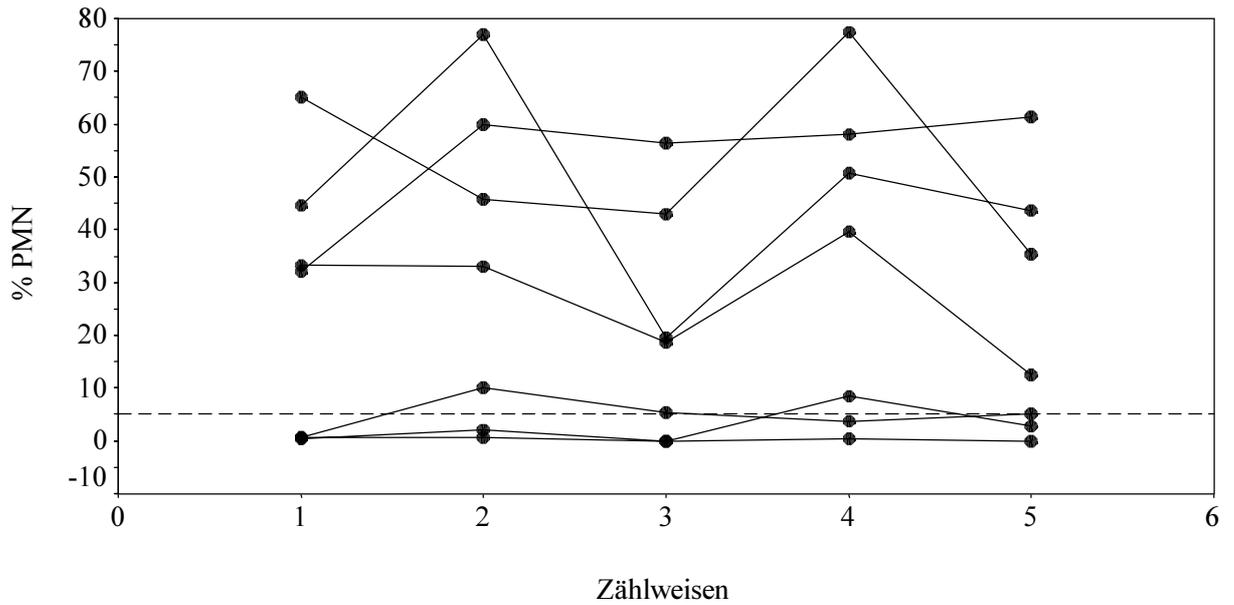


Abbildung 15: Zählergebnisse der Objektträgerpräparate 15 bis 21; Bezugslinie (---): 5% PMN-Grenze

Abbildung 16 zeigt die Differenzen der Zählweisen 2 bis 5 zu dem Ergebnis der Zählweise 1. Abbildung 17 gibt einen Ausschnitt dieser Abbildung wieder. Es ist zu sehen, dass die Abweichungen im niedrigen Bereich (% PMN Z 1) auch eher niedrig sind.

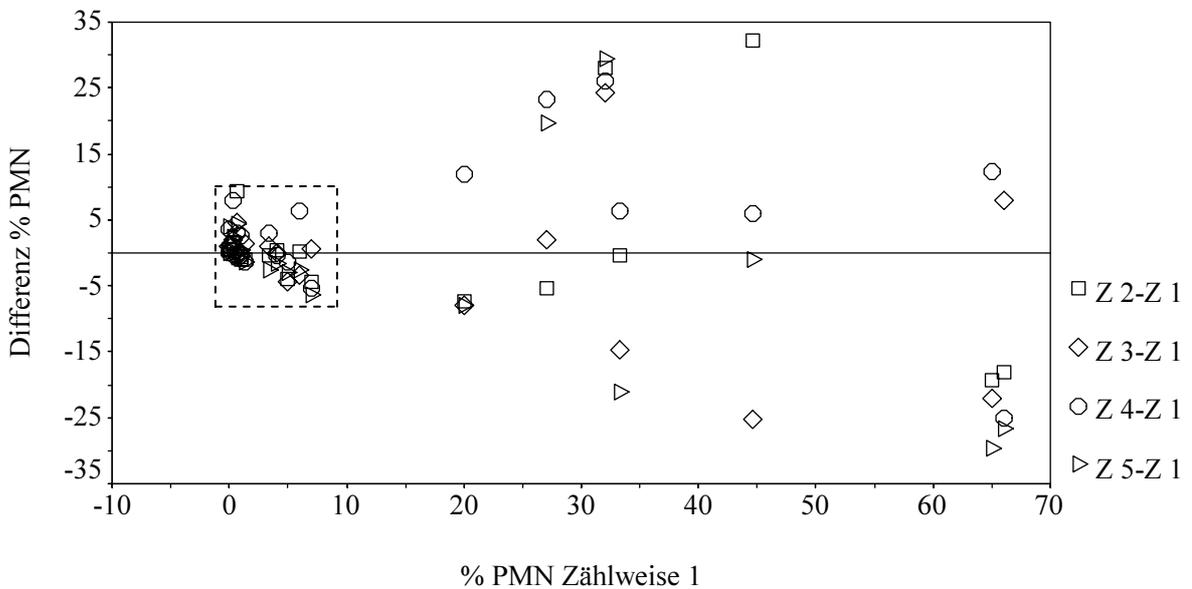


Abbildung 16: Die Abweichungen der Zählweisen 2 bis 5 (Z 2 bis Z 5) zur Zählweise 1 (Z 1)

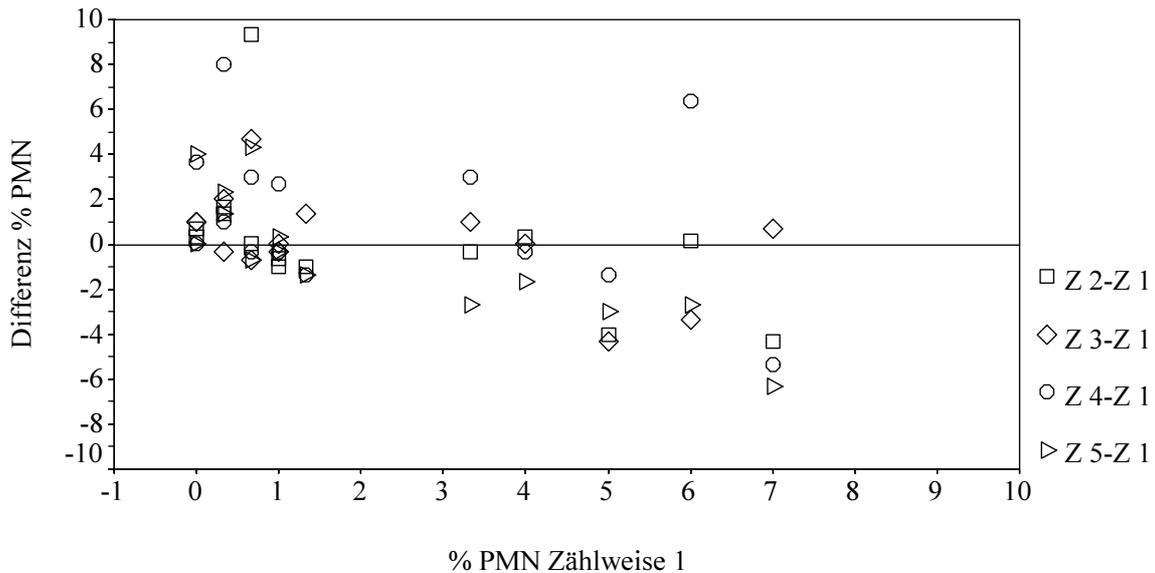


Abbildung 17: Die Abweichungen der Zählweisen 2 bis 5 (Z 2 bis Z 5) zur Zählweise 1 (Z 1) bei einem Anteil von weniger als 10% PMN (vergrößerter Ausschnitt aus Abbildung 16)

Lag der PMN-Wert der ersten Zählweise unter 5 % PMN ( $n=11$ ,  $\bar{x}=1,2\%$  PMN), betrug die maximale Abweichung aller anderen Zählweisen 9,3 Prozentpunkte. Die durchschnittliche Abweichung lag bei 1,6 Prozentpunkten ( $n=44$ ). Betrug der PMN-Wert der ersten Zählung mindestens 5% PMN ( $n=10$ ,  $\bar{x}=30,6\%$  PMN), machte die minimale Abweichung aller anderen Zählweisen 0,1 Prozentpunkte und die maximale Abweichung 32,3 Prozentpunkte aus. In dieser Gruppe lag die durchschnittliche Abweichung bei 12,6 Prozentpunkten ( $n=40$ ).

#### 4.2.1.2 Zweifache Anfertigung eines Objektträgerpräparates

Von 34 Cytobrush wurden je zwei Objektträgerpräparate angefertigt. In der Abbildung 18 sind die PMN-Werte der Objektträger grafisch dargestellt. Die Nummern der Objektträgerpaare wurden nach dem Ergebnis der PMN-Zählung des ersten Objektträgers (OT 1) aufsteigend sortiert. Es ist zu sehen, dass im unteren Prozentbereich die Abweichung der beiden Objektträger voneinander nicht so hoch ist wie im oberen Bereich. Bei acht Präparatepaaren (23,5%) stimmten die Zählergebnisse exakt überein.

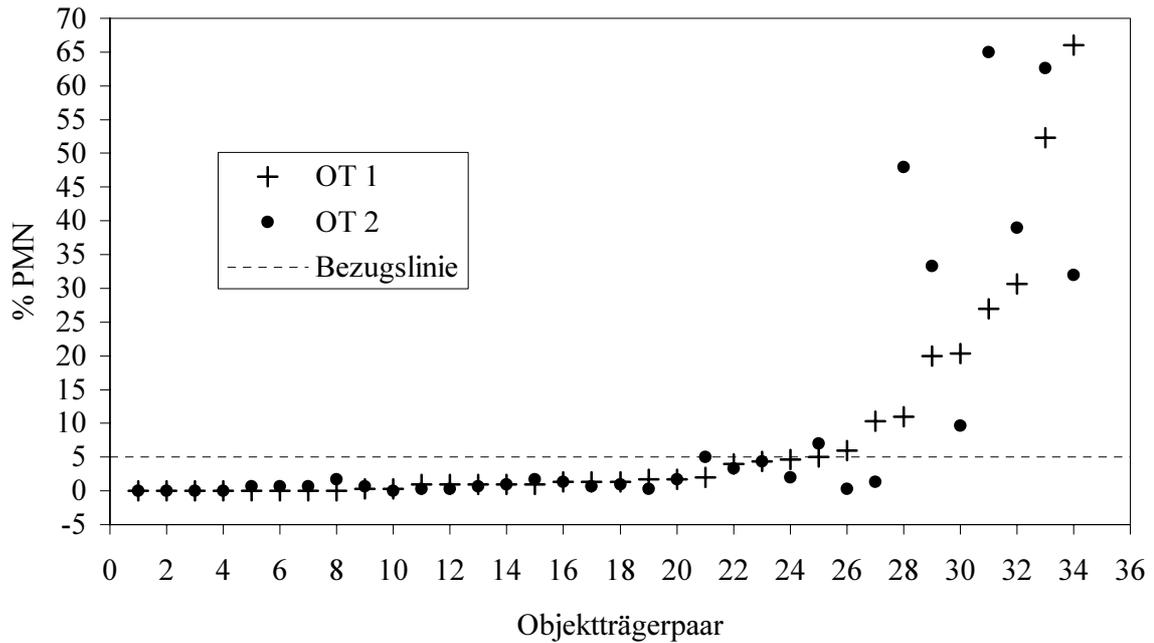


Abbildung 18: PMN-Werte der doppelt angefertigten Objektträger (OT 1 und OT 2), Nummern nach OT 1 aufsteigend sortiert

Tabelle 26 zeigt die Übereinstimmung der zwei Objektträger bei der Einteilung in die PMN-Gruppen ( $<5\%$  PMN,  $\geq 5\%$  PMN). In 91,2% der Fälle ( $n=31$ ) war die Zuordnung der beiden Objektträger übereinstimmend. Eine unterschiedliche Einteilung erfolgte bei drei Objektträgerpaaren (8,8%).

Tabelle 26: Übereinstimmung der zwei Objektträger pro Cytobrush anhand von Ergebnissen aus 34 Proben

| Objektträger 1 | Objektträger 2 |                |
|----------------|----------------|----------------|
|                | $<5\%$ PMN     | $\geq 5\%$ PMN |
| $<5\%$ PMN     | 23             | 2              |
| $\geq 5\%$ PMN | 1              | 8              |

### 4.2.1.3 Reproduzierbarkeit der Probenentnahme

Bei 21 Tieren wurden im Abstand von mindestens 20 Minuten Zellen mit der Cytobrush-Methode aus dem Uterus gewonnen. Bei weiteren 27 Tieren lagen maximal zwei Minuten zwischen der zweimaligen Zellgewinnung.

#### 4.2.1.3.1 Zweimalige Probenentnahme im Abstand von mindestens 20 Minuten

Bei 80,9% der Kühe (n=17) lag der PMN-Wert der zweiten Cytobrush-Untersuchung über dem der ersten. Die Differenz betrug in zehn Fällen (58,8%) weniger als 5 Prozentpunkte PMN und in sieben Fällen (41,2%) mehr als 5 Prozentpunkte. Drei Kühe (14,3%) wiesen bei der zweiten CBU einen geringeren PMN-Wert auf als zur CBU 1. Bei allen drei Tieren betrug die Abweichung mehr als 5 Prozentpunkte PMN. In einem Fall (4,8%) war das Ergebnis der beiden Cytobrush-Untersuchungen übereinstimmend.

In Abbildung 19 sind die Ergebnisse der beiden CBU zu sehen.

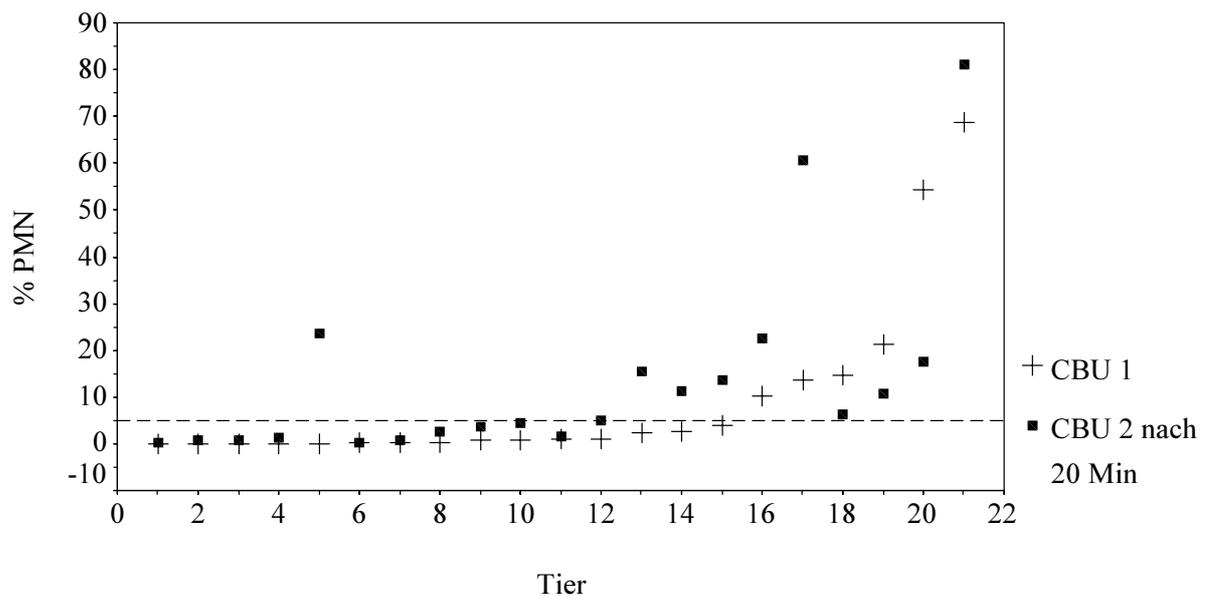


Abbildung 19: PMN-Werte von 21 Tieren bei erster Probenentnahme (CBU 1) und bei erneuter Untersuchung nach 20 Min (CBU 2); Bezugslinie (---): 5% PMN-Grenze

Die maximale Abweichung des Anteils an PMN betrug 47,0 Prozentpunkte. Bezüglich der Einteilung „gesund“ oder „subklinisch erkrankt“ waren die Ergebnisse der ersten und der zweiten CBU in 76,2% der Fälle übereinstimmend: Sechs Kühe (28,6%) hatten eine subklinische Endometritis, zehn Tiere (47,6%) waren gesund. Bei fünf Tieren (23,8%)

wurden bei der zweiten Probenentnahme eine subklinische Endometritis festgestellt, die bei der ersten Zellgewinnung nicht diagnostiziert worden war.

#### 4.2.1.3.2 Zweimalige Probenentnahme im Abstand von maximal zwei Minuten

Bei 27 Tieren wurden in einem Abstand von maximal zwei Minuten Zellen mittels Cytobrush aus der Gebärmutter gewonnen. Abbildung 20 zeigt die Ergebnisse der zwei Probenentnahmen.

Bei 37,0% der Kühe (n=10) lag der PMN-Wert der zweiten Cytobrush-Untersuchung über dem der ersten. Die Differenz betrug in acht Fällen (80,0%) weniger als 5 Prozentpunkte PMN und in zwei Fällen (20,0%) mehr als 5 Prozentpunkte. Elf Kühe (40,7%) wiesen bei der zweiten CBU einen geringeren PMN-Wert auf als zur CBU 1. Bei sechs Tieren (54,4%) betrug die Abweichung weniger als 5 Prozentpunkte PMN und bei fünf Tieren (45,5%) mehr als 5 Prozentpunkte. In sechs Fällen (22,2%) war das Ergebnis der beiden Cytobrush-Untersuchungen übereinstimmend.

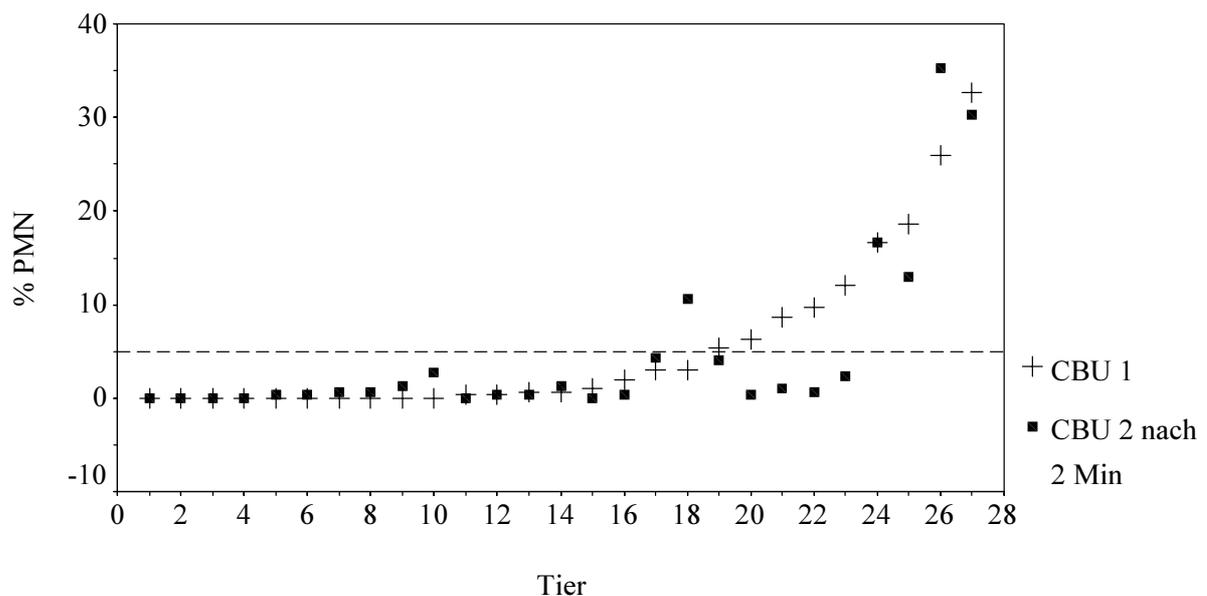


Abbildung 20: PMN-Werte von 27 Tieren bei erster Probenentnahme (CBU 1) und bei erneuter Cytobrush nach maximal zwei Min (CBU 2); Bezugslinie (---): 5% PMN-Grenze

Die maximale Abweichung des Anteils an PMN betrug 9,7 Prozentpunkte. Auf den Grenzwert von 5% PMN bezogen, stimmten die zytologischen Ergebnisse der beiden

Probenentnahme in 77,8% der Fälle überein. Eine Übersicht über die Einteilung der Tiere bei erster und zweiter Probenentnahme gibt Tabelle 27.

Tabelle 27: Übereinstimmung der ersten und zweiten Probenentnahme (Cytobrush-Untersuchung 1 und 2) im Abstand von maximal zwei Min bei 27 Kühen

| Cytobrush-Untersuchung 1 | Cytobrush-Untersuchung 2 |         |
|--------------------------|--------------------------|---------|
|                          | <5% PMN                  | ≥5% PMN |
| <5% PMN                  | 17                       | 1       |
| ≥5% PMN                  | 5                        | 4       |

#### 4.2.1.4 Reproduzierbarkeit der Zellzählung

Bei der Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Zellzählung wurden 20 Objektträgerpräparate ein zweites Mal gezählt. Die Ergebnisse der beiden Zählungen sind in Abbildung 21 grafisch dargestellt. Im unteren Prozentbereich war die Differenz der beiden Zählungen nicht so hoch ist wie im oberen Bereich. Die maximale Abweichung betrug 25,3 Prozentpunkte. Der Korrelationskoeffizient nach Spearman-Rho hatte eine Wert von 0,743 ( $p < 0,01$ ).

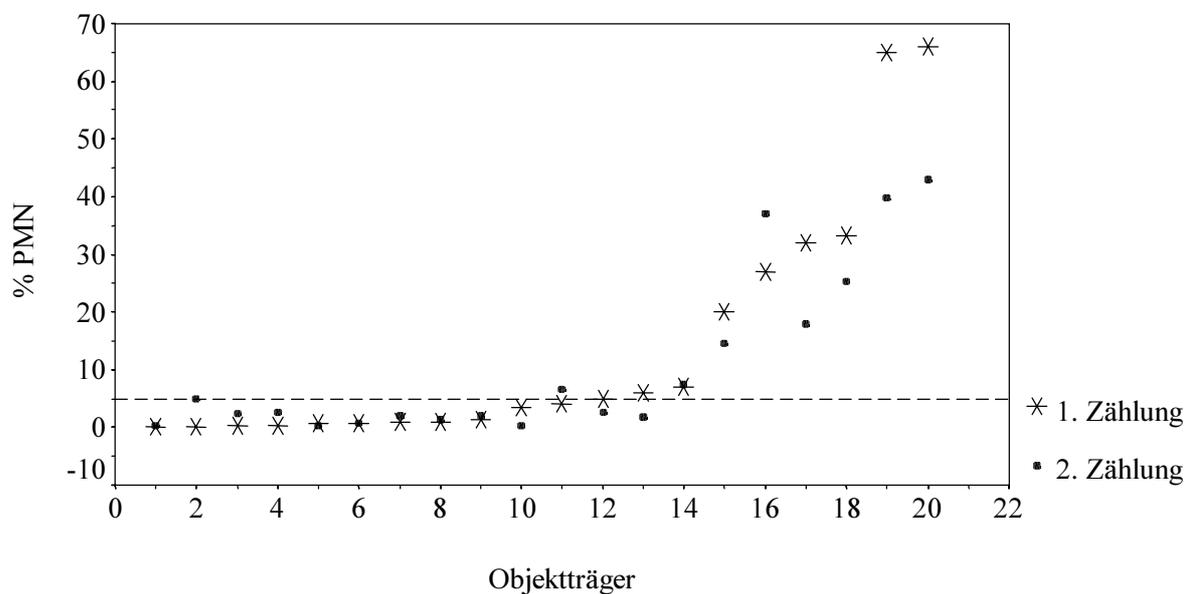


Abbildung 21: Ergebnisse der ersten und der zweiten Zählung bei 20 Objektträgern, aufsteigend nach dem PMN-Wert der ersten Zählung sortiert

Bezüglich der Einteilung der Tiere anhand der 5%-Grenze waren 80,0% der beiden Zählungen übereinstimmend. Tabelle 28 zeigt die Übereinstimmung der zwei Zählungen bei der Einteilung in die PMN-Gruppen.

Tabelle 28: Übereinstimmung der zwei Zählungen anhand von Ergebnissen aus 20 Objektträgerpräparaten

| 1. Zählung | 2. Zählung |         |
|------------|------------|---------|
|            | <5% PMN    | ≥5% PMN |
| <5% PMN    | 9          | 2       |
| ≥5% PMN    | 2          | 7       |

#### 4.2.2 Zeitdauer der Probenentnahme und der Begutachtung der Zellpräparate

Die Zeitdauer für die CBU wurde bei 119 Tieren gemessen. Davon waren 53 Messungen (44,5%) zum Zeitpunkt der PK 1 und 66 Messungen (55,5%) zum Zeitpunkt der NU 1 durchgeführt worden. In Tabelle 29 sind die minimale, die maximale und die Durchschnittsdauer von 119 Zellentnahmen aus dem Uterus aufgeführt. Der Unterschied in der Dauer der Probenentnahme zwischen den Untersuchungszeitpunkten PK 1 und NU 1 war statistisch nicht signifikant.

Tabelle 29: Zeitdauer in Minuten (Min) von 119 Zellentnahmen mittels Cytobrush aufgeteilt nach den Untersuchungszeitpunkten PK 1 und NU 1

| Zeitdauer (Min) | PK 1 (n=53) | NU 1 (n=66) | Gesamt (n=119) |
|-----------------|-------------|-------------|----------------|
| Minimum         | 0:32        | 0:25        | 0:25           |
| Maximum         | 8:17        | 9:58        | 9:58           |
| Mittelwert      | 1:40        | 1:54        | 1:48           |

Die Abbildung 22 zeigt die Verteilung der Cytobrush-Untersuhungen nach der Dauer der Probenentnahme.

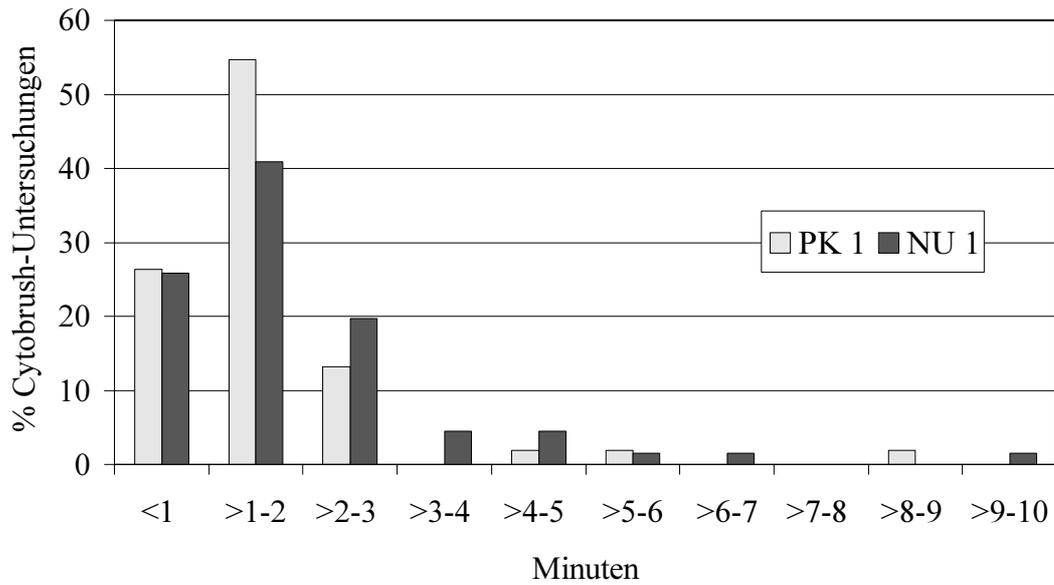


Abbildung 22: Verteilung der Cytobrush-Untersuchungen bei der PK 1 und zur NU 1 nach der Dauer der Probenentnahme

Die Dauer für die Begutachtung der Objektträgerpräparate wurde bei 101 Objektträgern gemessen. Der geringste Zeitaufwand lag bei einer Minute und 56 Sekunden. Die längste Dauer der Begutachtung eines Zellpräparates betrug 16:42 Minuten. Im Durchschnitt betrug der Zeitaufwand 5:43 Minuten pro Objektträger. Abbildung 23 zeigt die Verteilung der Anzahl Objektträger nach der Auswertungsdauer.

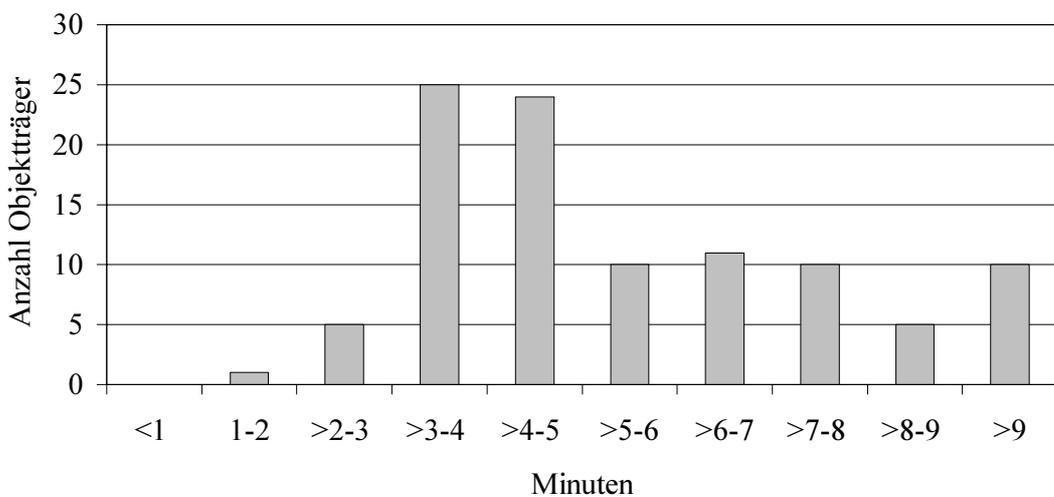


Abbildung 23: Verteilung der Anzahl der Objektträger nach der Auswertungsdauer

### 4.2.3 Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung

Von 59 bakteriologisch untersuchten Proben stammten 36 von klinisch unauffälligen Kühen zum Zeitpunkt der PK 1. Bei 23 dieser Tiere, die auch zum Zeitpunkt der NU 1 klinisch unauffällig waren, wurden Wiederholungstupfer untersucht.

Aus 55 Proben (93,2%) konnten Bakterien isoliert werden. Bei vier Proben (6,8%) konnte kein Keimwachstum festgestellt werden. In 24 Proben (40,7%) wurden nur anaerobe Keime nachgewiesen. Bei einer Probe (1,7%) wurden ausschließlich Aerobier (inklusive fakultativ anaerobe Bakterien) isoliert. 30 Proben (50,8%) enthielten sowohl anaerobe als auch aerobe Bakterien.

Das Bakterienwachstum war unterschiedlich stark (geringgradig bis hochgradig). Zum Teil konnten Bakterienspezies nur nach Anreicherung isoliert werden. In acht Proben wurde eine Bakterienspezies isoliert. Bei 18 Proben lag eine Mischinfektion mit zwei, in 12 Proben mit drei und in 17 Proben mit mehr als drei verschiedenen Keimen vor. Eine Übersicht über die Ergebnisse der unterschiedlichen Probezeitpunkte gibt Tabelle 30.

Tabelle 30: Häufigkeit isolierter Bakterienspezies zur PK 1 und NU 1

| Anzahl<br>Bakterienspezies/Probe | PK 1 (n=36)   |      | NU 1 (n=23)   |      |
|----------------------------------|---------------|------|---------------|------|
|                                  | Anzahl Proben | %    | Anzahl Proben | %    |
| 0                                | 2             | 5,6  | 2             | 8,7  |
| 1                                | 5             | 13,9 | 3             | 13,0 |
| 2                                | 10            | 27,8 | 8             | 34,8 |
| 3                                | 8             | 22,2 | 4             | 17,4 |
| >3                               | 11            | 30,6 | 6             | 26,1 |

#### 4.2.3.1 Bakteriologisches Spektrum

Zum Zeitpunkt der ersten Probenentnahme wurden *E. coli* und  $\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken am häufigsten isoliert. Bei der Folgeuntersuchung nach 14 Tagen wurde *E. coli* ebenfalls am häufigsten gefunden. Eine Übersicht über die zur PK 1 und NU 1 isolierten aeroben und fakultativ anaeroben Bakterien gibt Tabelle 31. Tabelle 32 zeigt die isolierten anaeroben Bakterien.

Tabelle 31: Zur PK 1 und NU 1 isolierte aerobe und fakultativ anaerobe Bakterien

| Isolierte Mikroorganismen          | PK 1 (n=36) |      | NU 1 (n=23) |      |
|------------------------------------|-------------|------|-------------|------|
|                                    | Anzahl      | %    | Anzahl      | %    |
| <i>E. coli</i>                     | 16          | 44,4 | 9           | 39,1 |
| AHS                                | 16          | 44,4 | 7           | 30,4 |
| <i>Lactobacillus</i> spp.          | 8           | 22,2 | 5           | 21,7 |
| <i>Staphylococcus</i> spp.         | 7           | 19,4 | 3           | 13,0 |
| Sonstige <i>Streptococcus</i> spp. | 4           | 11,1 | 7           | 30,4 |
| <i>Corynebacterium</i> spp.        | 4           | 11,1 | 0           | 0,0  |
| Sonst. Enterobacteriaceae          | 3           | 8,3  | 1           | 4,3  |
| <i>Enterococcus</i> spp.           | 3           | 8,3  | 1           | 4,3  |
| <i>A. pyogenes</i>                 | 3           | 8,3  | 1           | 4,3  |
| <i>Bacillus</i> spp.               | 2           | 5,6  | 2           | 8,7  |
| <i>Acinetobacter</i> spp.          | 1           | 2,8  | 1           | 4,3  |
| <i>Gemella</i> spp.                | 1           | 2,8  | 0           | 0,0  |
| <i>Alcaligenes</i> spp.            | 0           | 0,0  | 2           | 8,7  |

AHS =  $\alpha$ -hämolisierende Streptokokken

Tabelle 32: Zur PK 1 und NU 1 isolierte anaerobe Bakterien

| Isolierte Mikroorganismen     | PK 1 (n=36) |      | NU 1 (n=23) |      |
|-------------------------------|-------------|------|-------------|------|
|                               | Anzahl      | %    | Anzahl      | %    |
| Anaerobe Kokken               | 11          | 30,6 | 7           | 30,4 |
| <i>Bifidobacterium</i> spp.   | 5           | 13,9 | 0           | 0,0  |
| <i>Prevotella</i> spp.        | 4           | 11,1 | 6           | 26,1 |
| <i>Clostridium</i> spp.       | 4           | 11,1 | 1           | 4,3  |
| <i>Fusobacterium</i> spp.     | 3           | 8,3  | 2           | 8,7  |
| <i>Porphyromonas</i> spp.     | 3           | 8,3  | 2           | 8,7  |
| <i>Bacteroides</i> spp.       | 1           | 2,8  | 1           | 4,3  |
| <i>Eubacterium</i> spp.       | 1           | 2,8  | 0           | 0,0  |
| <i>Propionibacterium</i> spp. | 0           | 0,0  | 1           | 4,3  |

#### 4.2.3.2 Bakteriologische Ergebnisse im Bezug zum Ergebnis der Cytobrush-Untersuchung

Von den 36 Tieren, deren Uterussekret zur PK 1 mikrobiologisch untersucht wurde, hatten 17 Tiere (47,2%) eine subklinische Endometritis während 19 Tiere (52,8%) gesund waren. Zum Zeitpunkt der NU 1 wiesen sechs Tiere (26,1%) eine subklinische Entzündung der Gebärmutter auf, 17 Tiere (73,9%) waren gesund. Tabelle 33 gibt eine Übersicht über die Menge der isolierten Bakterienspezies im Bezug zur zytologischen Diagnose.

Tabelle 33: Häufigkeit isolierter Bakterienspezies in Proben von gesunden Tieren (<5% PMN) und Tieren mit subklinischer Endometritis (≥5% PMN)

| Anzahl<br>Bakterienspezies/Probe | <5% PMN (n=36) |      | ≥5% PMN (n=23) |      |
|----------------------------------|----------------|------|----------------|------|
|                                  | Anzahl Proben  | %    | Anzahl Proben  | %    |
| 0                                | 4              | 11,1 | 0              | 0,0  |
| 1                                | 4              | 11,1 | 4              | 17,4 |
| 2                                | 12             | 33,3 | 6              | 26,1 |
| 3                                | 9              | 25,0 | 3              | 13,0 |
| >3                               | 7              | 19,4 | 10             | 43,5 |

*A. pyogenes*, *Fusobacterium*- und *Bacteroides*-Spezies wurden ausschließlich aus Proben von Tieren mit subklinischer Endometritis isoliert. Dies galt auch für *Porphyromonas* spp., die seit 1988 nicht mehr zu der Gattung *Bacteriodes* gezählt werden (Shah und Collin 1988). *Prevotella* spp., die bis 1990 ebenfalls zu der Gattung *Bacteriodes* zählten (Shah und Collin 1990), wurden seltener bei gesunden Tieren, als bei Tieren mit subklinischer Endometritis isoliert ( $p < 0,1$ ). In der Gruppe der erkrankten Tiere war der Anteil an *E. coli*-haltigen Proben höher als in der Gruppe der gesunden Tiere. Auch der Anteil der Proben mit  $\alpha$ -hämolyisierenden Streptokokken war in der Gruppe der Tiere, die eine subklinische Endometritis aufwiesen, höher als in der Gruppe der gesunden Tiere. Diese Unterschiede waren nicht signifikant. Tabelle 34 zeigt die Häufigkeit der Bakterienspezies im Probenmaterial von gesunden Kühen und Kühen mit subklinischer Endometritis.

Tabelle 34: Häufigkeit von  $\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken (AHS), *E. coli*, *A. pyogenes*, *Fusobacterium* spp. und *Bacteroides* spp. in Proben von gesunden Tieren (<5% PMN) und Tieren mit subklinischer Endometritis ( $\geq$ 5% PMN)

| Bakterienspezies          | <5% PMN (n=36) |                  | $\geq$ 5% PMN (n=23) |                   |
|---------------------------|----------------|------------------|----------------------|-------------------|
|                           | Anzahl Proben  | %                | Anzahl Proben        | %                 |
| AHS                       | 13             | 36,1             | 10                   | 43,5              |
| <i>E. coli</i>            | 14             | 38,9             | 11                   | 47,8              |
| <i>A. pyogenes</i>        | 0              | 0,0 <sup>a</sup> | 4                    | 17,4 <sup>b</sup> |
| <i>Prevotella</i> spp.    | 3              | 8,3              | 7                    | 30,4              |
| <i>Fusobacterium</i> spp. | 0              | 0,0 <sup>a</sup> | 5                    | 21,7 <sup>b</sup> |
| <i>Porphyromonas</i> spp. | 0              | 0,0 <sup>a</sup> | 5                    | 21,7 <sup>b</sup> |
| <i>Bacteroides</i> spp.   | 0              | 0,0              | 2                    | 8,7               |

Werte innerhalb einer Zeile mit unterschiedlichen Indizes (a, b) unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ )

#### 4.2.4 Tiere mit klinischer Endometritis

Bei 50 Kühen, die bei der klinischen Untersuchung am 21.-27. Tag p.p. (PK 1) eine Gebärmutterentzündung aufwiesen, wurde ein Cytobrush-Untersuchung angeschlossen.

##### 4.2.4.1 Ergebnis der klinischen Untersuchung

Die Untersuchung vom Rektum her ergab, dass bei 36,0% der Kühe der Uterus die Größe G II, bei 54,0% G III und bei 10,0% G IV aufwies. Die Kontraktilität der Gebärmutter wurde bei fünf Kühen (10,0%) als gering, bei 44 Kühen (88,0%) als mäßig und bei einer Kuh (2,0%) als stark eingeschätzt. Bei 24,0% der untersuchten Tiere waren die Uterushörner symmetrisch. Bei 28,0% war das linke Uterushorn und bei 48,0% das rechte Horn größer. Somit lagen 63,0% der Asymmetrien beim rechten Uterushorn. Sieben Kühe (14,0%) hatten keine Funktionskörper auf den Ovarien. Bei 27 Kühen (54,0%) wurde ein Follikel ertastet, 13 Kühe (26,0%) wiesen einen Gelbkörper auf. Bei drei Tieren (6,0%) bestand der Verdacht auf Zysten. Die Körperkondition wurde zwischen 2,25 und 3,5 eingestuft ( $\bar{x} = 3,0$ ). Die Einteilung der Endometritiden wurde gemäß der Klassifikation in Kapitel 3.4.1 durchgeführt. Dabei wiesen 21 der erkrankten Tiere (42,0%) eine Endometritis ersten Grades (E 1) auf. Bei 25 Tieren (50,0%) wurde eine Endometritis zweiten Grades (E 2) und bei drei Tieren (6,0%) eine

Endometritis dritten Grades (E 3) diagnostiziert. Bei einem Tier (2,0%) war der Uterus vollständig zurückgebildet. Inhalt konnte ertastet aber nicht nach außen massiert werden.

#### 4.2.4.2 Ergebnis der Cytobrush-Untersuchung

Die Zervixpassage war in allen 50 Fällen leicht durchführbar. Bei 48 Cytobrush wurde die Farbe bzw. die Beschaffenheit des gewonnenen Probenmaterials notiert. Zwölf Cytobrush (25,0%) waren fleischfarben, fünf (10,4%) waren vorwiegend blutig und 31 (64,6%) enthielten eiterfarbenes Material. In Abbildung 24 ist zu jeder der drei CB Qualitäten ein Boxplot für die PMN-Werte dargestellt. Bei Cytobrush, die mit Eiter behaftet waren, wurden im zytologischen Präparat signifikant mehr PMN gefunden als bei fleischfarbenen Cytobrush.

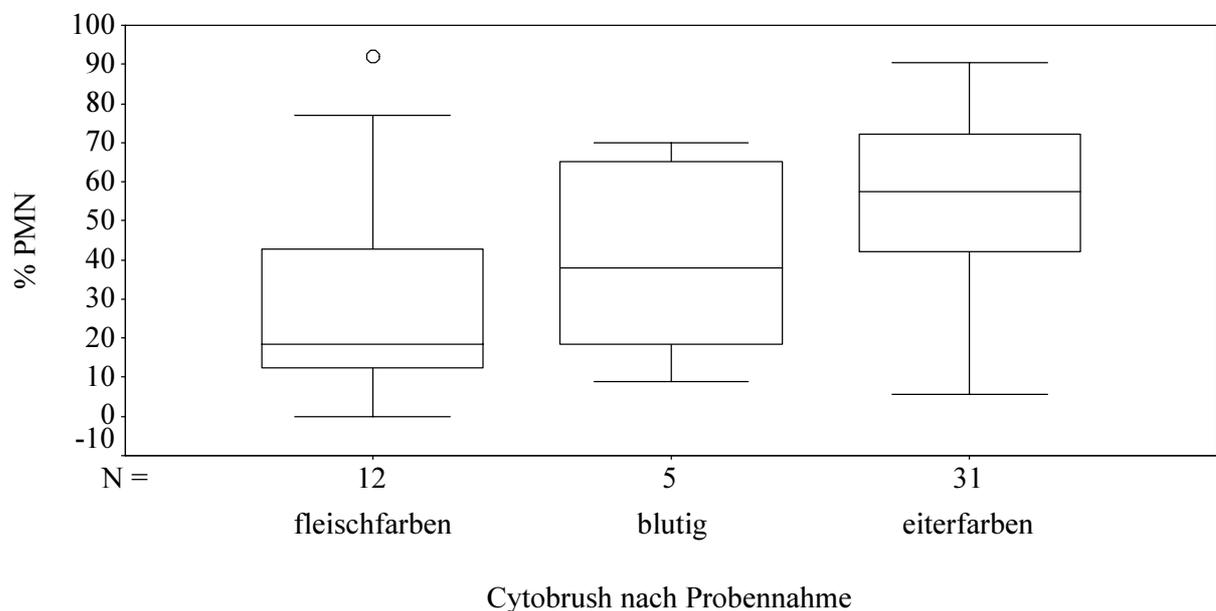


Abbildung 24: PMN-Wert und Beschaffenheit des Cytobrush nach der Zellentnahme aus dem Uterus von Kühen mit klinisch manifester Endometritis am 21.-27. Tag p.p.

Die Auswertung der Objektträger ergab, dass auf 23 Objektträgern (46,0%) keine bis vereinzelte Erythrozyten zu sehen waren. Auf 19 Objektträgern (38,0%) waren wenige Erythrozyten und auf acht (16,0%) viele zu sehen. Dichte Zellhaufen waren in 12 Präparaten (24,0%) vorhanden. In Tabelle 35 sind die Ergebnisse der Beurteilung der 50 zytologischen Präparate aufgelistet.

Tabelle 35: High power fields (HPF) und Zellen pro Objektträger (OT) von 50 Kühen mit klinisch manifester Endometritis am 21.-27. Tag p.p.

| Parameter                     | Summe | Mittelwert pro OT | Min-Max pro OT |
|-------------------------------|-------|-------------------|----------------|
| Gezählte HPF                  | 1497  | 30                | 1-149          |
| Leere HPF                     | 311   | 6                 | 0- 96          |
| Nicht auswertbare HPF         | 1     | 0                 | 0- 1           |
| HPF mit Zellen                | 1186  | 23                | 1- 80          |
| PMN                           | 7251  | 145 (48,3%)       | 0-276          |
| Lymphozyten                   | 289   | 6 (2,0%)          | 0- 48          |
| Endometriumszellen            | 2064  | 41 (13,7%)        | 1-201          |
| Tote Zellen                   | 4872  | 97 (32,2%)        | 2-247          |
| Nicht differenzierbare Zellen | 525   | 11 (3,7%)         | 0- 33          |

In 48 Präparaten (96,0%) wurden mehr als 5% neutrophile Granulozyten gefunden, zwei Präparate (4,0%) enthielten keine PMN. Der höchste ermittelte Prozentsatz an PMN in einem Präparat betrug 92,0%. Im Durchschnitt betrug der PMN-Wert 48,3%. Abbildung 25 zeigt die Verteilung des Gehaltes an PMN der Tiere mit klinisch diagnostizierter Endometritis zur PK 1. Lymphozyten wurden auf 41 Objektträgern (82%) entdeckt und auf neun OT (18%) wurden keine Lymphozyten gesehen. Der höchste Prozentsatz an Lymphozyten auf einem Objektträger lag bei 16,0%. Im Durchschnitt lag er bei 2,0%.

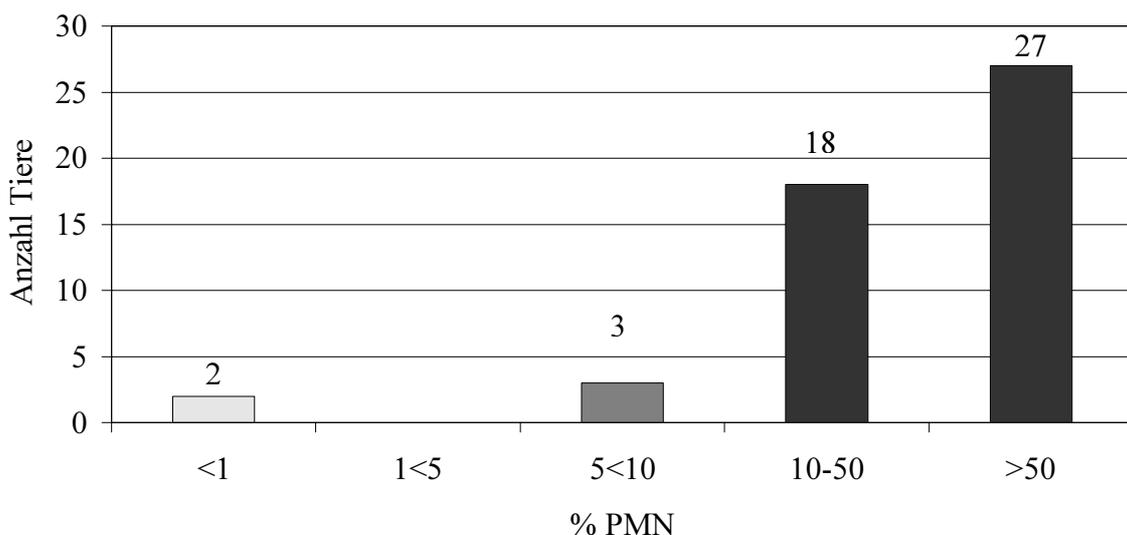


Abbildung 25: Anzahl der Tiere mit klinisch manifester Endometritis bei der PK 1 und deren PMN-Gehalt im zytologischen Präparat

#### 4.2.4.3 Ergebnis der Cytobrush-Untersuchung im Bezug zur klinischen Diagnose

In Abbildung 26 ist zu jeder klinischen Diagnose (E 1-E 3, Inhalt) ein Boxplot für die PMN-Werte dargestellt. Die PMN-Gehalte der einzelnen Endometritis-Schweregrade unterscheiden sich nicht signifikant (Kruskal-Wallis-H-Test). Bei je einer Kuh mit einer Endometritis ersten Grades (4,8%) und einer Kuh mit einer Endometritis zweiten Grades (4,0%) wurden keine PMN im zytologischen Präparat gefunden.

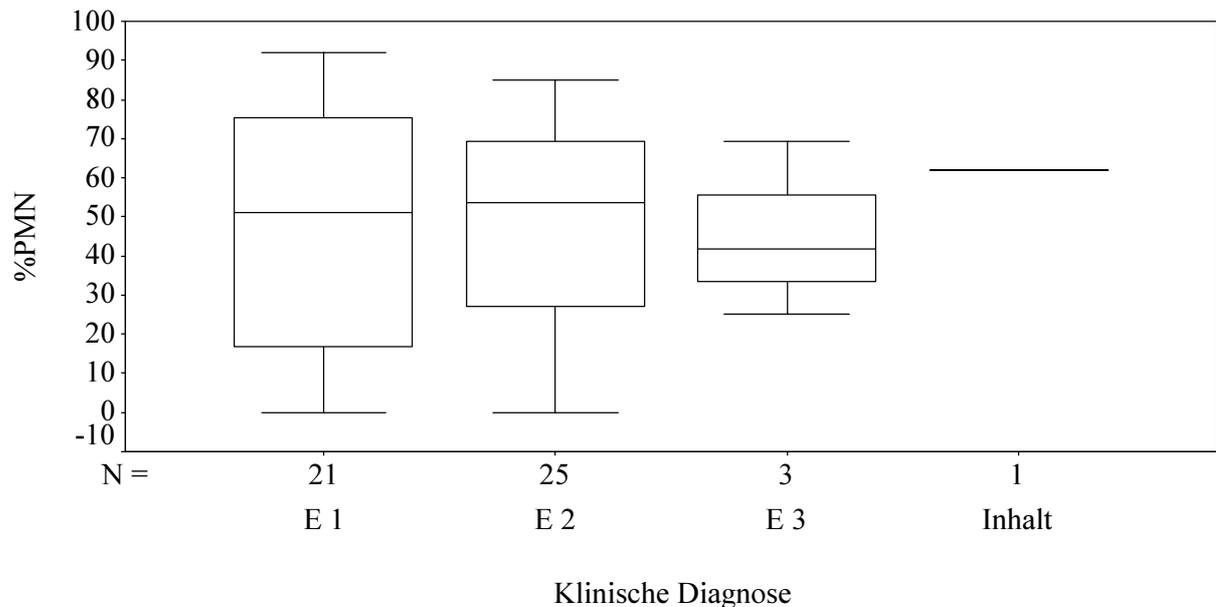


Abbildung 26: PMN-Werte im Bezug zum klinisch diagnostizierten Endometritisgrad

#### 4.2.5 Vergleich der Zählergebnisse zwei unabhängiger Untersucher

Bei der PK 1 wurden die zytologischen Präparate von 403 Tiere jeweils von zwei Untersuchern gezählt. Der ermittelte PMN-Gehalt dieser beiden Untersucher ist in Abbildung 27 dargestellt. Im niedrigen Bereich ist eine Kumulation der Ergebnisse zu beobachten. Die mittlere Abweichung betrug 6,7 Prozentpunkte. Eine Abweichung von maximal einem Prozentpunkten PMN wurde bei 156 Präparaten (38,7%) und eine Abweichung von maximal 5 Prozentpunkten PMN bei 273 Präparaten (67,7%) gezählt. Die höchste Abweichung betrug 79,7 Prozentpunkte. Auf die zwei Gruppen (gesund, subklinische Endometritis) bezogen, stimmten die Zählergebnisse der beiden Untersucher zu 86,6% (n=349) überein. Bei 13,4 % (n=54) wären die Tiere in unterschiedliche Gruppen eingeteilt worden. Der Korrelationskoeffizient nach Spearman-Rho betrug 0,761 ( $p < 0,01$ ).

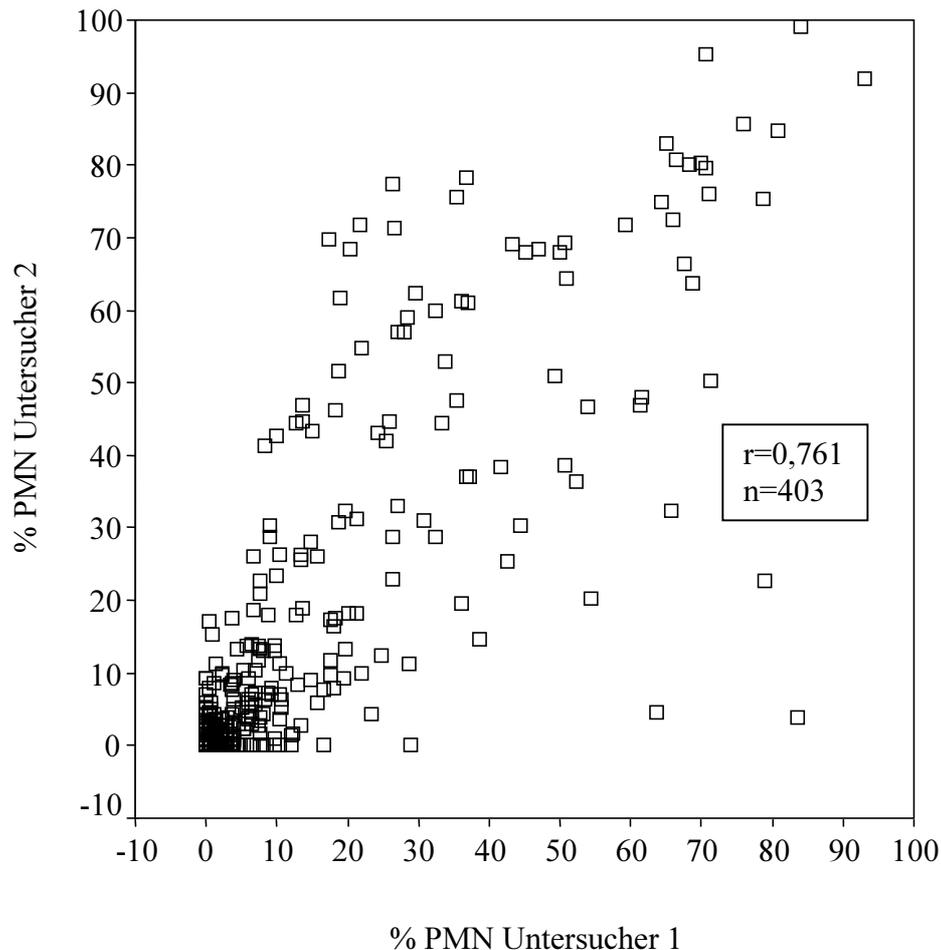


Abbildung 27: Zählergebnisse der zwei Untersucher bei 403 klinisch gesunden Kühen (21.-27. Tag p.p.)

In Abbildung 28 sind die Ergebnisse der beiden Untersucher bei den 50 Kühen, die zur PK 1 eine klinische Endometritis aufwiesen, wiedergegeben. Bei vier Präparaten (8,0%) war eine Abweichung von maximal einem Prozentpunkt PMN vorhanden. Eine Abweichung von maximal 5 Prozentpunkten wurde bei acht Präparaten (16,0%) ermittelt. Bei 11 Präparaten (22,0%) betrug die Differenz an gezählten PMN >5-10 Prozentpunkte, bei 12 Präparaten (24%) >10-20 Prozentpunkte und bei 19 Präparaten (38%) mehr als 20 Prozentpunkte. Bei diesen Präparaten betrug die maximale Differenz der zwei Untersucher 83,0 Prozentpunkte. Die mittlere Abweichung ergab 20,7 Prozentpunkte. Der Korrelationskoeffizient nach Spearman-Rho betrug 0,635 ( $p < 0,01$ ).

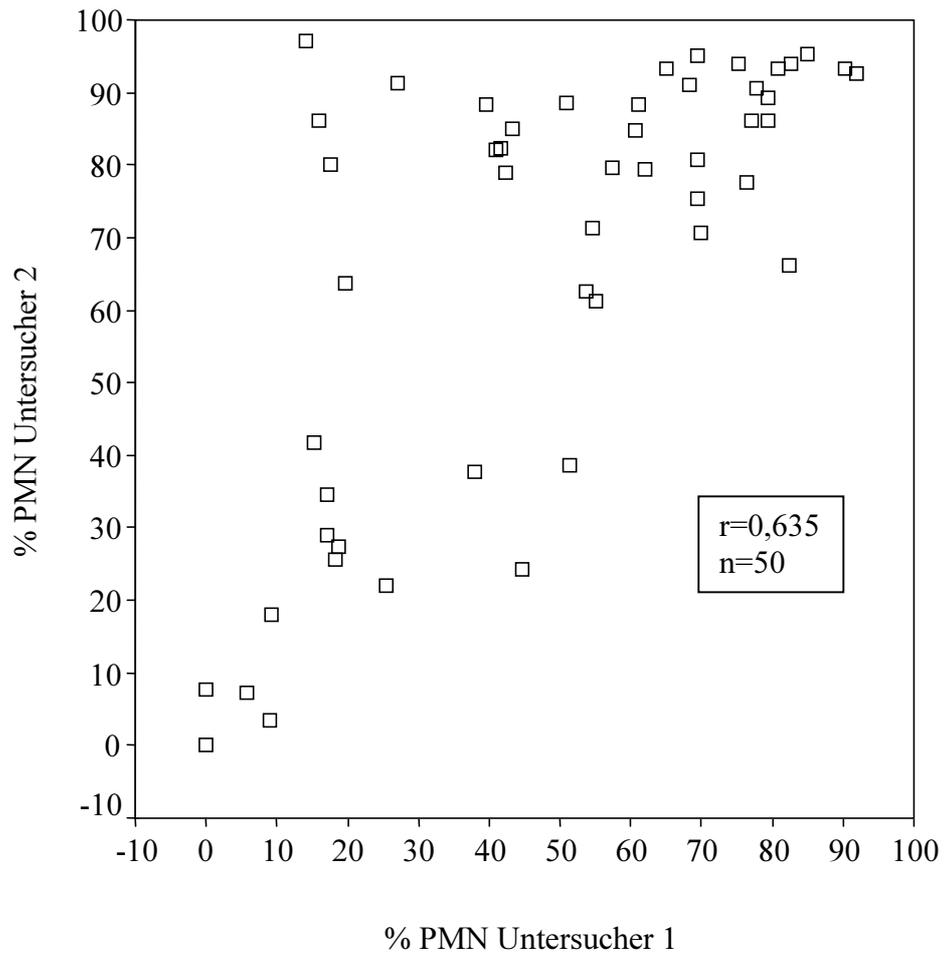


Abbildung 28: Zählergebnisse der zwei Untersucher bei 50 Kühen mit klinisch manifester Endometritis (21.-27. Tag p.p.)