

5 Diskussion

5.1 Probenentnahme mittels Cytobrush-Technik

Die Zellgewinnung aus der Gebärmutter des Rindes mittels Cytobrush-Technik erfordert eine Einarbeitung in die Methodik. Trotzdem war in der vorliegenden Studie eine Zervixpassage nicht bei allen Tieren möglich. Der Anteil an erfolgreichen Zervixpassagen am 21.-27. Tag p.p. (96,7%) entsprachen in etwa den Angaben erfolgreicher Biopsien am 26. Tag p.p. von Bonnett et al. (1991a). Ihr Anteil an erfolgreichen Biopsien am 40. Tag nach der Kalbung war jedoch niedriger als der Anteil an erfolgreichen Zellgewinnungen mittels Cytobrush-Methode am 35.-41. Tag p.p. in der vorliegenden Studie. Griffin et al. (1974a) erklärten ihre Schwierigkeiten bei der Probenentnahme damit, dass sich die Kühe in der Gelbkörperphase des Sexualzykluses befanden. Humanmediziner gaben einen engen Zervikalkanal als Hauptgrund für das Versagen einer Zellentnahme aus dem Uterus an (Vuopala et al. 1989).

In der vorliegenden Studie war das Material auf dem Cytobrush bei etwa 15% der Zellentnahmen von blutiger Beschaffenheit. In der Humanmedizin wurde über das Auftreten von Blutungen, nach einer Zellentnahme aus dem Uterus oder der Zervix, berichtet (Byrne 1990, Germain et al. 1994). Zur ersten Untersuchung (PK 1, 21.-27. dpp) war der Anteil an Cytobrush mit blutigem Material signifikant höher als bei der zweiten Untersuchung (NU 1) zwischen dem 35. und 41. Tag nach der Kalbung. Auch zeigten sich zur PK 1 mehr Erythrozyten auf den Objektträgerpräparaten als zur NU 1. Eine Erklärung hierfür wäre, dass das Gesamtpuerperium zu diesem Zeitpunkt noch nicht abgeschlossen war (Grunert und Andresen 1996) und daher das Endometrium auf Manipulationen eher mit einer Blutung reagierte. Es könnte aber auch sein, dass die Blutung schon vorhanden war und durch die Cytobrush-Untersuchung entdeckt wurde. Wingfield Digby (1978) beschrieb das Auftreten von geringen Mengen an Erythrozyten im zytologischen Präparat als Ergebnis eines gesetzten Traumas. Große Mengen kamen in Fällen mit akuter Endometritis vor. Dieser Sachverhalt könnte durch eine vorherige Hysteroskopie abgeklärt werden. In der Nutztiermedizin ist dies allerdings nur von theoretischem Wert. Die Qualität des Cytobrush bei der Probenentnahme lies Vermutungen über den Anteil an polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten im Objektträgerpräparat zu. Jedoch erlaubte sie keine Aussage über die tatsächliche Zahl an PMN.

Insgesamt wurden mit der Cytobrush-Methode genügend Zellen für eine zytologische Auswertung gewonnen. Dies stimmt mit Untersuchungen von Bourke et al. (1997) und

Kasimanickam et al. (1999) überein. Die Autoren sahen in der Cytobrush-Methode eine Verbesserung der Gewinnung uteriner Zellen gegenüber der Zellgewinnung mit einem Baumwolltupfer oder einer Uterusspülung. Der Anteil an unbefriedigenden Objektträgerpräparaten lag in der vorliegenden Studie unter 2% und wurde als akzeptabel beurteilt.

5.2 Einflüsse auf die Genauigkeit der Untersuchungsmethode

Jede Methode birgt in sich die Möglichkeit falsch positive und falsch negative Ergebnisse zu erzielen. Sowohl bei der Biopsie als auch bei der Cytobrush-Untersuchung des Uterus kann es zu falsch negativen Befunden kommen. Ergebnisse dieser Untersuchungsverfahren repräsentieren nur einen begrenzten Bereich der Schleimhaut. Nach Metzner und Weiler (1994) besteht keine gleichmäßige Leukozyteninfiltration über das gesamte Endometrium. In einer Studie von Lindsay und Devine (1983) wurden bei einer endoskopischen Untersuchung des Uterus lokal begrenzte Eiteransammlungen gefunden. Eine zytologische Methode kann ebenfalls falsch positive Ergebnisse liefern. Dies kann geschehen, wenn sich das Tier in der Follikelphase befindet und es zu einer physiologischen Leukozytose der Uterusschleimhaut kommt (Butt et al. 1991, Aurich und Grunert 1996). Derzeit gibt es keine Veröffentlichung über die Zellgewinnung mit der Cytbrush-Methode bei brünstigen Kühen und deren PMN-Gehalt. Butt et al. (1991) gewannen acht Stunden nach der Hochbrunst bei 26 Färsen Zellen mittels Uterusspülung. Die Autoren berichteten von einem Anteil von 2,7-3,0% PMN. In der vorliegenden Studie lag der Anteil an neutrophilen Granulozyten im zytologischen Präparat von Kühen, die sich zur PK 1 (21.-27. dpp) im Östrus befanden zwischen 0,0% und 63,7% (n=23). Zur NU 1 (35.-41. dpp) lag der maximal ermittelte PMN-Gehalt um 35 Prozentpunkte niedriger als zur PK 1. Der Anteil der brünstigen Kühen mit einem PMN-Anteil von mindestens 5% im zytologischen Präparat war zur PK 1 signifikant höher als zur NU 1. Es ist davon auszugehen, dass die Tiere mit einem hohen Anteil an PMN, neben der Brunst, eine katarrhalische Endometritis aufwiesen. Da diese mittels klinischer Untersuchung nicht von einer Brunst differenziert werden konnte, wurden die Tiere mit mindestens 5% PMN der Gruppe von Kühen mit subklinischer Endometritis zugeteilt.

5.3 Reproduzierbarkeit

5.3.1 Verschiedene Zählweisen

Bezüglich der absoluten PMN-Werte gab es zwischen den fünf verschiedenen Zählweisen gewisse Differenzen. In den niedrigen PMN-Bereichen waren die Spannen der PMN-Werte der fünf Zählweisen nicht so hoch wie in den höheren Bereichen. Viele Untersucher gaben keine Vorgehensweise an, wie die Objektträgerpräparate bei der mikroskopischen Auswertung nach Zellen durchsucht wurden (Ball et al. 1988, Bourke et al. 1997, Kasimanickam et al. 1999, Hammon et al. 2001, Kasimanickam et al. 2004). Geht man davon aus, dass sie willkürlich gewählte Gesichtsfelder betrachteten, käme dies der Zählweise 5 in der vorliegenden Studie gleich. Es ist jedoch nicht außer Acht zu lassen, dass verschiedene Verfahren der Zellgewinnung zur Anwendung kamen. Nur Bourke et al. (1997) und Kasimanickam et al. (2004) verwandten die Cytobrush-Methode. Auf die in dieser Studie festgelegte Grenze von 5% PMN bezogen, wurden 71,4% der Objektträgerpräparate bei allen fünf Zählweisen gleich eingestuft. Dies wird als hohe Übereinstimmung der Zählweisen gewertet. Demnach ist es nicht nötig die Auswertung der zytologischen Ausstriche auf eine bestimmte Vorgehensweise festzulegen.

5.3.2 Reproduzierbarkeit der Probenentnahme

Bei der zweimaligen Cytobrush-Untersuchung im Abstand von 20 Minuten betrug der Anteil an Objektträgern, die bei der zweiten Entnahme mehr PMN zeigten als bei der ersten Entnahme 80,9%. Bei der zweimaligen Zellentnahme aus dem Uterus innerhalb von zwei Minuten waren dies nur 37,0%. Dieser Unterschied war statistisch signifikant. Mit der Zellentnahme mittels Cytobrush wurde ein mechanischer Reiz gesetzt. Eine Reaktion der Schleimhaut war zu erwarten. Vorausgesetzt der Untersucher entnahm die beiden zeitlich aufeinander folgenden Proben von exakt der gleichen Stelle, wäre dieser Unterschied durch eine Einwanderung von Leukozyten erklärbar. Neutrophile Granulozyten brauchen für die Emigration in extravaskuläres Gewebe nur wenige Minuten (Weiss 1990), sodass sich ein Anstieg der PMN im Endometrium nach 20 Minuten eher bemerkbar macht als nach zwei Minuten.

5.3.3 Reproduzierbarkeit der Zellzählung

Kasimanickam et al. (2001) führten ebenfalls eine Doppelzählung durch. Der von ihnen angegebene Korrelationskoeffizient war höher als in der vorliegenden Studie. Die von Kasimanickam et al. (2001) bestimmte Korrelation nach Lin (1989) beschreibt normalverteilte Daten. In der vorliegenden Studie wurde ein Korrelationskoeffizient für nicht normalverteilte Daten (Spearman-Rho) berechnet. Der ermittelte Wert war hoch. Dies zeigt einen positiven Zusammenhang der Ergebnisse der beiden Zählungen, macht jedoch keine Aussage über die tatsächlich gezählten Werte und deren Abweichungen voneinander. Daher wurde zusätzlich eine Darstellung im Streudiagramm gewählt. Auch hier war zu sehen, dass die Abweichungen im niedrigen PMN-Bereich nicht so stark waren wie im hohen Bereich. Bezüglich der Einteilung der Tiere anhand der 5%-Grenze waren 80,0% der beiden Zählungen übereinstimmend. Dieses Ergebnis wurde als gut bewertet. Vorhandene Abweichungen sind dadurch zu erklären, dass der Untersucher zu einem späteren Zeitpunkt nicht exakt die gleichen Gesichtsfelder beurteilte wie zum Zeitpunkt der ersten Zählung.

5.3.4 Vergleich der Zählergebnisse zwei unabhängiger Untersucher

Die Korrelationskoeffizienten der Ergebnisse der beiden Untersucher für klinisch gesunde Tiere und für Kühe mit einer klinisch diagnostizierten Endometritis waren jeweils hoch. Für die Ergebnisse der klinisch gesunden Tiere war der Koeffizient höher als für die Ergebnisse der Tiere mit klinischer Endometritis. Dies kann durch die höheren PMN-Werte bei klinischen Endometritiden und damit verbundenen Schwankungen erklärt werden. Beide Koeffizienten lagen unter dem von Kasimanickam et al. (2001) erzielten Wert. Die Autoren bestimmten die Korrelation nach Lin (1989) für normalverteilte Daten. Da ein Korrelationskoeffizient keine Aussage über die tatsächlich gezählten Werte der Untersucher und deren Abweichungen voneinander macht, wurde auch an dieser Stelle zusätzlich eine Darstellung im Streudiagramm gewählt. Bezüglich der Einteilung der klinisch gesunden Tiere anhand der 5%-Grenze waren 86,6% der Tiere von beiden Untersuchern übereinstimmend beurteilt worden. Dieses Ergebnis wurde als sehr gut bewertet und zeigte, dass nicht unbedingt ein und derselbe Untersucher die zytologische Auswertung durchführen muss. Abweichungen sind dadurch zu erklären, dass die Untersucher nicht exakt die gleichen Gesichtsfelder beurteilten.

5.4 Untersuchungsergebnisse zur PK 1 und NU 1

5.4.1 Tiere mit subklinischer Endometritis

5.4.1.1 Häufigkeit

Von 407 mittels Untersuchung vom Rektum her als gesund diagnostizierten Kühen wiesen 41,3% der Tiere nach der getroffenen Einteilung ($<5\%$ PMN, $\geq 5\%$ PMN) eine subklinische Endometritis auf. Der Anteil der Tiere, die nach einer vaginoskopischen Untersuchung als gesund befunden worden waren, aber bei der Cytobrush-Untersuchung eine subklinische Endometritis aufwiesen, lag mit 39,0% nur geringfügig niedriger. Die zusätzliche vaginoskopische Untersuchung führte demnach nicht zu einer höheren Selektionsrate. Zu berücksichtigen ist jedoch, dass nur nach rektaler Palpation gesund diagnostizierte Tiere vaginoskopiert wurden und die Anzahl der Tiere gering war. Kasimanickam et al. (2004) führten die Cytobrush-Untersuchung bei Kühen durch, die nach einer vorherigen vaginoskopischen Untersuchung keine krankhaften Befunde aufwiesen. In ihrer Studie war der Anteil an Tieren mit subklinischen Endometritiden etwas höher als in der vorliegenden Studie (45,1% vs. 41,3%). Die Autoren diagnostizierten eine subklinische Endometritis jedoch nicht ausschließlich auf zellulärer Basis, sondern berücksichtigten auch die Ergebnisse einer Ultraschalluntersuchung des Uterus. Daher sind die Ergebnisse nicht unmittelbar vergleichbar.

Zur PK 1 war der Anteil an Tieren mit einer subklinischen Endometritis signifikant höher als zur NU 1. Diese Ergebnisse stimmen mit denen von Bonnett et al. (1991a) überein. Die Autoren berichteten von einem Absinken des Anteils an Bioptaten mit segmentierten Zellen als vorherrschende Zellen vom 26. bis zum 40. Tag p.p. Auch in einer Studie von Kasimanickam et al. (2004) war der Anteil an Kühen mit subklinischen Endometritiden zur zweiten Untersuchung niedriger als zur ersten. Dies deutet auf eine gewisse Selbstheilungstendenz chronischer Endometritiden hin, über die auch von anderen Autoren berichtet wurde (Knutti et al. 2000, LeBlanc et al. 2002b, Falkenberg und Heuwieser 2003).

5.4.1.2 Anteil der PMN

Kasimanickam et al. (2004) ermittelten einen mittleren Prozentsatz von 19% PMN (0-83%) im zytologischen Präparat (n=228 Kühe, 20.-33. dpp). Dieser Wert lag über dem der vorliegenden Studie. Die Autoren setzen die Grenze für das Vorliegen einer subklinischen

Endometritis bei 18% PMN. Etwa 35% der von ihnen untersuchten Kühe wiesen mehr als 18% PMN auf (Kasimanickam et al. 2004). In den Untersuchungen von Strube et al. (1991) zeigten Sekretaustriebe von klinisch als gesund beurteilten Tieren nach 3-4 Wochen p.p. nur noch sehr vereinzelt Granulozyten. Rund 59% der Tiere der vorliegenden Untersuchung wiesen einen PMN-Gehalt von weniger als 5% auf. Diese Unterschiede können in verschiedenen Auswahlkriterien bei der klinischen Untersuchung für „gesund“ begründet sein. Auch eine andere Probenentnahme oder zytologische Begutachtung kann als Ursache angesehen werden. Weiterhin ist es möglich dass es sich um tatsächliche Unterschiede in der Endometritishäufigkeit handelt. Diese können durch einen unterschiedlich hohen Infektionsdruck sowie Unterschiede im Abkalbmanagement der Betriebe bedingt sein. Von einem Herdeneffekt auf die Endometritisinzidenz berichteten Bartlett et al. (1986), Peeler et al. (1994) und Lewis (1997).

5.4.1.3 Laktationsnummer

Bezüglich des Vorkommens von subklinischen Endometritiden gab es in der vorliegenden Studie keinen signifikanten Unterschied zwischen Erstkalbinnen und Altkühen (≥ 2 . Laktation). Dennoch war der Anteil an Tieren mit einer subklinischen Endometritis bei Erstkalbinnen numerisch höher als bei pluriparen Kühen. Diese Ergebnisse gehen mit denen von Peeler et al. (1994) einher, bei welchen erstlaktierende Kühe die höchste Laktationsinzidenz für klinische Endometritiden aufwiesen. Auch in einer Studie von Tenhagen et al. (2001) war eine höhere Endometritishäufigkeit bei erstlaktierenden Kühen gegeben.

5.4.1.4 Klinische Untersuchung

Die klinischen Untersuchungsbefunde am Uterus bei gesunden Kühen und Kühen mit subklinischen Endometritiden ergaben einen höheren Anteil an größeren Uteri (G III) und an asymmetrischen Uterushörnern in der Gruppe der subklinisch erkrankten Tiere. Statistisch waren die Unterschiede jedoch nicht signifikant. Die Palpation des Organs vom Rektum her kann somit nur einen ersten Hinweis auf das Vorliegen einer subklinischen Endometritis geben. Bei der klinischen Untersuchung zur PK 1 wurden bei signifikant weniger Tieren mit subklinischer Endometritis ein Gelbkörper ertastet, als bei Tieren die zytologisch gesund waren. Dieses Ergebnis wurde durch die Progesteronbestimmung bestätigt. Dies ist in Übereinstimmung mit den Ergebnissen verschiedener Autoren, die berichteten dass Tiere mit

chronischer Endometritis häufig keine Funktionskörper auf den Ovarien aufwiesen (Knutti et al. 2000, Drillich et al. 2002).

Bei der vaginoskopischen Untersuchung waren bei 25 Kühen abnormaler Ausfluss aus der Portio vaginalis cervicis oder Sekretansammlung in der Vagina zu sehen. Von diesen wiesen jedoch nur 15 Tiere (60,0%) mehr als 5% PMN im zytologischen Präparat auf. Dieser Anteil war niedriger als erwartet. Bei keinem der vaginoskopisch untersuchten Tiere wurden jedoch Befunde bei der Palpation des Uterus erhoben, die auf eine Erkrankung des Organs schließen lassen würden. Daher ist es möglich, dass einige der Tiere mit pathologischem Ausfluss keine Endometritis, sondern eine Zervizitis hatten. Auch ist es möglich, dass nicht jeder pathologisch erscheinende Ausfluss mit einer Erhöhung der PMN im Uterus einhergeht. Um hierüber eine Aussage machen zu können ist die Anzahl der Tiere mit Ausfluss in der vorliegenden Untersuchung jedoch zu gering. Von den 82 Kühen die bei der Vaginoskopie klaren Schleim oder keinen Ausfluss zeigten, wiesen 32 Tiere (39,0%) eine subklinische Endometritis auf. Die alleinige vaginoskopische Untersuchung kann auch bei klinisch manifesten Endometritiden falsch negative Ergebnisse liefern. Dies kann geschehen wenn die Zervix geschlossen ist, sich jedoch entzündliches Sekret in der Gebärmutter befindet. Durch die vorherige Untersuchung vom Rektum her wurden in dieser Studie Tiere, mit einer palpatorisch feststellbaren Flüssigkeitsansammlung im Uterus, ausgeschlossen. Diese Ergebnisse zeigen, dass entzündliche Vorgänge im Uterus, die zum Untersuchungszeitpunkt ohne klinisch feststellbare Befunde einhergehen, mit einer Cytobrush-Untersuchung erfasst werden können.

5.4.2 Fruchtbarkeitskennzahlen

Um Ergebnisse verschiedener Studien zu vergleichen, muss nach Gröhn et al. (1990) die Definition der Krankheit, die Diagnosekriterien und die Herkunft und Methoden der Datensammlung berücksichtigt werden. In der einschlägigen Literatur wurden unterschiedliche Definitionen für Endometritiden und verschiedene Diagnoseverfahren verwendet. Erhobene Daten wurden auf unterschiedliche Weisen ausgewertet. Dies erschwert den direkten Vergleich verschiedener Studien untereinander. Daher soll im Folgenden hauptsächlich die Auswirkung einer Entzündung auf die Fruchtbarkeit innerhalb einer Untersuchung mit den vorliegenden Ergebnissen diskutiert werden.

5.4.2.1 Rastzeit, Brunstnutzungsrate und Erstbesamungserfolg

In den durchgeführten Untersuchungen unterschieden sich die mittleren Rastzeiten der beiden Studiengruppen (gesunde Tiere und Tiere mit subklinischer Endometritis) nicht wesentlich. Frühere Studien berichteten von einer verlängerten Rastzeit von 5-25 Tagen bei Tieren mit klinisch manifester Endometritis gegenüber klinisch gesunden Kühen (Sandals et. al. 1979, Oltenacu et al. 1990, LeBlanc 2002a). In einer Studie von Kasimanickam et al. (2004) wiesen Kühe mit einer subklinischer Endometritis keine signifikant längere Rastzeit auf als uterusgesunde Kühe. Auch Gilbert et al. (1998), welche die Einteilung in Endometritis-positiv oder -negativ anhand einer zytologischen Untersuchung trafen, fanden keine statistisch signifikante Differenz zwischen den Rastzeiten der beiden Gruppen.

Die Brunstnutzungsrate (BNR) hat den größten Einfluss auf die Herdenfruchtbarkeit (Barr 1975). In der vorliegenden Studie lag die Brunstnutzungsrate über dem von Esslemont (1992) ermittelten Durchschnitt für britische Herden (50,5%). In beiden Gruppen der Feldstudie war die BNR mit 61,4% gleich hoch. Eine mögliche Ursache hierfür ist in der Brunstinduktion mittels Prostaglandin $F_{2\alpha}$ nach Ablauf der Freiwilligen Wartezeit zu sehen. Auch eine Studie von Tenhagen und Heuwieser (1999) zeigte, dass bei der Durchführung eines strategischen Prostaglandinprogrammes die BNR bei klinisch gesunden Tieren und bei Tieren mit klinisch manifester Endometritis, annähernd gleich war. Da die BNR einen wesentlichen Einfluss auf die Rastzeit hat (Barr 1975), erklärt sich hieraus die annähernd gleich hohen Rastzeiten der beiden Gruppen in der vorliegenden Arbeit. Auch bei Tischer (1998) wurden die BNR und die Rastzeit, sowohl klinisch gesunder Tiere als auch von Tieren mit klinischer Endometritis, durch die Behandlung mit einem Prostaglandin $F_{2\alpha}$ -Analogon positiv beeinflusst.

Der Erstbesamungserfolg (EBE) der Kühe mit subklinischen Endometritiden war im Vergleich zu der Gruppe der zytologisch gesunden Tiere herabgesetzt. Dieser Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant. Hammon et al. (2001) untersuchten den Effekt von Endometritiden bei Milchkühen zu Beginn der Zuchtperiode auf die folgende Fruchtbarkeit. Kühe mit gering-, mittel- oder hochgradiger Entzündung hatten im Vergleich zu gesunden Tieren eine signifikant niedrigere Wahrscheinlichkeit aus der ersten Besamung tragend zu werden. Auch Fourichon et al. (2000) und Drillich et al. (2002) berichteten von einem negativen Effekt einer Endometritis auf den EBE. Miller et al. (1980) ermittelte einen herabgesetzten EBE ausschließlich bei hochgradigen Endometritiden. Dagegen hatten in der Studie von Wittke (2002) Kühe, die bei der ersten Puerperalkontrolle (22.-28. dpp) Anzeichen einer Endometritis zweiten und dritten Grades aufwiesen, einen signifikant schlechteren

Erstbesamungserfolg als solche, die keine Anzeichen einer Endometritis gezeigt hatten. Tiere mit Anzeichen einer Endometritis ersten Grades zeigten zwar einen schlechteren Erstbesamungserfolg als Tiere ohne Anzeichen einer Endometritis, der Unterschied war jedoch nicht signifikant. Eine Erklärung hierfür wäre, dass klarer Schleim mit Eiterflocken im ersten Monat p.p. eine erfolgreiche Immunantwort der Kuh auf eine bakterielle Herausforderung anzeigt (LeBlanc et al. 2002a). In einer Studie von Tenhagen et al. (2001) wurden Puerperalkontrollen am 14.-20. Tag p.p. durchgeführt. Zu diesem Zeitpunkt klinisch diagnostizierte Endometritiden hatten keinen negativen Einfluss auf den späteren EBE. Dies deutet darauf hin, dass durch die Selbstheilungstendenz chronischer Endometritiden der Zeitpunkt der Diagnostik eine bedeutende Rolle für die Vorhersagbarkeit der Fruchtbarkeit spielt (LeBlanc et al. 2002a). Es ist anzunehmen, dass der negative Einfluss einer Endometritis auf den EBE um so gravierender ist, je länger die Entzündung andauert oder je später sie diagnostiziert wird. Kasimanickam et al. (2004) fanden keinen signifikant herabgesetzten EBE bei Tieren mit subklinischen Endometritiden am 20.-33. Tag p.p. Jedoch war das Vorhandensein einer subklinischen Entzündung zum Zeitpunkt ihrer wiederholten Untersuchung (34.-47. dpp) mit einem signifikant herabgesetzten Erstbesamungserfolg assoziiert.

5.4.2.2 Konzeptionsrate, Günstzeit und Trächtigkeitsindex

In der vorliegenden Studie lag die Konzeptionsrate der subklinisch an einer Endometritis erkrankten Tiere über der Konzeptionsrate der gesunden Tiere. Das heißt, dass in der gesamten Gruppe der erkrankten Tiere numerisch weniger Besamungen pro erzielter Trächtigkeit nötig waren als in der Gruppe der gesunden Tiere. Dieser Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant. Tenhagen und Heuwieser (1999), Heuwieser et al. (2000) und Drillich et al. (2002) berichteten von einer herabgesetzten Konzeptionsraten von Tieren mit klinischer Endometritis im Vergleich zu klinisch gesunden Tieren. Aus dem Ergebnis der vorliegenden Studie kann man annehmen, dass die Konzeptionsrate durch eine subklinische Erkrankung nicht so stark beeinflusst wird, wie durch eine klinisch manifeste Endometritis.

Sowohl klinische als auch subklinische Endometritiden können zu einer Verlängerung der Günstzeit führen (Borsberry und Dobson 1989, Gilbert et al. 1998, LeBlanc et al. 2002a, Kasimanickam et al. 2004). Wittke (2002) berichtete von verlängerten Günstzeiten mit zunehmendem Schweregrad der Endometritis. Einen signifikanten Unterschied beschrieb die Autorin jedoch nur zwischen gesunden Tieren und Tieren, die eine Endometritis dritten Grades aufwiesen. In der vorliegenden Arbeit unterschied sich die mittlere Günstzeit der

Gruppe der subklinisch an einer Endometritis erkrankten Tiere nicht wesentlich von der der gesunden Tiere. Große Unterschiede von 39 Tagen oder 29 bzw. 62 Tagen wie sie von Gilbert et al. (1998) und Kasimanickam et al. (2004), zwischen gesunden und erkrankten Kühen berichtet wurden, konnten in dieser Untersuchung nicht bestätigt werden. Bei den beiden letztgenannten Autoren wurde die Gützeit jedoch anhand einer Überlebensanalyse errechnet, in welche sowohl tragend gewordene als auch güst gebliebene Tiere eingeflossen waren. In der vorliegenden Studie wurde die Gützeit ausschließlich von Kühen berechnet, welche tatsächlich tragend wurden. Die annähernd gleich langen Gützeiten beider Studiengruppen deuten auf eine Ausheilung der subklinischen Endometritis bei diesen Tieren hin. Die Gützeiten schließen allerdings nur die tragenden Tiere ein und geben keinen Hinweis auf den Anteil nicht tragender Tiere.

Der empfohlene Trächtigkeitsindex (TI) von maximal 1,6 wurde in der vorliegenden Studie nicht erreicht. Dennoch war der TI in der Gruppe der erkrankten Tiere numerisch höher als in der Gruppe der gesunden Tiere. In den Untersuchungen von Sandals et al. (1979) und LeBlanc et al. (2002a) wurde ebenfalls von einem Unterschied zwischen den Trächtigkeitsindizes klinisch erkrankter und gesunder Kühe berichtet. Bei Sandals et al. (1979) war dieser Unterschied jedoch bedeutender höher als in der vorliegenden Arbeit. Dies deutet darauf hin, dass der Einfluss einer subklinischen Gebärmutterentzündung auf die Anzahl der Besamungen pro tragend gewordenem Tier nicht sehr hoch war.

5.4.2.3 Anteil tragender Tiere und Abgangsraten

Die vorliegende Feldstudie ergab, dass der Anteil tragender Tiere bis zum 200. Tag p.p. in der Gruppe der Kühe mit subklinischer Endometritis statistisch signifikant geringer war als in der Gruppe der gesunden Kühe. Dies stimmt mit den Ergebnissen von Gilbert et al. (1998) überein, welche die Tiere ihrer Studie bis zum 300 Tag p.p. verfolgten. Übereinstimmend ist das Resultat auch mit den Ergebnissen von Heuwieser et al. (2000), Knutti et al. (2000) und Drillich et al. (2002). Die Autoren verglichen allerdings Tiere, die eine klinisch manifeste Endometritis aufwiesen mit Tieren, die bei der klinischen Untersuchung unauffällig waren. Wittke (2002) berichtete von einem sinkenden Anteil tragender Tieren mit steigendem Grad der mittels rektaler Palpation diagnostizierten Endometritiden. Zwischen Tieren mit geringgradiger Endometritis und gesunden Kühen bestand kein signifikanter Unterschied. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen der vorliegenden Studie. Es ist jedoch anzumerken, dass in der Studie von Wittke (2002) auch Tiere mit geringgradiger Entzündung

mit einem Prostaglandin $F_{2\alpha}$ -Analogon behandelt wurden. Die hohe Trächtigkeitsrate könnte demnach einen Therapieerfolg widerspiegeln.

Die Gesamtabgangsrate in dieser Feldstudie lag mit 18,4% unter den von Tischer (1998) und Wittke (2002) angegebenen Werten. Jedoch ist hierbei zu berücksichtigen, dass in die vorliegende Untersuchung eine selektierte Gruppe von Tieren einging, die bei der Puerperalkontrolle als uterusgesund diagnostiziert worden waren. Andere Autoren berichten von Abgangsraten zwischen 14,5% und 28,7% (Bostedt und Maurer 1990, Kristula et al. 1992, Esslemont und Kossaibati 1997). Individuelle Kriterien der einzelnen Betriebe bei der Selektion von Tieren zur Weiterzucht oder Schlachtung können eine Rolle für unterschiedlich hohe Abgangsraten in verschiedenen Studien spielen. Diese Entscheidungen sind Teil des gesamten Herdenmanagements und kann hiervon nicht isoliert betrachtet werden (Monti et al. 1999). Selten gaben Autoren Definitionen für die von ihnen dargestellten Abgangsraten an (Radke und Lloyd 2000), wodurch der direkte Vergleich verschiedener Studien erschwert wird. Die Abgangsrate von Kühen mit subklinischen Endometritiden lag in dieser Studie signifikant höher als die Abgangsrate der gesunden Kühe. Dies stimmt mit den Ergebnissen verschiedener Autoren für klinische Endometritiden überein (Bartlett et al. 1986, LeBlanc et al. 2002a). Eine Beziehung zwischen dem Auftreten einer Metritis nach dem 50. Tag p.p. und einem erhöhten Abgangsrisiko fanden Martin et al. (1982) und Beaudeau et al. (1995). Der Effekt einer Gebärmuttererkrankung auf die Remontierung kann direkt (therapieresistente klinisch manifeste Endometritiden) oder auch indirekt durch eine verlängerte Günstzeit sichtbar werden. Bei Erstkalbinnen, die mehr als 210 Tage güst blieben, erhöhte sich das Schlachtrisiko um den Faktor fünf im Vergleich zu Tieren, deren Günstzeit unter 90 Tagen lagen (Beaudeau et al. 1995).

In beiden Gruppen ergaben sich in der Verteilung der Abgangsursachen keine signifikanten Unterschiede. Remontierungsentscheidungen liegen oft komplexe Überlegungen zugrunde. In manchen Fällen wurden mehr als eine Ursache für das Ausscheiden aus der Herde genannt. Mangelnde Fruchtbarkeit war in beiden Studiengruppen die Hauptabgangsursache. Zu beachten ist jedoch, dass hierzu auch Tiere gezählt wurden, die im Herdenverband blieben und eventuell nach 200 Tagen p.p. tragend wurden. Auch in einer Studie von Esslemont und Kossaibati (1997) war mangelnde Fruchtbarkeit die Hauptabgangsursache. Die Remontierung solcher Tiere stellt einen der wichtigsten Faktoren für wirtschaftliche Verluste der landwirtschaftlichen Betriebe dar (Dijkhuizen et al. 1985, Lotthammer 1992, Tenhagen et al. 1998).

Zusammenfassend ist zu sagen, dass der durch eine subklinische Endometritis herabgesetzte Erstbesamungserfolg nicht so bedeutend für einen Betrieb ist, wie der verringerte Anteil tragender Tiere 200 Tage p.p. Es ist wirtschaftlich wichtiger, dass eine Kuh nur einen angemessenen Zeitraum güst bleibt, als dass sie aus der ersten Besamung tragend wird. Endometritiden kosten die amerikanische Milchwirtschaft allein durch zusätzliche Güsttage eine Milliarde US\$ jährlich (Gilbert et al. 1998).

5.5 Ergebnisse der Tiere zur PK 2

Die Ergebnisse der Cytobrush-Untersuchung zur PK 2 lassen vermuten, dass klinische Untersuchungsmethoden zur Feststellung einer Heilung nicht ausreichend sein können. Kühe, die zur PK 1 eine klinisch manifeste Endometritis aufwiesen, wurden behandelt. Bei 37 Tieren, die bei der klinischen Nachuntersuchung (PK 2) als geheilt eingestuft worden waren, wurden mit der Cytobrush-Methode Zellen aus dem Uterus gewonnen. Etwa 22% der Tiere wiesen mindestens 5% PMN im zytologischen Präparat auf. Die höchste Anteil an PMN lag bei 65,7%. Ob die folgende Fruchtbarkeit bei diesen Tieren, im Vergleich zu den Kühen, die auch zytologisch als geheilt eingestuft worden waren, herabgesetzt war, konnte mangels geringer Tierzahlen in der vorliegenden Studie nicht getestet werden. Le Blanc et al. (2002b) merkten an, dass die Abwesenheit von Ausfluss aus dem Uterus bei einer Nachuntersuchung nicht die Verbesserung der Fruchtbarkeit implizierte. In ihrer Studie war eine klinisch diagnostizierte Heilung nicht mit einer erhöhten Trächtigkeitsrate verbunden. Möglicherweise hatten die Tiere eine subklinische Endometritis. Die Cytobrush-Methode ist eine sensitivere Methode eine noch vorhandene Entzündung im Uterus nachzuweisen als die rektale Palpation oder Vaginoskopie.

5.6 Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung

In der vorliegenden Studie lag der Anteil an bakteriologisch positiven Proben mit 93,2% (55/59) etwas über dem von Tischer (1998) berichteten Anteil an positiven Zervixtupferproben klinisch unauffälliger Tiere. In einer Studie von Buchholz et al. (1979) hatten nur 9 von 33 klinisch unauffälligen Tieren (27,3%), die sich in der 3. und 4. Woche p.p. befanden, einen positiven bakteriellen Befund. Eine mögliche Erklärung für die verschiedenen hohen Prozentsätze ist die unterschiedliche mikrobiologische Untersuchungsmethodik der Autoren. Der Entnahmeort der Tupferproben kann ebenfalls einen Einfluss auf die Ergebnisse haben. Tischer (1998) gewannen Zervixtupferproben,

wohingegen Buchholz et al. (1979) Sekret aus den Uterushörnern untersuchten. Zur ersten Puerperalkontrolle (PK 1) war der Anteil an bakteriologisch positiven Proben um 3,1 Prozentpunkte niedriger als zur Nachuntersuchung (NU 1). Dies steht im Gegensatz zu dem Ergebnis von Bonnett et al. (1991c). Die Autoren berichteten von einem höheren Anteil bakterienhaltiger Proben am 40. Tag p.p. als am 26. Tag p.p. Dagegen wurden in den Untersuchungen von Elliott et al. (1968) aus 78% der Uteri am 16. bis 30. Tag p.p. und aus 50% der Uteri zwischen dem 31. und 45. Tag p.p. Bakterien gewonnen. Der Probenumfang von Bonnett et al. (1991c) war jedoch bedeutend höher als in der Studie von Elliott et al. (1968) und in der vorliegenden Studie.

Sowohl bei Tieren mit klinischen Endometritiden als auch bei klinisch gesunden Tieren wurde von einem Auftreten mehrerer Bakterienspezies in einer Probe berichtet (Peter und Bosu 1987, Bonnett et al. 1991c, Tischer 1998, Biziulevichius und Lukaukas 1998). Auch in der vorliegenden Studie handelte es sich zum überwiegenden Teil um Mischinfektionen. Aus rund 80% der Proben wurden mindestens zwei unterschiedliche Erreger isoliert. Etwa 30% der Proben enthielten mehr als drei verschiedene Bakterienspezies.

In der Studie von Tischer (1998) zeigte sich, dass das Bakterienspektrum von klinisch gesunden Kühen und Kühen mit klinisch diagnostizierter Endometritis gleichartig war. Aus 10% der Proben von Kühen, die keine oder nur geringgradige Symptome einer Endometritis aufwiesen, wurde *Arcanobacterium pyogenes* isoliert. Auch in anderen Studien wurde ein Vorkommen von *A. pyogenes*, *Bacteriodes* spp. oder *Fusobacterium necrophorum* bei klinisch gesunden Tieren berichtet (Noakes et al. 1989, Dohmen et al. 1995, Bekana et al. 1996, Mateus et al. 2002b). Diese Spezies wurden auch bei den Kühen der vorliegenden Studie isoliert, jedoch ausschließlich aus Proben von Tieren mit subklinischen Endometritiden. Dies bestätigt die Aussagen von anderen Autoren, dass diese Mikroorganismen mit pathologischen Veränderungen am Uterus und reduzierter Fruchtbarkeit einhergehen (Griffin et al. 1974a, Miller et al. 1980, Bonnett et al. 1991c). Allerdings sind die Ergebnisse der vorliegenden Studie wegen der geringen Probenanzahl (n=59) als kritisch zu betrachten. Der Anteil an *E. coli*-haltigen Proben war in der Gruppe der Kühe mit subklinischer Endometritis höher als in der Gruppe der gesunden Kühe ($p > 0,05$). Jedoch konnte kein Bezug zu einer Uteruspathogenität des Keimes dargestellt werden.

Die in dieser Studie isolierten *Alcaligenes* spp., *Acinetobacter* spp., Propionibakterien und Laktobazillen wurden in anderen Untersuchungen ebenfalls bei klinisch unauffälligen Kühen nachgewiesen (Luginbühl et al. 1981, Messier et al. 1984). *Alcaligenes* spp. wurden bei

eitrigen Entzündungen des Menschen gefunden (Kerstens und De Ley 1984). Genau wie Propionibakterien gehören sie zur Darmflora von Wirbeltieren (Müller 1983, Selbitz 2002). Daher sind diese Spezies in der durchgeführten Studie als Kontamination zu betrachten. Laktobazillen kommen bei Säugetieren physiologischerweise sowohl im Gastrointestinaltrakt als auch im Vaginalbereich vor (Kandler und Weiss 1986, Selbitz 2002). *Acinetobacter* spp. wurden als apathogen beschrieben (Juni 1984). Von einer Isolation dieser Erreger aus Mastitisssekret von Rindern berichteten Bergmann und Alkaff (1990). Luginbühl et al. (1981) erlaubten sich anhand ihres Materials kein Urteil, ob *Acinetobacter* spp. bei der Endometritis eine Rolle spielen. Auch anhand der Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung ist hierüber keine Aussage zu machen.

5.7 Tiere mit klinischer Endometritis

In der vorliegenden Arbeit wurden 50 Kühe, die bei der Untersuchung vom Rektum her eine klinische Endometritis aufwiesen, mit der Cytobrush-Methode untersucht. Die Tiere befanden sich zwischen dem 21. und 27. Tag nach der Kalbung. In anderen Studien wurden ebenfalls bei Kühen mit klinisch diagnostizierter Gebärmutterentzündung Zellen aus dem Uterus gewonnen (Schmidt-Adamopoulou 1978, Miller et al. 1980, Strube et al. 1991, Del Vecchio et al. 1994).

In der vorliegenden Studie wurde bei 96,0% der untersuchten klinisch erkrankten Kühe ein Gehalt von mehr als 5% PMN im zytologischen Präparat ermittelt. Die Hälfte der Tiere wiesen einen PMN-Gehalt von über 42,0% PMN auf. Der durchschnittliche PMN-Gehalt bei Kühen mit klinischer Endometritis in der vorliegenden Studie (48,3%) lag über den von Singh et al. (2000) angegebenen Werten. Die Autoren untersuchten jedoch Kühe mit einer klinischen Endometritis 120-240 Tage p.p. Dagegen berichteten Kluciński et al. (1990a, 1990b, 1994, 1995) von einem Gehalt zwischen 69-90% PMN bei einer induzierten Endometritis.

In der vorliegenden Untersuchung lag der Anteil an Kühen mit einer Endometritis ersten oder zweiten Grades ohne PMN im zytologischen Präparat unter den Ergebnissen von Schmidt-Adamopoulou (1978) und Strube et al. (1991). Alle Tiere mit einer Endometritis dritten Grades wiesen bei der Cytobrush-Untersuchung PMN auf. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Schmidt-Adamopoulou (1978) und Strube et al. (1991). Zu beachten ist jedoch, dass die Autoren andere Diagnoseverfahren anwandten. Schmidt-Adamopoulou (1978) verglich die klinische Diagnose mit den Ergebnissen der histologischen Untersuchung. Die Gewebeproben wurden aus den Uterushörnern entnommen. Nach Metzner und Weiler

(1994) war jedoch die Wahrscheinlichkeit, histologisch eine erhöhte Infiltration mit neutrophilen Granulozyten nachzuweisen, im Corpus uteri am höchsten. Bei Strube et al. (1991) wurde der Vergleich klinischer Befunde mit dem Nachweis von Granulozyten im Uterussekret erbracht. Es ist davon auszugehen, dass hierbei kein lebendes Gewebe der Uterusschleimhaut gewonnen wurde.

Bei der klinischen Untersuchung falsch positiv diagnostizierte Tiere können durch das Vorhandensein einer Zervizitis oder Vaginitis erklärt werden. So konnte bei einigen Tieren mit pathologischem Ausfluss aus der Portio vaginalis cervicis sowohl bei der Hysteroskopie als auch bei einer histologischen Untersuchung des Uterus keine Entzündung festgestellt werden (Leßmann et al. 1990).

5.8 Schlussfolgerung

Die Cytobrush-Methode ist ein genaues und praktikables Verfahren zur Zellgewinnung aus dem Uterus von Kühen. Auch bei klinisch als gesund diagnostizierten Kühen konnten, durch das Vorhandensein neutrophiler Granulozyten, Entzündungsvorgänge im Uterus nachgewiesen werden. Daher ist die Cytobrush-Untersuchung eine geeignete Methode zum Nachweis subklinischer Endometritiden beim Milchrind am 21.-27. Tag p.p. Die Cytobrush-Methode ist ein einfach zu handhabendes und schnelles zytologisches Verfahren. Ob sie sich in der tierärztlichen Praxis im Rahmen von Puerperalkontrollen als Routinemethode etablieren wird, steht offen. Bei Einzeltieren, die zu sich zu einem späteren Laktationszeitpunkt als unfruchtbar erweisen, wäre eine Cytobrush-Untersuchung zur Abklärung einer möglichen subklinischen Entzündung des Uterus denkbar.

Der Grenzwert von 5% PMN im zytologischen Präparat erwies sich in der vorliegenden Untersuchung für die Einteilung der Tiere in „gesund“ und „subklinisch erkrankt“ als geeignet. In dieser Untersuchung hatten subklinische Endometritiden einen signifikant negativen Effekt auf den Anteil besamter Tiere, sowie den Anteil tragender Tiere.

Weitere Untersuchungen sind nötig, um die Konsequenz einer Therapie zu erproben. Die Möglichkeit einer erfolgreichen Behandlung von Tieren mit einer subklinischen Endometritis, könnte dazu beitragen, dass sich die Cytobrush-Untersuchung in der tierärztlichen Praxis als Diagnosemethode durchsetzt und diese wirtschaftlich rechtfertigt.