

6 Zusammenfassung

Ziel dieses Projekts war es erstens, das epidemiologische Verhalten von *Staphylococcus (S.) aureus* mittels Genotypisierung und Antibiogrammtypisierung zu untersuchen. Zweitens wurden die auf den untersuchten Betrieben isolierten Staphylokokken Isolate verschiedenen diagnostischen Testverfahren unterzogen, um die Eignung der Tests für die Identifikation von *S. aureus* aus Milchproben zu prüfen.

Es wurden auf sechs Milchviehbetrieben in Brandenburg mit einer hohen Prävalenz intramammärer *S. aureus* Infektionen von jeweils 32 Kühen verschiedener Laktationsstadien und Altersklassen Viertelgemelksproben genommen.

Von jedem Betrieb wurden 20 bzw. 22 *S. aureus* Isolate mittels Random amplified polymorphic DNA-Polymerase-Chain-Reaction (RAPD-PCR) und Agardiffusionstest typisiert. Die RAPD-PCR wurde mit jeweils 2 Primern (1. (5'-d[GTTTCGCTCC]-3') und 2. (5'-d[AACGCGCAAC]-3')) durchgeführt. Mittels Agardiffusionstest wurde die Empfindlichkeit jedes Isolats gegenüber 12 Antibiotika bestimmt. Es wurden nur die jeweils auf einem Betrieb gefundenen *S. aureus* Isolate miteinander verglichen.

Auf den einzelnen Betrieben konnten mittels RAPD-PCR zwischen 2 und 6 verschiedene *S. aureus* Stämme ermittelt werden. In jedem untersuchten Betrieb konnte je ein zahlenmäßig dominierender *S. aureus* Stamm identifiziert werden. Dieser Stamm machte zwischen 54,5 und 95,5% der untersuchten *S. aureus* Isolate aus.

S. aureus Isolate, die aus Milchproben von Erstkalbinnen isoliert wurden, unterschieden sich nicht von denen, die aus Milchproben multiparer Tiere gewonnen werden konnten. Der in dem jeweiligen Betrieb dominierende Stamm konnte bei Tieren mit unterschiedlichen Laktationsnummern und in unterschiedlichen Laktationsstadien gefunden werden.

Die in geringer Zahl vorkommenden Stämme wurden vermehrt aus Milchproben von multiparen Tieren gewonnen. Es zählten 18,7% (14 von 75) aller *S. aureus* Isolate, die von multiparen Tieren gewonnen wurden, und 5,5% (3 von 55) der von Erstkalbinnen gewonnenen Isolate zu den Stämmen, die nur einzeln gefunden wurden.

Mittels Antibiogrammtypisierung konnte in drei der sechs Betriebe allen *S. aureus* Isolaten ein identisches Resistenzprofil zugewiesen werden. In zwei weiteren Betrieben ließen sich die Isolate zwei bzw. drei Resistenzprofilen zuordnen. Nur ein Betrieb wies fünf unterschiedliche

Resistenzprofile auf. Es bestand keine Übereinstimmung der Typisierungsergebnisse zwischen RAPD-PCR und Agardiffusionstest.

Im zweiten Teil der Untersuchung wurden 269 Staphylokokken Isolate, die auf den sechs untersuchten Betrieben gefunden wurden, verschiedenen diagnostischen Testverfahren unterzogen. Zu diesen Verfahren zählten die Testung des Hämolyseverhaltens, der Röhrchenkoagulasetest, die anaerobe Mannitvergärung, das Wachstum auf acriflavinhaltigem Agar, der Acetoin Test, und zwei im Handel erhältliche Schnellagglutinationstests (Staphylase-Test[®] (Oxoid) und Slidex Staph Plus[®] (bioMerieux)).

Als *S. aureus* wurden alle Isolate angesehen, die eine positive Koagulasereaktion, eine anaerobe Mannitvergärung und Wachstum auf acriflavinhaltigem Agar zeigten.

Aufgrund dieser Untersuchungen konnten 193 (71,7%) Isolate als *S. aureus* und 72 (26,8%) als Koagulase negative Staphylokokken (KNS) identifiziert werden. Vier Isolate (1,5%) waren Koagulase positiv, konnten aber nicht *S. aureus* zugeordnet werden.

Das Auftreten und die Art der Hämolyse allein konnte nach den Ergebnissen dieser Studie nicht als eindeutiges Kriterium für *S. aureus* bewertet werden. Zwar ließen sich 99,3% der Isolate, die eine doppelzonige Hämolyse aufwiesen, *S. aureus* zuordnen, es zeigten aber nur 76,7% der als *S. aureus* definierten Isolate eine doppelzonige Hämolyse. Eine beta-Hämolyse (vollständige oder doppelzonige Hämolyse) zeigten 98,4% der untersuchten und als *S. aureus* identifizierten Isolate. Es konnten aber nur 91,8% der Isolate, die eine beta-Hämolyse zeigten, *S. aureus* zugeordnet werden. Von den untersuchten 72 KNS Isolaten wiesen ebenfalls 16 (22,2%) eine beta-Hämolyse auf.

Als größtes Problem bei der Anwendung im Handel erhältlicher Schnellagglutinationstests stellte sich das Auftreten einer großen Zahl nicht auswertbarer Reaktionen heraus. So konnten 6,7% (Staphylase-Test[®]) bzw. 7,1% (Slidex Staph Plus[®]) der untersuchten Staphylokokken weder *S. aureus* noch KNS zugeordnet werden.

Der Acetoin-Test wurde nur bei 142 Isolaten durchgeführt, da die Reaktion oft nicht eindeutig abzulesen war und schon nach kurzer Zeit deutlich wurde, dass das Ergebnis aus diesem Testverfahren deutlich von den anderen abwich.

Nach den Ergebnissen dieser Studie kann bei Staphylokokkenisolaten, die eine doppelzonige Hämolyse aufweisen, mit großer Wahrscheinlichkeit davon ausgegangen werden, dass es sich um *S. aureus* handelt. Bei Staphylokokken, die keine Hämolyse bewirken, handelt es sich mit

Zusammenfassung

hoher Wahrscheinlichkeit nicht um *S. aureus*. Staphylokokkenisolate, die eine vollständige Hämolyse aufweisen, müssen zur Weiterdifferenzierung mittels Röhrenkoagulase weiter untersucht werden.