

## **2 Literaturübersicht**

### **2.1 Ökonomische Bedeutung der Eutergesundheit**

Der aus einer Mastitis folgende wirtschaftliche Schaden wird auf 107 bis 218 US\$ geschätzt (Hoblet et al. 1991, Hillerton 1992, Fetrow et al. 2000, Wilkinson 2003). Daraus ergibt sich für die deutsche Landwirtschaft ein Gesamtschaden von etwa 1,4 bis 2 Milliarden Euro.

Die wirtschaftlichen Verluste durch subklinische Mastitiden sind vor allem durch ihr häufigeres Vorkommen höher einzuschätzen als die durch klinische Mastitiden. Außerdem besteht bei Tieren mit einer subklinischen Mastitis ein erhöhtes Risiko, dass sie in der Folge an einer klinischen Mastitis erkranken.

Die Kosten bei klinischen Mastitiden setzen sich zusammen aus der Ablieferungssperre der Milch, einem erhöhten Arbeitsaufwand, den Tierarztkosten, einer herabgesetzten Milchleistung, die oft dauerhaft ist, und einer erhöhten Reproduktionsrate durch therapieresistente Mastitiden. Die Sperrfristen für die Milchablieferung ergeben sich aus den Sperrfristen wegen einer Entzündung des Euters nach Anlage 1 der Milchverordnung (Bundesgesetzblatt 2000) und aufgrund von Wartezeiten durch die Anwendung von Medikamenten.

In Fällen einer subklinischen Mastitis entstehen Verluste durch eine herabgesetzte Milchleistung der betroffenen Tiere, durch eine erhöhte Anfälligkeit für klinische Mastitiden und durch einen herabgesetzten Milchauszahlungspreis wegen erhöhter Milchzellgehalte in der Tankmilch.

### **2.2 Definitionen zur Beurteilung der Eutergesundheit**

Es sind klinische und subklinische Mastitiden zu differenzieren. Die klinischen Mastitiden äußern sich durch grobsinnlich wahrnehmbare Veränderungen. Diese können sich in einer makroskopischen Sekretveränderung oder durch eine Schmerzhaftigkeit, eine Rötung, eine Schwellung oder eine Erwärmung des Drüsengewebes äußern, während bei subklinischen nur eine Veränderung der Laborparameter eindeutig feststellbar ist (Wendt et al. 1994).

Die Laboranalytik stellt somit einen wichtigen Parameter für die Mastitisdiagnostik dar. Es kommt hierbei vor allem der Zellzahlbestimmung und der bakteriologischen Untersuchung eine große Bedeutung zu. Die in der Milch enthaltenen Zellen bestehen zum größten Teil (ca. 95 %) aus Blutzellen, die in die Milch übergetreten sind. Es handelt sich dabei um Makrophagen, Lymphozyten und neutrophile Granulozyten (Concha 1986, Östensson et al. 1988, Hamman et al. 1998).

Für die Einschätzung der Eutergesundheit aufgrund der Zellzahlbestimmung wurden verschiedene Grenzwerte festgelegt. Wendt et al. (1994) setzte den Grenzwert für ein gesundes Euterviertel bei 150.000 Zellen/ml fest, andere Autoren bei maximal 100.000 Zellen/ml (Hamann und Reichmuth 1990, DVG 1994, Harmon 1994, Hamann 2001).

### 2.2.1 Normale Sekretion

Eine normale Sekretion zeigen gesunde Euterviertel, die keine pathologischen Veränderungen aufweisen. Das Sekret dieser Viertel enthält keine pathogenen Mikroorganismen und der somatische Zellgehalt beträgt weniger als 100.000 Zellen/ml (DVG 1994, Hamann 2001).

### 2.2.2 Latente Infektion

Der Verdacht auf eine latente Infektion besteht, wenn aus dem Sekret eines Euterviertels bei der bakteriologischen Untersuchung ein pathogener Keim identifiziert wird, aber dieses Viertel einen somatischen Zellgehalt von weniger als 100.000 Zellen/ml aufweist (DVG 1994)

### 2.2.3 Subklinische Mastitis

Euterviertel, die an einer subklinischen Mastitis erkrankt sind, weisen keine äußerlich sichtbaren Symptome auf. Der Milchzellgehalt dieser Viertel ist aber erhöht ( $\geq 100.000$  Zellen/ml) (Wendt et al., 1994).

*Tabelle 1: Beurteilung zytologisch-mikrobiologischer Befunde im Rahmen der Mastitiskategorisierung (in Anlehnung an DVG 1994)*

Zellgehalte pro ml	Euterpathogene Mikroorganismen	
	Nicht nachgewiesen	Nachgewiesen
< 100.000	Normale Sekretion	Latente Infektion
> 100.000	Unspezifische Mastitis	Mastitis

### 2.2.4 Klinische Mastitis

#### 2.2.4.1 Akute Mastitis

Beim Vorliegen einer klinischen Mastitis zeigt das betroffene Euterviertel sinnfällige Entzündungssymptome wie Schmerzen, Rötung, Schwellung oder Erwärmung. Das Sekret ist

makroskopisch verändert. Zum Teil zeigen die Tiere eine Erhöhung der Körpertemperatur. (DVG 1994)

#### **2.2.4.2 Chronische Mastitis**

Diese Mastitisform kann klinisch oder subklinisch verlaufen, wobei ein betroffenes Euterviertel sich durch eine Proliferation des Bindegewebes in der Milchdrüse auszeichnet. In dem Verlauf der Erkrankung kann es zu einer Atrophierung des betroffenen Euterviertels kommen. Außerdem dauert der Krankheitsprozess länger als vier Wochen an (Wendt et al., 1994).

#### **2.2.4.3 Unspezifische Mastitis**

Das Sekret eines Euterviertels mit unspezifischer Mastitis weist entweder eine Erhöhung des Zellgehaltes auf oder es bestehen grobsinnlich wahrnehmbare Veränderungen, die mit einer Veränderung in der Zusammensetzung der Inhaltstoffe einhergehen. In der bakteriologischen Untersuchung kann aber kein Mastitiserreger nachgewiesen werden (DVG 1994).

### **2.3 Mastitiserreger**

Die Erreger von Mastitiden lassen sich anhand des Übertragungsweges in folgende Gruppen einteilen: kuhassoziierte, umweltassoziierte und fakultativ pathogene Erreger (Bramley 1985, Döpfer et al. 1993, Wendt et al. 1994). Die wichtigsten kuhassoziierten Erreger sind *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Streptococcus agalactiae* (*Sc. agalactiae*) und *Streptococcus dysgalactiae* (*Sc. dysgalactiae*). *Sc. dysgalactiae* nimmt dabei eine Sonderstellung ein, da er zum Teil auch zu den umweltassoziierten Erregern gezählt wird (Hogan und Smith 1995). Die wichtigsten umweltassoziierten Erreger sind *Escherichia coli*, coliforme Bakterien und Umweltstreptokokken, vor allem *Streptococcus uberis* (*Sc. uberis*). Fakultativ pathogene Hautbesiedler werden durch die Koagulase-negativen Staphylokokken (KNS) repräsentiert (Smith und Hogan 1999).

Eine weitere Möglichkeit ist die Einteilung nach den Pathogenitätseigenschaften in major und minor pathogen. Zu den minor pathogens werden *Koagulase-negative Staphylokokken* (KNS) und *Corynebacterium bovis* gezählt (Wendt et al. 1994).

Tabelle 2: Kontagiöse und umweltassoziierte Mastitiserreger (nach Smith und Hogan 1995)

Gruppe	Häufige gram positive Erreger	Häufige gram negative Erreger	Sonstige Erreger
Kontagiös	<i>S. aureus</i> <i>Sc. agalactiae</i> <i>Sc. dysgalactiae</i> <i>C. bovis</i>		<i>Mycoplasma</i> spp.
Umweltassoziiert	<i>Sc. uberis</i> <i>Sc. dysgalactiae</i> <i>Sc. equinus</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i>	<i>E. coli</i> <i>Klebsiella</i> spp. <i>Enterobacter</i> spp. <i>Serratia</i> spp. <i>Proteus</i> spp. <i>Citrobacter</i> spp. <i>Pseudomonas</i> spp.	<i>A. pyogenes</i> <i>Nocardia</i> spp. <i>Bacillus</i> spp. Hefen Pilze Algen
Hautflora	Koagulase-negative Staphylokokken (KNS)		

## 2.4 Vorgänge beim Trockenstellen

Die Umbildungsvorgänge in der Milchdrüse während der Trockenstehperiode können in drei Hauptphasen unterteilt werden. Die erste Phase ist die aktive Involution. An diese schließt sich die Steady-State Involution an. Die letzte Phase stellt die Neolaktogenese dar (Mielke et al. 1991).

### 2.4.1 Aktive Involution

Der Abbruch des Milchentzuges beim Rind führt zu massiven Veränderungen des Drüsengewebes (Hurley et al. 1989, Michel und Heinz 1991). Die aktive Involution kann in zwei Hauptprozesse unterteilt werden. Diese laufen aber zum Teil gleichzeitig ab. Die Trockenstehperiode beginnt mit der Stauungsphase, die etwa 7 Tage andauert. In dieser Phase kommt es zu einer massiven Sekretansammlung in der Milchdrüse, wodurch der intramammäre Druck stark ansteigt. Daran schließt sich die Resorptionsphase an, die etwa drei bis vier Wochen andauert. Hierbei erfolgen die Resorption angestauten Sekrets sowie der Abbau von Überresten abgestorbener Zellen (Mielke et al. 1991).

In der Phase der aktiven Involution vollziehen sich histologische Veränderungen im Milchdrüsengewebe. So können mit dem Elektronenmikroskop bis zu 30 Tagen nach dem Trockenstellen große Vakuolen mit diffusem Inhalt im Zytoplasma der sekretorischen Zellen nachgewiesen werden. Außerdem kommt es bei den sekretorischen Zellen zu einer starken Reduktion der Organellen, der meisten Filamente und der sekundären Lysosomen (Sordillo und Nickerson 1988, Heinz und Michel 1991).

In der Phase der aktiven Involution nimmt die Laktosekonzentration in der Milchdrüse stark ab, die Proteinkonzentration steigt an. Das Laktoferrin ist das wichtigste Protein der Involutionsphase (Rejman et al. 1989). Es besitzt eine unspezifische Abwehrfunktion (Sanchez et al. 1992). Diese besteht darin, dass es vorhandene Eisenionen bindet. Eisenionen werden von potentiellen Krankheitserregern für ihr Wachstum benötigt.

Die Konzentration des Laktoferrins in der Milch steigt von durchschnittlich 5,29 mg/ml am Tag des Trockenstellen auf 8,09 mg/ml zwei Tage nach dem Trockenstellen und auf 11,26 mg/ml sechs Tage nach dem Trockenstellen an (Kutilla et al. 2003). Eine Steigerung des Laktoferringehaltes in der Milchdrüse während der Trockenstehphase wurde auch von Hurley et al. (1994) nachgewiesen.

In der Involutionsphase werden nur wenige Epithelzellen im Milchdrüsensekret gefunden. Die Leukozyten stellen den dominierenden Zelltyp in dieser Phase dar (Nickerson 1989). In den ersten drei bis sieben Tagen herrschen die neutrophilen Granulozyten vor. Im Anschluss daran sind die Makrophagen die dominierende Leukozytenfraktion.

Die Makrophagen sind dafür verantwortlich, Zelldetritus, Fettvakuolen und abgestorbene neutrophile Granulozyten zu entsorgen.

In der Trockenstehphase steigt der Anteil der Lymphozyten parallel zu den Makrophagen an. Zum Teil stellen die Lymphozyten die hauptsächliche Zellpopulation in der Mitte der Trockenstehphase dar (Hurley et al. 1995).

### **2.4.2 Steady-State Involution**

Die Länge der Steady-State Involution ist abhängig von der Gesamtlänge der Trockenstehphase. Etwa drei Wochen vor der Abkalbung beginnt bereits die Neolaktogenese, so dass bei einer Gesamttrockenstehdauer von 60 Tagen nur eine kurze oder gar keine Phase der Steady-State Involution auftritt (Hurley et al. 1995). Der DNA-Gehalt in Biopsieproben des Milchdrüsengewebes, die 21 bzw. 42 Tage nach dem Trockenstellen bei Kühen entnommen wurden, war 50 % bzw. 64 % geringer als vor dem Trockenstellen (Akers et al. 1990).

In der Phase der Steady-State Involution ist die Inzidenz<sup>1</sup> für eine Neuinfektion am niedrigsten, da einerseits die Zitzen verschlossen sind, zum anderen ist nur noch wenig Flüssigkeit, deren Zusammensetzung für bakteriologisches Wachstum ungünstig ist, im Euter vorhanden (Todhunter et al. 1990).

### **2.4.3 Neolaktogenese**

Die Vorbereitung des Drüsengewebes auf die Laktation beginnt drei bis vier Wochen vor der Abkalbung. Capuco et al. (1997) stellten einen Anstieg der DNA-Synthese im Milchdrüsengewebe ab etwa 35 Tage vor der Abkalbung fest. Damit beginnt die Vorbereitung des Eutergewebes auf die neue Laktation.

Zwei Wochen vor der Abkalbung besteht eine der Hauptaktivitäten der Epithelzellen in dem Transport des Immunglobulins G. Zum gleichen Zeitpunkt kommt es zu einer Anreicherung der Hauptkomponenten der Milch in der Milchdrüse. Diese intensiviert sich in den letzten drei bis fünf Tagen vor der Abkalbung deutlich. Das Infektionsrisiko steigt in dieser Phase im Vergleich zur Steady-State Involution wieder deutlich an. Die Ursachen für das gesteigerte Infektionsrisiko sind darin zu sehen, dass wieder mehr Flüssigkeit in der Milchdrüse vorhanden ist, die mechanische Barrierefunktion des Strichkanals durch unkontrolliertes Milchablaufen verloren geht und dass noch kein kontinuierlicher Milchentzug, mit dem pathogene Erreger aus der Milchdrüse ausgespült werden könnten, erfolgt (Hurley et al. 1995).

Zusätzlich erniedrigt sich auch die Laktoferrinkonzentration in dieser Phase (Wendt et al. 1994, Hurley et al. 1995). Dies führt zu einer Steigerung des Infektionsrisikos, da durch den Rückgang des Laktoferrins wieder mehr Eisen für das Wachstum der Bakterien zur Verfügung steht (Todhunter et al. 1990).

## **2.5 Optimale Dauer der Trockenstehperiode**

Die Trockenstehphase beginnt nach dem letzten Milchentzug und endet mit der Abkalbung. Die Dauer dieser Phase wird in einer großen Studie aus den USA mit durchschnittlich 60,5 Tagen angegeben (Kuhn et al. 2005). In dieser Studie wurden die Trockenstehphasen von 295.067 Holstein Kühen in 3527 Herden ausgewertet. Die meisten Herden (91 %) hatten eine mittlere Trockenstehdauer zwischen 50 und 70 Tagen. Lediglich in 1,2 % der Betriebe betrug die durchschnittliche Trockenstehdauer weniger als 45 Tagen.

---

<sup>1</sup> Anzahl der Neuerkrankungsfälle (Neuinfektionen) innerhalb eines bestimmten Zeitraums

Die optimale Dauer der Trockenstehphase ist immer wieder Anlass für kontroverse Diskussionen.

In Hinblick auf die Milchleistung in der folgenden Laktation kommen fast alle Studien zu dem Ergebnis, dass eine Trockenstehphase von weniger als 42 Tagen im Vergleich zu einer von 60 Tagen oder mehr eine Reduktion der Milchleistung in der neuen Laktation zur Folge hat (Coppock et al. 1974, Keown und Everett 1986, Funk et al. 1987, Enevoldsen und Sørensen 1991, Makuza und Mc Daniel 1995, Bachman 2002, Annen et al. 2003, Gulay et al. 2003, Rastani et al. 2003, 2005). Die Angaben über den prozentualen Milchverlust durch die Verkürzung lagen zwischen 1,8 und 10,2 %.

Eine optimale Dauer der Trockenstehperiode wird aber nicht nur durch eine hohe Milchleistung in der Folgelaktation definiert. Es sind noch weitere Faktoren wie die Milchleistung vor dem Trockenstellen, die Neuinfektionsraten, die Inzidenz klinischer Mastitiden, Stoffwechselfparameter und ökonomische Faktoren zu beachten. Bei einer Trockenstehphase von 60 Tagen und mehr wird von einigen Autoren ein erhöhtes Risiko für intramammäre Infektionen beschrieben (Rindsig et al. 1978, Dingwell et al. 2002). In einer Studie aus Skandinavien war eine Trockenstehdauer von sieben Wochen mit dem geringsten Risiko einer klinischen Erkrankung der Tiere nach der Abkalbung behaftet. Andere Studien zeigten, dass eine Trockenstehperiode von weniger als 40 Tagen in der Folgelaktation ein erhöhtes Mastitisrisiko barg (Swanson 1965, Sørensen und Enevoldson 1991).

Die Stoffwechselsituation der Kuh stellt einen weiteren zu berücksichtigenden Faktor für die optimale Länge der Trockenstehperiode dar. Studien in den USA ermittelten positive Effekte einer von 56 auf 28 Tage verkürzten Trockenstehphase. Die Tiere mit einer verkürzten Trockenstehperiode wurden in diesen Studien mit einer einheitlichen Futtermischung gefüttert, während die anderen Tiere eine energiereiche Ration am Anfang und eine energiereiche Ration am Ende der Trockenstehphase erhielten. Die Tiere mit einer geplanten Trockenstehdauer von 28 Tagen zeigten nach der Abkalbung eine höhere Trockensubstanzaufnahme, eine bessere Energiebilanzsituation sowie einen höheren Blutglucosespiegel (Gumen et al. 2003, Rastani et al. 2005).

Dies verdeutlicht auch das Potential einer verkürzten Trockenstehphase zur Vereinfachung des Herdenmanagements. Es müssen weniger Tiergruppen gebildet und nur eine einzige Futtermischung für die trockenstehenden Tiere bereitgestellt werden (Bachman 2004, Rastani et al. 2005).

Ein Problem bei den meisten vorliegenden Studien besteht darin, dass es sich um keinen randomisierten Vergleich einer geplant kurze Trockenstehperiode mit einer längeren handelte,

sondern vielmehr um eine retrospektive Auswertung einer aus verschiedensten Gründen kürzer ausgefallenen Trockenstehphase. In fünf neuere Studien fand dieses Problem Berücksichtigung. Außerdem wurden diese Studien von Schairer (2001), Bachmann (2002), Gulay et al. (2003), Annen et al. (2003) und Rastini et al. (2003) unter modernen Herdenmanagementbedingungen und mit genetisch aktuellem Tiermaterial durchgeführt (Bachmann 2004). Diese neueren Studien kommen alle zu dem Ergebnis, dass eine Trockenstehperiode von weniger als 40 Tage sinnvoll ist.

Annen et al. (2003) und Rastani et al. (2003) halten eine Trockenstehphase von 30 Tagen für optimal, wobei Annen diese Empfehlung auf Mehrkalbskühe eingrenzt. Gulay et al. (2003) und Bachman et al. (2002) folgern, dass die Trockenstehphase nicht länger als 40 Tage dauern sollte. Andere Autoren erachten eine Trockenstehphase von 40 bis 60 Tagen für besser (Coppock et al. 1974, Keown und Everett 1986, Funk et al. 1987, Sørensen und Enevoldson 1991).

## **2.6 Verfahren zum Trockenstellen**

Es gibt verschiedene Verfahren zum Trockenstellen von Kühen, wobei heute eine abrupte Beendigung des Milchentzuges von einer Melkzeit zur anderen die am häufigsten angewendete Methode darstellt (Smith 1999, Fehlings und Deneke 2000, Dingwell et al. 2001). Zu diesem Zeitpunkt haben die meisten Tiere eine Leistung von 15 bis 25 kg Milch pro Tag (Smith und Hogan 1999). Bei Tieren mit sehr hoher Milchleistung kann es sinnvoll sein, eine Woche vor dem Trockenstellen die Futterration zu reduzieren, damit die Milchleistung etwas zurückgeht (Bradley und Green 2002). Wendt et al. (1994) empfiehlt bei einer Milchleistung von über 6 kg Milch am Tag des Trockenstellens das so genannte Kraftborner Verfahren. Bei diesem Verfahren wird die Melkhäufigkeit einige Tage vor dem Trockenstelltermin auf einmal täglich reduziert.

## **2.7 Der Zitzenverschluss am Ende der Laktation**

Der natürliche Zitzenverschluss beruht auf zwei Mechanismen. Zum einen zieht sich die glatte Muskulatur des Zitzenkanalsphinkters zusammen, zum anderen bildet sich ein Keratinpfropf, der das Lumen des Zitzenkanals verschließt (van der Merwe 1985, Lacy-Hulbert und Woolford 2000, Dingwell et al. 2004, Paulrud 2005). Die Effizienz des Verschlusses durch das Zusammenziehen des Schließmuskels steht in direktem Zusammenhang mit der Weite des Strichkanallumens, wobei die Steuerung der Muskulatur durch das sympathische Nervensystem erfolgt. Diese Mechanismen hemmen das Auslaufen von Milch und haben so eine gewisse Schutzwirkung gegenüber dem Aufsteigen von



Krankheitserregern über den Strichkanal (Capuco 1992, Lacy-Hulbert und Hillerton 1995). Im Normalfall bleibt der Strichkanal nach dem Melkprozess für ungefähr zwei Stunden geöffnet (Nickerson et al. 1986).

Der Keratinpfropf bildet sich aus dem mehrschichtigen verhornenden Epithel des Zitzenkanals, wobei das Stratum corneum mit der Keratinschicht gleichzusetzen ist. Die Wirkung des Keratinpfropfes besteht in einer mechanischen Barrierefunktion gegen aufsteigende Keime und der antimikrobiellen Wirkung des Keratins.

Die Zunahme der Dicke der Keratinschicht geht histologisch mit einer Abnahme der Größe des Stratum granulosum einher (Comalli et al. 1984). Den Hauptbestandteil einer komplett differenzierten Keratinozyte stellen mit mehr als 85 % Proteine. Hierbei handelt es sich um 40 bis 70 kDa alphahelical gewundene Dimere (Paulrud 2005).

Im Durchschnitt enthält ein Strichkanal eine Menge von 8,97 mg Keratin (Hogan et al. 1986). Die Menge des Keratins im Strichkanal zeigt eine deutliche Korrelation zur Strichkanallänge. Es besteht jedoch keine Korrelation zum Strichkanaldurchmesser (Paulrud et al. 2001).

In den meisten klinischen Studien wurde zur Entnahme des Keratins aus dem Strichkanal lebender Tiere eine Stricknadel mit stumpfer Spitze angewendet. Mit einer solchen Nadel war es möglich, 70 bis 78 % des gesamten im Strichkanal enthaltenen Keratins zu gewinnen (Bright et al. 1990, Capuco et al. 1990).

Die Regeneration der Keratinschicht nach einer Entnahme von 1,2 bis 3,5 mg Keratin dauert 24 bis 60 Stunden. Dadurch ergibt sich ein Regenerationsvermögen von 1,5 mg Keratin pro Tag und Strichkanal (Capuco et al. 1990).

Die antimikrobielle Wirkung des Keratins beruht auf bestimmten Proteinen und Fettsäuren, die im Keratin enthalten sind (Senft und Neudecker 1991). Der Gesamtlipidanteil beträgt 4 bis 6 % der Keratinmasse (Hogan et al. 1986, Bitman 1988). Bei den Fettsäuren überwiegen im Keratin die langkettigen ungesättigten C 18:3, C 18:2 sowie die gesättigten C 14 und C 16 Fettsäuren. Für die Fettsäuren C 18:3 und C 18:2 konnte eine gute bakteriostatische Wirkung gegenüber *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hyicus*, *Streptococcus agalactiae* nachgewiesen werden. *E. coli* und *Streptococcus faecalis* waren allerdings gegenüber den überwiegend im Keratin vorhandenen Fettsäuren resistent (Hogan et al. 1988). Die Anteile von C 18:2 Fettsäuren sind in der intrazellulären Lipidfraktion größer als in der extrazellulären. Als Reaktion auf eine klinische Mastitis verändert sich die Zusammensetzung des Keratins. So wiesen Miller et al. (1992) einen signifikant höheren Gesamtlipidgehalt bei Zitzen mit einer klinischen Mastitis nach (27,8 vs. 21,5

mikrogramm/ml). Eine subklinische Mastitis hatte allerdings keinen Einfluss auf den Lipidgehalt.

Die Zusammensetzung der im Keratin enthaltenen Lipide unterscheidet sich zwischen laktierenden und trockenstehenden Kühen deutlich. So waren der Triglyceridgehalt und der Anteil kurzkettiger Fettsäuren bei laktierenden Tieren deutlich höher. Der Gehalt an Cholesterol, an C 18:2 Fettsäuren und an mehrfach ungesättigten Fettsäuren war hingegen bei Trockenstehern erhöht.

Der in der Trockenstehphase gebildete Keratinpfropf besitzt auch eine mechanische Barrierefunktion gegenüber Infektionserregern.

Bei geschlossenen und offenen Zitzen in der Trockenstehphase lassen sich zehn Tage nach dem Trockenstellen Gewichtsunterschiede in der Masse des gebildeten Keratins nachweisen. Zu diesem Zeitpunkt haben offene Zitzen 34 % bis 55 % weniger Keratin gebildet als geschlossene (Lacy-Hulbert und Woolford 2000).

Nach einer Trockenstehzeit von 35 Tagen weisen noch über 20 % der Zitzen keinen Keratinverschluss auf (Dingwell et al. 2001, 2004, Williamson 2002). Godden et al. (2005) fassten die Ergebnisse über den Zeitpunkt des Zitzenverschlusses und den Einfluss der Milchleistung in der als Abbildung 1 dargestellten Grafik zusammen (Godden et al. 2005).

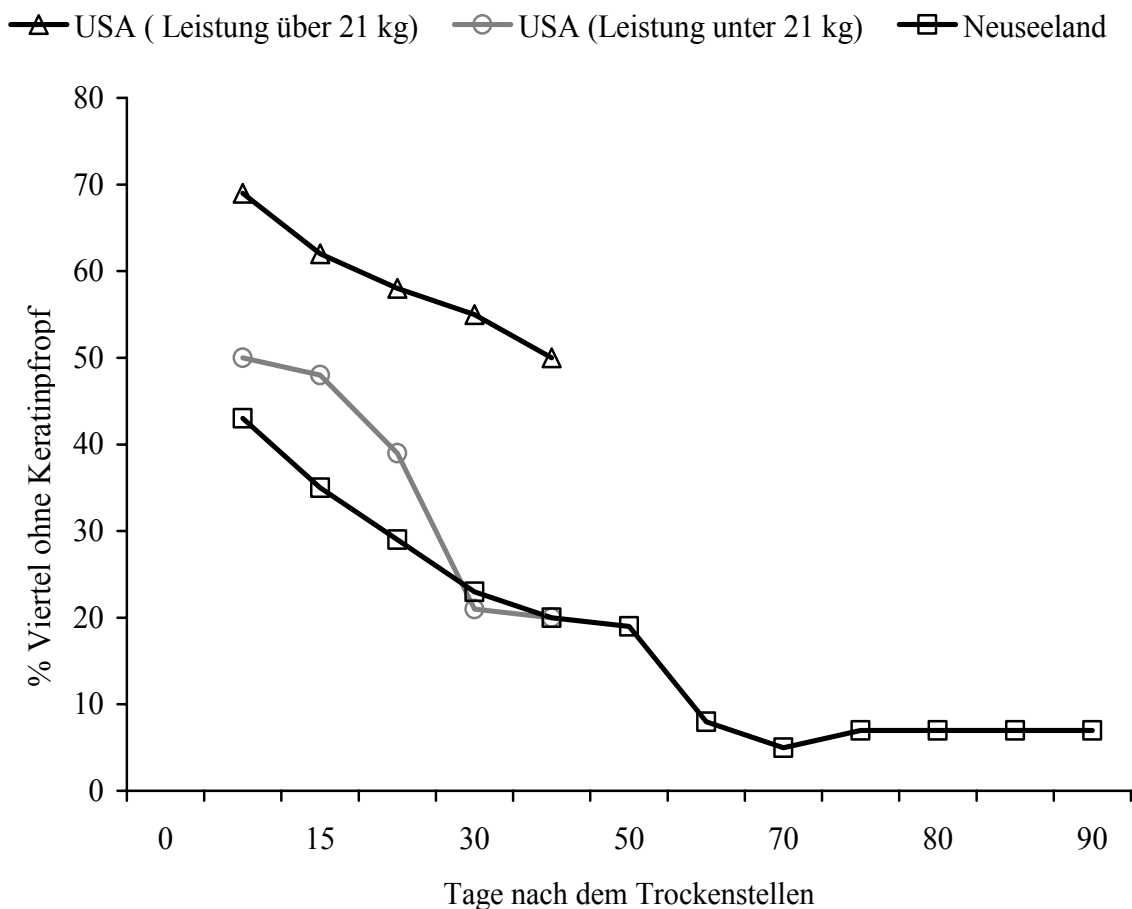


Abbildung 1: Prozentualer Anteil der Euterviertel ohne Keratinfropf in der Trockenstehphase nach Godden et al. (2005)

Zitzen ohne vollständigen Verschluss waren in der Folge häufiger von Mastitiden in der Trockenstehphase betroffen als geschlossene (Williamson 2002). In dieser Studie entwickelten geschlossene Viertel 1,8-mal weniger Neuinfektionen in der Trockenstehphase als Viertel ohne einen vollständigen Verschluss. Bei einem Infektionsversuch konnte nachgewiesen werden, dass es bei Zitzen mit einem Keratingehalt von weniger als 1,8 mg signifikant mehr Infektionen mit *Streptococcus uberis* gab, als dies bei Vierteln mit mehr als 1,8 mg Keratin der Fall war (Lacy-Hulbert und Hillerton 1995).

Diese Schutzwirkung gegen aufsteigende Keime wird auch in einem anderen Infektionsversuch deutlich. Dieser wurde auch im Splitted-Udder-Design durchgeführt (Capuco et al. 1992). In diesem Versuch wurde das Keratin vor dem Melken aus zwei Zitzen jeder Kuh entfernt. Nach dem Melkprozess wurde versucht, die Euterviertel mit einer Lösung

zu infizieren, die  $5 \times 10^7$  koloniebildende Einheiten *Streptococcus agalactiae* pro ml enthielt. Die Zitzen, von denen das Keratin entfernt wurde, entwickelten in der Folgezeit mehr Neuinfektionen als die Viertel mit Keratin (9,3 % vs. 1,4 %).

Diese Verschlussmechanismen besitzen vor allem eine Schutzwirkung gegenüber umweltassoziierten Erregern, die in der normalen Umgebung der Tiere vorkommen, und die über den Strichkanal in das Euter gelangen können. In den letzten Jahren hat sich das Erregerspektrum bei klinischen Mastitiden deutlich in Richtung der umweltassoziierten Erreger verschoben. Dabei ist das Risiko einer Infektion mit umweltassoziierten Erregern in der Trockenstehphase 5,7-mal höher als während der Laktation (Todhunter et al. 1995). Eine erhöhte Infektionsgefahr mit umweltassoziierten Erregern besteht vor allem am Anfang und Ende der Trockenstehperiode (Cousins et al. 1980, Smith et al. 1985, Eberhart 1986), bei älteren Kühen und in den Jahreszeiten Sommer bis Herbst (Hogan und Smith 1999).

## **2.8 Begünstigende Faktoren einer Infektion oder Mastitis**

Zur Entstehung einer Mastitis müssen meist mehrere begünstigende Faktoren zusammenkommen (Wolter et al. 2003). Das alleinige Vorhandensein des Erregers reicht meist nicht aus. Es handelt sich also vielmehr um ein Zusammenspiel zwischen Erregerdruck und der Leistungsfähigkeit des Immunsystems. Die Faktoren Fütterung, Haltung, Milchleistung, Melkhygiene, Remontierungsrate und die Mastitisinzidenz in einer Herde (Hamann 1996) sind wichtig, um das Risiko für eine Euterinfektion beurteilen zu können. Die Relevanz der jeweiligen Faktoren für die Entstehung von Infektionen unterscheidet sich jedoch in Abhängigkeit von dem jeweiligen Erreger. So ist für eine Infektion mit *Sc. dysgalactiae* ein deutlicher Zusammenhang mit den Faktoren Fütterung, Melktechnik und Ausführung des Melkvorganges ermittelt worden. Im Gegensatz spielen für das Auftreten von *E. coli*-Mastitiden die Haltungsbedingungen und die allgemeine Hygiene eine wichtige Rolle (Barkema et al. 1999). Die Energiebilanz in der Phase der Frühaktation ist ebenfalls von Bedeutung für die Entstehung von Mastitiden. Bei einer subklinischen Ketose ermittelten Leslie et al. (2000) einen starken Zusammenhang mit der Inzidenz klinischer und subklinischer Mastitiden. Dies ist dadurch zu erklären, dass eine stark negative Energiebilanz mit der daraus folgenden Anflutung von Ketonkörpern und kurzkettigen nicht veresterten Fettsäuren das Immunsystem schwächen. Somit wird das Eindringen von Krankheitserregern erleichtert. Einige Studien betonen den Einfluss von Ketonkörpern auf das Immunsystem. So führt ein erhöhter Gehalt an Ketonkörpern im Blut zu einer verminderten Phagozytosekapazität der Leukozyten (Suriyasathaporn 2000). Dies konnte in einem Laborversuch bestätigt werden, bei dem die Phagozytosekapazität von polymorphkernigen

Granulozyten und Makrophagen durch eine Inkubation mit Aceton oder Betahydroxybutyrat deutlich reduziert wurde (Klucinski et al. 1988). Außerdem werden bei erhöhtem Ketonkörpergehalt weniger Zytokine<sup>1</sup> produziert. Dadurch kommt es zu einer Schwächung der Immunabwehr (Filar et al. 1992, Kandefler-Szerszen et al. 1992). Zusätzlich wird die chemotaktische<sup>2</sup> Aktivität der Leukozyten durch eine negative Energiebilanz herabgesetzt (Boyum et al. 1996, Suriyasathaporn 1998, 1999).

Zu den tierindividuellen Risikofaktoren für die Entstehung von Mastitiden zählen hohe Zellgehalte in der Milch, das unkontrollierte Milchablaufen, eine hohe Milchleistung vor dem Trockenstellen und Veränderungen der Zitzenkuppe. Als Veränderungen im Bereich der Zitzenkuppe können Hyperkeratosen und rissige Zitzenkuppen vorkommen. Der Faktor der Hyperkeratose im Bereich der Zitzenkuppe hat bei einer geringen Ausprägung keinen Einfluss auf das Neuinfektionsrisiko, während bei stärkerer Hyperkeratose das Risiko einer intramammären Infektion deutlich erhöht ist (Zecconi et al. 1992, Fox et al. 1997, Timms et al. 1998, Neijenhuis et al. 2001, Falkenberg et al. 2002). In einer Studie wurde festgestellt, dass Viertel mit rissiger Zitzenkuppe ein höheres Risiko einer Neuinfektion besitzen als Viertel mit einer normalen Zitzenkuppe (Dingwell et al. 2001).

Falkenberg et al. (2002) wiesen nach, dass bei einer mittelgradigen Hyperkeratose signifikant mehr Euterviertel mit *Sc. agalactiae* infiziert waren als bei Eutervierteln ohne oder mit geringer Hyperkeratose. Timms et al. (1998) untersuchten den Zusammenhang zwischen Zitzenkuppenveränderungen und Krankheitserregern. Es wurde eine starke bakterielle Besiedlung von Zitzenkuppen mit einer Hyperkeratose festgestellt, wogegen aber keine viralen Erreger an der Zitzenkuppe nachgewiesen werden konnten.

Eine Hyperkeratose der Zitzenkuppe ist Folge einer lokalen Hyperplasie des Stratum corneum und des Stratum granulosum (Hamann et al. 1994, Neijenhuis et al. 2001). Einflussfaktoren auf die Ausbildung einer Hyperkeratose bestehen im Klima, den Haltungsbedingungen, saisonalen Unterschieden, dem Melkmanagement inklusive der Melktechnik, der Milchleistung einer Herde sowie genetischen Faktoren (Ohnstad et al. 2003). Die Zitzenkuppenform hat ebenfalls einen Einfluss auf den Grad der Hyperkeratose (Neijenhuis et al. 2000). Taschenförmige Zitzenkuppen wiesen häufiger eine Hyperkeratose auf als abgerundete. Es wurde ein Zusammenhang zwischen der Ausprägung einer Hyperkeratose der Zitzenkuppe und der Dauer des Milchentzuges bei einem Milchfluss von weniger als einem

---

<sup>1</sup> intrazelluläre Mediatoren, die zur Aktivierung von Zellen beitragen

<sup>2</sup> durch einen chemischen Reiz ausgelöste Bewegungsreaktion in Richtung auf den Reiz hin bzw. von ihm fort

Kilogramm Milch pro Minute nachgewiesen. Je länger der Melkvorgang bei einem solch geringen Milchfluss andauerte, desto schlechter war der Zustand der Zitzenkuppe. Eine schlechte Melkbarkeit und eine hohe Milchleistung sind Risikofaktoren für die Ausprägung einer Hyperkeratose (Mein und Thompson 1993, Neijenhuis 1998). Mein et al. (2003) zeigten, dass ein Überdruck von mehr als 12 kPa im Melkzeug während des Melkprozesses ebenfalls eine Belastung der Zitze darstellt und mit einem schlechteren Zustand der Zitzenkuppe assoziiert ist. Außerdem hat die Spannung des Zitzengummis einen Einfluss auf den Hyperkeratosegrad des Strichkanals (Capuco et al. 2000).

Es konnte auch nachgewiesen werden, dass die Strichkanäle der vorderen Zitzen stärker hyperkeratinisierten als die der hinteren Zitzen (Binde und Bakke 1984, Neijenhuis et al. 2000).

Der Laktationsstatus eines Tieres stellt ebenfalls einen Risikofaktor dar. So ist eine Zunahme des durchschnittlichen Ausprägungsgrades der Hyperkeratose drei bis vier Monate nach der Abkalbung beschrieben (Shearn und Hillerton 1996). In der Trockenstehphase verbessert sich der Zustand der Zitze. Es wurde ein Rückgang der Hyperkeratose beobachtet (Dingwell et al. 2001).

Die Ursache für die vermehrten Neuinfektionen wird darin gesehen, dass durch eine Hyperkeratose hervorgerufenen Veränderungen an den Strichkanälen deren Barrierefunktion herabgesetzt wird (Hamann 1987), und dass es durch die Hyperkeratose zu einer vermehrten Ansiedlung von gram positiven Erregern im Bereich der Strichkanalöffnung kommt (Timms 1997).

Ein weiterer wichtiger begünstigender Faktor für die Entstehung von Mastitiden und Neuinfektionen in der Trockenstehphase ist das unkontrollierte Milchablaufen in der frühen Trockenstehphase (Schukken et al. 1993).

Der Zellgehalt auf Tier- oder Euterviertelebene gilt als ein wichtiger Parameter zur Einschätzung des Risikos einer Neuinfektion oder Mastitis. So zeigt ein hoher Gehalt an somatischen Zellen in der Tankmilch einer Herde einen Zusammenhang mit einer höheren Mastitisinzidenz und einem höheren Anteil von Kühen in dieser Herde mit Zellgehalten von über 200.000 Zellen/ml. (Valde et al. 2005). Der Zellgehalt eines Euterviertels wird durch verschiedene Faktoren beeinflusst, so liegt der durchschnittliche Zellgehalt bei älteren Kühen höher als bei jüngeren (Dohoo et al. 1981), wobei aber die Infektion mit einem pathogenen Keim den wichtigsten Einflussfaktor auf den Zellgehalt darstellt (Harmon 1994).

Die Euterviertel, bei denen eine Infektion mit Koagulase-negativen Staphylokokken oder *Corynebacterium* spp. besteht, haben ein erhöhtes Risiko einer Neuinfektion in der

Trockenstehphase. Dies gilt vor allem für eine Infektion mit dem Keim *Sc. uberis* (Berry und Hillerton 2002).

Eine hohe Milchleistung zum Zeitpunkt des Trockenstellens ist mit einem höheren Risiko einer Neuinfektion behaftet (Oliver et al. 1956, Dingwell et al. 2001, Rajala-Schultz et al. 2005). Die Wahrscheinlichkeit einer intramammären Infektion mit umweltassoziierten Erregern stieg ab einer Milchleistung beim Trockenstellen über 12,5 kg, und zwar um mindestens 77 % je fünf Kilogramm (Rajala-Schultz et al. 2005).

Der Grund dafür wird darin gesehen, dass eine hohe Milchleistung zum Zeitpunkt des Trockenstellens häufig den Verschluss des Strichkanals verzögert und sich damit das Risiko einer Euterinfektion erhöht (Huxley et al. 2002, Dingwell et al. 2003). In einer Studie von Dingwell et al. (2004) hatten Tiere mit einer Milchleistung von über 21 kg Milch am Tag vor dem Trockenstellen ein 1,8-mal höheres Risiko, dass sich der Verschluss des Strichkanals verzögerte, als Tiere mit geringerer Milchleistung (Dingwell et al. 2004).

### **2.9 Einflüsse und Prophylaxemaßnahmen auf die Eutergesundheit während der Trockenstehphase**

Das Ziel für eine Prophylaxe in der Trockenstehphase liegt in der Vermeidung von Neuinfektionen und der Ausheilung bestehender Infektionen in der Zeit vom Trockenstellen bis zur Abkalbung (Eberhart 1986). Die Trockenstehphase ist aber ein Zeitraum, in dem ein hohes Risiko für Neuinfektionen der Milchdrüse besteht (Smith et al. 1985, Todhunter et al. 1991, Timms 1997, Bradley und Green 2000, Cook et al. 2002). Dabei ist die Gefahr in der frühen und späten Phase am höchsten (Cousins et al. 1980, Eberhart 1986, Dingwell et al. 2001, Wilkinson 2003). Dieser Sachverhalt wird in der Grafik von Bradley und Green (2000) (Abbildung 2) dargestellt.

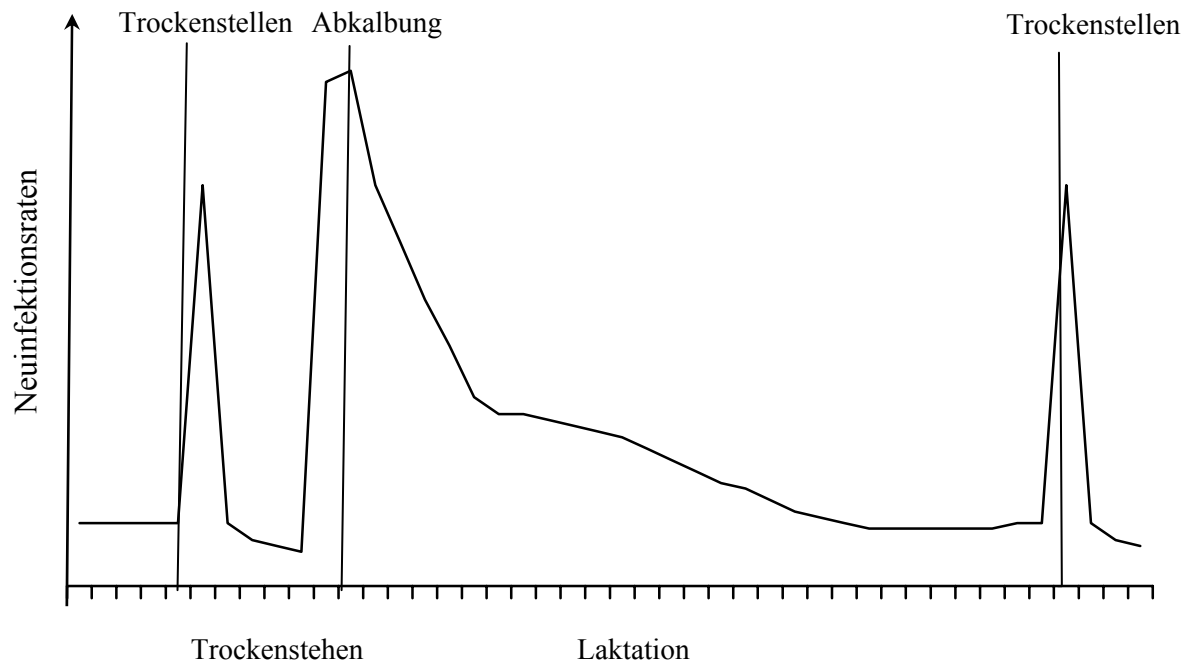


Abbildung 2: Neuinfektionsraten im Verlauf der Laktation und der Trockenstehphase nach Bradley und Green (2000)

Eine persistierende Infektion in der Trockenstehzeit hat zur Folge, dass die Kolostrummenge zurückgeht, der Immunglobulingehalt im Kolostrum aber konstant bleibt (Maunsell et al. 1998).

Die Bedeutung der Vermeidung von Neuinfektionen in der Trockenstehphase für die Eutergesundheit lässt sich an einer Studie von Bradley und Green (2000) erkennen. In dieser Studie wurde gezeigt, dass mehr als die Hälfte aller Mastitiden, die durch Enterobakterien in den ersten 100 Tagen der Laktation auftraten, auf eine Infektion mit diesen Erregern in der Trockenstehphase zurückzuführen waren (Bradley und Green 2000). Auch Todhunter et al. (1991) beschrieben, dass mehr als 60 % aller Infektionen während der Trockenstehphase stattfinden. Diese Infektionen in der Trockenstehphase haben eine Bedeutung für den somatischen Zellgehalt einer Herde und die Entstehung von klinischen Mastitiden (Smith und Hogan 1999).

### 2.9.1 Antibiotika

Der Einsatz von Penicillin wurde 1950 von Pearson als Prophylaxe vor Sommermastitiden eingeführt (Pearson 1950, 1951). Hierdurch gelang es, die Inzidenz dieser Erkrankung bei trockenstehenden Kühen von 10 % auf 1 % zu reduzieren. Doch schon bald wurde der Bedarf nach länger wirksamen Präparaten deutlich. Die Neuinfektionsraten sollten dadurch während der gesamten Trockenstehphase gesenkt werden. Es wurde nun in den wichtigsten



Milcherzeugerländern die Empfehlung gegeben, dass alle Tiere unter antibiotischen Schutz trocken gestellt werden sollten. Die Vorteile einer solchen Behandlung waren, dass in diesem Zeitraum keine Gefahr einer Verunreinigung der Milch durch Medikamentenrückstände bestand. Außerdem war es möglich, die Kosten durch einen minimalen diagnostischen Aufwand sehr gering zu halten (Neave et al. 1966).

In der damaligen Zeit spielten allerdings die euterassoziierten Erreger noch eine wesentlich bedeutendere Rolle. Heutzutage hat die Vermeidung von Neuinfektionen mit umweltassoziierten Erregern in der Trockenstehphase an Bedeutung gewonnen.

Die heute gebräuchlichen Antibiotikaformulierungen sind so beschaffen, dass sie drei bis sieben Wochen nach Einbringung in das Euter einen Wirkspiegel besitzen.

### **2.9.1.1 Wirksamkeit von Antibiotika zur Reduktion von Neuinfektionen**

In den vorliegenden Studien bestehen in Hinsicht auf die Neuinfektionsraten während der Trockenstehphase große Unterschiede. Die Angaben schwanken zwischen 1,4 % und 30,9 % (Smith et al. 1967, Postle und Natzke 1974, Sinkevitch et al. 1974, Eberhart 1986, Browning et al. 1990, Woolford et al. 1998, Dingwell et al. 2001, Godden et al. 2003, Cook et al. 2004).

In der letzten Zeit wird der Nutzen einer antibiotischen Trockenstehprophylaxe immer wieder kontrovers diskutiert. Die Wirksamkeit einer antibiotischen Trockensteherprophylaxe wird von einigen Autoren für den Bereich der umweltassoziierten Erreger als gering beschrieben (Bradley und Green 2002).

Tabelle 3: Neuinfektionsraten während der Trockenstehperiode

Autoren	Verwendeter Wirkstoff	Neuinfektionen	
		behandelte Tiere	unbehandelte Tiere
Smith et al. 1967	1 g Benzathin-cloxacillin	5,4 %	30,9 %
Sinkevitch et al. 1974	500 mg Benzathin-cloxacillin	1,4 %	6,5 %
Postle und Natzke 1974	500 mg Benzathin-cloxacillin	6 %	12 %
Browning et al. 1990	500 mg Benzathin-cloxacillin	2,1 %	3,8 %
Woolford et al. 1998	250 mg Cephalonium	2,7 %	16,1 %
Berry und Hillerton 2002	250 mg Cephalonium	4,3 %	11,8 %
Berry und Hillerton 2002	Bismuthsubnitrat	3,4 %	11,4 %

Außerdem ist zu beachten, dass in den meisten neueren Studien 85 % der Tiere auch ohne antibiotische Prophylaxe keine Neuinfektionen in der Trockenstehphase entwickelten (Schukken et al. 1993).

In einer Studie von Dingwell et al. (2001), bei der die meisten Infektionen durch Umweltkeime verursacht wurden, konnte die Neuinfektionsrate durch den Einsatz von Antibiotika um 5 % reduziert werden.

Die vorliegenden Ergebnisse verdeutlichen, dass durch die Verabreichung von antibiotikahaltigen Trockenstellern sich bei 5 bis 10 % der Kühe Neuinfektionen während der Trockenstehphase vermeiden lassen (Schukken et al. 1993, Hassan et al. 1999).

Aus diesem Grund ist der Einsatz von Antibiotika zur Infektionsprophylaxe in der heutigen Zeit, in der die Anwendung von Antibiotika in der Nutztierhaltung unter sehr starker öffentlicher Kritik steht, nur schwer als generelle Maßnahme zu rechtfertigen. Um den gesellschaftlichen und politischen Forderungen (WHO 1994) nach einer Reduzierung des Antibiotikaeinsatzes nachzukommen, sollten die nicht antibiotischen Methoden des Trockenstellens weiter verbessert werden.

### 2.9.1.2 Wirksamkeit von Antibiotika zur bakteriologischen Ausheilung

Der Einsatz von Antibiotika zum Trockenstellen kann 40 bis 60 % der Infektionen, die zum Zeitpunkt des Trockenstellens bestehen, bis zur Abkalbung eliminieren (Browning et al. 1990, Erskine et al. 1994, Sol et al. 1994, Østeras et al. 1999). Dies bedeutet, dass etwa 50 % der Tiere mit einer Infektion, die sie in der vorangegangenen Laktation erworben haben, in die neue starten (Schukken 2002).

Diesen Angaben stehen Selbstheilungsraten in der Trockenstehperiode von 20 bis 50 % entgegen (Craven 1991).

*Tabelle 4: Bakteriologische Heilungsraten während der Trockenstehphase*

Autoren	Verwendeter Wirkstoff	Bakteriologische Heilungsraten	
		behandelte Tiere	unbehandelte Tieren
Smith et al. (1967)	1 g Benzathin-cloxacillin	82 %	9,5 %
Sinkevitch et al. (1974)	500 mg Benzathin-cloxacillin	78 %	6,5 %
Postle und Natzke (1974)	500 mg Benzathin-cloxacillin	93 %	42 %

In einer Studie von Hassan et al. (1999) zeigte sich, dass in dem Zeitraum von sechs Wochen nach dem Trockenstellen bis zur Abkalbung ein starker Rückgang der infizierten Viertel stattfindet, was ein Indiz für die bessere Infektionsabwehr in diesem Zeitraum sein könnte.

Für eine bakteriologische Heilung sind aber auch tierindividuelle Faktoren und Unterschiede in den Eigenschaften der Erreger relevant (Schukken 2001). Die wichtigsten Pathogenitätseigenschaften, die die bakteriologische Heilung beeinflussen, sind die Antibiotikaempfindlichkeit und die Enterotoxinproduktion der Erreger. Der in dieser Hinsicht am besten untersuchte Erreger von Euterinfektionen ist *Staphylococcus aureus*. So konnten bei Penicillin resistenten *S. aureus* Stämmen geringere bakteriologische Heilungsraten erzielt werden als bei Penicillin empfindlichen Stämmen. Dies war auch der Fall, wenn die mit resistenten Stämmen infizierten Euterviertel mit Wirkstoffen behandelt wurden, deren

Wirkungen durch eine  $\beta$ -Lactamase-Produktion nicht beeinflusst werden (Sol et al. 1997, Pyörälä et al. 2000).

Die Enterotoxinproduktion als ein Faktor für die Inzidenz klinischer Mastitiden wurde in einigen Studien kontrovers diskutiert. So konnten Tollersrud et al. (2000) keinen Zusammenhang zwischen der Produktion der Enterotoxine A, B, C, D und TSST und der Inzidenz klinischer Mastitiden ermitteln. Fitzgerald konnte diesen Zusammenhang für die Enterotoxine A und B sowie für TSST und C statistisch absichern. Es konnte aber nachgewiesen werden, dass durch Enterotoxine die Reaktion des Immunsystems auf eine bakterielle Infektion verändert wird (Ferens et al. 1998, Mullarky et al. 2001). Zum einen wurde durch die Zugabe von Enterotoxin A eine signifikante Abnahme der bakteriziden Kapazität von neutrophilen Granulozyten nachgewiesen. Zum anderen führte das Vorliegen des Enterotoxin C zu einer Veränderung in der Zytokinproduktion der Lymphozyten. Beide Effekte haben eine Immunsuppression zur Folge.

Einige tierindividuelle Faktoren beeinflussen ebenfalls die Wahrscheinlichkeit einer bakteriologischen Heilung bei dem Einsatz von Antibiotika zum Trockenstellen (Sol et al. 1994, Østeras 1999, Østeras und Edge 2000, Schukken 2001).

Das zunehmende Alter der Tiere, höhere Zellgehalte im Gesamtgemelk vor dem Trockenstellen sowie die Infektion von mehr als einem Euterviertel mit einem pathogenen Erreger verschlechterten die Wahrscheinlichkeit einer bakteriologischen Heilung (Sol et al. 1994). Außerdem reduzierte sich bei Eutervierteln, die während der zurückliegenden Laktation an einer chronischen Mastitis erkrankten, ebenfalls die Wahrscheinlichkeit einer bakteriologischen Heilung (Østeras und Edge 2000).

### **2.9.2 Interne Zitzenversiegler**

Der Wirkungsmechanismus von Zitzenversiegleren beruht darauf, dass ein mechanischer Verschluss der Zitze stattfindet. Diese Barriere soll das Aufsteigen von Keimen über die Zitzenkuppe und den Strichkanal in die Milchdrüse erschweren. Der externe Zitzenversiegler bedeckt die Zitzenkuppe, während der interne den Strichkanal ausfüllt und ihn somit verschließt. Diese mechanische Barriere ist bei einmaliger Anwendung eines internen Zitzenversiegler länger wirksam als bei einem externen (Redetzky und Hamann 2003). Der interne Zitzenversiegler auf Bismuthbasis konnte 100 Tage nach der intrazisternalen Anwendung noch im Strichkanal der behandelten Viertel röntgenologisch nachgewiesen werden (Woolford et al. 1998).

Trotz des Einsatzes des internen Zitzenversieglers konnte aber bei einigen Vierteln ein unkontrolliertes Ablaufen der Milch in den ersten Tagen nach dem Trockenstellen beobachtet werden (Krömker und Pfannenschmidt 2003).

Interne Zitzenversiegler auf Bismuthbasis sind bereits seit einigen Jahren vor allem in Irland und Neuseeland im Einsatz. In Neuseeland wird meist der Zitzenversiegler als alleinige Trockenstehprophylaxe eingesetzt, während in Irland meist mit einer Kombination aus Antibiotikum und Zitzenversiegler gearbeitet wird (Schukken 2002).

### **2.9.2.1 Selektive Anwendung eines internen Zitzenversieglers**

Der alleinige Einsatz eines internen Zitzenversieglers zum Trockenstellen wird nur bei eutergesunden Tieren empfohlen. Bei Euterkranken sollte wegen der besseren bakteriologischen Heilungsraten nicht auf den Einsatz eines Antibiotikums verzichtet werden.

#### **2.9.2.1.1 Selektionskriterien auf Tierebene**

Um nun eine Einteilung in eutergesunde und euterkranke Tiere vornehmen zu können, haben Huxley et al. (2002) Selektionskriterien auf Kuhebene zum Einsatz eines internen Zitzenversieglers definiert. Es wurden nur Tiere für das Trockenstellen mit dem internen Zitzenversiegler selektiert, die keine klinische Mastitis in der zurückliegenden Laktation, eine Zellzahl von weniger als 200.000 Zellen pro ml im arithmetischen Mittelwert der letzten drei Milchleistungsprüfungen vor dem Trockenstellen und keine Infektion mit einem major pathogen in der Milchprobe vor dem Trockenstellen aufwiesen.

Eine solche selektive Behandlung auf Kuhebene wird einer Selektion auf Viertelebene vorgezogen (Berry et al. 2003).

#### **2.9.2.1.2 Nutzen des California-Mastitis-Testes zur Bestimmung des Gesundheitsstatus eines Euterviertels**

Schalm und Nordlander entwickelten 1962 den Schalmtest oder California-Mastitis-Test. Bei diesem handelt es sich um einen semiquantitativen Schnelltest zur viertelindividuellen Beurteilung des Zellgehaltes in der Milch. Die Funktionsweise basiert darauf, dass die Testreagenz (Alkyl-Arylsulfonat) mit den Zellkernen der in der Milch enthaltenen somatischen Zellen eine Reaktion eingeht. Durch diese Reaktion wird das Gemisch aus Testreagenz und Milch mit zunehmenden Zellgehalten visköser. Die Einschätzung des Ergebnisses erfolgt dann anhand des Viskositätsgrades des Gemisches. Die Schwächen dieses Systems liegen darin, dass es erst ab einem Zellgehalt von 200.000 Zellen pro ml zu einer wahrnehmbaren Reaktion kommt. Ebenso kann die Beurteilung des Ergebnisses durch die

subjektive Wahrnehmung des Anwenders variieren (Krömker und Hamann 2001). Die Überprüfung der Nutzbarkeit des California-Mastitis-Testes hat in einer Studie bei Tieren vier Tage nach ihrer Abkalbung eine Sensitivität von 82,4 % und eine Spezifität von 80,6 % für die Erkennung einer intramammären Infektion mit einem major pathogen ergeben. Dies lässt erkennen, dass aufgrund des Ergebnisses dieses Schnelltestes eine Einschätzung der Gesundheit des Euterviertels mit relativ großer Zuverlässigkeit möglich ist (Dingwell et al. 2003). In einer anderen Studie wurde bei Vorliegen einer deutlichen Schlierenbildung (++) zu 75 % auch ein Infektionserreger in dem betreffenden Euterviertel nachgewiesen. Bei einer noch höheren Viskosität wurden bei 90 bis 100 % der Euterviertel Infektionserreger gefunden (Marshall und Edmondson 1993). Die Nutzbarkeit des California-Mastitis-Testes zum Auffinden von infizierten Eutervierteln in den ersten Wochen nach der Abkalbung wurde auch von Ruegg und Sekito (2004) überprüft. Hierbei war die Sensitivität des California-Mastitis-Testes für die Erkennung einer Infektion mit einem minor pathogen gering. Bei Infektionen mit major pathogen ergab sich für die Sensitivität und Spezifität eine sehr starke Abhängigkeit von dem Grad des CMT-Ergebnisses. So lag die Sensitivität für das Vorliegen einer Infektion mit einem major pathogen bei einem leicht positiven (+) Ergebnis bei 70,0 % und die Spezifität bei 68,3 %. Bei einer Gelbildung (+++) lagen die Sensitivität bei 45,0 % und die Spezifität bei 96,2 %.

### **2.9.2.2 Inhaltsstoffe und Anwendung von OrbeSeal®**

Der Zitzenversiegler OrbeSeal® der Firma Pfizer Tiergesundheit GmbH basiert auf einer Mischung aus basischem Bismuthsubnitrat, dickflüssigem Paraffin, Aluminiumhydroxid-disterat und Siliziumdioxid. Der Hauptinhaltsstoff eines Euterinjektors mit 4,0 g Gesamthalt ist mit 2,6 g das Bismuthsubnitrat. Der Injektor wird nach dem letzten Melken vor dem Trockenstellen in die Zitze injiziert. Die Zitzenkuppe wird vorher gesäubert und desinfiziert. Nach dem Einbringen des Injektors darf keine Massage der Zitze erfolgen, wie dies bei antibiotischen Trockenstellern üblich ist.

Der Zitzenversiegler wird nach der Abkalbung des Tieres durch das erste Melken aus der Zitze entfernt. Es konnten trotz regelmäßigen Melkens aber bis zu drei Wochen nach der Abkalbung noch Reste des Zitzenversieglers in der Milch gefunden werden. Außerdem muss beachtet werden, dass diese Reste nicht mit den Anzeichen einer Euterentzündung verwechselt werden (Berry und Hillerton 2002, Wilkinson 2003).

### **2.9.2.3 Effekte von Bismuthsubnitrat bei oraler Aufnahme**

Aufgrund der beschriebenen Rückstände des Bismuths beim Melkprozess ist zu erwarten, dass der Zitzenversiegler sowohl von Kälbern als auch in geringen Mengen vom Menschen über den Milchverzehr aufgenommen werden könnte. Dies hat zu einer Diskussion über mögliche gesundheitliche Risiken für Mensch und Tier durch den internen Zitzenversiegler geführt. Bei dem Einsatz von Bismuth in der Humanmedizin als oral verabreichtes Therapeutikum bei chronischen Darmerkrankungen konnte festgestellt werden, dass die Konzentration von Bismuth im Blut, die normalerweise zwischen 1 und 15 µg/l liegt (Slikkerveer und de Wolf 1989), durch die Behandlung signifikant ansteigt. Auch in den inneren Organen, vor allem in der Niere, kann ein Anstieg der Bismuthkonzentration gemessen werden (Gane et al. 1996, Koch et al. 1996, Rao et al. 1997, Canena et al. 1998). Es ist davon auszugehen, dass von der oral aufgenommenen Menge Bismuth unter 1 % resorbiert wird (Slikkerveer et al. 1995, Koch et al. 1996, Rao et al. 1997).

In der Niere ist ein Bismuth bindendes Protein vorhanden, dessen Synthese durch Bismuth selbst induziert wird. Der Hauptteil des resorbierten Bismuth wird über die Niere ausgeschieden.

In Frankreich wurde Bismuth vermehrt zur Behandlung chronischer Verdauungsbeschwerden eingesetzt, dabei konnten im Zeitraum von 1974 bis 1976 über 100 Fälle von Enzephalopathien bei den behandelten Patienten gezählt werden. Die von der Krankheit betroffenen Patienten wiesen eine 10 bis 100 mal höhere Bismuthkonzentration im Blut auf als die Patienten, die bei gleicher aufgenommener Medikamentenmenge keine Krankheitssymptome zeigten (Loiseau et al. 1976). In einem Versuch mit Mäusen wurde aber gezeigt, dass eine Anreicherung von Bismuth im Gehirn nicht zwangsläufig mit einer Enzephalopathie einhergehen muss. Bei einigen Patienten traten auch andere toxische Effekte in Form von Nephropathien, Osteoarthropathien, Gingivitiden, Stomatitiden und Colitiden auf (Slikkerveer und de Wolff 1989).

In Tierexperimenten ergab sich bei intraperitonealer Gabe von Bismuth an Mäusen eine Ausdehnung der Gehirnv ventrikel sowie eine Akkumulation von Bismuth in bestimmten Gehirnregionen (Ross et al. 2002). Andere Autoren berichten, dass sich Bismuth nach intraperitonealer Gabe in den testikularen Makrophagen anreichert, und dies zu einer Absenkung des Testosteronspiegels führt (Stoltenberg et al. 2002, Stoltenberg und Huston 2004). Die Anzahl von Leydigzellen war bei mit Bismuth exponierten Ratten signifikant geringer als bei den Kontrolltieren (Pedersen et al. 2003).

Bismuth wird aber auch wegen einiger positiver Effekte geschätzt. So vermindert es in Kombination mit einem Antibiotikum zum Beispiel im Colon die Produktion eines toxischen Thiols durch bestimmte Bakterien (Ohge et al. 2003).

#### **2.9.2.4 Ergebnisse zur Wirksamkeit interner Zitzenversiegler**

##### **2.9.2.4.1 Vergleich eines internen Zitzenversieglers mit unbehandelten Kontrollgruppen**

Bei der Wirksamkeitsprüfung eines internen Zitzenversieglers gegenüber einer unbehandelten Kontrollgruppe erwies sich der Zitzenversiegler im Hinblick auf das Auftreten von Mastitiden in der Trockenstehphase (-3,0 %) in den ersten 100 Tagen nach der Abkalbung und im Hinblick auf die Neuinfektionsraten (-21,2 %) mit dem in dem Versuchsbetrieb dominierenden Keim *Sc. uberis* als überlegen (Berry und Hillerton 2002). Ähnliche Ergebnisse erbrachte eine Studie aus Neuseeland. Hier lag der Unterschied bei bis zu 13,6 % weniger Neuinfektionen durch den Einsatz eines internen Zitzenversieglers, und die Inzidenz klinischer Mastitiden während der Laktation wurde hierdurch von 6,3 % auf 2,2 % reduziert (Woolford et al. 1998).

##### **2.9.2.4.2 Vergleich interner Zitzenversiegler mit antibiotischem Trockenstellen**

Untersuchungen von Huxley et al. (2002) zeigten, dass versiegelte Euterviertel eine signifikant niedrigere Neuinfektionsrate mit *E. coli* und Enterobakterien aufwiesen als Viertel, die antibiotisch mit dem Wirkstoff Cephalonium trockengestellt wurden. Die Ausheilungsrate mit dem minor pathogen *Corynebacterium spp.* war allerdings in der antibiotisch behandelten Gruppe besser. In Hinblick auf die Neuinfektionen mit allen major pathogens und dem Auftreten klinischer Mastitiden in den ersten 100 Tagen der Laktation ließen sich keine signifikanten Unterschiede ermitteln.

Eine Studie aus Neuseeland hat ein antibiotisches Trockenstellen mit 250 mg des Wirkstoffs Cephalonium mit einem internen Zitzenversiegler verglichen. Im Hinblick auf die Neuinfektionsraten (Zitzenversiegler vs. Antibiotikum: 2,7 % vs. 2,0 %) und dem Auftreten klinischer Mastitiden während der Laktation (Zitzenversiegler vs. Antibiotikum: 2,2 % vs. 3,0 %) konnten keine signifikanten Unterschiede verzeichnet werden (Woolford et al. 1998).

##### **2.9.2.4.3 Kombinationsbehandlung aus Zitzenversiegler mit Antibiotikum**

In einigen Studien wurde das konventionelle antibiotische Trockenstellen mit einer Kombinationsbehandlung aus internem Zitzenversiegler und Antibiotikum verglichen. Es zeigte sich in allen Studien, dass eine Reduktion der Neuinfektionsraten und der Mastitiden



im ersten Laktationsdrittel durch die zusätzliche Anwendung eines internen Zitzenversieglers erreicht werden konnte (siehe Tabelle 5).

*Tabelle 5: Vergleich antibiotisches Trockenstellen mit einer Kombinationsbehandlung*

Autoren	Behandlung Studienviertel	Behandlung Kontrollviertel	Differenz bei	
			Neuinfektionen	Mastitiden
Godden et al. 2003	500 mg Benzathin-cloxacillin + OrbeSeal®	500 mg Benzathin-cloxacillin	- 5,2 %	- 2,1 % <sup>1</sup>
Cook et al. 2004	Penicillindihydrostreptomycin + OrbeSeal®	Penicillin-dihydrostreptomycin	- 6,7 %	-6,5 % <sup>2</sup>
Woolford et al. 1998	250 mg Cephalonium + OrbeSeal®	250 mg Cephalonium	- 0,7 %	-0,1 %

<sup>1</sup>Mastitiden in ersten 60 d p.p. (Tage nach der Abkalbung), <sup>2</sup>Mastitiden in ersten 100 d p.p.

#### **2.9.2.4.4 Zitzenversiegler mit Zusatz von Bakteriocinen**

Der Zusatz eines Bakteriocines zu internen Zitzenversiegler wurde in anderen Studien getestet. Bei einem Bakteriocin handelt es sich um ein Protein, das von bestimmten Bakterien produziert wird und eine abtötende Wirkung gegen andere Bakterien hat. Das Lacticin 3147 wird von dem Bakterium *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* DCP 3147 produziert (Ryan et al. 1996). Dieses Bakterium wird routinemäßig als Starterkultur bei der Erzeugung fermentierter Milcherzeugnisse verwendet. Die bakterizide Wirkung von Lacticin 3147 beruht auf seinen porenbildenden Eigenschaften. Hierdurch kommt es bei den betroffenen Zellen zu einem Verlust an Kalium- und Phosphat-Ionen. Dies führt dazu, dass das Membranpotential in der Folge nicht aufrecht gehalten werden kann, und es zum Tod der Zelle kommt. Diese Eigenschaft verleiht dem Lacticin eine breite Wirksamkeit vor allem gegenüber gram-positiven Bakterien (McAuliffe et al. 1998).

Die Wirksamkeit einer Kombination aus Bismuthsubnitrat und dem Bakterizid Lacticin 3147 wurde gegenüber einer reinen Behandlung mit einem internen Zitzenversiegler verglichen. Die Zitzen der Euterviertel wurden in einer Studie mit den Pathogenen *Sc. dysgalactiae* oder *S. aureus* infiziert. Es ergab sich für beide Keime, dass die Kombinationsbehandlung mit

Lacticin 3147 weniger klinische und latente Infektionen aufwies als die ausschließliche Behandlung mit einem internen Zitzenversiegler. Der Unterschied lag für *Sc. dysgalactiae* bei 42 % klinischen Infektionen in den mit dem Zitzenversiegler behandelten Eutervierteln gegenüber nur 6 % klinischen Infektionen bei den Vierteln, die die Kombination aus Zitzenversiegler und Lacticin bekamen. Bei den latenten und klinischen Infektionen ergab sich ein Unterschied von 61,0 % zu 6,0 % zugunsten der Kombination aus Lacticin und Zitzenversiegler (Meaney et al. 2001). Eine Studie von Twomey brachte für die Infektion mit *S. aureus* ähnliche Ergebnisse. Allerdings stellte er fest, dass bei einer Reduktion des Lacticinzusatzes um 50 % diese Schutzwirkung nicht mehr vorhanden war (Twomey et al. 2000).

Durch den Einsatz von Lacticin könnte eine bessere Wirksamkeit von internen Zitzenversiegler zum Trockenstellen erreicht und somit der Einsatz von Antibiotika zur Trockenstehprophylaxe reduziert werden (Ryan et al. 1998, 1999).