Aus dem Institut für Fleischhygiene und –technologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Bakteriologischer Status des Gewebes bei mit Mastitis geschlachteten Kühen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Janka Daetz-Heisler, geb. Heisler
Tierärztin
aus Berlin

Berlin 2010
Journal-Nr.: 3475

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg
Erster Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. Reinhard Fries
Zweiter Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Heuwieser
Dritter Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. Goetz Hildebrandt

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):
mastitis, dairy cows, slaughter, bacteriology, bacterial count, beef, food safety

Tag der Promotion: 24.06.2011

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*
Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86387-017-1
Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2011
Dissertation, Freie Universität Berlin
D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.
Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.
No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved
© Mensch und Buch Verlag 2011
Choriner Str. 85 - 10119 Berlin
verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Meiner Mutter

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis ..... **V**
1 Einleitung **1**
2 Literatur **3**
2.1 Euterentzündungen **3**
2.1.1 Definitionen 3
2.1.2 Schutzmechnismen im Rindereuter 4
2.2 Mastitiserreger **6**
2.2.1 Erregerspektrum und –verteilung 6
2.2.2 Grampositive Kokken als Mastitiserreger 8
2.2.2.1 Änderungen von Taxonomie und Nomenklatur 8
2.2.2.2 Streptokokken als Mastitiserreger 10
2.2.2.2.1 Erregerspektrum und –verteilung bei Streptokokkenmastitis 10
2.2.2.2.2 Euterpathogene Streptokokken 11
2.2.2.3 Enterokokken und Laktokokken als Mastitiserreger 15
2.2.2.4 Staphylokokken als Mastitiserreger 15
2.2.2.4.1 Koagulase-positive Staphylokokken 16
2.2.2.4.2 Koagulase-negative Staphylokokken 17
2.2.2.5 Weitere grampositive Kokken 19
2.2.3 Grampositive Stäbchen als Mastitiserreger 19
2.2.3.1 Arcanobacterium pyogenes als Mastitiserreger 19
2.2.3.2 Corynebakterien als Mastitiserreger 20
2.2.3.3 Nocardien als Mastitiserreger 21
2.2.3.4 Bacillus als Mastitiserreger 21
2.2.3.5 Listerien als Mastitiserreger 22
2.2.3.6 Weitere grampositive, regelmäßige Stäbchen 22
2.2.4 Gramnegative Stäbchen als Mastitiserreger 22
2.2.4.1 Enterobacteriaceae 22
2.2.4.2 Weitere gramnegative Keime als Mastitiserreger 23
2.2.5 Andere potentielle Erreger von Mastitiden 25
2.2.6 Potentielles Risiko von Mastitiserregern für den Menschen 26
2.2.7 Mikrobiologische Untersuchung des Gewebes von Schlachttieren 33
2.2.7.1 Mikrobielle Belastung des Gewebes bei Schlachttieren 33

2.2.7.2 Nachweis von Mastitiserregern bei Schlachtkühen ... 37
2.3 Die eingesetzten Fließschemata ... 39
2.3.1 Grampositive Kokken ... 39
2.3.1.1 Die Genera Streptococcus, Enterococcus und Lactococcus ... 39
2.3.1.1.1 Allgemeine Eigenschaften ... 39
2.3.1.1.2 Differenzierung ... 40
2.3.1.1.3 Eigenschaften spezieller Mastitis-Streptokokken ... 42
2.3.1.1.4 Eigenschaften von Enterokokken ... 45
2.3.1.1.5 Eigenschaften von Lactococcus ... 46
2.3.1.2 Genus Staphylococcus ... 46
2.3.1.2.1 Allgemeine Eigenschaften von Staphlokokken ... 46
2.3.1.2.2 Differenzierung von Staphylokokken ... 46
2.3.1.3 Weitere grampositive Kokken ... 48
2.3.2 Nichtsporenbildende, regelmäßige, grampositive Stäbchen ... 51
2.3.3 Nichtsporenbildende, unregelmäßige, grampositive Stäbchen ... 53
2.3.3.1 Arcanobacterium pyogenes ... 53
2.3.3.2 Genus Corynebacterium ... 54
2.3.3.3 Genus Nocardia ... 54
2.3.4 Sporenbildner ... 55
2.3.5 Gramnegative Stäbchen ... 55
2.4 Rechtliche Grundlage ... 59
3 Material und Methoden ... 61
3.1 Vorgehen, Datenerhebung und Probenentnahme im Herkunftsbetrieb ... 61
3.1.1 Allgemeines Vorgehen ... 61
3.1.2 Daten der Herkunftsbetriebe ... 61
3.1.3 Untersuchung und Datenerhebung am Tier ... 62
3.2 Vorgehen und Probenentnahme im Schlachtbetrieb ... 64
3.2.1 Ermittlung der zu beprobenden Schlachttierkörper ... 64
3.2.2 Beprobung der Euter ... 65
3.2.3 Entnahme von Muskulatur- und Lymphknotenprobe ... 65
3.2.4 Probentransport ... 65
3.3 Vorgehen und Probenuntersuchung im Labor ... 66
3.3.1 Qualitätssicherung ... 66
3.3.2 Vorgehen bei den Gewebeproben ... 66

3.3.2.1 Allgemeine Vorgehensweise ... 66
3.3.2.2 Aufbereitung der Gewebeproben ... 67
3.3.2.3 Herstellung der Verdünnungsreihe ... 67
3.3.2.4 Beimpfung der Nährmedien ... 68
3.3.2.5 Ermittlung der aeroben Keimzahl ... 68
3.3.2.6 Subkultivierung der Kolonien auf den Blutplatten ... 69
3.3.3 Vorgehen bei den Milchproben ... 70
3.3.4 Taxonomische Differenzierung der Bakterien ... 71
3.3.4.1 Gramfärbung und KOH-Test ... 71
3.3.4.2 Weiterführende Differenzierung der Bakterien ... 72
3.4 Statistische Auswertung ... 84
4 Ergebnisse ... 85
4.1 Ergebnisse der im Herkunftsbetrieb erhobenen Daten ... 85
4.2 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen ... 92
4.2.1 Milchproben ... 92
4.2.2 Gesamtkeimzahl in den Gewebeproben ... 99
4.2.2.1 Gesamtkeimzahl im Eutergewebe ... 99
4.2.2.2 Gesamtkeimzahl der Gewebe Muskulatur und Lymphknoten ... 101
4.2.3 Ergebnisse der taxonomischen Differenzierung der Bakterien ... 103
4.2.3.1 Nachgewiesenes Keimspektrum ... 103
4.2.3.2 Mikrobiologische Übereinstimmung in Euter und Muskulatur bzw. Lymphknoten ... 104
5 Diskussion ... 105
5.1 Material und Methoden ... 105
5.1.1 Datenerhebung ... 105
5.1.2 Vorgehen im Labor ... 106
5.1.2.1 Verfahren für den Ansatz der Gewebeproben ... 106
5.1.2.2 Erwartetes Keimspektrum ... 106
5.1.2.3 Auswahl der Differenzierungsmethoden ... 108
5.1.2.4 Milchproben ... 111
5.1.2.5 Qualitätssicherungsmaßnahmen ... 111
5.2 Ergebnisse ... 112
5.2.1 Unterschiede zwischen den Gruppen im Vorbericht ... 112
5.2.2 Die nachgewiesenen Keime ... 114

5.2.2.1 Nachgewiesenes Keimspektrum ... 114
5.2.2.2 Pathogenes Potential für den Menschen ... 115
5.2.2.2.1 Grampositive Kokken ... 115
5.2.2.2.2 Grampositive Stäbchen ... 116
5.2.2.2.3 Gramnegative Stäbchen ... 117
5.2.3 GKZ im Gewebe ... 117
5.2.4 Zusammenhang Keimnachweis Euter / Muskulatur und Euter / Lymphknoten ... 119
5.2.5 Vergleich des Keimnachweises in Euter und Milch ... 121
5.2.6 Zusammenhang zwischen GKZ und den Ergebnissen der taxonomischen Differenzierung ... 123
5.2.7 Ergebnisse im Zusammenhang mit den rechtlichen Vorgaben ... 124
6 Zusammenfassung ... 127
Summary ... 129
7 Literaturverzeichnis ... 131
8 Anhang ... 167
Teil 1: Beschreibung der Differenzierungsmethoden ... 167
Teil 2: Rezepturen der Nähr- und Testmedien ... 180
Teil 3: Ergebnistabellen ... 192

Abkürzungsverzeichnis

A.	Arcanobacterium
a.p.	ante partum
C.	Corynebacterium
CF	Clumping Factor
CMT	California-Mastitis-Test
E.coli	Escherichia coli
Ec.	Enterococcus
EHEC	Enterohämorrhagischer E.coli
GKZ	Gesamtkeimzahl
KbE	Koloniebildende Einheiten
KNS	Koagulase-negative Staphylokokken
KPS	Koagulase-positive Staphylokokken
p.p.	post partum
Ps.	Pseudomonas
S.	Streptococcus
St.	Staphylococcus
TS	Trockensteher

1 Einleitung

Mastitis stellt in der Milchviehhaltung eine der wichtigsten Erkrankungen dar. Durch die Zucht auf möglichst hohe Milchleistung sowie die intensive Nutzung werden das Euter sowie der Gesamtorganismus einer Milchkuh extrem hohen Belastungen unterworfen. Als Folge davon gehören sowohl klinische als auch subklinische Euterentzündungen zu den häufigsten Abgangsursachen in Milchviehbetrieben. Ein Großteil dieser Tiere wird der Schlachtung zugeführt.

Auf dem Schlachthof fallen Rinder mit Mastitis nur selten auf. Denn bei der Lebenduntersuchung vor der Schlachtung ist ein Erkennen von Euterentzündungen kaum möglich. Erkannt werden lediglich Tiere mit deutlich gestörtem Allgemeinbefinden oder sehr stark veränderten Eutervierteln, da die Untersuchung sich auf die Adspektion beschränkt. Bei der Fleischuntersuchung fällt eine Mastitis nur selten auf, weil eine eingehende Untersuchung des Euters gemäß VO (EG) Nr. 854/2004 des europäischen Parlaments und des Rates vom 29.4.2004, Anhang I, Abschnitt IV, Kapitel I, Absatz B.11. bei Hausrindern nur durchgeführt werden muss, wenn das Euter für den menschlichen Verzehr vorgesehen ist. Da die Nachfrage nach Milchdrüsengewebe für diesen Zweck sehr gering ist, werden die meisten Euter mit dieser Rechtsgrundlage verworfen. Zudem können subklinische Mastitiden auch bei gründlicher Untersuchung des Euters nach der Schlachtung nicht erkannt werden, da diese makroskopisch zu keinerlei Veränderungen von Euter oder Milchsekret führen.

Ob es aus Sicht des Verbraucherschutzes gerechtfertigt ist, Euterentzündungen bei Schlachtkühen weitgehend unbeachtet zu lassen, ist jedoch unklar. Es liegen bislang nur wenige Untersuchungen zur Mastitis als lokalem Entzündungsprozess und möglichem Ausgangspunkt für eine Bakteriämie und somit auch für den Übergang von Bakterien aus dem Blut in die Muskulatur vor. In diesen Untersuchungen wurde die Diagnose „Mastitis“ entweder erst anhand histopathologischer oder mikrobiologischer Kriterien nach der Schlachtung gestellt oder es wurden nur Tiere mit schweren Formen von klinischer Mastitis in die Untersuchungen mit aufgenommen. Die bisher veröffentlichten Studien lassen sich also entweder kaum im Routineablauf auf dem Schlachthof umsetzen oder aber sie vernachlässigen die in der Praxis so häufig in Erscheinung tretenden subklinischen und leichten klinischen Euterentzündungen. Es ist daher unbekannt, ob der Keimgehalt des Muskelfleisches von an Mastitis erkrankten Tieren, die der normalen Schlachtung zugeführt werden, erhöht ist und ob die Muskulatur dieser Tiere für den Verbraucher bedenkliche Keimzahlen aufweist.

Ziel der Arbeit war eine genauere Untersuchung dieser Fragestellung. Wert gelegt wurde dabei besonders darauf, die Untersuchungen an die praktischen Gegebenheiten auf Milchviehbetrieben und Schlachthöfen anzupassen. Dies bedeutete einerseits, die Feststellung des Gesundheitsstatus vom Euter der Schlachtkuh schon im Herkunftsbetrieb anhand routinemäßig einsetzbarer Untersuchungsmethoden durchzuführen. Andererseits mussten neben Tieren mit klinischer Mastitis auch Rinder mit subklinischer Mastitis in die Untersuchungen mit aufgenommen werden, um der Tatsache gerecht zu werden, dass auch solche Tiere häufig zur Schlachtung gelangen.

2 Literatur

2.1 Euterentzündungen

2.1.1 Definitionen

Eine **normale Sekretion** liegt vor, wenn das Euterviertel äußerlich keine pathologischen Veränderungen aufweist und die Milch bei normalem Zellgehalt frei von pathogenen Mikroorganismen ist (HAMANN u. FEHLINGS 2002). Dabei geben HAMANN u. FEHLINGS (2002) als Grenzwert für den Milchzellgehalt des gesunden Euters bis 100.000 Zellen/ml Milch an, NORCROSS (1991) einen Zellgehalt von 100.000 - 300.000 Zellen/ml Milch und MIELKE u. MICHEL (1994) einen schwankenden Gehalt von 20.000 - 300.000 Zellen/ml Milch.

Eine **Sekretionsstörung** (HEJLIČEK 1994 II) oder **unspezifische Mastitis** liegt vor, wenn das Sekret einen erhöhten Zellgehalt aufweist, aber keine pathogenen Mikroorganismen nachgewiesen werden können (HOEDEMAKER 1996). In der Regel beträgt der Anteil der Sekretionsstörungen an allen festgestellten Mastitiden 15-20% (HEJLIČEK 1994 II), kann aber auch Anteile von über 70% erreichen (HIRSCH 1982). Die Ursachen von unspezifischen Euterentzündungen sind in mechanischen Schädigungen des Euters, Fütterungsmanagement, Umwelt- und Wärmestress sowie verschiedenen Gesundheitsstörungen zu suchen. Daneben muss aber berücksichtigt werden, dass auch physiologische Faktoren wie Laktationsstadium, Alter der Kühe, Geschlechtszyklus, Rasse und Haltungsmanagement die Zellzahl der Milch beeinflussen. Auch können Mastitiserreger, die nur intermittierend ausgeschieden werden, Antibiotikabehandlungen oder überstandene Euterentzündungen dazu führen, dass in der bakteriologischen Untersuchungen von Milchproben mit einer erhöhten Zahl somatischer Zellen keine Mikroorganismen nachgewiesen werden können (HEJLIČEK 1994 II).

Bei einer **latenten Infektion** des Euters liegt die Milchzellzahl in der Norm, es können aber euterpathogene Keime in der Milch nachgewiesen werden (HAMANN u. FEHLINGS 2002).

Von **Mastitis** spricht man, wenn die Milch neben erhöhten Zellzahlen auch pathogene Mikroorganismen aufweist (HAMANN u. FEHLINGS 2002).

Weist das Euter dabei jedoch keine äußerlich erkennbaren Entzündungserscheinungen auf und ist die Milch makroskopisch unverändert, so spricht man von **subklinischer Mastitis** (SCHULZ 1994). **Klinische Mastitiden** kann man dagegen gemäß HAMANN et al. (2003) in „mild cases“ mit lokal begrenzten Entzündungserscheinungen und „severe cases“ mit lokalen und systemischen Symptomen unterteilen. Die mit 95% am häufigsten auftretende Form von Euterentzündung ist die Mastitis catarrhalis (HOEDEMAKER 1996).

Kontagiöse Mastitiden werden durch obligat pathogene Mikroorganismen ausgelöst. Die Keime kommen nur bei den Tieren und in ihrer unmittelbaren Umgebung, gelegentlich auch beim Menschen, vor (KIELWEIN 1994). Diese auch **kuhassoziierten Erreger** genannten Mikroorganismen werden hauptsächlich beim Melkvorgang übertragen, das wichtigste Reservoir stellt die infizierte Milchdrüse dar (HAMANN u. FEHLINGS 2002). **Konstitutionelle Euterentzündungen** werden von **Umweltkeimen** verursacht. Eine Mastitis kann sich nur dann ausbilden, wenn die Kuh durch Mängel im Haltungs-, Fütterungs- und Hygienemanagement in ihrer Abwehr geschwächt ist (KIELWEIN 1994). Die Übertragung von Umweltkeimen findet hauptsächlich in der Zwischenmelkzeit und weniger während der Melkzeit statt (HAMANN u. FEHLINGS 2002).

2.1.2 Schutzmechnismen im Rindereuter

Beim Rind besteht jedes Euterviertel aus einer Zitze und einem Drüsenkörper, welcher von der Euterkapsel umgeben ist (MICHEL 1994). Auf diese Weise sind die einzelnen Euterviertel mit ihren Drüsenkomplexen gegeneinander abgetrennt und Mastitiden können auf ein Viertel beschränkt sein (BRAGULLA et al. 2002). Die Lymphgefäße des Euters führen hauptsächlich zu den Euterlymphknoten. Nur ein geringer Teil zieht direkt zu den medialen Darmbeinlymphknoten und den Kniefaltenlymphknoten (MICHEL 1994).

Der nach außen gerichteten Milchstrom wirkt aufsteigenden Mastitiskeimen entgegen beziehungsweise verdünnt die Konzentration von Mikroorganismen und Toxinen im Euter und stellt so mit seinem Ausspüleffekt eine Art Selbstreinigung des Euters dar (SEFFNER u. SCHULZ 1994).

Daneben kann die bovine Milchdrüse dem Aufsteigen von Mastitiskeimen in das Euter und letztendlich in den Körper noch verschiedene andere Abwehrsysteme, deren Wirkung jeweils erst nach Durchbrechen des vorgeschalteten Systems einsetzt, entgegensetzen:

Erst nach Durchbrechen der Zitzenbarriere, gefolgt vom Überwinden der Epithelbarriere der milchableitenden Gänge und Alveolen sowie der zellulären und humoralen Abwehr der Milchbestandteile stellen sich die Abwehrzellen im subepithelialem Bindegewebe den Erregern entgegen (MICHEL 1993).

Die **Zitzenbarriere** setzt sich aus verschiedenen Abwehrmechanismen zusammen: Der Musculus sphincter papillae verschließt den Zitzenkanal und hat damit Einfluss auf dessen Weite (MIELKE u. MICHEL 1994; MICHEL 1993). Das Epithel des Strichkanals ist stark verhornt. Die den Zitzenkanal auskleidenden Hornzellen wachsen im Bereich der Zitzenspitze nach außen, was einen Reinigungseffekt bewirkt. Zudem enthält vor allem der oberflächliche Anteil der Hornschicht Phospholipide (genannt „Laktosebum“) mit bakterizider Wirkung. Die Fürstenbergsche Rosette, die aus einem Faltensystem am Übergang zur Zisterne besteht und eine größere Ansammlung von Abwehrzellen aufweist, hat neben ihrer mechanischen Verschlussfunktion auch Bedeutung für die immunzelluläre Abwehr (MIELKE u. MICHEL 1994; MICHEL 1993; MICHEL 1994).

Die **Milch** selbst enthält viele **Komponenten mit antibakterieller Wirkung**: polymorphkernige Leukozyten, Lymphozyten und Makrophagen, Immunglobuline, Komplementfaktoren, Lactoferrin, Lysozym und die Bestandteile des Laktoperoxidase-Thiocyanat-Wasserstoffperoxid-Systems (MIELKE u. MICHEL 1994; MICHEL 1993). Somit weist die Milch in der bovinen Milchdrüse phagozytierende, toxinneutralisierende, antiadhaesive und direkt bakterizide Eigenschaften auf (NORCROSS 1991).

Die **Blut-Milch-Schranke** besteht aus dem Epithel des Hohlraumsystems im Rindereuter, intralobulärem Bindegewebe und den darin liegenden Kapillaren (MIELE u. MICHEL 1994; MICHEL 1994). Dabei sind sowohl die Zellen des Drüsenepithels der Alveolen als auch die apikalen Zellen der Milchgänge durch Schlussleisten und Desmosomen verbunden und bilden so einen festen Zellverschluss (MICHEL 1994). Im Bindegewebe findet man immer neutrophile Granulozyten, Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen. Im gesunden Euter liegen sie nur in geringer Zahl vor, nach Infektionen mit Mastitiserregern in deutlich größerer Zahl (MIELKE u. MICHEL 1994; MICHEL 1993). Die Blut-Milch-Schranke stellt eine Barriere gegen das Übertreten von pathogenen Keimen, Toxinen und Medikamenten vom Blut in die Milch beziehungsweise von der Milch in das Blut dar. Ihre Durchlässigkeit variiert stark und ist während des Aufeuterns, der Kolostralperiode und bei akuten Euterentzündungen hoch (SEFFNER u. SCHULZ 1994). Auch im gesunden Euter kann eine Anzahl von Blutzellen die Blut-Milch-Schranke passieren und in das Euterbindegewebe und die Milch gelangen. Intensive Irritation kann die Blut-Milch-Schranke schädigen, was zu verstärkter

Migration von Blutzellen in das Euter führt (MIELKE u. MICHEL 1994). Die Störung der Blut-Milch-Schranke ist ein grundlegender Faktor bei der Pathogenese von Euterentzündungen (MICHEL 1993).

2.2 Mastitiserreger

2.2.1 Erregerspektrum und -verteilung

Nach BLECKMANN u. HOEDEMAKER (1996) erschweren bei der bakteriologischen Untersuchung von Milchproben zwei Faktoren den Erregernachweis. Zum einen ist dies die Verunreinigung der Milchprobe durch unsaubere Entnahme oder unsterile Probengefäße. Zum anderen können Vorbehandlungen, die zu einer Anreicherung von Hemmstoffen in der Milch und somit Unterdrückung bestimmter Mikroorganismen führen, das Bild verfälschen.
Tabelle 2.1 gibt einen Überblick über das bei der Rindermastitis gefundene Erregerspektrum.
S.agalactiae war lange Zeit der häufigste Mastitiserreger. Mit Einführung der Antibiotikatherapie bei Euterentzündungen wurde dieser Erreger deutlich zurückgedrängt (HEJLIČEK 1994 I). Seitdem steigt der Anteil der Umwelterreger gegenüber den klassischen kontagiösen Erregern immer weiter an (MILNE et al. 2002). Dies betrifft vor allem S.uberis (LANGE u. BLECKMANN 1999). SOBIRAJ et al. (1997) sehen diese Entwicklung als bedenklich an, da dies ein Trend von Keimen wie S.agalactiae mit gutem Therapieerfolg hin zu wesentlich problematischeren Mastitiserregern darstellt.

Tab. 2.1: Prozentuale Verteilung der aus Milchproben von euterkranken Kühen isolierten Erreger

	BLECKMANN, HOEDEMAKER (1996)	SOBIRAJ et al. (1997)	LANGE, BLECKMANN (1999)	MILNE et al. (2002)	SCHRÖDER et al. (2005)
Klinischer Befund	Mastitis	subklinische Mastitis	katarrhalische Mastitis	klinische Mastitis	Mastitis
Bakteriolog.positiv		75,5(1)			
Staphylococcus	33		35		
St.aureus	90(2)	35,3		3	16
KNS				10	10
Sonstige St. und Mikrokokken		21,6			
Streptococcus	36		35		40
Enterococcus	ja	8,9	15,5(3)		23,5(3)
S.uberis	überwiegend	8,2	46(3)	37	52,6(3)
S.agalactiae	16(3)	4,9	12,5(3)		2,3(3)
S.dysgalactiae	überwiegend	8,1	21(3)	4	21,5(3)
Sero G S.canis	ja	1,7	2(3)		
andere			3(3)		
Enterobacteriaceae	13	3,3	13	23	
E.coli	80(4)				22
Klebsiella	10(4)				
andere					8
Hefen	6		6		
A.pyogenes	3		3		
Mischflora	7		6		
andere Erreger	2 (Ps, Cl, Pa, Li, Pr, No, sK)	24,6(1) (15,9% Co, 8,1% Ba, 0,6% sK)	2 (Ps, Li, Pa, Ba, Cl, Pr, No, As)	9 (Ba, Co, A.p., aS, Pr, Ec, Pa, He, SP)	4
Bakteriolog.negativ		24,5		14	

Ps=Pseudomonas; Cl=Clostridien; Pa=Pasteurellen; Li=Listerien; Pr=Prototheken; No=Nocardien; Co=Corynebakterien; Ba=Bazillen; As=Aspergillen; A.p.=A.pyogenes; aS=andere Streptokokken; Ec=Enterokokken; He=Hefen; SP=Schimmelpilze; sK=sonstige Keime

(1) berechnet aus den Angaben im Text
(2) prozentualer Anteil an den nachgewiesenen Staphylokokken
(3) prozentualer Anteil an den nachgewiesenen Streptokokken
(4) prozentualer Anteil an den nachgewiesenen Enterobacteriaceae

2.2.2 Grampositive Kokken als Mastitiserreger

2.2.2.1 Änderungen von Taxonomie und Nomenklatur

Durch die immer besseren Möglichkeiten, Untersuchungen auf molekularbiologischer Ebene durchzuführen, hat es in den Jahren nach Erscheinung der letzten Auflage von „Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume 2" im Jahr 1986 viele neue Erkenntnisse über die Zugehörigkeit von verschiedenen Bakterienspezies zu einzelnen Genera gegeben. Dies betraf insbesondere auch viele klinisch relevante Genera.

Vom Genus **Staphylococcus** wurde das neue Genus **Macrococcus** abgegrenzt, welches neben Macrococcus caseolyticus (ehemals Streptococcus caseolyticus) drei neue Spezies enthält (KLOOS et al. 1998).

Das Genus **Micrococcus** wurde in sechs Genera aufgeteilt. Micrococcus agilis wurde dem Genus **Athrobacter** zugeordnet und heißt somit nun Athrobacter agilis (KOCH u. STACKEBRANDT 1995). Es entstanden zudem die vier neuen Genera **Kytococcus**, **Nesterenkonia**, **Dermacoccus** und **Kocuria**, denen die übrigen ehemaligen Mikrokokken-Spezies zugeteilt wurden. Einzig Micrococcus luteus und Micrococcus lylae bleiben dem Genus Micrococcus zugeordnet (STACKEBRANDT et al. 1995).

Enterokokken, die lange dem Genus **Streptococcus** zugeordnet wurden, werden inzwischen als eigenständiges Genus **Enterococcus** betrachtet. Die Nomenklatur der betroffenen Spezies wurde angepasst, indem unter anderem S.faecalis und S.faecium in Enterococcus faecalis und Enterococcus faecium umbenannt wurden (COLLINS et al. 1984 I; LUDWIG et al. 1985; SCHLEIFER u. KLIPPER-BÄLZ 1984; FACKLAM et al. 1999). Entsprechendes gilt für das jetzt eigenständige Genus **Lactococcus**, dessen Vertreter lange Zeit als N-Streptokokken bezeichnet wurden (SCHLEIFER u. KLIPPER-BÄLZ 1987; RUOFF et al. 1999).

Vor allem durch molekularbiologische Analysen ist es in auch zu zahlreichen Änderungen der Taxonomie innerhalb des Genus Streptococcus gekommen (LÄMMLER u. HAHN 1994).
Als Spezies **S.dysgalactiae** bezeichnet man nun sowohl die ursprünglichen Spezies S.dysgalactiae und S.equisimilis als auch Streptokokken der Serogruppe L und humane G-

Streptokokken-Isolate (FARROW u. COLLINS 1984; KILPPER-BÄLZ u. SCHLEIFER 1984).
Untersuchungen von GARVIE u. BRAMLEY (1979 II) und COLLINS et al. (1984 II) ergaben, dass **S.uberis** in zwei Genotypen zu unterteilen ist. WILLIAMS u. COLLINS (1990) zeigten, dass zwischen den beiden Genotypen sehr große Unterschiede bestehen, die eine Zuteilung zu verschiedenen Spezies rechtfertigen. Die Autoren schlugen daher vor, den S.uberis-Typ-II mit S.parauberis zu bezeichnen.
DEVRIESE et al. (1986) stellten fest, dass sich β-hämolytische Streptokokken der Serogruppe G, die von Tieren isoliert wurden, schon durch physiologische und biochemische Tests deutlich von den humanen Isolaten unterscheiden lassen. Als Folge dieser Erkenntnisse wurden die von Tieren isolierten G-Streptokokken einer eigenen, neuen Spezies zugeordnet und mit **S.canis** bezeichnet.
Die vorher als zwei eigene Spezies geführten S.equi und S.zooepidemicus wurden zur Spezies **S.equi** zusammengefasst, der die beiden Subspezies S.equi ssp. equi und S.equi ssp. zooepidemicus zugeordnet sind (FARROW u. COLLINS 1984).

Zudem ist es bei einigen mastitisrelevanten Streptokokken im Laufe der Jahre auch zu allein die Nomenklatur betreffenden Veränderungen gekommen.
So wurde **S.equi ssp. zooepidemicus** ursprünglich als S.pyogenes animalis und **S.equisimilis** als S.pyogenes humanus C bezeichnet (LÄMMLER u. HAHN 1994). Für **S.pyogenes** findet man in vielen älteren Texten die Bezeichnung S.pyogenes humanus (A) (FRANK 1969; HAHN et al. 1970).

Diese umfangreichen Änderungen erschweren den Vergleich der Ergebnisse von Untersuchungen älteren und jüngeren Datums, die sich mit dem Vorkommen von verschiedenen Streptokokken-Spezies bei Mastitis beschäftigen (DEUTZ u. OBRITZHAUSER 1996).

2.2.2.2 Streptokokken als Mastitiserreger

2.2.2.2.1 Erregerspektrum und –verteilung bei Streptokokkenmastitis

In Tabelle 2.2 ist die prozentuale Verteilung verschiedener Streptokokken-Spezies dargestellt, die aus Milchproben von an Mastitis erkrankten Rindern isoliert wurden.

Tab. 2.2: Prozentuale Verteilung der verschiedenen Species bei der Differenzierung von Mastitisstreptokokken

	FRANK (1969)	McDONALD, McDONALD (1976)	DEUTZ, OBRITZHAUSER (1996)
Klinischer Befund / Taxon	größtenteils chronische Mastitis	Mastitis	chronische Mastitis
Enterococcus / Sero D	2,3	24,2	
Ec.faecium			1,9
S.faecium	80(2)(3)		
Ec.faecalis			1,9
S.uberis	9,7	56,5	61,3
S.agalactiae	67,5	1,5	0
Sero C	7,3		
S.dysgalactiae(5)	96(2)(4)	9,0	6,6
S.equisimilis			1,9
S.pyogenes humanus	4(2)(4)		
Sero G	1,2	0,7	
Sero L	7,3		5,7
S.bovis		5,1	1,9
S.pyogenes	0,2		3,8
S.acidominimus			14,1
andere	4,5(1)	3,1	0,9

(1) berechnet aus den Angaben im Text
(2) Angaben umgerechnet in Prozent
(3) prozentualer Anteil an den Enterokokken / Kokken der Serogruppe D
(4) prozentualer Anteil an den Streptokokken Serogruppe C
(5) ursprüngliche „Spezies“ S.dysgalactiae, siehe 2.2.2.1

Einige Autoren beschränken sich bei der Differenzierung von Mastitisstreptokokken in der Hauptsache auf die Serotypisierung nach Lancefield (Tab. 2.3).

Tab. 2.3: Prozentuale Verteilung der serologischen Gruppen bei der Differenzierung von aus Milchproben isolierten Streptokokken

	BERGMANN et al. (1980)	SASSHOFER et al. (1986)
Klinischer Befund / Serogruppe	Mastitis (klinisch, sublinisch)	Mastitis, erhöhte Milchzellzahl und eutergesunde Tiere
A	—	0,3
B	10,25	3,6
C	47,73	9,9
D	4,92	13,5
E	7,75	—
F	0,08	3,8
G	0,08	1,3
K, L, N, P, R oder U	4,5	—
nicht klassifiziert	24,63	67,7

— : nicht untersucht

2.2.2.2.2 Euterpathogene Streptokokken

Euterentzündungen, verursacht durch **Streptococcus agalactiae**, werden als „Gelber Galt“ bezeichnet. Dieser verläuft meist in Form einer chronischen, katarrhalisch-eitrigen Galactophoritis und Mastitis (BERGMANN 1991). Bereits subklinische Mastitiden führen zu einer Abnahme der Milchleistung. Unbehandelte Galtfälle können zu einer Atrophie des betroffenen Euterviertels führen. S.agalactiae persistiert auch in der Trockenstehphase und führt dann nach dem Abkalben bei Färsen und Kühen zu einer klinisch manifesten Mastitis (SELBITZ 2002). Der gelbe Galt kann einen seuchenhaften Verlauf nehmen und stellt eine Herdenerkrankung dar (BERGMANN 1991).

Nach McDONALD (1977) handelt es sich bei S.agalactiae um einen obligaten Parasiten des Rindereuters, der im Gegensatz zu anderen euterpathogenen Streptokokken hoch kontagiös ist, aber viel seltener zu akuten Entzündungserscheinungen führt.

S.agalactiae befindet sich im infizierten Euter hauptsächlich in den Milchgängen, in geringerer Anzahl auch in Alveolen und subepithelialem Bindegewebe. Während einer akuten Entzündung kann der Keim in das Interstitium vordringen. Über Lymphgefäße gelangt S.agalactiae in Lymphknoten, wo er abstirbt. Von einer hämatogenen Verbreitung des Erregers ist nichts bekannt (HEJLIČEK 1994 I).

Streptococcus uberis stellt einen typischen Umwelterreger dar, den man häufig in der Umgebung von Kühen, auf der Haut sowie in ihrem Magen-Darm-Trakt nachweisen kann. Die dadurch ausgelösten Mastitiden weisen keinen seuchenhaften Charakter auf (HEJLIČEK 1994 I). In der Regel verlaufen sie chronisch (KING 1981) bzw. subklinisch, wobei inzwischen auch immer häufiger von akuten klinischen Euterentzündungen bei oft ungestörtem Allgemeinbefinden berichtet wird (LÄMMLER u. HAHN 1994). Bei chronisch verlaufenden S.uberis-Mastitiden kommt es nur zu leichten Veränderungen von Sekretion und Eutergewebe (KING 1981). S.uberis kann im Euter leicht bis zu 20 Monaten persistieren (HEJLIČEK 1994 I). Er ist der häufigste Verursacher von Euterentzündungen bei trockenstehenden Kühen und Färsen (KING 1981).
Streptococcus parauberis scheint als Mastitiserreger nur eine sehr geringe Rolle zu spielen (KHAN et al. 2003).

S.dysgalactiae (ursprüngliche „Spezies“ S.dysgalactiae, siehe 2.2.2.1) spielt vor allem als Krankheitserreger beim Rind und beim Schwein eine Rolle (LÄMMLER u. HAHN 1994). Der Keim stellt einen typischen Erreger subklinischer Mastitiden dar, kann aber auch klinische Euterentzündungen verursachen (HEJLIČEK 1994 I). HAMANN u. FEHLINGS (2002) ordnen S.dysgalactiae eher den kuhassoziierten Erregern zu, wobei die Übertragung beim Melkvorgang eine wichtige Rolle spielt. Dagegen rechnet KIELWEIN (1994) ihn zu den konstitutionellen Mastitiserregern. HEJLIČEK (1994 I) bezeichnet ihn als nicht kontagiös. S.dysgalactiae kann bis zu 20 Monate in der Milchdrüse persistieren. Man findet den Keim häufig außerhalb der Milchdrüse, z.B. in Hautwunden und auf den Tonsillen (HEJLIČEK 1994 I). Nach KIELWEIN (1994) ist der Erreger in der Umwelt sehr beständig.
S.dysgalactiae Serovar L wird relativ selten als Verursacher von Mastitiden nachgewiesen (DEVRIESE 1991). Als Infektionsquelle gilt das Schwein, der Mensch stellt den Vektor dar. S.dysgalactiae Serovar L wurde auch schon auf der Scheidenschleimhaut von Kühen und bei erkrankten Hunden nachgewiesen (HEJLIČEK 1994 I). Der Keim zählt zu den kontagiösen Erregern und überlebt nicht lange in der Umwelt (KIELWEIN 1994). Meist verursacht

S.dysgalactiae Serovar L ähnliche Sekretionsstörungen wie S.agalactiae, seltener akut verlaufende Mastitiden (LORENZEN 1968). ROTTSCHEIDT u. HANSEN (1998) beschreiben den Keim im Zusammenhang mit hohen Zellzahlen und „galtartig“ verändertem Eutergewebe. Gemäß KIELWEIN (1994) führt S.dysgalactiae Serovar L zu klinischen und subklinischen Mastitiden.

Auch **S.dysgalactiae Biotyp „equisimilis“** wurde bereits bei euterkranken Kühen nachgewiesen (LÄMMLER u. HAHN 1994; Tab. 2.2). LORENZEN (1968) isolierte den Erreger sowohl aus den Milchproben von Rindern ohne Sekretionsstörung als auch aus den Proben von Tieren mit akuter fieberhafter Mastitis.

S.dysgalactiae Serovar G ist beim Menschen bei Endocarditis, Neugeborenensepsis und anderen Erkrankungen isoliert worden (LÄMMLER u. HAHN 1994). Über Beteiligung an Infektionen von Tieren ist bisher nichts bekannt (DEVRIESE 1991; LÄMMLER u. HAHN 1994).

Streptococcus canis, welcher der Serogruppe G angehörig ist, spielt hauptsächlich als Erreger von Infektionen bei Hund und Katze sowie als Ursache von Rindermastitiden eine Rolle (LÄMMLER u. HAHN 1994).

Nach KIELWEIN (1994) handelt es sich bei diesen Streptokokken um kontagiöse Mastitiserreger mit geringem Überlebenspotential in der Umwelt.

S.canis kann sowohl akute als auch subklinische Mastitiden verursachen (HEJLIČEK 1994 I). Das Eutersekret kann dabei alle Beschaffenheiten von unverändert bis hin zu grobflockigen Veränderungen aufweisen (LÄMMLER u. HAHN 1994; HAMILTON u. STARK 1970).

Nach EBERHART u. GUSS (1970) treten G-Streptokokken zwar nur unregelmäßig als Mastitiserreger in Erscheinung, können aber in einzelnen Herden zu einer hohen Durchseuchung führen.

Streptococcus equi ssp. zooepidemicus stellt für viele Tierarten, vor allem für das Pferd, einen Infektionserreger dar. Vereinzelt wird der Keim auch bei der Mastitis des Rindes festgestellt (EDWARDS u. ROULSON 1988). HINCKLEY (1985) beschreibt S.equi ssp. zooeqidemicus als einen opportunistischen Erreger, dessen krankmachendes Potential stark von der Widerstandskraft der Kuh abhängig ist. EDWARDS u. ROULSON (1988) isolierten S.equi ssp. zooepidemicus aus den Milchproben subklinisch erkrankter Rinder, die den Keim nur intermittierend ausschieden. SHARP et al. (1995) wiesen den Erreger bei einer Kuh mit chronisch indurativer Mastitis nach. HINCKLEY (1985) fand S.equi ssp. zooepidemicus in

den Milchproben aus 15 von 255 untersuchten Herden. Der Erreger konnte sowohl aus Proben mit normalen als auch aus solchen mit deutlich erhöhten Zellzahlen isoliert werden.

Der wichtigste Träger von **Streptococcus pneumoniae** ist der Mensch. Man findet den Keim sowohl beim Menschen als auch beim Tier hauptsächlich im Respirationstrakt. Beim Rind ist vor allem die oft tödlich verlaufende Infektion des Kalbes bedeutsam (LÄMMLER u. HAHN 1994).
Aber auch über durch S.pneumoniae ausgelöste Mastitiden ist in der Literatur vielfach berichtet worden. In aller Regel tritt sie als akute, teils schmerzhafte Mastitis mit Fieber und deutlich gestörtem Allgemeinbefinden auf (LEHNER u. NEUMAYER 1987; EIELAND 1952; RØMER 1959; WILLIAMS SMITH u. STABLES 1958; MACLACHLAN et al. 1958). LEHNER u. NEUMAYER (1987) betonen dabei die starke Ähnlichkeit zu Euterentzündungen durch Enterobacteriaceae. In den meisten Fällen entsteht aus der akuten Mastitis nach einigen Tagen eine chronische Form. Gelegentlich entwickelt sich jedoch auch eine Septikämie, die den Tod des Tieres zur Folge haben kann (RØMER 1958). HAMMER u. ENGLERT (1958) fanden bei einer Kuh, die im Zuge einer septischen Pneumokokken-Mastitis notgeschlachtet worden war, Veränderungen in Lymphknoten, Leber, Milz und Nieren.
Häufig kann die Infektion mit S.pneumoniae auf menschliche Pneumokokkenträger, die in Kontakt mit den Tieren stehen, zurückgeführt werden (HAMMER u. ENGLERT 1958; WILLIAMS SMITH u. STABLES 1958).

Streptococcus pyogenes ist ein klassischer Infektionserreger des Menschen. Infektionen bei Tieren treten nur sporadisch auf (LÄMMLER u. HAHN 1994). Gelegentlich wird S.pyogenes als Erreger von Rindermastitis isoliert (siehe Tab. 2.2 und Tab. 2.3).

Streptococcus bovis wird hin und wieder in Milchproben nachgewiesen (Tab. 2.2). Der Keim tritt relativ unregelmäßig als Mastitiserreger in Erscheinung, besitzt aber eine gewisse Euterpathogenität (GARVIE u. BRAMLEY 1979 I). Nach McDONALD (1977) führt er zu schweren, akuten Mastitiden.

Die Rolle von **Streptococcus acidominimus** bei Rindermastitis ist noch weitgehend unklar (WATTS 1988 I). Gelegentlich wird der Keim aus Milch, dem Genitaltrakt von Rindern und der Haut von Kälbern isoliert. DEUTZ u. OBRITZHAUSER (1996) wiesen S.acidominimus bei ihren Untersuchungen sehr häufig nach (siehe Tab. 2.2).

2.2.2.3 Enterokokken und Laktokokken als Mastitiserreger

Enterokokken sind in der Umwelt, auch im Kot, weit verbreitet (KIELWEIN 1994; HAMANN u. FEHLINGS 2002; HEJLIČEK 1994 I).
Über die Euterpathogenität von Enterokokken gibt es in der Literatur stark voneinander abweichende Auffassungen, die von geringer Pathogenität bis hin zum Auslöser schwerer, akuter Mastitiden reichen (McDONALD 1977; SASSHOFER et al. 1986; HEJLIČEK 1994 I; KIELWEIN 1994; LÄMMLER u. HAHN 1994; HARDIE u. WHILEY 1997).
Hauptsächlich werden Ec.faecalis und Ec.faecium, zum Teil auch Ec.durans, aus Mastitismilchproben isoliert (WATTS 1988 II; LORENZEN 1968; FRANK 1969; SCHLERKA 1991; Tab. 2.2).
Ein besonderes Problem bei Enterokokken-Mastitiden stellt die relativ große Antibiotikaresistenz vieler Enterokokken-Stämme dar, welche zu den oft niedrigen Heilungsraten bei Therapieversuchen führt (McDONALD 1977; HEJLIČEK 1994 I; DEUTZ u. OBRITZHAUSER 1996).

Vertreter des Genus **Lactococcus** werden immer wieder vereinzelt in Mastitismilchproben und Routinemilchproben nachgewiesen (DEUTZ u. OBRITZHAUSER 1996; WATTS 1988 II; PITKÄLÄ et al. 2004; DEVRIESE et al. 1999; LÄMMLER u. HAHN 1994).

2.2.2.4 Staphylokokken als Mastitiserreger

Staphylokokken finden sich häufig auf Haut und Schleimhaut warmblütiger Tiere (KLOOS u. SCHLEIFER 1986).
Euterentzündungen aufgrund von Staphylokkeninfektionen sind beim Rind weit verbreitet (BLOBEL et al. 1994). St.aureus kommt dabei die größte Bedeutung zu (Tabelle 2.1; BLOBEL et al. 1994; BLOBEL 1977; SEFFNER u. BERGMANN 1994), in geringerem Maße spielen aber auch andere Staphylokokken eine Rolle. Sowohl die potentiell pathogenen

koagulase-positiven als auch die potentiell pathogenen koagulase-negativen Staphylokokken sind in gesunden und erkrankten Eutervierteln nachweisbar (BLOBEL et al. 1994).
Therapieversuche enden oft erfolglos, da Staphylokokken zum einen die Fähigkeit besitzen, intrazellulär in Phagozyten zu überleben und sie andererseits häufig hohe Resistenzen aufweisen (COSTA et al. 2000).

2.2.2.4.1 Koagulase-positive Staphylokokken

Der mit Abstand wichtigste Mastitiserreger unter den Koagulase-positiven Staphylokokken (KPS) ist **St.aureus** (Tabelle 2.1; BLOBEL et al. 1994; BLOBEL 1977; SEFFNER u. BERGMANN 1994). St.aureus-Infektionen der Milchdrüse gehen sehr häufig mit Sekretionsstörungen einher (SOBIRAJ et al. 1997; SCHWEIGHARDT et al. 1993; WATTS u. OWENS 1989), allerdings muss eine deutliche Erhöhung der Milchzellzahl nicht zwingend auftreten (FOX u. GAY 1993; HOBLET et al. 1988). St.aureus-Mastitiden verlaufen klinisch deutlich schwerwiegender als Streptokokken-Mastitiden (SOBIRAJ et al. 1988). Neben den chronischen, akuten oder subklinischen Formen kann es auch zu einem perakutem Verlauf kommen, der im Tod des Tieres einen möglichen Ausgang findet (FOX u. GAY 1993).
Hauptreservoir für St.aureus ist die infizierte Milchdrüse. Er wird daher von vielen Autoren den kontagiösen, kuhassoziierten Erregern zugerechnet (KIELWEIN 1994; HAMANN u. FEHLINGS 2002). Daneben findet man den Keim jedoch auch auf vielen Körperregionen von Rindern sowie in der Umgebung der Tiere (HOEDEMAKER 2001).
Aufgrund der schlechten Therapierbarkeit der von St.aureus ausgelösten Euterentzündungen gilt der Erreger als ein ausgesprochener Problemkeim (HOEDEMAKER 2001). Anders als Streptokokken und Enterokokken kann St.aureus aus den Gangsystemen der Milchdrüse in das Euterparenchym übertreten, wo der Erreger für intrazisternal verabreichte Antibiotika schwer erreichbar ist (SOBIRAJ et al. 1997). St.aureus produziert eine Vielzahl von Virulenzfaktoren, welche die körpereigene, lokale Abwehr schwächen (FOX u. GAY 1993). Wegen der schlechten Heilungsaussichten vor allem bei chronisch erkrankten Kühen wird vielfach die Merzung dieser Tiere angeraten. Der Schutz gesunder Rinder vor dieser bedeutenden Erregerquelle ist für diese Maßnahme ein wichtiger Grund (HOEDEMAKER 2001).
Auch humane Stämme von St.aureus können zu einer meist subklinischen Mastitis führen (THAWLEY et al. 1977).

Andere KPS spielen für die Mastitis des Rindes eine geringere Rolle. ROBERSON et al. (1996) fanden bei der Differenzierung von aus Mastitismilchproben isolierten KPS neben 82,1% St.aureus auch 17,7% **St.hyicus** und lediglich 0,2% **St.intermedius**. Damit ist die Bedeutung von St.intermedius als Mastitiserreger als gering einzuschätzten. Die deutlich häufigeren St.hyicus-Mastitiden haben in der Regel einen milden, chronischen Verlauf.

2.2.2.4.2 Koagulase-negative Staphylokokken

Es sind bisher 26 Arten von Koagulase-negativen Staphylokokken (KNS) bekannt (BLOBEL et al. 1994), von denen viele schon in Milchproben nachgewiesen werden konnten. Eine Übersicht über den Anteil verschiedener KNS-Spezies in Milchproben ist in Tabelle 2.4 wiedergegeben. Ein großer Anteil der typischen Vertreter der KNS reagiert, anders als die meisten St.aureus-Stämme, Clumping-Faktor-negativ. Einige Autoren bevorzugen bei der Untersuchung von Milchproben diese Methode wegen ihrer raschen und einfachen Durchführung (siehe Tabelle 2.4).

Die Rolle der KNS für das bovine Mastitisgeschehen ist in der Literatur umstritten. SOBIRAJ et al. (1988) konnten andere Staphylokokken als St.aureus ausschließlich aus gesunden Euterviertelen isolieren. BABA et al. (1980) wiesen in 64% aller normalen Milchproben und 19% der Mastitismilchproben KNS nach.

Oft werden KNS als die Verursacher vornehmlich subklinischer Mastitiden mit milder Zellgehaltserhöhung beschrieben (MARTIN u. BERGMANN 1993; SEFFNER u. BERGMANN 1994). Dies geben auch PERRIN-COULLIOUD et al. (1991) an, halten aber eine Entwicklung der KNS zu einer stärker pathogenen Flora als bisher für denkbar.

Gemäß JARP (1991) können KNS auch an schweren klinischen Mastitiden beteiligt sein. Inwiefern die einzelnen KNS-Spezies verschieden große Euterpathogenität aufweisen, wird in der Literatur kontrovers diskutiert (FESTL u. WALSER 1990; JARP 1991; BIRGERSON et al. 1992; MARTIN u. BERGMANN 1993). Ebenfalls umstritten sind die Fragen, ob beziehungsweise in welchem Ausmaß KNS zu einer erhöhten Anzahl somatischer Zellen in der Milch führen können (WATTS u. OWENS 1989; RAINARD et al. 1990; DAVIDSON et al. 1992; SOBIRAJ et al. 1997) und ob die Infektion eines Euterviertels durch KNS einen gewissen Schutz vor Neuinfektionen mit „major pathogens“ bieten kann (MARTIN u. BERGMANN 1991; MATTHEWS et al. 1991; DAVIDSON et al. 1992).

Tab. 2.4: Verteilung von Clumping-Faktor-negativen Staphylokokken und KNS in Milchproben

	DEVRIESE (1979)	FESTL u. WALSER (1990)	JARP (1991)	MATTHEWS et al. (1991)	BIRGERSSON et al. (1992)
Probenmaterial:	ausschließlich β-Hämolysin-negative Kokken aus Mastitis-milchproben	Proben eutergesunder und –kranker Kühe	ausschließlich Mastitismilch-proben		Proben eutergesunder und –kranker Kühe
	Cluming-Faktor-negative Staphylokokken		**Koagulase-negative Staphylokokken**		
St.chromogenes St.hyicus ssp. chromogenes	6,6(1)	3,3	16,2	81,9	16,7
St.simulans	4,4(1)	21,2	44,6	3,2(1)	34,5
St.epidermidis	21,0(1)	16,5	0,7	2,3(1)	13,8
St.hyicus St.hyicus ssp.hyicus	1,0(1)	23,2	15,5	1,4(1)	3,9
St.xylosus	27,1(1)	17,2	7,4	0,5(1)	8,9
St.haemolyticus	11,3(1)	0,2	10,1		4,4
St.sciuri St.sciuri ssp. sciuri	14,5(1)	0,5			3,4
St.hominis St.warneri St.warneri oder St.hominis		9,3 0,5	0,7 0,7	8,3(1)	1,0 6,9
St. cohnii	1,5(1)		0,7		2,5
St.gallinarum					1,5
St.saprophyticus		0,2			1,5
St.intermedius		4,1			
St.aureus		2,4			
St.capitis		1,4			
St.carnosus			3,4		
andere	9,3(1)			2,3(1)	1,0

(1) Angaben umgerechnet in Prozent

2.2.2.5 Weitere grampositive Kokken

Neben Streptokokken und Staphylokokken werden auch immer wieder **Mikrokokken** im Zusammenhang mit Euterentzündungen erwähnt. Das wichtigste natürliche Habitat der Mikrokokken ist die Haut von Säugetieren, man findet sie aber auch in Fleisch, Milchprodukten, Wasser und Erde (KOCUR 1986 I).
Nach BROWN (1973) verursachen Staphylokokken zwar häufiger Mastitis als Mikrokokken. Nach bereits erfolgter Infektion bestehen aber keine Unterschiede zwischen beiden Genera bezüglich Persistenz im Euter und der Fähigkeit, Entzündungserscheinungen hervorzurufen.
Gemäß den Untersuchungen von DEVRIESE (1979), FESTL u. WALSER (1990) und MARTIN u. BERGMANN (1993) kommen Mikrokokken nur selten in den Milchproben sowohl euterkranker als auch –gesunder Kühe vor.

Vereinzelt können Vertreter des Genus **Aerococcus** aus Mastitismilchproben isoliert werden (PITKÄLÄ et al. 2004; AARESTRUP et al. 1995; DEVRIESE et al. 1999). Aerokokken sind Saprophyten, die sowohl häufig in Krankenhäusern als auch im Meer nachgewiesen werden und Erreger schwerer Erkrankungen darstellen können (EVANS 1986).

Für **Stomatococcus** (BERGAN u. KOCUR 1986), **Planococcus** (KOCUR 1986 II), **Deinococcus** (MURRAY u. BROOKS 1986), **Leuconostoc** (GARVIE 1986 I), **Pediococcus** (GARVIE 1986 II), **Gemella** (REYN 1986) und **Sarcina** (CANALE-PAROLA 1986) werden sehr unterschiedliche Habitate aufgeführt, sie werden aber nicht im Zusammenhang mit boviner Euterentzündung beschrieben.

2.2.3 Grampositive Stäbchen als Mastitiserreger

2.2.3.1 Arcanobacterium pyogenes als Mastitiserreger

Die taxonomische Zuordnung dieser Spezies war lange Zeit unklar. Zuerst als Corynebacterium pyogenes geführt, wurde sie nach dem Vorschlag von COLLINS u. JONES (1982) und REDDY et al. (1982) der Gattung Actinomyces zugerechnet und mit Actinomyces pyogenes benannt. RAMOS et al. (1997) schlugen schließlich vor, die Spezies dem Genus

Arcanobacterium zuzuordnen und daher eine Umbenennung in Arcanobacterium pyogenes vorzunehmen.

Pyogenes-Mastitiden treten bei auf Weide gehaltenen Färsen und trockenstehenden Kühen hauptsächlich in den Sommermonaten enzootisch auf, bei im Stall gehaltenen Rindern ganzjährig und meist sporadisch. Es handelt sich um eine akut oder chronisch verlaufende Mastitis von purulentem, apostematösen Charakter. Die akute Form geht mit deutlicher Störung des Allgemeinbefindens und schmerzhafter Euterschwellung einher und kann auch tödlich verlaufen (KLASTRUP 1994 I). Bei allen Formen kann der Erreger hämatogen in verschiedene Organe und Gelenke streuen und zur Sepsis führen. Die Prognose ist ungünstig, meist kommt es zu einem nachhaltigen Funktionsausfall des betroffenen Viertels. Nur bei sehr frühzeitiger Behandlung bestehen Heilungschancen (KLASTRUP 1994 I; LÄMMLER u. HARTWIGK 1995).
In den meisten Fällen sind neben A.pyogenes noch andere Erreger an der Mastitis ursächlich beteiligt. Oft handelt es sich dabei um anaerobe Keime wie Peptococcus indolicus, Fusobacterium necrophorum und Bacteroides-Arten. Aber auch mikroaerophile Kokken und andere Erreger kommen daneben häufig vor (KLASTRUP 1994 I; LÄMMLER u. HARTWIGK 1995; SØRENSEN 1978; BERGMANN et al. 1991).

2.2.3.2 Corynebakterien als Mastitiserreger

Corynebacterium bovis wird häufig zu einem relativ hohen Prozentsatz aus Milchproben, auch von klinisch gesunden Tieren, isoliert (PITKÄLÄ et al. 2004; HELLMANN et al. 1995). Der Grad der Pathogenität von C.bovis ist umstritten (COBB u. WALLEY 1962; FORBES 1970; RIZK u. JANETSCHKE 1972). Gleiches gilt für die Frage, ob und in welchem Maße C.bovis zu einem Anstieg somatischer Zellen in der Milch führen kann (FORBES 1970; SOBIRAJ et al. 1997; PITKÄLÄ et al. 2004). Auch die Frage, ob die Euterbesiedlung mit C.bovis einen Schutz vor Infektionen mit obligat pathogenen Bakterien bieten kann, wird kontrovers diskutiert (FORBES 1970; POCIECHA 1989; MARTIN u. BERGMANN 1991).

Als weiterer Vertreter des Genus Corynebacterium kann auch **Corynebacterium ulcerans** gelegentlich klinische Mastitiden verursachen (PACKER 1977 II). C.ulcerans produziert ein Exotoxin und kann zu deutlicher Zellzahlerhöhung und irreversiblem Verlust des betroffenen Euterviertels führen (HELLMANN et al. 1995).

2.2.3.3 Nocardien als Mastitiserreger

Gemäß HOLT et al. (1994) wird Nocardia den nocardiformen Actinomyceten zugerechnet.
Durch Vertreter der Gattung **Nocardia** ausgelöste Euterentzündungen treten meist sporadisch auf und verlaufen entweder akut, eitrig-nekrotisierend mit schweren Allgemeinstörungen oder chronisch, granulomatös-abszedierend bei ungestörtem Allgemeinbefinden (SELBITZ 2002). Therapieversuche bleiben in aller Regel erfolglos. Ein weiteres Problem stellt die Tatsache dar, dass Nocardien in der Milch auch nach Pasteurisierung infektionstüchtig bleiben. Mängel in Stall- und Melkhygiene und Melktechnik sowie Eutergewebsschäden wirken begünstigend für eine Infektion. (WENDT 1994 III).

2.2.3.4 Bacillus als Mastitiserreger

Mastitiden durch Sporenbildner treten beim Rind sporadisch auf. Unter den Vertretern des Genus **Bacillus** findet man als Erreger boviner Euterentzündungen hauptsächlich Bacillus cereus, seltener Bacillus subtilis oder Bacillus pumilus. Diese verlaufen meist akut oder perakut und gehen mit stark gestörtem Allgemeinbefinden mit Fieber und deutlich verändertem Eutersekret einher. Die Erkrankung endet trotz Therapie häufig letal (BERGMANN u. SEFFNER 1994). Die Störungen des Allgemeinbefindens lassen sich auf eine Toxämie zurückführen. Häufig sind die Erreger dabei nur im Euter nachweisbar. Es treten aber auch septikämische Verläufe auf, die mit hämorrhagischen Diathesen einhergehen und bei denen eine Keimisolierung aus den Organen möglich ist (SELBITZ 1995).
Die Besiedlung des Euters mit Bacillus subtilis kann allerdings auch einen gewissen Schutz gegen Euterentzündungen darstellen. So stellten MARTIN u. BERGMANN (1991) bei ihren In-vitro-Versuchen in Übereinstimmung mit Angaben in der Literatur eine Hemmwirkung von Bacillus subtilis gegen einige bedeutende grampositive und –negative Mastitiserreger fest.

2.2.3.5 Listerien als Mastitiserreger

Listerien sind in der Natur weit verbreitet und kommen auch in den Faeces von Menschen und Tieren vor (SEELIGER u. JONES 1986). Listerien werden gelegentlich aus der Milch von euterkranken Kühen isoliert (BLECKMANN u. HOEDEMAKER 1996; LANGE u. BLECKMANN 1999).
Eine echte Listerienmastitis ist recht selten, besitzt aber aufgrund einer möglichen Gefährdung für den Menschen gewisse Bedeutung (SELBITZ 2002; FUCHS 1994 I). Meist verläuft sie subklinisch bei monatelanger Erregerausscheidung, kann aber auch klinisch mit deutlichen Sekretveränderungen in Erscheinung treten (FUCHS 1994 I). Auch bei Fehlen aller Mastitissymptome können Listerien teils jahrelang mit der Milch ausgeschieden werden. Häufig gelangen die Erreger allerdings erst beim Melkprozess durch Kontamination mit Einstreu, Silage und Kot in die Milch (WEIß u. AMTSBERG 1995).

2.2.3.6 Weitere grampositive, regelmäßige Stäbchen

Lactobacillus (KANDLER u. WEISS 1986), **Erysipelothrix** (JONES 1986), **Brochothrix** (SNEATH u. JONES 1986), **Renibacterium** (SELBITZ 2002), **Kurthia** (KEDDIE u. SHAW 1986), **Caryophanon** (TRENTINI 1986) und **Carnobacterium** (HOLT et al. 1994) unterscheiden sich in ihren Habitaten und ihrer Pathogenität für bestimmte Tierarten, werden aber nicht im Zusammenhang mit Rindermastitis beschrieben.

2.2.4 Gramnegative Stäbchen als Mastitiserreger

2.2.4.1 Enterobacteriaceae

Enterobacteriaceae werden nicht selten als Verursacher von Rindermastitis nachgewiesen (siehe Tab. 2.1). Vertreter zahlreicher Genera spielen dabei eine Rolle: Escherichia coli, Enterobacter, Klebsiella, Citrobacter, Serratia, Proteus, sehr selten auch Salmonella (WATTS 1988 II). Eindeutig am häufigsten wird E.coli isoliert, gefolgt von Klebsiella, Enterobacter und Citrobacter. Aufgrund der dominierenden Rolle von E.coli und dem klinisch sehr ähnlichen Erscheinungsbild verschiedener Enterobacteriaceae-Mastitiden werden diese oft

vereinheitlichend als Coli-Mastitiden bezeichnet (BERGMANN 1994). Unter den verschiedenen nach Virulenzfaktoren und Pathogenesemechanismen eingeteilten E.coli-Stammgruppen kommt keiner bestimmten eine besondere Bedeutung als Mastitiserreger zu (SELBITZ 2002).

Früher trat eine Enterobacteriaceae-Euterentzündung fast immer als akute oder perakute, fieberhafte Mastitis mit ausgeprägten Sekretveränderungen und deutlicher Euterschwellung in Erscheinung. Inzwischen werden jedoch auch vermehrt subakute und chronische Verlaufsformen bzw. subklinische Mastitiden beobachtet (DEUTZ et al. 1999). Sowohl systemische als auch lokale Symptomatik sind vor allem auf Endotoxine und freigesetzte Entzündungsmediatoren zurückzuführen. Die an eine Enterobacteriaceae-Euterentzündung anschließende Leukopenie macht das Euter anfällig für Sekundärinfektionen mit St.aureus. Bei milderen Verlaufsfomen können Allgemeinsymptome völlig fehlen (BERGMANN 1994). Die Prognose ist bei akuten und perakuten Verlaufsformen stark abhängig von einer rasch einsetzenden Therapie. Setzt diese zu spät ein, kann der Tod des Tieres oder dauerhafte Einbuße von Euterviertel und Milchleistung die Folge sein (BERGMANN 1994). DEUTZ et al. (1999) weisen allerdings auch auf die Spontanheilungsrate von Enterobacteriaceae-Mastitiden hin, die in der Literatur mit bis zu 70% angegeben wird. Diese könne einen therapeutischen Effekt vortäuschen.

Mastitiden durch Enterobacteriaceae sind wenig kontagiös, die Verbreitung von einem Viertel zum nächsten oder einer Kuh zur nächsten ist selten (EBERHARDT 1977). Vielmehr stellen sie klassische Umwelterreger dar (HAMANN u. FEHLINGS 2002). Die Infektion des Euters erfolgt galaktogen oder hämatogen, die Verbreitung innerhalb des Euters auch lymphogen. Es gibt verschiedene Faktoren, die auf die Entstehung einer Enterobacteriaceae-Mastitis begünstigend wirken. Hierzu zählen Geburtskomplikationen, Organ- und Allgemeininfektionen, Euter- und Zitzenverletzungen, Stoffwechselstörungen, Mängel in Melk- und Stallhygiene, beim Stallklima oder bei der Fütterung (BERGMANN 1994).

2.2.4.2 Weitere gramnegative Keime als Mastitiserreger

Pseudomonaden verursachen nur gelegentlich Mastitiden (BLECKMANN u. HOEDEMAKER 1996; LANGE u. BLECKMANN 1999; SCHRÖDER et al. 2005; SMITH a. HOGAN 1993). Meist treten diese sporadisch auf, seltener als bedeutsames

Herdenproblem (PACKER 1977 I; KLASTRUP 1994 II). Dabei spielt fast ausschließlich Pseudomonas aeroginosa eine Rolle (SELBITZ 2002; WATTS 1988 II).
Die Ps.aeroginosa-Mastitis kann akut, subakut oder chronisch verlaufen. Bei der akuten Verlaufsform können starke Störungen des Allgemeinbefindens auftreten, was unter Umständen den Tod des Tieres zur Folge haben kann (PACKER 1977 I; KLASTRUP 1994 II). Sowohl bei chronischer als auch bei subakuter Verlaufsform kann die bakterielle Milchprobenuntersuchung unter Umständen einen negativen Befund ergeben. Die Mastitis kann persistent bestehen bleiben oder sich spontan zurückbilden (KLASTRUP 1994 II).
Pseodomonas aeroginosa ist in der Umwelt, auf Haut, Schleimhaut und im Darmtrakt von Mensch und Tier weit verbreitet (KLASTRUP 1994 II; SELBITZ 2002). Der Erreger kann bei so gut wie allen Tierarten und bei einigen Pflanzen zu Erkrankungen führen, gilt aber allgemein als wenig invasiver, opportunistischer Keim (PACKER 1977 I). Die Mastitiden entstehen auf galaktogenem Wege und werden oft mit unsachgemäß durchgeführter, intrazisternaler Antibiotikatherapie in Verbindung gebracht.
Die Prognose ist bei chronischen Verlaufsformen ungünstig. Bei akuter Ps.aeroginosa-Mastitis gilt sie als unsicher, bei adäquater Therapie kann aber völlige Regeneration von Milchkuh und Euterviertel erreicht werden (KLASTRUP 1994 II).

Im Gegensatz zum häufigen Vorkommen von Pasteurellosen bei Schweinen, Kälbern und Schafen (FUCHS 1994 II) verursachen **Pasteurellen** nur gelegentlich Mastitis beim Rind (BLECKMANN u. HOEDEMAKER 1996; LANGE u. BLECKMANN 1999; MILNE et al. 2002; WATTS 1988 II). Dabei tritt die von Pasteurella multocida oder Pasteurella haemolytica verursachte Infektion in der Regel als Einzeltiererkrankung, selten seuchenhaft auf. Die Mastitis kann akut, subakut oder chronischen verlaufen. Die Prognose ist schlecht, da die Erkrankung kaum auf Behandlung anspricht (FUCHS 1994 II).

Brucellen-Mastitiden treten im Zusammenhang mit der anzeigepflichtigen Rinderbrucellose auf. Eine Brucellen-Mastitis verläuft subklinisch, ist aber durch eine über mehrere Laktationen andauernde Erregerausscheidung gekennzeichnet.
Typischerweise infizieren sich die Tiere oral. Die Brucellen vermehren sich anschließend in Tonsillen und regionären Lymphknoten und gelangen von dort hämatogen in Gelenke und verschiedene Organe, unter anderem auch in die Milchdrüse (FUCHS 1994 VIII). Auffälligstes Symptom ist oft Verkalbung in der 2. Trächtigkeitshälfte, gefolgt von

Nachgeburtsverhaltung und Entzündungen in den Gelenken. Die Rinderbrucellose verläuft im Betrieb enzootisch und verursacht erhebliche wirtschaftliche Schäden (SELBITZ 2002).
Eine Spontanheilung der Erkrankung tritt nicht ein (FUCHS 1994 VIII), die Durchführung einer Therapie ist gemäß §2 der Verordnung zum Schutz gegen die Brucellose der Rinder, Schweine, Schafe und Ziegen verboten.

Auch **Acinetobacter** (BERGMANN 1994), **Aeromonas** (BERGMANN 1994; WATTS et al. 1988 II), **Haemophilus somnus** (SELBITZ 2002), **Actinobacillus lignieresii** und **Chromobacterium violaceum** (WATTS et al. 1988 II) werden hin und wieder als Verursacher von Mastitis beim Rind nachgewiesen.

2.2.5 Andere potentielle Erreger von Mastitiden

Zahlreiche weitere **Bakterien** werden gelegentlich im Zusammenhang mit Rindermastitis nachgewiesen.
So können auch Mykobakterien Euterentzündungen hervorrufen (WATTS 1988 II; WILSON 1963), wobei man im Falle von Mycobacterium bovis und Mycobacterium tubercolosis von einer Eutertuberkulose spricht, bei Infektionen mit den sogenannten atypischen Mykobakterien dagegen von Eutermykobakteriose (WENDT 1994 I).
Leptospiren (FUCHS 1994 III; WATTS 1988 II), Mycoplasmen (PFÜTZNER 1994; WATTS 1988 II; FOX u. GAY 1993; JASPER 1977; WILSON 1963) und Chlamydien (FUCHS 1994 V; SELBITZ 2002) können ebenfalls Mastitiden verursachen. Bei über 80% der mit Coxiella burnettii infizierten Rinder siedelt sich der Erreger mit großer Persistenz auch in der Michdrüse an. Die Infektion verläuft zwar inapparent, führt aber zur Ausscheidung der Erreger mit der Milch (FUCHS 1994 V; SELBITZ 2002).
Auch viele Anaerobier verursachen sporadisch Euterentzündungen. Dies gilt für Clostridien (LANGE u. BLECKMANN 1999; BLECKMANN u. HOEDEMAKER 1996; WATTS 1988 II), insbesondere Clostridium perfringens (BERGMANN u. SEFFNER 1994), Fusobacterium necrophorum (FUCHS 1994 IV; WATTS 1988 II), Peptostreptococcus, Propionibacterium und Bacteroides (WATTS 1988 II). Durch Clostridium perfringens verursachte Euterentzündungen können sowohl durch Streuung der Sporenbildner in verschiedene Organe als auch durch Toxinbildung zu schweren Allgemeinstörungen und dem Tod des Tieres führen (BERGMANN u. SEFFNER 1994).

Neben den Bakterien spielen **Pilze** eine Rolle im Mastitisgeschehen (MILNE et al. 2002). Dies gilt insbesondere für Hefen. Durchschnittlich verursachen sie 3% der klinischen Euterentzündungen. In einzelnen Betrieben kann dieser Wert auf über 50% ansteigen. In der Regel sind jedoch weitere, begünstigende Faktoren notwendig, damit sich eine Hefepilzinfektion im Euter manifestieren kann. Intrazisternale Antibiotikatherapie und Zitzenverletzungen stellen solche Faktoren dar (WENDT 1994 II). Als Erreger kommen hier verschiedene Candida- (WENDT 1994 II; GEDEK 2002; WATTS 1988 II; MORETTI et al. 1998; WILSON 1963), Cryptococcus- (WENDT 1994 II; GEDEK 2002; WATTS 1988 II) und Trichosporon-Spezies (WENDT 1994 II; WATTS 1988 II; MORETTI et al. 1998; WILSON 1963) in Frage, aber auch Vertreter von Rhodotorula, Hansenula (WENDT 1994 II; WATTS 1988 II) und Saccharomyces (WENDT 1994 II; MORETTI et al. 1998).
Über Schimmelpilze wird im Zusammenhang mit Euterentzündungen weniger häufig berichtet als über Hefen (FUCHS 1994 VII). Asperigillus ist hier der wichtigste Vertreter (FUCHS 1994 VII; LANGE u. BLECKMANN 1999).

Auch Prototheken können Mastitis verursachen (MILNE et al. 2002; LANGE u. BLECKMANN 1999; BLECKMANN u. HOEDEMAKER 1996; WATTS 1988). Es handelt sich hierbei um eine chlorophyllfreie **Alge**. Vor allem Prototheca zopfii kann dabei in Großbetrieben zu Enzootien führen (SEFFNER 1994).

Unter den Vertretern der **Viren** kann das Maul- und Klauenseuche-Virus (Aphthovirus), das Stomatitis-vesicularis-Virus (Familie Rhabdoviridae), das Bovine Herpesvirus-1 (FUCHS 1994 VI; KOWALSKI 1977), das Bovine Herpesvirus-2, das Rinderpest-Virus (Morbillivirus) (KOWALSKI 1977), das bovine Enterovirus, das Parainfluenza-3-Virus und Vacciniavirus (FUCHS 1994 VI) zur Ausbildung einer Euterentzündung führen.

2.2.6 Potentielles Risiko von Mastitiserregern für den Menschen

Zahlreiche Mikroorganismen, die beim Rind im Zusammenhang mit Mastitis nachgewiesen werden können, weisen auch eine mehr oder weniger große Pathogenität für den Menschen auf.

S.agalactiae ist nicht nur tierpathogen. Seit Beginn der 70er Jahre beobachtet man eine starke Häufung von Erkrankungen bei Neugeborenen, die durch S.agalactiae verursacht wurden. In den USA, in England, Norwegen und anderen Ländern stellt er die häufigste Ursache von bakterieller Neugeboren-Sepsis und –Meningitis dar (KIELWEIN 1994). Nach SELBITZ (2002) ist eine Übertragung vom Rind auf den Mensch jedoch als eher selten anzusehen, da sich der überwiegende Teil der von Mensch und Rind isolierten Stämme unterscheiden lässt. Jedoch lassen sich mit S.agalactiae-Stämmen humaner Herkunft durch experimentelle Infektion des Rindereuters typische Mastitiden auslösen, die sich von einer natürlichen Infektion mit Stämmen boviner Herkunft nicht unterscheiden lassen. Dabei scheint Vorzugsmilch und Rohmilch aus Ab-Hof-Verkauf ein wichtiges Erregerreservoir für den Menschen darzustellen (TOLLE 1972). DEVRIESE (1991) berichtet dagegen von einem bovinen und einem humanen Ecovar von S.agalactiae. Viele Streptokokkenspezies setzen sich aus verschiedenen Biotypen zusammen, die man jeweils einer bestimmten Wirtsspezies zuordnen kann. Diese wirtsassoziierten Biotypen einer ganz bestimmten Serogruppe bezeichnet er als Ecovar. Wegen des großen Unterschiedes zwischen dem bovinen und dem humanen Ecovar von S.agalactiae spielt nach diesem Autor weder der Genuss von Rohmilch noch Kontakt zu Rindern in der Epidemiologie menschlicher Infektionen eine Rolle. DEVRIESE (1991) rechnet S.agalactiae daher nicht zu den Zoonoseerregern.

S.dysgalactiae (ursprüngliche „Spezies“ S.dysgalactiae, siehe 2.2.2.1) und **S. uberis** sind für Menschen apathogen (DEDIÉ et al. 1993). Selten können diese Spezies aus Mundhöhle, Urogenitaltrakt und Fäzes des Menschen isoliert werden. Ein Fall von Endocarditis durch S.dysgalactiae (ursprüngliche „Spezies“ S.dysgalactiae, siehe 2.2.2.1) beim Menschen ist bekannt (LÄMMLER u. HAHN 1994). FACKLAM (1977) berichtet über eine mögliche Beteiligung von S.uberis bei Meningitiden, Pneumonien und Septikämien beim Menschen.

S.dysgalactiae Biotyp „equisimilis“ kann beim Menschen zu Rachen-, Haut-, Wund-, Puerperalinfektionen, Bakteriämie, Endocarditis und Meningitis führen (LÄMMLER u. HAHN 1994).

Auch für **S.dysgalactiae Serovar L** wird eine mögliche Gesundheitsgefährdung des Menschen, z.B. in Form von Mandelentzündungen, diskutiert (ROTTSCHEIDT u. HANSEN 1998).

Verschiedene Autoren haben bereits über **S.equi ssp. zooepidemicus-Infektionen** bei Menschen berichtet, die mit der Milch von Kühen in Zusammenhang gebracht wurden. HINCKLEY (1985) berichtet von 16 Fällen in New Mexico, ausgelöst durch erregerhaltigen Rohmilchkäse. Die Symptome reichten von Fieber und Erkältung bis hin zu lokalen

Infektionen. Zwei Menschen starben. Bei 15 Patienten konnte der Erreger aus dem Blut isoliert werden. EDWARDS u. ROULSON (1988) beschreiben einen Ausbruch in West Yorkshire. 11 Menschen hatten sich durch rohe Kuhmilch infiziert. S.equi ssp. zooepidemicus löste dabei unter anderem Septikämie, Meningitis und Endocarditis aus. Sieben Menschen starben an den Folgen der Infektion.

Für **S.pyogenes** diskutiert man eine gegenseitige Erregerübertragung zwischen Mensch und Tier mit teilweise endemischen Ausmaßen (LÄMMLER u. HAHN 1994). Beim Menschen kann dies zu akuten Infektionen vom oberen Respirationstrakt und der Haut sowie zur Sepsis führen. Mögliche Folgen sind rheumatisches Fieber und Nephritis (ENGST et al. 2002).

S.pneumoniae verursacht beim Menschen Erkrankungen des Nasopharynx, Otitis und Bronchopneumonie, wobei die Infektion des Euters durch einen infizierten Melker wahrscheinlicher ist als die Infektion des Menschen über Rohmilch (DEDIÉ et al. 1993).

Enterokokken verursachen beim Menschen chronische Infekte mit verschiedener Lokalisation (DEDIÉ et al. 1993). Wichtige Symptome sind Übelkeit, Erbrechen, Leibschmerzen und Durchfall, ein eindeutiger Beweis für Lebensmittelvergiftungen durch Enterokokken steht aber noch aus. S. bovis spielt keine Rolle als Erreger von Lebensmittelvergiftungen (FEHLHABER 2004 I). Enterokokken können aus nahezu 100% aller menschlichen Stuhlproben, weniger häufig auch aus Abstrichen von Mund und Vagina isoliert werden. Die häufigsten Enterokokken-Infektionen sind Harnwegsinfekte, 16% aller Nosocomial-Harnwegsinfekte werden durch Enterokokken verursacht. Man findet Enterokokken gemeinsam mit anderen Keimen in intraabdominalen und Becken-Wundinfektionen. Enterokokken können zu Bakteriämie, Endokarditis und selten auch zu Infektionen des zentralnervösen Systems bei Neugeborenen und des Respirationstrakts führen (HARDIE u. WHILEY 1997). Enterokokken sind in der Lage, über den Austausch von Plasmiden Virulenz- und Antibiotikaresistenzgene weiterzugeben. Daher besitzen diese Keime häufig eine ausgeprägte Antibiotikaresistenz (HARDIE u. WHILEY 1997; ENGST et al. 2002).

Laktokokken sind in der Milchverarbeitung und –technologie von großer Wichtigkeit, jedoch ohne hygienische Bedeutung für den Menschen (FEHLHABER 2004 I).

St.aureus kommt zwar auch symptomlos bei Menschen im Nasen-Rachen-Raum, auf der Haut und im Verdauungstrakt vor (MÜLLER 1996 I), besitzt jedoch ebenfalls große

Bedeutung als Erreger von Nosokomialinfektionen, Wundinfektionen, Abszessen, Mastitis, Osteomyelitis, Endokarditits, Pneumonien, Sepsis und Harnwegsinfektionen (ENGST et al. 2002; SELBITZ 1992; SELBITZ 2002). Gemäß DEDIÉ et al. (1993) handelt es sich dabei zwar zumeist um Anthroponosen und kaum um Zoonosen. Direkte Beziehungen zwischen Infektionen bei Tieren und Menschen konnten jedoch vereinzelt nachgewiesen werden (SELBITZ 1992). GRINBERG et al. (2004) berichten beispielsweise von einem Fall wechselseitiger St.aureus-Ansteckung zwischen einem Landwirt mit eitriger Dermatitis und seinen euterkranken Milchkühen. Gemäß DEDIÉ et al. (1993) stellt bei Lebensmitteln tierischer Herkunft das verarbeitende Personal eine weitaus größere Infektionsquelle dar als das Tier selbst.

Neben der Bedeutung als Infektionserreger können **Staphylokokken** auch durch die Bildung von Enterotoxinen zu Lebensmittelvergifungen führen. Dies gilt hauptsächlich für St.aureus, ist aber auch vereinzelt für St.epidermidis, St.haemolyticus und St.intermedius-Stämme nachgewiesen worden (UNTERMANN 1994). Um die Bildung einer zu Symptomen führenden Enterotoxinmenge zu bewirken, ist eine Vermehrung der Staphylokokken im Lebensmittel auf 10^5-10^6/g Voraussetzung (UNTERMANN 1994; SELBITZ 1992; BÜLTE 2004 I; MÜLLER 1996 I). Typische Symptome beim Menschen sind Brechdurchfälle (UNTERMANN 1994; SELBITZ 1992; BÜLTE 2004 I), Todesfälle sind selten (BÜLTE 2004 I; MÜLLER 1996 I). Die Enterotoxine sind sehr thermostabil, normale küchentechnische Bearbeitung führt zu keiner sicheren Inaktivierung (SELBITZ 1992; UNTERMANN 1994; BÜLTE 2004 I; SELBITZ 2002). Bei den bovinen Mastitiserregern handelt es sich jedoch selten um enterotoxinbildene St.aureus-Stämme (BECKER u. MENK 1984; MÜLLER 1996 I), weniger als 10% der Stämme bilden Enterotoxin (BLOBEL 1977).

Zunehmend kommt auch den KNS, vor allem St.epidermidis, eine Bedeutung als Infektionserreger des Menschen zu (BLOBEL et al. 1994). St.epidermidis tritt dabei häufig als multiresistenter Hospitalkeim in Erscheinung (SELBITZ 2002; ENGST et al. 2002).

Gemäß SELBITZ (1992) sind St.intermedius und St.hyicus humanmedizinisch ohne Bedeutung.

Arcanobacterium pyogenes wird gelegentlich aus eitrigen Veränderungen des Menschen isoliert, epidemiologische Zusammenhänge zu Infektionen bei Tieren sind aber nicht nachgewiesen worden (SELBITZ 1992; SELBITZ 2002). Bei Arcanobacterium pyogenes-Infektionen des Menschen handelte es sich unter anderem um multiple Abszessgeschehen,

Meningitits, Pneumonie, septische Arthritis, Endokarditis und Bakteriämie (LÄMMLER u. HARTWIGK 1995).
Der Nachweis von **Corynebacterium bovis** im Zusammenhang mit Endokarditis und aus Blut und Liquor nach Traumata beim Menschen gilt aufgrund unzulänglicher biochemischer Differenzierungsmethoden als fraglich (HELLMANN et al. 1995).
C.ulcerans wird gelegentlich beim Menschen nachgewiesen. Man fand den Erreger bei leichteren, diphtherieähnlichen Krankheitsbildern (ENGST et al. 2002; HELLMANN et al. 1995), exsudativer Pharyngitis, Tonsillitis und geschwürigen Hautläsionen (HELLMANN et al. 1995).

Bei Menschen treten gelegentlich pulmonale, systemische oder superfiziale **Nocardiosen** auf. Diese sind jedoch nicht infektiös, Übertragungsbeziehungen zwischen Menschen und Tieren bestehen nicht (SELBITZ 2002).

Bacillus cereus, seltener auch **Bacillus subtilis**, **Bacillus pumilus** und andere, können durch die Bildung von Enterotoxinen zu Lebensmittelvergiftungen bei Menschen führen (SELBITZ 1995; FEHLHABER 2004 II). Dafür kommen gemäß MÜLLER (1996 I) hauptsächlich stärkehaltige Lebensmittel sowie als einziges Lebensmittel tierischer Herkunft Hackfleisch in Betracht. FEHLHABER (2004 II) berichtet von Bacillus cereus-Lebensmittelvergiftungen, für deren Zustandekommen verschiedenartige Lebensmittel, auch Fleischzubereitungen, verantwortlich waren. Bei diesen Fleischzubereitungen handelte es sich jedoch zumeist um Fertiggerichte, die einen hohen Anteil von häufig stark sporenhaltigen Gewürzen enthielten. Als Voraussetzung für das Auftreten von Vergiftungserscheinungen müssen die Lebensmittel Keimkonzentrationen von mindestens 10^5/g (MÜLLER 1996 I) beziehungsweise von 10^6-10^8/g (SELBITZ 1995) enthalten. Die Vergiftung kann in Form des emetischen Typs oder des Diarrhoe-Typs auftreten (SELBITZ 1995; FEHLHABER 2004 II). Meist verläuft sie mild und komplikationslos (FEHLHABER 2004 II).

Listerien können beim Menschen verschiedene Erkrankungen auslösen. Sepsis, ZNS-Erkrankungen und glanduläre Verläufe stellen mögliche Ausprägungen dar (SELBITZ 2002). Schwere Verläufe treten fast nur bei Menschen aus Risikogruppen, zu denen ältere Menschen, Schwangere und immunsupprimierte Personen gehören, auf (CFSAN 2003). Die Letalität liegt bei 40% (BÜLTE 2004 II). Von großer Bedeutung ist die Infektion über listerienhaltige Lebensmittel (SELBITZ 2002), die Haupteintrittspforte stellt die Schleimhaut des

Verdauungstraktes dar (DEDIÉ et al. 1993). Milch(produkte), Fleisch(produkte) und Rohgemüse stehen dabei im Vordergrund (WEIß u. AMTSBERG 1995). Die zur Erkrankung führende Infektionsdosis ist stark davon abhängig, welche Teile der Population beziehungsweise ob Menschen einer der Risikogruppen betroffen sind (FAO/WHO 2001). Die EG hat in ihrer VO Nr. 2073/2005 für die meisten in Verkehr gebrachten Lebensmittel einen Grenzwert von 10^2 KbE/g festgelegt. In Lebenmitteln, die für Säuglinge oder besondere medizinische Zwecke bestimmt sind, dürfen in 25g keine Listerien nachweisbar sein. Eine direkte Ansteckung des Menschen an infizierten Tieren ist zwar möglich, ist aber gegenüber der oralen Infektion über kontaminierte Lebensmittel eindeutig von untergeordneter Bedeutung (SELBITZ 2002; WEIß u. AMTSBERG 1995). Zudem lassen sich Listerien auch von vielen gesunden Menschen isolieren (WEIß u. AMTSBERG 1995).

Unter allen **E.coli**-Stämmen besitzen die der Verotoxin-bildenen EHEC-Gruppe (enterohämorrhagische E.coli) als einzige eine nachgewiesene Bedeutung als Zoonoseerreger. Dabei stellen Rinder neben kleinen Wiederkäuern das Erregerreservoir dar und bilden den Ausgangspunkt von Lebensmittelinfektionen (SELBITZ 2002). DEUTZ et al. (1999) sehen in dem Vorkommen von EHEC in Rohmilch, Milch- und Fleischprodukten ein zunehmendes lebensmittelhygienisches Problem. Sie konnten bei ihren Untersuchungen von Mastitismilchproben einen beachtlichen Anteil an Verotoxin-bildenen E.coli-Stämmen feststellen. Dabei ist die Infektionsdosis mit <100 Keimen als sehr gering einzustufen (KRAUSS et al. 1997). Symptome sind Darmkrämpfe und wässriger, später hämorrhagischer Durchfall. Mögliche Folgen der Coli-Infektion sind das hämolytisch-urämisches Syndrom, thrombotisch-thrombozytopenische Purpura oder neurologische Komplikationen mit zum Teil letalen Ausgang (DEDIÉ et al. 1993). Besonders gefährdet sind immungeschwächte Personen, Kleinkinder und alte Menschen (SELBITZ 2002; DEDIÉ et al. 1993).

Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella, Proteus und **Serratia** findet man in der saprophytären Mikroflora vieler Lebensmittel. Sie werden üblicherweise als nicht pathogen angesehen und sind auch im Stuhl vieler gesunder Menschen nachzuweisen. Gelegentlich werden sie allerdings auch bei Lebensmittelinfektionen isoliert, wobei die Symptome denen bei Salmonelleninfektionen sehr ähnlich sind. Bei stark geschwächten Patienten ist auch ein letaler Ausgang solcher Infektionen möglich (KLEER 2004 I). Alle diese Erreger besitzen eine Bedeutung als Nosokomialerreger, viele auch als opportunistische Erreger von Harn- und

Atemwegsinfektionen, teilweise auch von Wundinfektionen, Sepsis und Meningitis (ENGST et al. 2002).

Die **Salmonellen**-Infektion stellt eine bedeutende Zoonose dar (KRAUSS et al. 1997). Sie kann beim Menschen zu schweren, teilweise tödlich verlaufenden Erkrankungen führen. Als wichtigste Infektionsquelle für den Menschen gelten kontaminierte Lebensmittel, wobei die Anreicherung der Salmonellen im Lebensmittel eine wichtige Voraussetzung für die Infektion darstellt (SELBITZ 2002). Die Infektionsdosis ist mit $>10^5$ Keimen zwar hoch, kann aber vor allem bei Kindern, alten Menschen und vorgeschädigten Personen auch deutlich niedriger sein (DEDIÉ et al. 1993). Symptome einer Salmonellen-Infektion sind Erbrechen, Übelkeit und wässriger, faulig riechender, teils blutiger, schleimiger Stuhl. Mögliche Komplikationen sind Sepsis, Osteomyelitis, Peritonitis, Harnwegsinfekte und Endocarditis (KRAUSS et al. 1997).

Pseudomonaden sind opportunistische Erreger, die Nosokomialinfektionen, Sepsis (KLEER 2004 I), dramatisch verlaufende Darminfektionen bei Säuglingen sowie vielgestaltige Lokalinfektionen und Allgemeinerkrankungen hervorrufen können (SELBITZ 1992). Gemäß MÜLLER (1996 II) können Pseudomonaden Lebensmittelvergiftungen verursachen. SELBITZ (1992) rechnet demVorkommen von Pseudomonaden in von Tieren stammenden Lebensmitteln dagegen nur eine geringe pathogene Bedeutung zu, da man diese Erreger vielfach auch in der menschlichen Darmflora vorfindet (SELBITZ 1992).

Pasteurellen sind wichtige Zoonoseerreger. Die Infektion findet hauptsächlich durch Hunde- und Katzenbisse oder auf aerogenem Weg statt (DEDIÉ et al. 1993), kann aber auch auf oralem Wege durch Verzehr von infiziertem Fleisch erfolgen (KRAUSS et al. 1997).

Durch **Brucellen** ausgelöste Erkrankungen des Menschen sind durch uncharakteristische Allgemeinstörungen, undulierendes Fieber, Schweißausbrüche, Milz- und Leberschwellung sowie Aborte gekennzeichnet (SELBITZ 1992). Es handelt sich um eine klassische „milk-born“ Zoonose (KLEER 2004 II), Infektionen durch Fleisch sind in Europa fast unbekannt. Aus Alaska ist dagegen von Infektionen des Menschen nach Verzehr rohen Fleisches berichtet worden. Brucellen sind im Muskelfleisch infizierter Tiere nur kurze Zeit und in geringer Zahl zu finden. Euter, Leber, Milz und Lymphknoten bleiben dagegen länger und in erheblich größerem Maße brucellenhaltig (DEDIÉ et al. 1993).

Aeromonas hydrophila stellt ein typisches „foodborn pathogen“ dar. Fisch und Meeresfrüchte scheinen dabei eine besondere Rolle zu spielen (KLEER 2004 III). Durch die Bildung von Enterotoxinen kann es zu einer Lebensmittelvergiftung kommen (SELBITZ 2002; KLEER 2004 III). Betroffen sind hauptsächlich Risikogruppen, aber auch gesunde Menschen können erkranken (KLEER 2004 III). Akute, schwere Enteritis (MÜLLER 1996 II; KLEER 2004 III) mit wässrigem, teils schleimig-blutigem Durchfall und septische Allgemeinerkrankungen sind die Folge (KLEER 2004 III). Auch als Erreger von Nosokomialinfektionen kommt Aeromonas Bedeutung zu (ENGST et al. 2002).

Über Infektionen des Menschen mit **Actinobacillus ligenieresii** ist nur wenig bekannt, (SELBITZ 1992), sie werden aber gelegentlich diagnostiziert (SELBITZ 2002; siehe 2.2.4.2).

Chromobacterium violaceum stellt beim Menschen einen seltenen Erreger eitriger oder septikämischer Infektionen dar (ENGST et al. 2002).

2.2.7 Mikrobiologische Untersuchung des Gewebes von Schlachttieren

2.2.7.1 Mikrobielle Belastung des Gewebes bei Schlachttieren

Mikroorganismen haben Bedeutung für Haltbarkeit beziehungsweise Verderb von Fleisch. Zudem stellen sie die Hauptursache für gesundheitliche Risiken durch Fleischverzehr beim Menschen dar (SCHÜPPEL et al. 1994; SMULDERS u. UPMANN 2000).

Ob im Blut und Gewebe gesunder, lebender Tiere beziehungsweise von solchen Tieren kurz nach der Schlachtung gewöhnlich Mikroorganismen nachweisbar sind, wird seit vielen Jahrzehnten kontrovers diskutiert (AYRES 1955; CORRY 1978; GILL 1979). GILL (1979) folgert aus seinen Auswertungen der Literatur, dass Muskelgewebe von kommerziellen Schlachtkörpern bei adäquater Probennahme steril ist. Eine große heterogene Population an intrinsischen Bakterien deute dagegen auf eine Kontamination während oder nach der Probennahme hin. Gemäß den Literaturstudien von AYRES (1955) und CORRY (1978) können Bakterien in geringer Zahl aus Blut und Gewebe lebender und gerade gestorbener Tiere isoliert werden. Nach CORRY (1978) sei dies auch bei adäquater Probennahme der Fall. Bei den Untersuchungen von STUKER et al. (1977) konnten in Leber- und Milzproben

Tab.2.5: Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchungen von Muskulatur und Lymphknoten bei Schlachttieren

Positive Proben	**Tier- und Gewebeart**	**KbE/g**	**Isolierte Bakterien**	**Quelle**
	Rind	bei 37°C aerob		LEPOVETSKY et al. (1953):
15 von 23	Lymphknoten	max. $7{,}6 \times 10^4$ (Mittel $1{,}1 \times 10^3$)	Aerobacter, Alcaligenes, Bacteroides, Clostridium, Corynebacterium, Escherichia, Flavobacterium, Micrococcus, Proteus, Pseudomonas, Serratia, Streptococcus	
2 von 23	Muskulatur	max. $3{,}2 \times 10^2$	Pseudomonas, Streptococcus	
0%	Muskulatur Rind			RADOUCO-THOMAS et al. (1959)
0%	Muskulatur Rind			OCKERMAN a. CAHILL (1967); OCKERMAN et al. (1969)
21 von 65	Muskulatur Schwein Muskulatur Lamm Muskulatur Rind	max. $7{,}0 \times 10^2$ max. $1{,}4 \times 10^2$ max. $1{,}4 \times 10^3$	Staphylococcus, Micrococcus, Sarcina, Streptococcus, Coryneforme, Bacillus, Clostridium, Flavobacterium, Pseudomonas, Moraxella, Alcaligenes, Acinetobacter anitratum, Hefen, Schimmelpilze	VANDERZANT a. NICKELSON (1969)
0%	Muskulatur Rind			BUCKLEY et al. (1976)
25%	Schwein	bis 10^2	apathogene Keime	PIEKENBROCK et al. (1998)
	Schweine mit Lungenveränderungen			FEHLHABER et al. (1992)
80 von 500	Lymphknoten		E.coli, Mikrokokken, St.aureus, St.epidermidis, Streptokokken, Corynebacterium pyogenes, Laktobazillen, aerobe Sporenbildner, Clostridium ssp.	
21 von 500	Muskulatur		E.coli, Mikrokokken, St.aureus, St.epidermidis, Streptokokken	

von gesundgeschlachteten Rindern bei 4% der direkt ins Labor gebrachten und bei 50% der per Post versandten Gewebeproben Mikroorganismen nachgewiesen werden. Tabelle 2.5 gibt die Ergebnisse verschiedener Untersuchungen zur mikrobiellen Belastung der Gewebeproben von Schlachttieren wieder.

Es gibt verschiedene Ursachen für endogene Kontamination, die intra vitam auf ein Schlachttier einwirken. Zum einen sind dies Stressoren, die vor und während des Schlachtprozesses auf das Tier einwirken. Diese prämortale Belastung kann zu einer Aktivierung von Keimen aus der Darmflora und aus isolierten Entzündungsherden führen. Andere Ursachen sind inapparente Infektionen, Dysbiose der Mikroorganismen im Darm und das Durchdringen der Darmbarriere sowie eine Schwächung des Immunsystems durch Infektion und Belastung (SCHÜPPEL et al. 1994). Letzteres erklärt sich so, dass Stressoren, die zum Beispiel beim Verladen und Transport auf die Tiere einwirken, zu einer Erhöhung des Blutcortisolspiegels führen können, was wiederum bei längerem Einwirken zu einer Schwächung des Immunsystems führt. In der Folge können Mikroorganismen weniger erfolgreich aus dem Körper eliminiert werden (PIEKENBROCK et al. 1998). Die Ursachen für endogene Kontamination und insbesondere für das Durchdringen der Darmschranke sind miteinander verknüpft (FEHLHABER et al. 1992). FEHLHABER et al. (1989) betonen, dass auch pathologisch-anatomische Veränderungen wie Lungenveränderungen, Leberveränderungen, Peritonitis, multiples Abszessgeschehen und Pericarditis einen beachtlichen Belastungsfaktor für Schlachtschweine darstellen. PIEKENBROCK et al. (1998) fanden bei normalgeschlachteten Schweinen keinen Zusammenhang zwischen mikrobieller Kontamination von Organen und Muskulatur und dem Vorhandensein von gering- bis mittelgradigen, chronischen Lungenveränderungen. FEHLHABER et al. (1992) stellten an Schlachtschweinen fest, dass mit zunehmend ausgebreiteten Lungenveränderungen der Anteil mikrobiell primär besiedelter Organ- und Muskelproben deutlich ansteigt. Bei 4 der 12 diagnostizierten Bakteriämien gehen die Autoren von einer Streuung aus dem Lungengewebe aus, bei den anderen 8 dagegen vom Überwinden der Darmbarriere. Sie folgerten daraus, dass ausgeprägte Lungenveränderungen eine hohe Belastung für das Tier darstellen und dies wiederum zu einer Beeinträchtigung der Keimabwehr im Darm führt. Die Konsequenz daraus sei die Forderung nach gesunden Tierbeständen als wichtigem Aspekt auch für den Verbraucherschutz.

Gemäß den Untersuchungen von FEHLHABER et al. (1989) üben kurze Ausruhzeiten eine noch größere belastende Wirkung aus als Organveränderungen. PIEKENBROCK et al. (1998)

konnten keinen Zusammenhang zwischen einer fehlenden und einer zweistündigen Ausruhphase und der Keimbelastung der Muskulatur bei Schlachtschweinen feststellen. Die Autoren halten die relativ idealen Haltungs-, Transport und Schlachttierstallbedingungen, die bei den Schweinen ihrer Untersuchungen gegeben waren, für eine mögliche Erklärung für dieses Ergebnis. Gemäß GILL et al. (1978) sind Mikroorganismen in Muskulatur und Lymphknoten gesunder Tiere normalerweise auch dann nicht nachweisbar, wenn Schlachttiere vor ihrem Tod bis zur Erschöpfung aufgeregt wurden.

Bezüglich der Frage nach dem Ausgangspunkt für endogene Kontamination von Gewebe mit Bakterien bei augenscheinlich gesundgeschlachteten Tieren herrscht in der Literatur keine Übereinstimmung (AYRES 1955). Gemäß CORRY (1978) können dies Hautläsionen, Respirations- und Intestinaltrakt sein. PIEKENBROCK et al. (1998) geben zusätzlich den Urogenitaltrakt, inapparente Infektionen und abgegrenzte Organaffektionen als mögliche Quelle von Mikroorganismen an, welche dann über Blut- und Lymphbahn in das Gewebe einwandern können. GILL et al. (1978) stellten fest, dass erst viele Stunden nach Eintreten des Todes, wenn es durch proteolytische Enzyme zur Ruptur des Magen-Darm-Trakts kommt, Bakterien aus dem Intestinaltrakt in das Gewebe überwandern. MACKEY a. DERRICK (1979) wiesen nach, dass über kontaminierte Instrumente bei der Schlachtung ebenfalls Mikroorganismen in den Blutstrom gelangen können.

Viele Autoren geben an, dass ein Teil des Immunsystems, welches bei gesunden, lebenden Tieren die in den Körper eindringenden Mikroorganismen weitgehend eliminiert (CORRY 1978; GILL 1979; FEHLHABER et al. 1992), auch noch bis einige Zeit nach Eintreten des Todes weiter seiner Funktion nachgeht (CORRY 1978; GILL 1979). Gemäß GILL a. PENNEY (1979) kann daher die Bedeutung von Bakterien im tiefen Muskelgewebe überschätzt werden, wenn die Proben direkt nach der Schlachtung gezogen werden, weil das Immunsystem eine gewisse Anzahl an Bakterien weiterhin erfolgreich bekämpfen kann.
VANDERZANT a. NICKELSON (1969) konnten direkt nach der Schlachtung mehr Mikroorganismen aus dem Gewebe isolieren als bei den Proben von Schlachtkörperhälften, die bereits 3 Tage bei 1°C kühl gehalten worden waren. Sie führen als mögliche Erklärung für dieses Ergebnis an, dass einige der mesophilen Keime die Kühlung nicht überlebt haben könnten.

2.2.7.2 Nachweis von Mastitiserregern bei Schlachtkühen

Das Vorkommen von Mastitiserregern im Gewebe von Schlachtkühen wurde mit relativ unterschiedlichen Schwerpunkten untersucht.

SCHWEIGHARDT et al. (1993) untersuchten das Eutergewebe von 100 laktierenden Rindern auf das Vorliegen von Mastitis. Bei 77 Eutern wurde histopathologisch eine Euterentzündung diagnostiziert, in 56,88% dieser Euter waren auch Keime nachweisbar.

DAHL et al. (2006) führten eine retrospektive Auswertung der Befunde der mikrobiologischen Fleischuntersuchung gemäß der Schweizer Fleischuntersuchungs-verordung durch. Bei den Proben von 73% der Kühe konnten Keime nachgewiesen werden. Der Großteil der Proben konnte gemäß der FUV der Rubrik „Entzündungsprozesse und Nekrosen“ zugeordnet werden. Mastitis gehörte in dieser Rubrik zu einer der häufigsten Angaben. Bei 17,7% der eingesandten Proben konnte ein spezifischer Keimnachweis geführt werden, bei 55,3% wurde ein unspezifischer Keimgehalt festgestellt. Proben mit spezifischem Keimgehalt hatten häufig den Vorbericht „Mastitis“. Proben von Tieren mit nicht akuten Prozessen enthielten nur selten einen spezifischen Keimgehalt.

WEISSER (1979) untersuchte Organe, Muskelfleisch und die großen Körperlympknoten von hauptsächlich not- oder krankgeschlachteten Rindern. Bei 11,2% der erwachsenen Rinder konnten Streptokokken nachgewiesen werden. Davon wurden 42% als Vertreter von für Menschen oder Tiere pathogenen Arten eingestuft. S.dysgalactiae, S.uberis, Streptokokken der Serogruppe L und S.agalactiae, welche allgemein nur als Erreger von Euterentzündungen bekannt sind, stellten dabei mit 94% den größten Anteil der pathogenen Streptokokken dar. 25% aller isolierten Streptokokken wurden als Streptokokken der Lancefieldgruppe D, hauptsächlich Enterokokken identifiziert, welche vom Autor als apathogen eingestuft wurden. Für das Auftreten von S.dysgalactiae, S.uberis (serologisch negativ) und S. agalactiae in den untersuchten Gewebeproben wurde für den Großteil der Fälle eine Streuung aus entzündeten Eutervierteln als Ursprungsquelle ausgeschlossen, für S.uberis (Serogruppe E und P) und Streptokokken der Serogruppe L wurden ebenfalls eher andere Infektionsquellen, wie Verletzungen aller Art, Folgen von Störungen im Zusammenhang mit dem Geburtsgeschehen und eitrige Prozesse im Allgemeinen vermutet.

SZÁZADOS (1971) untersuchte auf dem Schlachthof und auf dem Sonderschlachthof für Notschlachtungen in Pécs das Fleisch von 105 mastitiskranken Kühen aus Normalschlachtungen, Notschlachtungen und aus der Provinz. Es handelte sich zum Großteil um schwere klinische Fälle mit deutlichen pathologisch-anatomischen Veränderungen. Das

Fleisch von 5 Tieren wurde schon bei der Fleischuntersuchung für untauglich erklärt. Von den restlichen Tieren wurden Proben von Euter, Muskulatur, Lymphknoten und verschiedenen Organen der bakteriologischen Untersuchung zugeführt. In 26,6% der Fälle hatten sich die mastitisverursachenden Keime generalisiert. Dabei handelte es sich hauptsächlich um Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae und Corynebacterium pyogenes, aber auch Staphylococcus aureus, E.coli, Clostridium perfringens, vergrünende Streptokokken oder Mischinfektionen. Insgesamt wurde das Fleisch von 41,9% der Kühe beanstandet. SZÁZADOS (1971) mahnte daher zu mehr Beachtung von Euterentzündungen in der Fleischhygiene.

In einer weiteren Arbeit schildert SZÁZADOS (1972) die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung verschiedener Gewebe von wegen Euterentzündung not- oder normalgeschlachteten Rindern (Tab. 2.6). Berücksichtigt wurden dabei die 5 in Tab. 2.6 aufgeführten Keime. Der Autor leitete daraus ab, dass die schweren Störungen des Allgemeinbefindens bei Kühen mit durch diese Keime verursachter Mastitis nicht nur auf Toxinwirkungen, sondern auch auf bakterielle Streuung zurückzuführen seien. Daraus folgert er die Notwendigkeit von ergänzenden bakteriologischen Untersuchungen bei der Schlachtung von euterkranken Kühen.

Tab. 2.6: Verteilung von Mastitiserregern im Gewebe von Schlachtkühen mit Mastitis (SZÁZADOS 1972)

	Euter insgesamt(1)	nur Euter und Euterlymphknoten(1)	andere Gewebe (davon inkl. Muskulatur) (1)
Pseudomonas aeruginosa	36	19	17 (10)
Klebsiella(2)	33	21	11 (5)
Corynebacterium pyogenes	31	20	11 (3)
E.coli	10	2	8 (5)
Staphylococcus aureus	14	9	5 (3)

(1) Anzahl der Kühe, bei denen Erreger isoliert wurde
(2) Zahlen aus der Literatur übernommen

SCHÜPPEL et al. (1995) machten Untersuchungen bei 140 normalgeschlachteten Kühen mit mindestens einer abgeschlossenen Laktationsperiode, die als tauglich beurteilt worden waren. Proben von Euter, verschiedenen Organen und Muskulatur wurden pathologisch-anatomisch

und bakteriologisch, einige zusätzlich auch histologisch untersucht. Bei 43 Tieren wurden klinische, subklinische oder chronische Euterentzündungen, bei 31 Tieren andere Organveränderungen und bei 12 Tieren Mastitis und Organveränderungen festgestellt. Bei diesen Tieren konnten signifikant häufiger Keime in Organen und Muskulatur festgestellt werden als bei den 66 Tieren, die ohne besonderen Befund blieben. Aus den Euterproben wurden Streptokokken, E.coli, coliforme Keime, Staphylococcus aureus, Clostridium perfringens und Arcanobacterium pyogenes isoliert. Streptokokken konnten in 2, E. coli in 4 und Clostridien in 9 Fällen auch in der Muskulatur nachgewiesen werden. Die Autoren befürworteten das Absetzen des Euters vor dem Enthäuten sowie eine generelle Beurteilung des Euters als untauglich für den menschlichen Verzehr.

2.3 Die eingesetzten Fließschemata

2.3.1 Grampositive Kokken

2.3.1.1 Die Genera Streptococcus, Enterococcus und Lactococcus

2.3.1.1.1 Allgemeine Eigenschaften

Streptokokken, Enterokokken und Lactokokken sind rund oder ovoid geformt, der Durchmesser beträgt weniger als 2 µm. Lässt man diese Kokken in Flüssignährmedien wachsen, erscheinen sie unter dem Mikroskop in Paaren oder Ketten. Normalerweise sind Streptokokken, Enterokokken und Laktokokken unbeweglich und fakultativ anaerob, jedoch gibt es einige bewegliche Enterokokkenspezies und außerdem Streptokokken, die erhöhte CO_2-Konzentration oder strikt anaerobe Wachstumsbedingungen benötigen. Aus Glukose produzieren die Vertreter aller drei Genera Säure, aber kein Gas. Sie bilden keine Katalase. Einige Stämme zeigen jedoch Pseudokatalase-Aktivität. (HARDIE 1986 I). Gemäß WASHINGTON (1981) sind Streptokokken Oxidase-negativ.

2.3.1.1.2 Differenzierung

Da viele Spezies ein typisches Hämolyseverhalten zeigen, eignen sich die verschiedenen **Hämolyseformen** zur Vordifferenzierung. Hierfür werden in der Regel 5-10%ige Hammelblutplatten verwendet (LÄMMLER u. HAHN 1994).
Gemäß LÄMMLER u. HAHN (1994) und SELBITZ (2002) unterscheidet man dabei drei Hämolyseformen:
α-Hämolyse: Es handelt sich um eine unvollständige Hämolyse mit erhaltenen Erythrozyten um die Kolonien. Meist zeigt sich hierbei eine mehr oder weniger ausgeprägte Vergrünung durch Ausbildung von Methämoglobin.
β-Hämolyse: Vollständige Hämolyse; die Erythrozyten sind vollständig aufgelöst, um die Kolonien wird der Agar deshalb klar.
γ-Hämolyse: Es tritt keine Hämolyse ein. SELBITZ (2002) lehnt den Begriff γ-Hämolyse daher ab. Bei vielen Autoren (BERGMANN et al. 1980; KUNTER 1988; MARX 1985; LÄMMLER u. HAHN 1994) ist dieser Begriff aber sehr gebräuchlich.

Streptokokken besitzen auf ihrer Oberfläche antigenetisch wirksame Polysaccharide, die eine Einteilung in verschiedene serologische Gruppen, die sogenannten **Lancefield-Gruppen**, erlauben (SELBITZ 2002). Dabei kann nur im Fall von S.pyogenes (Gruppe A) und S.agalactiae (Gruppe B) eine Serogruppe einer einzigen, gut definierten Streptokokkenspezies zugeordnet werden (DEVRIESE 1991).
Für die Bestimmung der serologischen Gruppen werden die Polysaccharidantigene von der Oberfläche der Bakterien gelöst und mittels spezifischer Antiseren differenziert. Für die Antigen-Präparation sind zahlreiche Methoden entwickelt worden, neben kommerziellen enzymatischen Verfahren erwiesen sich auch verschiedene physikalische und chemische Extraktionsverfahren als geeignet. Der Nachweis der extrahierten Antigene kann mittels Mikrokapillarpräzipitation nach Lancefield, Doppelimmundiffusion nach Ochterlony, Latexagglutination oder Staphylokokken-Coagglutination erfolgen (LÄMMLER u. HAHN 1994).
Anders als bei den anderen Serogruppen handelt es sich bei dem Antigen der Gruppe D nicht um das Zellwandpolysaccharid „C-Substanz“, sondern um Glycerinteichonsäure mit Sitz zwischen Zellwand und Plasmamembran oder auf der Plasmamembran selbst. Dieser Umstand führt dazu, dass der Nachweis der D-Antigene erschwert ist (MARX 1985).

Zahlreiche Autoren haben die Zuverlässigkeit verschiedener serologischer Schnellverfahren untersucht.

POUTREL (1983) konnte mittels eines kommerziell erhältlichen Coagglutinations-Tests für 100% und mittels des Streptex Latexagglutinations-Tests für 98% aller untersuchten S.agalactiae-, S.dysgalactiae-, Ec.faecalis-, Ec.faecium- und S.bovis-Stämme die Serogruppe richtig bestimmen. Dabei reagierten im Latexagglutinations-Test 5,6% (Prozentzahl berechnet aus Angaben im Text) der S.dysgalactiae-Stämme falsch-negativ und alle D-Stämme lediglich schwach. Allerdings traten hier deutlich weniger Kreuzreaktionen auf als im Coagglutinations-Test.

INZANA u. IRITANI (1989) ermittelten für den PathoDx Latexagglutinations-Test eine Sensitivität von 93,6% und eine Spezifität von 97,8% bei Anwendung an anderen C-Streptokokken als S.dysgalactiae. Für S.dysgalactiae betrug die Sensitivität dagegen nur 25%. Als mögliche Begründung geben sie die Zugehörigkeit einiger S.dysgalactiae-Stämme zu den Serogruppen G und L und nicht zur Serogruppe C an.

HOGAN et al. (1988) bezeichnen den Latexagglutinations-Test als sehr gute Methode zur Identifikation von S.agalactiae, für den in ihren Untersuchungen die Sensitivität 97,6% und die Spezifität 98,2% betrug. Auch BANZHAF u. WALSER (1988) empfehlen die im Handel erhältlichen Latexagglutinations-Tests für die Routinediagnostik. 98,9% der B-Streptokokken reagierten im Strep B Latexagglutinations-Test richtig positiv.

MARX (1985) hält die serologische Absicherung bei den meisten β-hämolysierenden Streptokokken für unumgänglich. Er erzielte mit allen untersuchten serologischen Schnellverfahren, darunter auch der Streptex Latexagglutinations-Test, vergleichbar gute Ergebnisse. Lediglich von den D-Streptokokken konnten auf Anhieb nur 72%, bei Wiederholung weitere 24%, korrekt bestimmt werden. In die Untersuchung wurden allerdings keine von Mastitiden isolierten Streptokokken mit einbezogen.

Tabelle 2.7 gibt die Ergebnisse der Überprüfung von Sensitivität und Spezifität des Oxoid Streptokokken-Identifizierungstest gemäß der OXOID-Produktinformation (Stand Juli 2005) wieder. Da gemäß der Produktinformation mittels dieses Verfahrens mit Ausnahme von Streptokokken der Lancefield-Gruppen B, D und N der Nachweis der Kohlenhydrat-Antigene nur bei β-hämolysierenden Streptokokken sicher gelingt, ist die Aussagekraft des Streptokokken-Identifizierungstests auf β-hämolysierende Streptokokken der Gruppen A, C, F und G sowie auf B- und D-Stämme unabhängig von der Hämolyseform beschränkt. Die fehlende positive Reaktion einiger S.bovis-Stämme sowie die Reaktion einiger D-Stämme mit

dem Latex-Identifizierungsreagenz sowohl der Gruppe G als auch der Gruppe D sind mögliche Fehlerquellen.

Tab. 2.7: Sensitivität und Spezifität des Oxoid Streptokokken-Identifizierungs-Test (OXOID-Produktinformation 2005)

Teststämme		**Oxoid Streptokokken-Identifizierungs-Test und verbessertes Extraktionsenzym**	
Lancefield-Gruppe	Anzahl	SENSITIVITÄT %	SPEZIFITÄT %
Nicht A,B,C,D,F,G	56		99,1
A	30	100	100
B	29	100	100
C	30	96.6	99,5
D (Streptokokken) D (keine Streptokokken)	2 47	92.0	99,7
F	25	92,0	99,4
G	32	100	95,2
ZUSAMMEN	251	96,4	98,9

2.3.1.1.3 Eigenschaften spezieller Mastitis-Streptokokken

Streptococcus agalactiae lässt sich aufgrund der spezifischen Kohlenhydratantigene auf der Bakterienoberfläche der Lancefield-Gruppe B zuordnen. Dabei werden die Bezeichnungen S.agalactiae und B-Streptokokken häufig synonym verwendet (LÄMMLER u. HAHN 1994). S.agalactiae kann auf Blutagar sowohl α-, β- als auch γ-Hämolyse zeigen. Der Nachweis der fehlenden Fähigkeit zur Äskulinhydrolyse und zur Säurebildung aus Mannit ermöglicht zusätzlich zur Bestimmung der Serogruppe B die eindeutige Identifizierung von S.agalactiae (LÄMMLER u. HAHN 1994). Nach STÖPPLER u. HARR (1977) ist die fehlende Äskulinspaltung trotz einer Fehlerquote von 0,48% die sicherste biochemische Nachweismethode für Galtstreptokokken.

Von vielen Autoren wird der positive CAMP-Test, erstmalig beschrieben von CHRISTIE et al. (1944), in Kombination mit bestimmten anderen Kriterien als zuverlässiges Diagnosekriterium für S.agalactiae angegeben (LÄMMLER u. HAHN 1994; HEJLIČEK 1994 I; ZSCHÖCK u. FEHLINGS 2000). BANZHAF u. WALSER (1988) ermittelten, dass B-Streptokokken zu 93,99% CAMP-positiv reagieren. STÖPPLER u. HARR (1977) stellten dagegen fest, dass in 19,5% der galtinfizierten Bestände die B-Streptokokken CAMP-negativ reagierten. In Untersuchungen von REMMERS (1975) reagierten 97,9%[*1)] der B-Streptokokken CAMP-positiv, jedoch auch 52,2%[*1)] der E-Streptokokken, 8,5%[*1)] der D-Stämme und 23,5%[*1)] der Streptokokken, die sich in keine der Serogruppen B, C, D und E eingruppieren ließen. MARX (1985) stellte fest, dass von 4 B-Streptokokken-Isolaten einer wiederholt CAMP-negativ reagierte, während 16,1% der C-Stämme und 34,6% der G-Stämme CAMP-positiv reagierten. HELLMANN et al. (1971) ermittelten 79,5% CAMP-positive B-Streptokokken, wobei auch 30% der C-Streptokokken, 22% der D-Stämme, 14% der E-Streptokokken, 6% der L-Streptokokken, 0% der N-Streptokokken und 35% der nicht eingruppierten Streptokokken CAMP-positiv reagierten. KUNTER (1988) ermittelte 13,95% CAMP-negative B-Streptokokken. 12% der nicht der Gruppe B angehörenden Streptokokken zeigten dagegen einen positiven CAMP-Test, wobei E-Streptokokken und serologisch nicht eingruppierbare Streptokokken mit 46,7% und 14,4% an vorderster Stelle standen.
STÖPPLER u. HARR (1977) äußern den Verdacht, dass der negative CAMP-Test bei S.agalactiae eine Folgeerscheinung von Antibiotikatherapien darstellen könnte, da CAMP-negative S.agalactiae-Stämme häufig aus Proben von Betrieben stammten, in denen wiederholt Sanierungsmaßnahmen durchgeführt worden waren.

Die Stämme von **Streptococcus uberis** besitzen kein einheitliches Gruppenantigen. KHAN et al. (2003) ermittelten knapp 50% serologisch nicht eingruppierbare S.uberis-Stämme, knapp ein Drittel gehörte zur Serogruppe E, die anderen Stämme teilten sich in die Serogruppen P, U, A, und G auf. HARDIE (1986 II) gibt eine ähnliche Verteilung von nicht gruppierbaren und zur Serogruppe E gehörenden S.uberis-Stämmen an bei vereinzeltem Vorkommen von S.uberis-Stämmen der Serogruppen C, D, P und U. Nach LÄMMLER u. HAHN (1994) wurde auch bereits von Reaktionen mit Serum der Gruppe B berichtet.
Bei α- oder γ-hämolysierenden Streptokokken der Serogruppe E handelt es sich um S.uberis-Stämme (HAHN et al. 1970).

[*1)] Angaben umgerechnet in Prozent

Zur Identifizierung dienen verschiedene Kriterien, die es erlauben, S.uberis von anderen Streptokokken zu unterscheiden. S.uberis-Stämme können α- oder γ-Hämolyse ausbilden, niemals jedoch β-Hämolyse. S.uberis bildet Säure aus Mannit und hydrolysiert Äskulin, Arginin und Natrium-Hippurat (HAHN et al. 1970; HOLT et al. 1994). Allerdings erwiesen sich in den Untersuchungen von KUNTER (1988) 8,6% der Streptokokken der serologischen Gruppe E als Äskulin-negativ. Über die Wachstumseigenschaften gibt es in der Literatur sehr unterschiedliche Angaben. Einige Autoren geben Wachstum bei 10°C (HOLT et al. 1994; LÄMMLER u. HAHN 1994), nicht jedoch bei 45°C oder bei Zugabe von 6,5% NaCl (HOLT et al. 1994) an. Nach BLOBEL (1977) dagegen findet Keimwachstum bei 45°C statt. In den Untersuchungen von GARVIE u. BRAMLEY (1979 II) konnte kein Wachstum bei 45°C sowie schwaches oder ebenfalls fehlendes Wachstum bei 10°C beobachtet werden.
Eine Abgrenzung von S.uberis gegenüber S.parauberis gelingt über den Nachweis der β-D-Glucuronidase, die von S.uberis, nicht aber von S.parauberis, produziert wird (KHAN et al. 2003).

Streptococcus dysgalactiae (ursprüngliche „Spezies“ S.dysgalactiae, siehe 2.2.2.1) besitzt das Gruppenantigen der Serogruppe C.
S.dysgalactiae zeigt auf Blutagar meist eine vergrünende α-Hämolyse. Seltener fehlt die Hämolyse ganz (HAHN et al. 1970; LÄMMLER u. HAHN 1994).
Weder Natrium-Hippurat noch Äskulin können durch S.dysgalactiae-Stämme hydrolysiert werden (LÄMMLER u. HAHN 1994; HOLT et al. 1994). Nach HOLT et al. (1994) zeigt S.dysgalactiae weder Wachstum bei 10°C, 45°C noch bei Zugabe von 6,5% NaCl. Der Keim kann aus Raffinose keine Säure bilden, reagiert negativ im Voges-Proskauer-Test, ist aber zur Hydrolyse von Arginin befähigt.
Gemäß HOLT et al. (1994) lässt sich S.dysgalactiae durch diese Kriterien gegen die meisten Streptokokken abgrenzen. Die Oralstreptokokken S.milleri, S.oralis und S.sanguis können anhand der Biochemie nicht sicher ausgeschlossen werden. Diese Keime werden aber hauptsächlich von der menschlichen Mundschleimhaut isoliert.

Streptococcus dysgalactiae Biotyp „equisimilis“ gehört ebenfalls der Serogruppe C an. Der Keim zeigt auf Blutagar β-Hämolyse, spaltet Trehalose, aber kein Sorbit. Anhand dieser Kriterien kann man S.dysgalactiae Biotyp „equisimilis“ gut identifizieren (LÄMMLER u. HAHN 1994; HOLT et al. 1994; HAHN et al. 1970).

Streptococcus canis besitzt wie S.dysgalactiae Serovar G das Gruppenantigen der Serogruppe G (LÄMMLER u. HAHN 1994). Auf Hammelblutplatten zeigt der Erreger typischerweise eine ausgedehnte β-Hämolyse (LÄMMLER u. HAHN 1994; HAMILTON u. STARK 1970; EBERHART u. GUSS 1970). Sie dient zusammen mit dem Nachweis der Serogruppe G der Identifizierung von S.canis. WATTS et al. (1984) berichten allerdings von einem Mastitisausbruch, bei dem die nachgewiesenen G-Streptokokken nur sehr schwache Hämolyse zeigten. MARX (1985) stellte sogar 26,2% α-hämolysierende Stämme fest.
Eine Abgrenzung zu dem ebenfalls deutlich β-hämolysierenden S.dysgalactiae Serovar G kann über den Nachweis der β-Glucuronidaseaktivität von S.canis erfolgen, welche bei S.dysgalactiae Serovar G fehlt (LÄMMLER u. HAHN 1994).

S.equi ssp. zooepidemicus besitzt ebenso wie S.equi ssp. equi das Gruppenantigen der Serogruppe C. Der Keim spaltet Trehalose, nicht aber Sorbit und zeigt auf Blutagar β-Hämolyse. Anhand dieser Kriterien lässt sich S.equi ssp. zooepidemicus von anderen Streptokokken unterscheiden. S.equi ssp. equi spaltet weder Trehalose noch Sorbit (HAHN et al. 1970; LÄMMLER u. HAHN 1994).

2.3.1.1.4 Eigenschaften von Enterokokken

Die meisten Bakterien des Genus Enterococcus lassen sich der Serogruppe D zuordnen. Auf Blutagar kann sowohl α-, β- als auch γ-Hämolyse auftreten (LÄMMLER u. HAHN 1994).
Zur Abgrenzung gegen Streptokokken ist der Wachstumsnachweis bei 10°C und 45°C sowie bei Zusatz von 6,5% NaCl oder 40% Galle geeignet (SELBITZ 2002; HEJLIČEK 1994 I).
Die Wachstumskriterien sind nicht für den Nachweis aller Enterokokken-Stämme geeignet, gelten aber für Ec.faecalis, Ec.faecium und Ec.durans (LÄMMLER u. HAHN 1994). Damit kann man diese Enterokokken gemäß HOLT et al. (1994) und LÄMMLR u. HAHN (1994) gegen die meisten Streptokokken sicher abgrenzen. S.adjacens, S.defectivus und S.alactolyticus lassen sich anhand dieser Kriterien zwar nicht ausschließen, sind aber unter Beachtung ihrer natürlichen Habitate ausgesprochen unwahrscheinlich.

2.3.1.1.5 Eigenschaften von Lactococcus

Die Zellen des Genus Lactococcus können einzeln, in Paaren oder Ketten vorliegen und gelegentlich auch Stäbchenform aufweisen. Die Keime sind Katalase-negativ und fakultativ anaerob. Häufig sind Laktokokken anhämolytisch, können auf Blut aber auch schwache α-Hämolyse hervorrufen. Wachstum findet bei 10°C, nicht aber bei 45°C statt. Die meisten Laktokokken gehören zur Lancefield-Gruppe N (LÄMMLER u. HAHN 1994).

2.3.1.2 Genus Staphylococcus

2.3.1.2.1 Allgemeine Eigenschaften von Staphylokokken

Die Zellen der zum Genus Staphylococcus gehörenden Bakterien haben einen Durchmesser von 0,5-1,5 µm und erscheinen unter dem Mikroskop einzeln, in Paaren, Tetraden oder unregelmäßigen Haufen. Die Keime sind fakultativ anaerob, unbeweglich und normalerweise Katalase-positiv. Staphylokokken sind empfindlich gegenüber Lysostaphin und resistent gegen Lysozym. Der Oxidase-Test fällt bei den meisten Spezies negativ aus, nur St.caseolyticus, St.sciuri und St.lentus reagieren positiv. Viele Spezies bilden carotinoide Pigmente (KLOOS u. SCHLEIFER 1986).

2.3.1.2.2 Differenzierung von Staphylokokken

Der Nachweis von **Koagulase** ist ein wichtiges Differenzierungskriterium bei Staphylokokken (BLOBEL et al. 1994). Es handelt sich um ein Enzym, welches native Eiweißlösungen wie Plasma zur Gerinnung bringt (KOLB u. FRITSCH 1991). St.aureus, St.aureus ssp. anaerobius, St.delphini, St.intermedius und St.schleiferi ssp. coagulans sind Koagulase-positiv, St.hyicus ist Koagulase-variabel. 26 Staphylokokken-Arten besitzen keine Koagulase-Aktivität, wobei viele dieser Arten als bedeutungslos für die Veterinärmedizin gelten (BLOBEL et al. 1994).
ROBERSON et al. (1996) warnen vor der in vielen Milchlaboren angewandten Praxis, aus einer Plasmakoagulation innerhalb von vier Stunden auf St.aureus zu schließen, da auch 87%

der St.hyicus- und St.intermedius-Stämme in den Untersuchungen dieser Autoren dieses Merkmal aufwiesen.

Der „**Clumping Faktor“ (CF)** ist zellwandgebunden und reagiert direkt mit Fibrinogen. Dies führt zu einer unmittelbaren Verklumpung von Staphylokokken im Plasma.
St.aureus und mit Einschränkungen St.intermedius, St.hyicus, St.lugdunensis und St.schleiferi weisen den CF auf. Doch auch CF-negative St.aureus-Stämme kommen vor (BLOBEL et al. 1994). FESTL u. WALSER (1990) konnten bei CF-negativen Keimen in Milchproben einen Anteil von 2,4% St.aureus und 4,1% St.intermedius feststellen. Bei den isolierten CF-negativen St.aureus-Stämmen handelte es sich allerdings ausschließlich um ohnehin untypische Stämme. Typische α- und β-Hämolysin-bildene Stämme (siehe unten) wurden in die Untersuchungen nicht mit einbezogen.
Tabelle 2.4 gibt einen Überblick über die häufig aus Milchproben isolierten CF-negativen Staphylokokken-Spezies.

Die meisten pathogenen Staphylokken bilden Hämolysine (BLOBEL 1977; BLOBEL et al. 1994). Hämolysine sind Exotoxine, die häufig neben der Hämolyse auch die Schädigung anderer Zelltypen und des ganzen Organismus bewirken können. Die wichtigsten Hämolysine von Staphylokokken sind das α-, β-, γ- und δ-Hämolysin (BLOBEL et al. 1994). Der Nachweis der verschiedenen Hämolysintypen ist eine mögliche Methode zur Unterscheidung von Standortvarietäten von Staphylokokken. Kennzeichen der verschiedenen Hämolysine ist ihre jeweils unterschiedliche Wirkung auf die Erythrozyten bestimmter Spezies (SELBITZ 2002). Eine vollständige Hämolyse auf Kaninchenblutplatten ist typisch für das α–Hämolysin. Für den Nachweis von β–Hämolysin sind Schaf-, Rinder- und Ziegenerythrozyten geeignet. Auf Blutplatten kommt es nach 18h bei 37°C zu einer unvollständigen Hämolyse, nach anschließender Lagerung bei 4°C entsteht eine vollständige Hämolyse. Daher wird das β–Hämolysin auch als „hot-cold“-Hämolysin bezeichnet (BLOBEL et al. 1994).
Die **Hämolyse** gilt als Diagnosekriterium für St.aureus und St.intermedius. Da sie allerdings variabel auftreten und teils auch bei St.epidermidis, St.haemolyticus, St.simulans und St.warneri beobachtet werden kann, erlaubt dieses Merkmal, allein angewandt, keine sichere Aussage über die Spezies (BLOBEL et al. 1994). Gemäß KLOOS u. SCHLEIFER (1986) bilden fast alle St.aureus-Stämme Hämolysine, St.hyicus dagegen nicht. Bei St.intermedius können sowohl hämolysierende als auch anhämolysierende Stämme auftreten.

MARTIN u. BERGMANN (1993) isolierten bei ihren Untersuchungen von Milchproben ausschließlich hämolysierende St.aureus-Stämme.

Eine Vielzahl von Staphylokokken ist in der Lage, Nukleasen zu bilden. Hitzestabile **Thermonukleasen** (TNasen), die minutenlanges Kochen überstehen können, werden dagegen hauptsächlich von allen typischen St.aureus-, St.intermedius, St.hyicus- (BLOBEL et al. 1994) sowie den meisten St.schleiferi-Stämmen gebildet (KLOOS u. BANNERMAN 1999). Der Nachweis von Thermonukleasen eignet sich daher gut zur Abgrenzung gegen andere Staphylokokken-Arten. Möglicherweise können aber auch bestimmte KNS-Stämme hitzestabile Nukleasen ausbilden (BLOBEL et al. 1994). Bei einigen St.epidermidis-, St.simulans- und St.carnosus-Stämmen ist eine schwache TNase-Aktivität nachgewiesen worden (KLOOS u. BANNERMAN 1999).

Das Vorhandensein von **DNAse** ist typisch für St.aureus, St.intermedius, St.hyicus sowie St.caprae, kann aber auch meist weniger stark ausgeprägt bei zahlreichen anderen Staphylokokken nachgewiesen werden (KLOOS u. SCHLEIFER 1986).

Gemäß DEVRIESE u. HAJEK (1980) können St.aureus-Kolonien als einzige unter den KPS eine **Pigmentierung** aufweisen. Dabei treten Variationen von Grau, Grauweiß, Gelblich, Gelborange bis hin zu Orange auf (BLOBEL et al. 1994).

Auch die **Acetoinbildung**, die in der Voges-Proskauer-Reaktion überprüft werden kann, dient der Differenzierung von KPS. St.aureus ist zur Acetoinbildung befähigt, St.hyicus und St.intermedius dagegen nicht (BLOBEL et al. 1994; KLOOS u. SCHLEIFER 1986).

Humane Stämme von St. aureus zeigen häufig von den bovinen Stämmen abweichende Eigenschaften bezüglich Hämolyse, Plasmakoagulation und Lysotypie (THAWLEY et al. 1977).

2.3.1.3 Weitere grampositive Kokken

Die Kolonien der Bakterien des Genus **Micrococcus** sowie der neuen Genera **Kytococcus**, **Nesterenkonia**, **Dermacoccus** und **Kocuria** (siehe 2.2.2.1) sind unpigmentiert, cremeweiß,

gelb, orange oder rot. Die Kokken haben einen Durchmesser von 0,5-2,5 µm und treten einzeln, in Paaren, Tetraden oder Haufen auf (KOCUR 1986 I; STACKEBRANDT et al. 1995). Der Katalase-Test ist positiv und das Wachstum mit Ausnahme der Spezies Kocuria kristinae, welche auch anaerob leichtes Wachstum zeigt, strikt aerob. Je nach Spezies fallen der Oxidase-Test sowie die Überprüfung der Lysozym-Empfindlichkeit positiv oder negativ aus (STACKEBRANDT et al. 1995). Alle Vertreter sind resistent gegenüber Lysostaphin (KLESIUS u. SCHUHARDT 1968; SCHLEIFER u. KLOOS 1975) und unbeweglich (KOCUR 1986 I).

Bakterien des Genus **Stomatococcus** sind meist in Haufen gelagert, seltener in Paaren oder Tetraden angeordnet. Der Durchmesser der Zellen beträgt 0,9-1,3 µm. Stomatokokken sind unbeweglich und fakultativ anaerob. Aus Glukose kann Säure, aber kein Gas, gebildet werden. Die Katalase-Reaktion kann sowohl schwach positiv als auch negativ ausfallen. Die Kolonien sind schleimig, transparent oder weißlich und haften stark an der Agaroberfläche, was eine gute Abgrenzung von den Staphylokokken ermöglicht. Die einzige beschriebene Spezies, Stomatococcus mucilaginosus, ist Oxidase-negativ und resistent gegenüber Lysozym und Lysostaphin (BERGAN u. KOCUR 1986).

Vertreter des Genus **Planococcus** treten meist einzeln, in Paaren oder Triaden, gelegentlich auch in Tetraden auf. Der Zelldurchmesser beträgt 1,0-1,2 µm. Planokokken sind aerob, beweglich, grampositiv oder gramvariabel, Katalase-positiv und Oxidase-negativ (KOCUR 1986 II).

Die Bakterien des Genus **Macrococcus** haben einen Zelldurchmesser von ≥ 2 µm (KLOOS et al. 1998). Makrokokken sind unbeweglich, fakultativ anaerob, empfindlich gegen Lysostaphin und sowohl Oxidase- als auch Katalase-positiv (KLOOS u. BANNERMAN 1999).

Vertreter des Genus **Deinococcus** haben einen Durchmesser von 0,5-3,5 µm und erscheinen unter dem Mikroskop daher im Vergleich mit anderen Kokken ausgesprochen groß. Deinokokken sind in Paaren oder Tetraden angeordnet, unbeweglich, Katalase-positiv und aerob. Die Kolonien sind normalerweise pink oder rot. Charakteristisch ist die Resistenz dieser Erreger gegenüber γ- und UV-Strahlung (MURRAY u. BROOKS 1986).

Bakterien des Genus **Leuconostoc** sind rund oder linsenförmig und treten in Paaren oder Ketten auf. Die Keime sind unbeweglich, Katalase-negativ und fakultativ anaerob. Aus Glukose wird CO_2 gebildet. Die Kolonien sind kleiner als 1 mm im Durchmesser, Wachstum findet bei 5°C bis 30°C statt (GARVIE 1986 I).

Die Vertreter des Genus **Pediococcus** haben einen Durchmesser von 0,6-1,0 µm und treten meist in Paaren oder Tetraden, selten einzeln oder in aus Paaren geformten kurzen Ketten auf. Die Keime sind unbeweglich, fakultativ anaerob und Katalase-negativ, können allerdings Pseudokatalase-Aktivität aufweisen. Säure, aber kein Gas, wird aus Glukose gebildet. Da Pediokokken relativ hohe und spezielle Ansprüche an die Wachstumsbedingungen stellen, kann unter Umständen nur schwaches Wachstum beobachtet werden (GARVIE 1986 II).

Die Bakterienzellen des Genus **Aerococcus** können einzeln, in Paaren, Tetraden oder großen Haufen angeordnet sein. In geeigneten Flüssignährmedien treten hauptsächlich Tetraden auf. Die Zellen haben einen Durchmesser von 1,0-2,0 µm. Die Keime sind unbeweglich, mikroaerophil, anaerobes Wachstum ist meist nicht zu beobachten. Aus Glukose wird Säure gebildet, aber kein Gas. Generell zeigen die Keime nur sehr spärliches Wachstum. Auf Blutagar tritt Vergrünung auf. Katalase wird nicht produziert, eine mögliche schwach positive Katalase-Reaktion wird durch eine Pseudokatalase verursacht (EVANS 1986).

Vertreter des Genus **Gemella** treten meist einzeln oder in Paaren, manchmal auch in kurzen Ketten auf. Das Gram-Verhalten ist nicht eindeutig, Ausstriche enthalten grampositive, -negative und -variable Bakterienzellen, die Struktur der Zellwand entspricht aber dem gram-positiven Typ. Die Bakterien sind unbeweglich, Katalase-negativ und Oxidase-negativ. Gemella ist fakultativ anaerob, wächst anaerob aber nur schwach. Generell sind die Kolonien klein und unpigmentiert (REYN 1986).

Das Genus **Sarcina** wird zwar den strikt anaeroben, grampositiven Kokken zugerechnet (SCHLEIFER 1986), seine Vertreter sind jedoch relativ aerotolerant. Die Zellen haben einen Durchmesser von 1,8-3 µm und treten meist in Paketen von acht und mehr, selten einzeln oder in kleineren Paketen auf. Einige Spezies können Endosporen bilden. Sarcinien sind unbeweglich, Katalase-negativ und haben einen ausschließlich fermentativen Metabolismus. Aus Glukose kann sowohl Gas als auch Säure gebildet werden. Die Kolonien sind unpigmentiert (CANALE-PAROLA 1986).

2.3.2 Nichtsporenbildende, regelmäßige, grampositive Stäbchen

Die Bakterienzellen des Genus **Lactobacillus** sind meist lange Stäbchen, können aber auch kokkoide Form aufweisen. Gewöhnlich liegen die Keime in kurzen Ketten vor und haben eine Größe von 0,5-1,2 x 1,0-10,0 µm. Die Kolonien sind meist 2-5 mm groß und unpigmentiert. Laktobazillen sind fakultativ anaerob, das Wachstum wird durch 5% CO_2 stimuliert (HOLT et al. 1994). Das Temperaturoptimum der Laktobazillen liegt bei 30-40°C, Wachstum findet zwischen 2°C und 53°C statt. Der Metabolismus ist fermentativ, aus Glukose wird hauptsächlich Säure gebildet. Die Keime sind Oxidase-negativ, Gelatine wird nicht verflüssigt, Nitrat nicht reduziert, Indol und H_2S nicht produziert. Meist sind Laktobazillen unbeweglich und Katalase-negativ, jedoch können einige Stämme eine Pseudokatalase bilden und eine schwach-positive Katalase-Reaktion aufweisen. Selten ist Motilität zu beobachten (KANDLER u. WEISS 1986).

Vertreter des Genus **Listeria** haben eine Größe von 0,4-0,5 x 0,5-2,0 µm und sind kurze Stäbchen mit abgerundeten Enden. Listerien treten einzeln oder in kurzen Ketten auf und können in älteren Kolonien lange Filamente bilden. Die Kolonien haben auf Nähragar einen Durchmesser von 0,5-1,5mm, sind blau-grau und scheinen bei schrägem Lichteinfall in charakteristischer Weise blau-grün. Listerien sind fakultativ anaerob. Das Tempteraturoptimum liegt bei 30-37°C, Wachstum findet bei 1-45°C statt. Der Metabolismus von Glukose ist fermentativ, Säure wird gebildet. Die Keime sind Katalase-, Methylrot- und Voges-Proskauer-positiv, Äskulin und Na-Hippurat werden hydrolysiert. Die Oxidase-Reaktion fällt negativ aus, Indol wird nicht produziert und Gelantine nicht hydrolysiert. Bei 20-25°C sind Listerien beweglich, nicht aber bei 37°C (SEELIGER u. JONES 1986).

Die Bakterienzellen von **Erysipelothrix** sind schlanke Stäbchen mit einer Größe von 0,2-0,4 x 0,8-2,5 µm und abgerundeten Enden. Die Keime treten einzeln, in kurzen Ketten, in Paaren eine V-Form bildend oder in Gruppen auf. Häufig findet man auch lange Filamente vor. Die Kolonien sind sehr klein und unpigmentiert und können auf Blutagar eine unvollständige, niemals jedoch eine vollständige Hämolyse ausbilden. Erysipelothrix ist fakultativ anaerob, das Temperaturoptimum liegt bei 30-37°C, Wachstum ist bei 5-42°C zu beobachten. Die fermentative Aktivität von Vertretern dieses Genus ist schwach und sie bilden Säure aus Glukose. Die Keime sind Oxidase- und Katalase-negativ und unbeweglich. Erysipelothrix rhusiopathiae ist Voges-Proskauer-negativ, Indol wird nicht produziert, Nitrat nicht reduziert.

Weder Harnstoff, Na-Hippurat noch Äskulin werden hydrolysiert und Gelantine wird nicht verflüssigt. Typisch ist die Ausbildung einer „Gläserbürste“ bei 22°C im stichbeimpften Gelantineröhrchen. Die meisten Stämme produzieren H_2S (JONES 1986).

Die Bakterienzellen von **Brochothrix** sind Stäbchen mit einer Größe von 0,6-0,75 x 1-2 µm. Sie treten einzeln, in kurzen Ketten oder in filament-ähnlichen, zu knotigen Massen zusammengefalteten, langen Ketten auf. In älteren Kulturen findet man kokkoide Zellen. Brochothrix ist grampositiv, doch einige Zellen haben die Fähigkeit verloren, die Gramfärbung zu halten. Die Kolonien sind unpigmentiert, Hämolyse tritt nicht auf. Das Temperaturoptimum liegt bei 20-25°C, Wachstum tritt meist nur zwischen 0°C und 30°C auf, selten aber auch noch bei 37°C. Brochothrix ist fakultativ anaerob, der Metabolismus ist fermentativ und aus Glukose wird Säure gebildet. Die Bakterienzellen sind unbeweglich, Katalase-, Methylrot- und Voges-Proskauer-positiv (SNEATH u. JONES 1986). H_2S wird nicht produziert (BARROW u. FELTHAM 1993).

Die Zellen des Genus **Renibacterium** sind kurze Stäbchen mit einer Größe von 0,3-1,0 x 1,0-1,5 µm. Häufig tritt Renibacterium in Paaren auf, manchmal auch in kurzen Ketten. Die Keime sind aerob und haben ein Temperaturoptimum von 15-18°C, bei 37°C tritt kein Wachstum mehr auf. Renibakterien sind Katalase-positiv und unbeweglich. Aus Glukose wird keine Säure hergestellt (SANDERS u. FRYER 1986). Die Bakterien wachsen sehr langsam und sind Oxidase-negativ (SELBITZ 2002).

Die Bakterienzellen von **Kurthia** sind in jungen Kolonien (12-24h) Stäbchen mit abgerundeten Enden, die eine Größe von 0,8-1,2 x 2-4 µm aufweisen. Die Stäbchen erscheinen in oftmals parallelen Ketten. Auch Filamente können auftreten. In 3-7 Tage alten Kulturen findet man kokkoide Zellen und kurze Stäbchen. Abhängig von der Spezies kann Wachstum zwischen 5°C und 45°C beobachtet werden. Die optimale Temperatur liegt bei 25-30°C. Kurthia ist strikt aerob mit ausschließlich respiratorischem Metabolismus. Auf peptonhaltigen Medien wird keine Säure gebildet. Kurthia ist Katalase-positiv, Oxidase-negativ und meist beweglich. Nitrat wird nicht reduziert und Gelantine nicht hydrolysiert (KEDDIE u. SHAW 1986). Die Voges-Proskauer-Reaktion ist negativ (BARROW u. FELTHAM 1993). Nach Wachstum auf Hefenähragar wird unter geringer Vergrößerung bei Betrachtung der Kolonieränder eine typische „Medusenhaupt-Form“ erkennbar. Ein wichtiges

Diagnosekriterium für Kurthia ist zudem das „Vogelfeder-Wachstum“ auf Hefe-Nährstoff-Gelantine (KEDDIE u. SHAW 1986).

Die Zellen von **Caryophanon** sind multizelluläre Stäbchen mit einer Größe von 1,5-3,0 x 10-20 µm und abgerundeten oder spitz zulaufenden Enden. Die Keime sind strikt aerob und beweglich. Caryophanon ist Katalase-positiv und Oxidase-negativ. Indol wird nicht produziert, Gelantine nicht hydrolysiert (TRENTINI 1986). Aus Glukose wird keine Säure gebildet. Die optimale Wachstumstemperatur beträgt 25-30°C (HOLT et al. 1994).

Die Bakterienzellen von **Carnobacterium** sind lange, schlanke Stäbchen, die eine Größe von 0,5-0,7 x 1,0-2,0 µm aufweisen. Häufig treten sie einzeln oder in Paaren, seltener in Form kurzer Ketten auf. Das Temperaturoptimum liegt bei 30°C. Carnobacterium wächst bei 10°C, aber nicht bei 45°C. Die Bakterien sind fakultativ anaerob und Katalase-negativ. Nitrat kann nicht reduziert werden. Aus Glukose wird Säure gebildet (HOLT et al. 1994).

2.3.3 Nichtsporenbildende, unregelmäßige, grampositive Stäbchen

Hierbei handelt es sich um eine Gruppe sehr verschiedenartiger Bakterien, die hauptsächlich praktische Bedeutung hat (JONES u. COLLINS 1986). Kennzeichnend für unregelmäßige Stäbchen ist dabei, dass die Längskanten gekrümmt und nicht parallel verlaufen (FUNKE 1999).

2.3.3.1 Arcanobacterium pyogenes

A.pyogenes ist ein pleomorph geformtes, kokkoides oder kurzes Stäbchenbakterium (LÄMMLER u. HARTWIGK 1995). Die Vertreter dieser Spezies treten einzeln, in Paaren, Haufen oder kurzen Ketten auf und sind unbeweglich. Ihre Größe ist sehr variabel und beträgt 0,2-0,9 x 0,3-2,5 µm. Nach 48-72h Inkubation sind die Kolonien 0,5-1,5 mm im Durchmesser, unpigmentiert und zeigen Hämolyse. Das Temperaturoptimum liegt bei 37°C, Wachstum tritt bei 20-40°C auf. A.pyogenes ist fakultativ anaerob. Die meisten Stämme sind Katalase-negativ. Alle Stämme verflüssigen Gelantine (RAMOS et al. 1997). Die Oxidase-Reaktion fällt negativ aus (LÄMMLER u. HARTWIGK 1995). In der Routinediagnostik wird

zum Nachweis von A.pyogenes neben der Katalasereaktion die Rötung, Gerinnung und Peptonisierung von Lackmusmilch sowie die Verflüssigung von Loeffler-Serum genutzt (SELBITZ 2002; ZSCHÖCK u. FEHLINGS 2000).

2.3.3.2 Genus Corynebacterium

Corynebakterien sind kurze bis mittellange Stäbchen, die oft leicht gekrümmt und an den Enden keulenförmig verdickt sind. Bedingt durch ihre „snapping division“ zeigen Corynebakterien oft eine charakteristische „chinese letters“-Anordnung.
C.bovis ist 0,5-0,7 x 2,5 µm groß. Beim Nachweis in der Milch bilden sich nach 48h Inkubation auf gewöhnlichem Nähragar bis stecknadelkopfgroße Kolonien, die nach weiterer Bebrütung eine raue Oberfläche, einen zerklüfteten Rand und eine Vertiefung des Zentrums zeigen. Auf Blutagar tritt keine Hämolyse auf. Die Katalase-Reaktion fällt positiv aus (HELLMANN et al. 1995). Das Wachstum von C.bovis ist abhängig von Serum, Tween 80, Tween 20 oder Eigelb (HARRIGAN 1966) beziehungsweise Tween 80 und bei einigen Stämmen zusätzlich Nikotinsäure (SKERMAN a. JAYNE-WILLIAMS 1966). Daher können auch die biochemischen Charakteristika dieser Spezies nur in derartig angereicherten Medien überprüft werden (HARRIGAN 1966).
Die Kolonien von C.ulcerans sind nach 48h Inkubation 5mm groß, rund, opak und weißlich. Hämolyse kann auftreten, die Katalase-Reaktion ist positiv (ZSCHÖCK u. FEHLINGS 2000). Gemäß SKERMAN a. JAYNE-WILLIAMS (1966) benötigt C.ulcerans für das Keimwachstum Nikotinsäure, Pantothenat, Biotin und Stickstoff aus Aminosäuren.

2.3.3.3 Genus Nocardia

Nocardien liegen in verzweigten Filamenten mit einem Durchmesser von 0,5-1,2 µm und einer Länge bis zu 250 µm vor. Diese zerfallen in stäbchenförmige und kokkoide Elemente. Sie wachsen ausschließlich aerob und stellen sich auf Blutagar als kleine, trockene Kolonien, die fest dem Agar anhaften, dar. Die Kolonieoberfläche ist gefaltet. Häufig kann man mehlartiges Luftmycel sehen (SELBITZ 2002). Die Konsistenz der Kolonien ist krümelig bis sandähnlich und sie zeigen keine Hämolyse (WENDT 1994 III). Die Kolonien können weiß, grau, rot, braun, orange oder gelb sein. Nocardien wachsen bei Temperaturen zwischen 15°C

und 37°C und sind Katalase-positiv (GOODFELLOW u. LECHEVALIER 1986). Sie sind partiell säure-, aber nicht alkoholfest. Die modifizierte Ziehl-Neelson-Färbung dient der Diagnostik. 30 Minuten bei 70°C können sie überleben (WENDT 1994 III).

2.3.4 Sporenbildner

Sporenbildner sind grampositive Stäbchen mit der Fähigkeit zur Ausbildung von Endosporen. Diese sind gegen Hitze, Austrocknung und chemische Einflüsse sehr resistent. Da Sporen mikroskopisch darstellbar sind, kann man sie zu diagnostischen Zwecken heranziehen. Bei Clostridien ist die Sporenbildung an strikt anaerobe Bedingungen gekoppelt, bei Vertretern des Genus Bacillus findet Sporenbidung unter aeroben Bedingungen statt (SELBITZ 2002). Die vegetativen Formen von Bacillus sind 0,5-2,5 x 1,2-10 µm groß und liegen einzeln oder in Ketten vor. Die Kolonieform ist ausgesprochen variabel. Sie wachsen aerob bzw. fakultativ anaerob und sind Katalase-positiv (SELBITZ 1995).

2.3.5 Gramnegative Stäbchen

Pseudomonas gehört zu den aerob wachsenden gramnegativen Stäbchen, die Vertreter wachsen aber selten auch anaerob. Die Zellen haben eine Größe von 0,5-1,0 x 1,5-5 µm und sind meist beweglich. Die Kolonien können pigmentiert oder unpigmentiert sein. Wachstum tritt zwischen 4°C und 43°C auf (PALLERONI 1984 I; PALLERONI 1984 II). Gemäß PALLERONI (1984 II) liegt das Wachstumsoptimum der meisten Spezies bei 28°C, nach KISKA u. GILLIGAN (1999) dagegen bei 30-37°C. Pseudomonaden haben einen rein respiratorischen Metabolismus (PALLERONI 1984 I), die meisten Spezies können Glukose umsetzen (KISKA u. GILLIGAN 1999). Die Oxidase-Reaktion fällt bei klinischen Isolaten mit Ausnahme von Pseudomonas luteola und Pseudomonas oryzihabitans positiv aus (KISKA u. GILLIGAN 1999), die Katalase-Reaktion ist bei allen Spezies positiv (PALLERONI 1984 I).

Bei den Zellen des Genus **Moraxella** handelt es sich um Kokken oder oft sehr kurze, plumpe Stäbchen. Die Kokken liegen einzeln, in Paaren oder seltener in Tetraden vor und haben einen Durchmesser von 0,6-1,0 µm. Die Stäbchen weisen eine Größe von 1,0-1,5 x 1,5-2,5 µm auf

und liegen meist in Paaren oder kurzen Ketten. Die Zellen sind gramnegativ, es besteht allerdings eine Tendenz zur mangelhaften Entfärbung. Moraxellen sind aerob, aber einige Stämme zeigen schwaches Wachstum unter anaeroben Bedingungen. Die Kolonien sind unpigmentiert. Das Wachstumsoptimum liegt bei 33-35°C. Vertreter des Genus Moraxella sind Oxidase-positiv, meist Katalase-positiv, bilden keine Säure aus Glukose, sind gewöhnlich sehr sensibel gegenüber Penicillin (BØVRE 1984 I; BØVRE 1984 II) und unbeweglich (SCHRECKENBERGER u. VON GRAEVENITZ 1999).

Die Zellen von **Acinetobacter** sind Stäbchen mit einer Größe von 0,9-1,6 x 1,5-2,5 µm, die in Paaren oder Ketten vorliegen. Acinetobacter wächst aerob bei einem Temperaturoptimum von 33-35°C. Die Kolonien sind unpigmentiert. Viele Stämme können glukosehaltige Nährmedien säuern, der Metabolismus ist streng respiratorisch. Acinetobacter ist Oxidase-negativ, Katalase-negativ, resistent gegenüber Penicillin (JUNI 1984) und unbeweglich (SCHRECKENBERGER u. VON GRAEVENITZ 1999).

Bei **Flavobacterium** handelt es sich um ein unbewegliches Stäbchenbakterium mit einer Größe von 0,5 x 1,0-3,0 µm. Flavobacterium wächst aerob und weist einen strikt respiratorischen Metabolismus auf. Isolate aus der Umwelt wachsen bei 5-30°C, die meisten klinischen Isolate auch bei 37°C. Auf einfachen Nährmedien stellen sich die im Durchmesser 1-2mm großen Kolonien meist gelb bis orange pigmentiert, selten unpigmentiert dar. In Nährmedien mit geringer Peptonkonzentration wird Säure aus Glukose produziert. Die meisten Stämme säuern Glukose-O-F-Medium oxidativ (HOLMES et al. 1984). Oxidase- und Katalase-Reaktion fallen positiv aus, Nitrat wird nicht reduziert (HOLMES et al. 1984).

Die Zellen des Genus **Alcaligenes** sind meist einzeln liegende, bewegliche Kokken, kokkoide Stäbchen oder Stäbchen mit einer Größe von 0,5-1,0 x 0,5-2,6 µm. Alcaligenes wächst obligat aerob und weist einen strikt respiratorischen Metabolismus auf. Das Wachstumsoptimum liegt bei 20-37°C. Die Kolonien sind unpigmentiert. Die Bakterien sind Oxidase-positiv, Katalase-positiv und produzieren kein Indol (KERSTERS a. DE LEY 1984). Gemäß KERSTERS a. DE LEY (1984) können manche Stämme aus Glukose Säure bilden. BARROW u. FELTHAM (1993) geben dagegen an, dass Alcaligenes keine Säure aus Zuckern bilden kann.

Die Zellen von **Brucella** sind unbewegliche Kokken oder kurze Stäbchen mit einer Größe von 0,5-0,7 x 0,6-1,5 µm, die meist einzeln, seltener in Paaren, kurzen Ketten oder kleinen

Gruppen liegen. Brucellen wachsen aerob und haben einen respiratorischen Metabolismus. In konventionellen, peptonhaltigen Medien bilden diese Erreger mit Ausnahme von Brucella neotomae aus Kohlenhydraten keine Säure. Wachstum tritt bei 20-40°C auf, das Wachstumsoptimum liegt bei 37°C. Allerdings benötigen viele Stämme vor allem bei Erstisolierung CO_2 zum Wachsen. Auf Blutagar wachsen Brucellen generell nur mäßig gut. Es tritt keine Hämolyse, manchmal aber eine grün-braune Verfärbung des Agars um die Kolonien auf. Brucella reduziert Nitrat zu Nitrit und ist Katalase-positiv. Die meisten Stämme sind zudem Oxidase-positiv und resistent gegenüber Penicillin. Indol wird nicht produziert, die Methylrot-Reaktion und der Voges-Proskauer-Test fallen negativ aus (CORBEL a. BRINLEY-MORGAN 1984)

Bei den Vertretern der Familie **Enterobacteriaceae** handelt es sich um bewegliche oder unbewegliche Stäbchen mit einer Größe von 0,3-1,0 x 1,0-6,0 µm. Enterobacteriaceae sind fakultativ anaerob und verfügen über einen respiratorischen und fermentativen Metabolismus, wobei Säure aus Glukose entsteht. Enterobacteriaceae sind Oxidase-negativ und mit Ausnahme von Shigella dysenteriae und Xenorhabdus nematophilus Katalase-positiv. Nitrat wird zu Nitrit reduziert, eine Ausnahme bilden hier einige Erwinia- und Yersinia-Stämme (BRENNER 1984).

Die Familie der **Vibrionaceae** umfasst die Genera Vibrio, Photobacterium, Aeromonas und Plesiomonas. Es handelt sich dabei um fakultativ anaerobe, zumeist bewegliche, gramnegative Stäbchen. Der Metabolismus ist sowohl respiratorisch als auch fermentativ, alle Genera metabolisieren Glukose. Die Oxidase-Reaktion fällt in der Regel positiv aus. Die meisten Spezies benötigen für ein optimales Wachstum 2-3% NaCl (BAUMANN a. SCHUBERT 1984).

Vertreter des Genus **Pasteurella** sind fakultativ anaerobe, unbewegliche Stäbchen mit einer Größe von 0,3-1,0 x 1,0-2,0 µm, die einzeln oder seltener in Paaren oder kurzen Ketten vorliegen. Pasteurellen färben sich häufig bipolar an (CARTER 1984), was zum Beispiel bei Färbung mit Methylenblau gut erkennbar ist (SELBITZ 2002). Der Metabolismus ist fermentativ, aus Glukose entsteht dabei Säure. Das Temperaturoptimum liegt bei 37°C, Wachstum findet bei 22-44°C statt. Pasteurellen sind Katalase-positiv und fast immer auch Oxidase-positiv. Zudem wird Nitrat zu Nitrit reduziert. Gelantine wird nicht verflüssigt, Methylrot- und Voges-Proskauer-Reaktion fallen negativ aus (CARTER 1984).

Bei den Bakterienzellen von **Haemophilus** handelt es sich um unbewegliche Stäbchen oder Kokkobazillen, die einen deutlichen Pleomorphismus zeigen. Ihre Breite beträgt weniger als 1 µm, manchmal liegen sie auch in Filamenten oder fadenförmig vor. Haemophilus ist fakultativ anaerob, Kohlenhydrate werden fermentativ zu Säure abgebaut. Das Temperaturoptimum beträgt 35-37°C (KILIAN a. BIBERSTEIN 1984). Für viele Spezies ist die Abhängigkeit von V- und/oder X-Faktor charakteristisch. Der V-Faktor kommt nicht in normalem Blutagar, sondern nur in Kochblutagar vor, da er erst bei Erhitzung auf 80°C freigesetzt wird. Der X-Faktor ist in Blutagar und Kochblutagar enthalten (SELBITZ 2002). Viele Spezies wachsen nicht oder nur schwach auf normalem Blutagar (CAMPOS 1999; SCHRECKENBERGER et al. 1999). Die Kolonien sind unpigmentiert oder leicht gelblich. Nitrat wird reduziert, das Ergebnis von Katalase- und Oxidase-Reaktion variiert zwischen den Stämmen (KILIAN a. BIBERSTEIN 1984).
Der taxonomische Status von Haemophilus somnus ist unklar, die Zugehörigkeit zum Genus Haemophilus fraglich. Es besteht keine Abhängigkeit von V- und X-Faktor. Unter atmosphärischer Luft tritt nur schwaches oder fehlendes Wachstum auf festen Nährböden auf (KILIAN a. BIBERSTEIN 1984).

Die kokkoiden bis stäbchenförmigen, 0,3-0,5 x 0,6-1,4 µm großen Zellen des Genus **Actinobacillus** weisen einen deutlichen Pleomorphismus auf und sind unbeweglich. Die Bakterien liegen einzeln oder in Paaren, selten in Ketten und können vor allem in glukosehaltigen Nährmedien auch eine Länge von bis zu 6 µm ausbilden. Die Zellen sind von kokkoiden Elementen durchsetzt, die oft an den Enden liegen und ihnen daher eine typische Morsecode-Form verleihen. Actinobacillus ist fakultativ anaerob. Der Metabolismus ist fermentativ, Säure entsteht aus Glukose. Das Temperaturoptimum liegt bei 37°C, Wachstum findet bei 20-42°C statt. Bei Erstisolation sind die Kolonien sehr klebrig und schwierig im Ganzen vom Agar zu lösen. Die Kolonien sind nicht pigmentiert, manchmal tritt Hämolyse auf. Nitrat wird zu Nitrit reduziert, die Oxidase-Reaktion fällt positiv aus, die Katalase-Reaktion variabel. Die Methylrot-Reaktion fällt negativ aus, Indol wird nicht produziert (PHILLIPS 1984).

Die Vertreter des Genus **Chromobacterium** sind bewegliche Stäbchen mit einer Größe von 0,6-0,9 x 1,5-3,5 µm, die einzeln, seltener in Paaren oder kurzen Ketten vorliegen. Typisch sind bipolare Färbung und Lipideinschlüsse in den Zellen. Chromobacterium ist fakultativ anaerob. Alle Spezies wachsen bei 25°C, Speziesunterschiede treten beim

Temperaturoptimum und bei der minimalen und maximalen Wachstumstemperatur auf. Chromobacterium violaceum hat sein Optimum bei 30-35°C, sein Minimum bei 10-15°C und sein Maximum bei 40-44°C. Auf einfachen Nährmedien bilden sich bei den meisten Chromobacterium-Stämmen violette Kolonien aus, wobei jedoch auch weiße Varianten auftreten können. Der Metabolismus ist in der Regel fermentativ. 20% der Stämme metabolisieren jedoch oxidativ. Chromobakterien sind Oxidase-positiv, jedoch bereitet das Ablesen des Tests aufgrund der Farbe häufig Schwierigkeiten. Die Katalase-Reaktion fällt variabel, die Voges-Proskauer-Reaktion negativ aus. Nitrat wird zu Nitrit reduziert (SNEATH 1984).

2.4 Rechtliche Grundlage

Lebensmittelunternehmer, die Rohmilch erzeugen, müssen sich an die Vorgaben in Anhang III, Abschnitt IX, Kapitel I der VO (EG) Nr. 853/2004 des europäischen Parlaments und des Rates vom 29.4.2004 halten.
Zum einen darf gemäß Absatz III.3 in Rohmilch die Keimzahl bei 30°C nicht höher als 100.000/ml, die Zahl der somatischen Zellen nicht höher als 400.000/ml Milch liegen.
Zum anderen darf die Rohmilch gemäß Absatz I.1 nur von Tieren stammen, die frei sind von auf den Menschen übertragbaren Infektionskrankheiten, nicht an Fieber oder sichtbaren Euterentzündungen leiden, sowie keine die Milch nachteilig beeinflussenden Euterwunden haben.

Bei der Schlachtung von Milchkühen kommen folgende Rechtsvorschriften zum Tragen: Gemäß Anhang I, Abschnitt II, Kapitel III, Absatz 4 der Verordnung (EG) Nr. 854/2004 des europäischen Parlaments und des Rates vom 29.4.2004 dürfen Tiere, die eine Krankheit oder einen Zustand aufweisen, der durch Kontakt oder Verzehr von Fleisch auf den Menschen oder andere Tiere übertragen werden kann, nicht für den menschlichen Verzehr geschlachtet werden. Gleiches gilt für Tiere, die klinische Anzeichen für eine systemische Erkrankung oder von Auszehrung aufweisen.
Anhang III, Abschnitt I, Kapitel IV, Absatz 7 der Verordnung (EG) Nr. 853/2004 schreibt vor, dass das Betäuben, Entbluten, Enthäuten, Ausschlachten (…) so vorgenommen werden muss, dass jede Kontamination des Fleisches vermieden wird. Der Schlachtkörper darf beim Entfernen des Euters nicht mit Milch oder Kolostrum verunreinigt werden.

Bei über sechs Wochen alten Rindern ist entsprechend Anhang I, Abschnitt IV, Kapitel I, Absatz B.11. der Verordnung (EG) Nr. 854/2004 nach der Schlachtung die Besichtigung und erforderlichenfalls das Durchtasten und Anschneiden von Euter und Lymphonodi supramammarii vorgeschrieben. Nur wenn das Euter zum Verzehr vorgesehen ist, müssen bei Kühen beide Euterhälften durch einen langen, tiefen Einschnitt bis in die Zisternen eröffnet und die Euterlymphknoten eingeschnitten werden.

3 Material und Methoden

3.1 Vorgehen, Datenerhebung und Probenentnahme im Herkunftsbetrieb

3.1.1 Allgemeines Vorgehen

Alle beprobten und untersuchten Tiere stammten von zwei Milchviehbetrieben in Mecklenburg-Vorpommern. Beide Betriebe ließen den Großteil ihrer Rinder in dem Schlachthof schlachten, in dem für dieses Projekt die Proben gezogen wurden.
Die Ermittlung der für die Untersuchung geeigneten Kühe erfolgte durch einen in diesen Betrieben tätigen Tierarzt. Nach Kenntnisnahme über zur Schlachtung vorgesehene Rinder sowie den voraussichtlichen Schlachttermin wurde anhand des Vorberichts der Milchkühe und einer kurzen Untersuchung über die Eignung zur Aufnahme in das Projekt entschieden. Über den zuständigen Viehhändler wurde die voraussichtliche Ankunftszeit am Schlachthof in Erfahrung gebracht. Zusammen mit den Ohrmarkennummern und einem kurzen Vorbericht wurde alles telefonisch weitergeleitet.

3.1.2 Daten der Herkunftsbetriebe

An die beteiligten Betriebe wurde ein Fragebogen zur Ermittlung folgender Daten ausgegeben:

→ Stallsystem (Laufstall, Liegeboxen, Einstreu, Weidegang Trockensteher)
→ Anzahl der melkenden Kühe
→ Leistungsdurchschnitt der Tiere 2005
→ Routine-Milchproben-Untersuchung: - Anzahl der bakteriologischen Untersuchungen pro Jahr (Untersuchung auf Mastitiserreger / Antibiogramme) - Zellzahl (Durchschnitt)
→ Melk-Management: - Melkzeiten - Melksystem

- Melkreihenfolge (Euterkranke, St.aureus-positive Tiere) - Vormelkbecher (Ja / Nein) - Eutertücher (Einmaltücher, Material…) - Zitzendippen (Ja / Nein) / Präparat - Zwischendesinfektion (Ja / Nein)
→ Trockenstellen: Wie? Wann?
→ Mastitis : - Neuerkrankungen im Bestand pro Monat - Mastitiskranke Kühe (%)
→ Abgänge: - Remontierungsrate 2004 - Remontierungsrate 2005 - Durchschnittsalter / Abgänge - Abgangsursache Mastitis (in % aller Abgänge pro Jahr)

Zusätzlich erfolgte ein Betriebsbesuch, um die Daten gegebenenfalls weiter zu ergänzen.

3.1.3 Untersuchung und Datenerhebung am Tier

In die Untersuchung mit aufgenommen wurden

- Rinder mit Euterentzündungen, unabhängig davon, ob es sich um akute, chronische oder subklinische Mastitiden handelte,
- Rinder mit erhöhter Milchzellzahl (im SCHALM-Test mindestens „+“, entsprechend 400000-1500000 Zellen pro ml Milch),
- Rinder mit Zitzenverletzungen,
- Vergleichstiere mit physiologischem Euterbefund, die jedoch keine Hinweise auf Infektionen in anderen Köperteilen aufweisen durften; geeignet waren daher hauptsächlich Rinder, die wegen Zuchtuntauglichkeit aus dem Betrieb ausschieden.

Um die Eignung für die Versuchsreihe festzustellen, wurde zunächst der Euterstatus des zur Schlachtung angemeldeten Rindes erhoben. Dafür wurde jedes Euterviertel einer Adspektion unterzogen, durchpalpiert, die Qualität des Eutersekrets makroskopisch beurteilt und ein SCHALM-Test durchgeführt.

War dabei bei mindestens einem Euterviertel

- Flocken oder Abweichungen vom Milchcharakter beim Eutersekret,
- eines der Entzündungszeichen Schmerz, Rötung, Schwellung oder vermehrte Wärme,
- deutlich verhärtetes Drüsengewebe,
- verstärkte Schlierenbildung oder gallertartige Masse im SCHALM-Test oder
- eine Zitzenverletzung

feststellbar, wurde von jedem Euterviertel eine Milchprobe gemäß der DVG-Leitlinien zur Entnahme von Milchproben unter antiseptischen Bedingungen (2000) für die mikrobiologische Untersuchung entnommen. Anschließend erfolgte eine adspektorische Untersuchung der Kuh auf Hinweise, die auf weitere Entzündungen in anderen Körperteilen hinwiesen. Alle Befunde wurden zusammen mit den Tierdaten und einem kurzen Vorbericht dokumentiert.

Tierdaten und Vorbericht bezogen sich dabei auf

- Betrieb,
- Ohrmarkennummer,
- kurze Krankengeschichte,
- Vorbehandlungen,
- den vom Betrieb angegebenen Schlachtgrund.

Milchkühe, die bei der Euteruntersuchung einen in allen Punkten unauffälligen Status aufwiesen, wurden als mögliche Vergleichstiere ebenfalls weiter untersucht. Bei diesen Tieren fiel die Adspektion des Tierkörpers und die Überprüfung des Vorberichts besonders gründlich aus, um Entzündungen in allen Körperbereichen so gut wie möglich ausschließen zu können. Fehlten Hinweise auf derartige Entzündungsgeschehen, wurde das Rind ebenso beprobt und die Daten notiert wie bei den euterkranken Tieren.

Zusätzlich zu den so erhobenen Daten stand für jede Kuh ein Computerausdruck mit weiteren Tierdaten zur Verfügung. Diese umfassten

- Geburtsdatum,
- Datum der letzten Kalbung sowie deren Verlauf,
- Anzahl der Kalbungen,
- Anzahl der Tage der aktuellen Laktation,
- Ergebnisse der Milchleistungskontrollen der aktuellen Laktationsperiode mit Angaben zur Milchmenge, Fett- und Eiweißanteil, Zellzahl, Harnstoffkonzentration und

Laktosemenge in der Milch. Neben der Auswertung der Daten der letzten Milchleistungskontrolle (MLK) erfolgte, wenn die Werte vorhanden waren, eine Berechnung der Entwicklung dieser Werte in den letzten 4 Monaten:

Entwicklung = (Wert letzte MLK) – (Querschnitt Werte der vorangegangenen 3 MLK)

Die Milchproben wurden im Anschluss an die Probennahme bei -20°C eingefroren.

3.2 Vorgehen und Probenentnahme im Schlachtbetrieb

3.2.1 Ermittlung der zu beprobenden Schlachttierkörper

Zur Aufrechterhaltung der Identität der im Herkunftsbetrieb befundeten Tiere wurden diese anhand ihrer Ohrmarkennummer identifiziert.

Die Zuordnung der Tagesschlachtnummern erfolgte nach der Betäubung der Tiere und dem Entblutungsschnitt.
Das Euter wurde noch vor dem Enthäuten der Tiere abgesetzt. Daher waren die Schlachtkörper zu diesem Zeitpunkt noch nicht mit der laufenden Tagesschlachtnummer gekennzeichnet. Als Orientierung für die Identifizierung der richtigen Tiere dienten daher individuelle Merkmale wie Fellfarbe und die im Herkunftsbetrieb erfolgte Markierung der Tiere mit roter Farbe.
Zum Zeitpunkt der Entnahme von Muskulatur- und Lymphknotenprobe waren die Schlachtkörper bereits enthäutet, halbiert und mit Tagesschlachtnummer gekennzeichnet. Die Identifizierung erfolgte daher über diese Nummer.

3.2.2 Beprobung der Euter

Aus jedem Euterviertel wurde eine Gewebeprobe entnommen.

Nach dem Abtrennen des Euters vom Tierkörper in einem Stück durch das Schlachthofpersonal wurde das Organ mit der behäuteten Ventralfläche nach unten zeigend auf einen Tisch in unmittelbarer Nähe der Tierkörper abgelegt.

Die Euterlymphknoten dienten als Hilfe für das Identifizieren der kaudalen und damit auch der kranialen Euterviertel. Aus jedem Euterviertel wurde mittels eines scharfen Messers ein mindestens faustgroßes Stück herausgeschnitten. Die entnommene Probe wurde sofort in einen sterilen Stomacherbeutel überführt. Dieser wurde schon vorher mit einer dem jeweiligen Tier zugeordneten laufenden Nummer und der Bezeichnung des Euterviertels gekennzeichnet.
Beide mitgebrachten Messer wurden alternierend eingesetzt, nach jeder Gewebeprobe erfolgte ein Wechsel. Das jeweils nicht benutzte Messer wurde im Desinfektionsbecken der Schlachtlinie abgestellt.

3.2.3 Entnahme von Muskulatur- und Lymphknotenprobe

An diesem Posten erfolgte die Entnahme von Muskulatur- und Lymphknotenprobe durch den Fleischkontrolleur. Sowohl der Zwerchfellszapfen einer Körperhälfte als auch der große, innere Darmbeinlymphknoten der anderen Körperhälfte wurden vom Schlachtkörper entfernt und einzeln in vorbeschriftete, sterile Stomacherbeutel überführt.

3.2.4 Probentransport

Spätestens nach beendeter Entnahme aller Proben wurden die Tüten mittels bagclip®-Verschlüssen (Fa. Interscience) verschlossen. Alle Proben eines Tieres wurden gemeinsam in einen Sammelbeutel abgelegt. Anschließend wurden die Sammelbeutel in eine mit Eisakkus bestückte Kühltasche verbracht.

Der Transport der in der Kühltasche befindlichen Proben vom Schlachthof in das Institut (Standort Mitte) erfolgte auf schnellstem Wege im klimatisierten PKW. Im Institut wurde die Probentemperatur mittels Temperaturmessgerät (Fa. HANNA instruments) ermittelt und notiert. Anschließend wurden die Gewebeproben sofort in einen Kühlschrank verbracht.

3.3 Vorgehen und Probenuntersuchung im Labor

Die Gewebeproben wurden auf die mesophile, aerobe Gesamtkeimzahl (GKZ) untersucht und die vorgefundene Mikroflora taxonomisch differenziert.
Die Milchproben wurden auf das Vorhandensein von Mastitiserregern untersucht.

3.3.1 Qualitätssicherung

Die verwendeten Standard-I-Nähragar- sowie die Blutplatten wurden in der institutseigenen Nährbodenküche hergestellt. Nach der Herstellung wurde die Anzahl der Platten und das Herstellungsdatum schriftlich festgehalten und die Agarplatten über Nacht bei 37°C im Brutschrank inkubiert. Nach Bebrütung erfolgte eine Begutachtung der Platten. Die Anzahl der bewachsenen Platten wurde dokumentiert und die kontaminieten Platten vernichtet. Anschließend wurden die Platten im Kühlschrank bei 7-8°C gelagert. Es erfolgte zudem eine Dokumentation von Anzahl und Datum der während der Lagerung verunreinigten Platten.
Die Qualitätssicherungsmaßnahmen für die durchgeführten biochemischen Tests sind im Anhang I aufgeführt.

3.3.2 Vorgehen bei den Gewebeproben

3.3.2.1 Allgemeine Vorgehensweise

Die Gewebeproben wurden am Tag nach der Probennahme aufgearbeitet. Bis zu Beginn der Aufarbeitung und zwischen den einzelnen Arbeitsschritten wurden die Proben bei höchstens 8°C kühl gehalten.

Die Ermittlung der GKZ erfolgte mittels des Plattenguß-Verfahrens im Doppelansatz. Für die taxonomische Differenzierung der in der Probe enthaltenen Keime erfolgte ein Doppelansatz auf Blutplatten im Spatelverfahren.

3.3.2.2 Aufbereitung der Gewebeproben

Die Aufbereitung der Proben unterschied sich je nach Gewebeart.
Bei einer Euter- oder Muskulaturprobe wurde zunächst die Oberfläche abgeflammt, die dann mittels steriler Schere und Pinzette abgetragen wurde. Aus der Tiefe der Gewebeprobe wurde 10g Material entnommen, kleingeschnitten und in einen sterilen, beschrifteten Stomacherbeutel eingewogen.
Bei einem Lymphknoten wurde zuerst das umgebene Fett- und Bindegewebe mittels Schere und Pinzette gründlich entfernt. Anschließend wurde der Lymphknoten in vergällten Alkohol getaucht und abgeflammt. Unter Zuhilfenahme von sterilem Besteck wurde 10g Lymphknoten-Gewebe kleingeschnitten in einen Stomacherbeutel eingewogen.

Nach der Reinigung wurden Schere und Pinzette zwischen den einzelnen Arbeitsschritten in vergällten Alkohol gestellt und direkt vor der nächsten Benutzung abgeflammt.

3.3.2.3 Herstellung der Verdünnungsreihe

Nach dem Einwiegen aller Gewebeproben eines Probennahmetages in Stomacherbeutel erfolgte die Herstellung der ersten Verdünnungsstufe der ersten Gewebeprobe.
Um ein Verdünnungsverhältnis von 1:9 zu erhalten, wurde zu den 10g Material 90ml sterile Pepton-Kochsalz-Lösung (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 1) zugegeben. Der Inhalt des Stomacherbeutels wurde anschließend für 3 Minuten im Stomacher (Colworth Stomacher 400) homogenisiert. Auf diese Weise erhielt man die erste Verdünnungsstufe (10^{-1}). Durch Überführung von 1ml 10^{-1}-Verdünnung in 9ml sterile Pepton-Kochsalz-Lösung und Vermischung beider Komponenten für mindestens 20 Sekunden mittels Schüttler (Heidolph Reax 2000) wurde die nächste Verdünnungsstufe (10^{-2}) hergestellt. Weitere Verdünnungsstufen wurden durch analoges Vorgehen bereitgestellt. Aus den Muskelproben wurden Verdünnungen bis 10^{-3}, aus den Euter- und Lymphknotenproben bis 10^{-4} hergestellt.

3.3.2.4 Beimpfung der Nährmedien

Die Beimpfung der Nährmedien erfolgte jeweils direkt im Anschluss an die Herstellung der einzelnen Verdünnungsstufen.

Für die Ermittlung der GKZ wurde Standard-I-Nähragar (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 2) in Glasflaschen angemischt, mit Alufolie verschlossen autoklaviert und anschließend im Wasserbad auf 44°C-46°C temperiert. Außerdem wurde die benötigte Menge steriler Petrischalen bereitgestellt und beschriftet.
Von jeder Verdünnungsstufe wurde 1ml in eine Petrischale pipettiert. Nach beendetem Auspipettieren der Verdünnungsreihe einer Gewebeprobe wurde die Nährbodenflasche aus dem Wasserbad entnommen. Die Öffnung wurde abgeflammt und es wurden 15-20 ml Nähragar in jede Petrischale überführt. Durch sofortiges Mischen in kreisförmiger und Zickzack-Richtung wurde die Verdünnungsflüssigkeit gründlich im Agar verteilt.

Für die taxonomische Differenzierung der Keime wurden sterile Blutplatten (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 3) beschriftet. Von jeder Verdünnungsstufe wurde mittels steriler Pipette 0,1ml auf den Blutagar überführt und sofort mittels sterilem Spatel gleichmäßig verteilt. Von der 10^{-1}-Verdünnung wurden zusätzlich auch 0,5ml auf Blutagar pipettiert und ausgespatelt. Für jede Agarplatte wurde jeweils ein neuer, steriler Spatel verwendet.

Nach der vollständigen Verfestigung des Standard-I-Nähragars beziehungsweise dem vollständigen Einziehen der Verdünnungsflüssigkeit in die Blutplatten wurden die Platten umgedreht und für 48 Stunden aerob bei 37°C im Brutschrank inkubiert.

3.3.2.5 Ermittlung der aeroben Keimzahl

Zur Ermittlung der aeroben, mesophilen Gesamtkeimzahl wurden die Kolonien auf den Standard-I-Nähragarplatten gezählt.
Auf den Blutplatten wurden den verschiedenen makroskopisch voneinander zu unterscheidenden Kolonien Nummern zugeordnet und ihre Anzahl jeweils getrennt voneinander erfasst.

Ausgewertet wurden Platten mit 0 bis 300 Kolonien zweier aufeinander folgender Verdünnungsstufen, wobei mindestens eine Platte der niedrigeren auswertbaren Verdünnungsstufe mindestens eine Kolonie aufweisen musste. Wenn vorhanden, sollte mindestens eine Verdünnungsstufe dabei Platten mit 20 bis 300 Kolonien enthalten. Folgende Formel wurde verwendet:

$$\text{Gewichteter Mittelwert} = \frac{\text{Summe der Kolonien}}{n1 \times 1 + n2 \times 0{,}1}$$

n1 = Anzahl der Platten der niedrigeren auswertbaren Verdünnungsstufe
n2 = Anzahl der Platten der nächsthöheren Verdünnungsstufe.

Die GKZ in Koloniebildenden Einheiten (KbE) pro Gramm Probe errechnete sich durch Multiplikation mit dem Verdünnungsfaktor der niedrigeren verwendeten Verdünnungsstufe.
Für die Berechnung der Keimzahl der makroskopisch voneinander zu differenzierenden Keime auf den Blutplatten wurde der so für 0,1ml Probe berechnete Wert durch anschließende Multiplikation mit dem Faktor 10 auf den Wert der Koloniebildenden Einheiten pro Gramm Probe umgerechnet.

Waren auch auf den Platten mit der höchsten Verdünnungsstufe mehr als 300 Kolonien pro Platte gewachsen, wurde als Keimzahl das Doppelte der oberen Nachweisgrenze angenommen.
Waren auf der niedrigsten Verdünnungsstufe bei den Standard-I-Nähragarplatten dagegen keine Kolonien gewachsen, wurde die GKZ als die Hälfte der unteren Nachweisgrenze angegeben.

3.3.2.6 Subkultivierung der Kolonien auf den Blutplatten

Für die taxonomische Differenzierung der aus den Gewebeproben isolierten Bakterien wurde die Morphologie der makroskopisch voneinander zu unterscheidenen und bereits für die Ermittlung der Keimzahl erfassten Kolonien notiert. Anschließend wurden von den beschriebenen Kolonien Subkulturen angelegt. Dies erfolgte mittels Verdünnungsausstrich

auf jeweils einer Blut- und einer Standard-I-Agarplatte. Anschließend wurden die Platten bei 37°C aerob inkubiert.

3.3.3 Vorgehen bei den Milchproben

Die gefrorenen Milchproben wurden separat in einer mit Eisakkus bestückten Kühltasche im klimatisierten PKW nach Berlin ins Institut für Fleischhygiene und –technologie transportiert. Dort wurden sie weiter bis unmittelbar vor der Aufarbeitung bei -20°C gelagert. Der Auftauprozess erfolgte bei Raumtemperatur innerhalb von zwei Stunden.

Von jeder Milchprobe wurde mittels steriler Pipette jeweils 0,1ml auf zwei bereits beschriftete Blutplatten verbracht. Das Sekret wurde anschließend sofort mittels sterilem Spatel gleichmäßig verteilt. Für jede Blutplatte wurde dabei ein neuer, steriler Spatel verwendet.

Die Agarplatten wurden umgedreht und für 48h bei 37°C inkubiert.

Im Anschluss an die Bebrütung wurden die Blutplatten begutachtet und es wurde schriftlich dokumentiert, ob Reinkulturen, annähernd Reinkulturen (Mischflora < 5%) oder Mischkulturen vorlagen. Auch das Vorliegen zweier voneinander makroskopisch differenzierbarer Kolonietypen wurde als „Reinkultur“ oder „annähernd Reinkultur“ festgehalten, sofern beide für sich genommen dieser Einordnung entsprachen. Von Kolonien, die in Reinkultur oder deutlicher Überzahl gegenüber anderen Kolonien auftraten, wurden Anzahl und Morphologie schriftlich festgehalten und Subkulturen angelegt. Des Weiteren erfolgte eine Beschreibung und Subkultivierung auch von vereinzelt auftretenden Kolonien mit vollständiger Hämolyse. Die Anzahl der Keime wurde nach folgendem Schlüssel notiert:

Anzahl Kolonien	**Codierung**
1-10	+
11-100	++
>100	+++

Für das Anlegen der Subkulturen wurde jeweils eine Blut- und eine Standard-I-Platte im Verdünnungsausstrich beimpft und bei 37°C aerob inkubiert.

Von Kolonien, die makroskopisch keiner der subkultivierten Kolonien entsprachen, wurde ausschließlich die Anzahl erfasst und schriftlich festgehalten.

3.3.4 Taxonomische Differenzierung der Bakterien

3.3.4.1 Gramfärbung und KOH-Test

Von allen Subkulturen wurden nach 18-24h Grampräparate angefertigt.

Dazu wurde etwas Koloniematerial auf einen Objektträger aufgetragen, mit einem Tropfen NaCl vermischt und ausgestrichen. Nach der vollständigen Trocknung an der Luft wurde das Präparat hitzefixiert. Nach erfolgter Abkühlung wurde wie folgt vorgegangen:

- Überschichtung mit Kristallviolettlösung (Fa. Merck) für 3 Minuten
- Abspülen mit Wasser
- Überschichtung mit Lugolscher Lösung (Fa. Merck) für 2 Minuten
- Abspülen mit Wasser
- Schwenken des Objektträgers für 20-60 Sekunden in vergälltem Alkohol, bis keine Farbwolken mehr abgingen
- Abspülen mit Wasser
- Überschichtung mit Safraninlösung (Fa. Merck) für 1 Minute
- Abspülen mit Wasser
- Lufttrockung

Die Mikroorganismen wurden nach dem vollständigen Trocknen der Objektträger unterm Mikroskop bei 1000facher Vergrößerung unter Zuhilfenahme von Immersionsöl begutachtet. Form, subjektive Größe und Gramverhalten wurden dokumentiert. Danach war in aller Regel die Zuordnung zu den Gruppen „grampositive Kokken“, „grampositive Stäbchen“, „gramnegative Stäbchen“ oder „Verdacht auf Pilze“ möglich.

Alle Kolonien wurden zur Überprüfung des Gramverhaltens der Keime zusätzlich nach 24h oder spätestens nach Ausbildung von ausreichend Bakterienmasse mittels KOH-Test überprüft. Dazu wurde reichlich Koloniematerial in 1 Tropfen 3%ige KOH eingerieben.

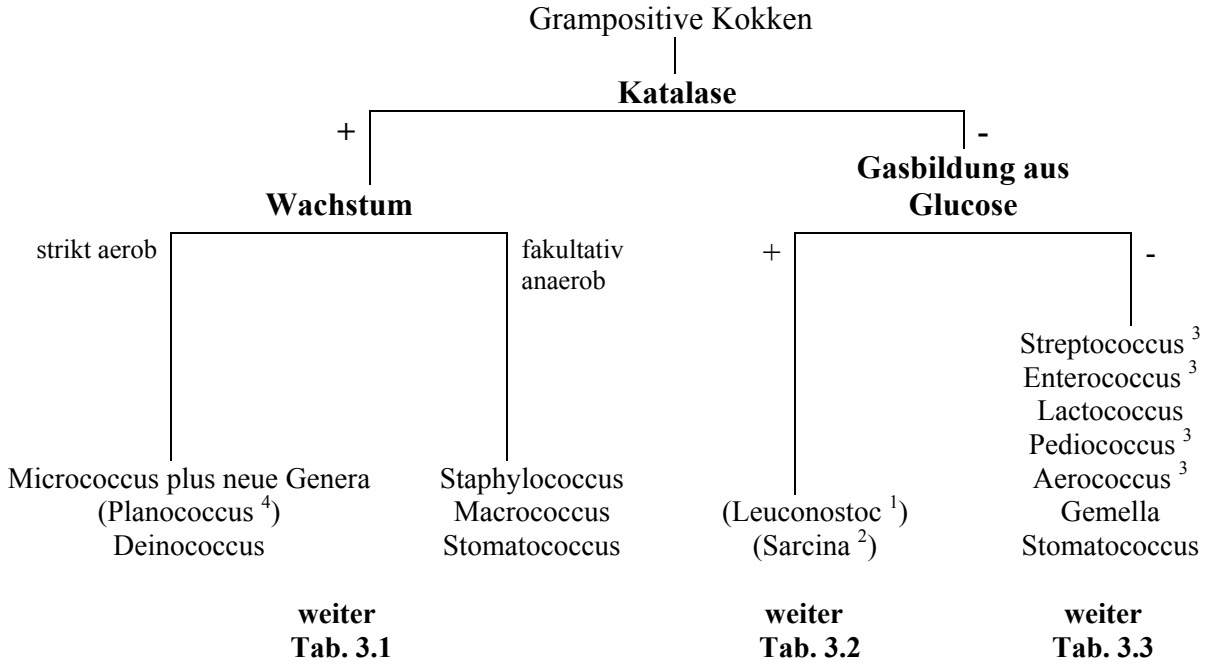
Auswertung:

- gramnegative Keime: Bildung einer fadenziehenden Masse
- grampositive Keime: Lösung in der Reagenz, diese bleibt wässrig

3.3.4.2 Weiterführende Differenzierung der Bakterien

Die Bakterien wurden im Anschluss weiter gemäß den Fließschemata (Abb. 3.1-3.4; Tab. 3.1-3.9) differenziert. Keime, die sich anhand der mikroskopischen Untersuchung nicht eindeutig einer Gruppe zuordnen ließen, wurden gemäß aller möglichen Gruppenzugehörigkeiten weiter differenziert.

Die Quellen zu den Fließschemata finden sich im Literaturteil, die Beschreibungen der verschiedenen Differenzierungsmethoden im Anhang Teil 1.



1 Wachstum Leuconostoc nur bei 5-30°C
2 Sarcina normalerweise anaerob, aber sehr aerotolerant
3 Pseudokatalase-Bildung möglich
4 bisher nur aus Meerwasser und Meeresfrüchten isoliert

Abb. 3.1 Fließschema zur Identifizierung von aerob gewachsenen, grampositiven Kokken

Tab. 3.1 Schema für die weiterführende Differenzierung von Katalase-positiven, grampositiven Kokken

Micrococcus plus neue Genera	Planococcus	Deinococcus		Staphylococcus	Macrococcus	Stomatococcus
Paare, Tetraden, Haufen	einzeln, Paare, Triaden, Tetraden	Paare, Tetraden	**Mikroskop. Bild**	einzeln, Paare, Tetraden, Haufen		Paare, Tetraden, Haufen
0,5-2,5	1,0-1,2	0,5-3,5 (groß!)	**Größe (in µm)**	0,5-1,5	≥ 2	0,9-1,3
			Kolonien			Schleimig; starke Haftung an Agar-oberfläche
cremeweiß, gelb, orange, rot	gelb-orange	pink, rot	**Pigment**	einige Spezies carotinoide Pigm.		
+ / -	-		**Oxidase**	(-)	+	-
-	+	-	**Beweglichkeit**	-	-	-
resistent			**Lysostaphin**	empfindlich	empfindlich	resistent
variabel			**Lysozym**	resistent		resistent
	grampositiv o. gramvariabel		**Besonder-heiten**			

Staphylococcus

DNAse

\+ -

Koagulase

\+ -

St.aureus	St. intermedius	St.hyicus ssp. hyicus	
+	-	-	VPR-Reaktion
+	variabel	-	Hämolyse
+	-	-	Pigment

Tab. 3.2 Schema für die weiterführende Differenzierung von Katalase-negativen, grampositiven Kokken, die Gas aus Glukose bilden

	Leuconostoc	**Sarcina**
Mikroskop. Bild	Paare, Ketten; rund, linsenförmig	Pakete von acht und mehr, selten einzeln oder kleinere Pakete
Größe (in µm)		1,8-3
Kolonien	< 1mm	
Pigment		nein
Beweglichkeit	-	-
Besonderheiten	Wachstum bei 5-30°C	einige Spezies bilden Sporen; eigentlich anaerob

Tab. 3.3 Schema für die weiterführende Differenzierung von Katalase-negativen, grampositiven Kokken, die kein Gas aus Glukose bilden

	Streptococcus, Lactococcus	**Enterococcus**	**Pediococcus**	**Aerococcus**	**Gemella**	**Stomatococcus**
Mikroskop. Bild	Ketten, Paare; Rund, ovoid	Ketten, Paare; Rund, ovoid	Paare, Tetraden, selten einzeln o. aus Diplokokken gebildete kurze Ketten	einzeln, Paare, Tetraden, große Haufen	einzeln, Paare, kurze Ketten	Paare, Tetraden, Haufen
Größe (in µm)	< 2,0	< 2,0	0,6-1,0	1,0-2,0		0,9-1,3
Kolonien			oft nur schwaches Wachstum	spärliches Wachstum; auf Blut Vergrünung	klein	schleimig; starke Haftung an Agar-oberfläche
Pigment					nein	
Oxidasereaktion	-	-			-	-
Beweglichkeit	-	+ / -	-	-	-	-
Besonderheiten				microaerophil	Gramverhalten uneindeutig	

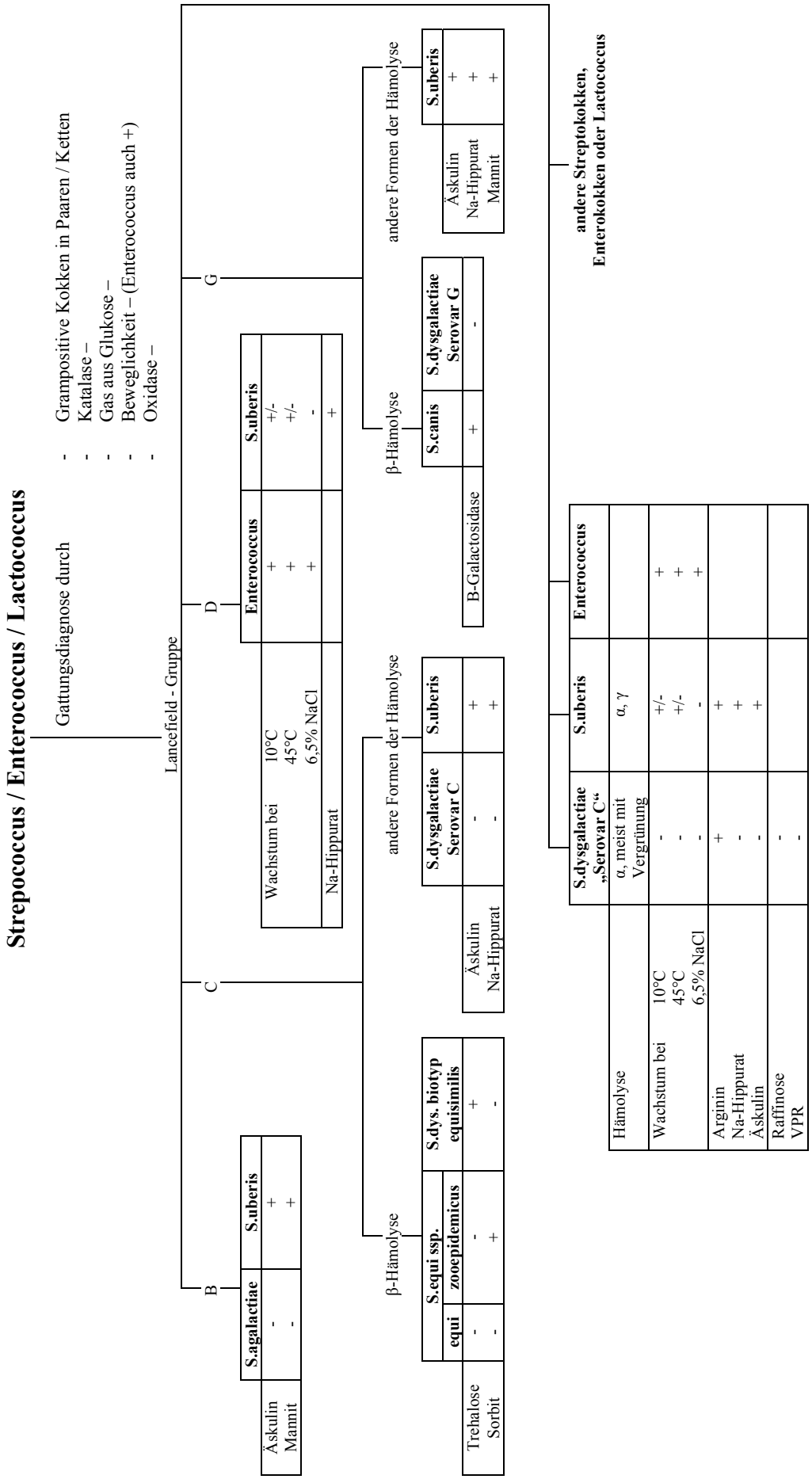
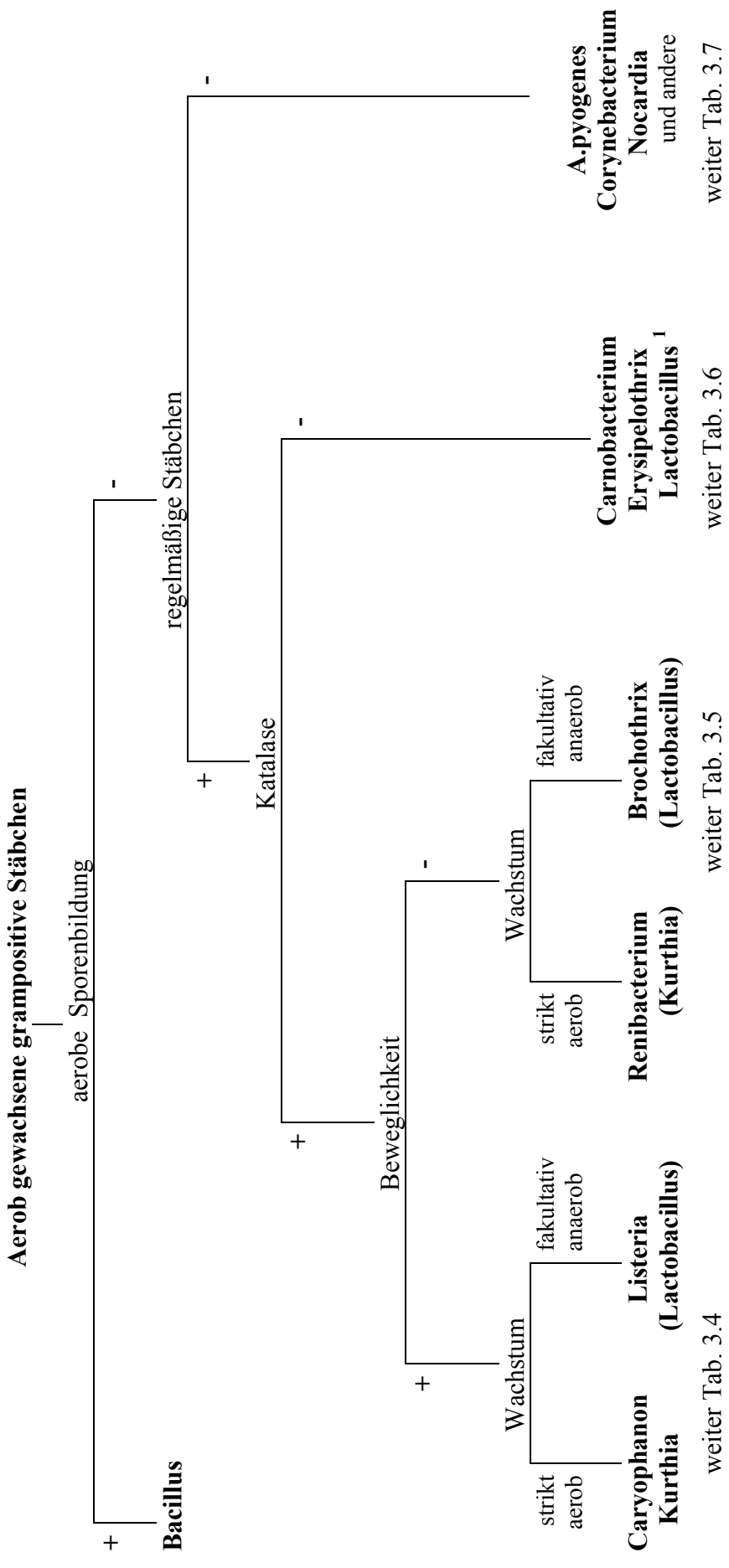


Abb. 3.2 Fließschema zur weiteren Differenzierung von Streptococcus, Enterococcus, Lactococcus



1 Pseudokatalasebildung möglich, Katalase-Test schwach-positiv

Abb. 3.3: Fließschema zur Identifizierung von grampositiven Stäbchen

Tab. 3.4: Eigenschaften von Caryophanon, Kurthia und Listeria

	Caryophanon	**Kurthia**	**Listeria**
Mikroskopisches Bild	multizelluläre Stäbchen	Stäbchen in parallelen Ketten, Filamente; Kulturen 3-7d: kokkoide Zellen, kurze Ketten	kurze Stäbchen; einzeln, kurze Ketten; in älteren Kulturen auch Filamente
Größe	1,5-3,0 x 10-20µm	0,8-1,2 x 2,0-4,0 µm	0,4-0,5 x 0,5-2,0µm
Temperaturoptimum Wachstum	25-30°C	25-30°C 5-45°C	30-37°C 1-45°C
Kolonien			Durchmesser 0,5-1,5mm; blaugrau, bei schrägem Lichteinfall blau-grüner Schein
Oxidasereaktion	-	-	-
Säure aus Glukose	-	- (in peptonhaltigen Medien)	+
Nitratreduktion		-	
Gelantinehydrolyse	-	-	-
Indolbildung	-		-
Methylrotreaktion			+
Voges-Proskauer-Reaktion		-	+
Äskulinhydrolyse			+
Na-Hippurat-Hydrolyse			+
Besonderheiten		Vogelfeder-wachstum auf Gelantine	Motilität bei 20-25°C + 37°C -

Tab. 3.5: Eigenschaften von Renibacterium und Brochothrix

	Renibacterium	**Brochothrix**
Mikroskopisches Bild	kurze Stächen, oft Paare oder kurze Ketten	einzeln, kurze Ketten oder filamentähnliche, knotige Haufen; in alten Kulturen kokkoide Formen
Größe	0,3-1,0 x 1,0-1,5µm	0,6-0,75 x 1,0-2,0 µm
Temperaturoptimum Wachstum	15-18°C kein Wachstum bei 37°C	20-25°C 0-30°C (vereinzelt schwaches Wachstum bei 37°C)
Kolonien		kein Pigment
Hämolyse		-
Oxidasereaktion	-	
Säure aus Glukose	-	+
Methylrotreaktion		+
Voges-Proskauer-Reaktion		+
H_2S-Bildung		-
Besonderheiten		manchmal gramlabil

Tab. 3.6: Eigenschaften von Carnobacterium, Erysipelothrix und Lactobacillus

	Carnobacterium	**Erysipelothrix**	**Lactobacillus**
Mikroskopisches Bild	lange, schlanke Stäbchen; einzeln, Paare, selten kurze Ketten	schlanke Stäbchen, teils lange Filamente; einzeln, kurze Ketten, Paare zu V-Form gelagert, Gruppen	lange oder selten kokkoide Stäbchen; meist kurze Ketten
Größe	0,5-0,7 x 1,0-2,0µm	0,2-0,4 x 0,8-2,5µm	0,5-1,2 x 1,0-10µm
Temperaturoptimum Wachstum	30°C 10°C + 45°C -	30-37°C 5-42°C	30-40°C 2-53°C
fakultativ anaerob	+	+	+
Kolonien		klein; kein Pigment	meist kein Pigment
Hämolyse		nie vollständige H.	
Oxidasereaktion		-	-
Säure aus Glukose	+	+ (schwache fermentative Aktivität)	+
Nitratreduktion	-	- [1]	-
Gelantinehydrolyse		- [1]	-
Indolbildung		- [1]	-
H_2S-Bildung			-
Voges-Proskauer-Reaktion		- [1]	
Äskulinhydrolyse		- [1]	
Na-Hippurat-Hydrolyse		- [1]	
Harnstoffspaltung		- [1]	
Beweglichkeit		-	(-)
Besonderheiten		Gläserbürste / Gelantine / 22°C[1]	

1 gilt für Erysipelothrix rhusiopathiae

Tab. 3.7 Bestätigungsreaktionen für A.pyogenes, C.bovis, C.ulcerans und Nocardia

	A.pyogenes	**C.bovis**	**C.ulcerans**	**Nocardia**
Mikroskopisches Bild	pleomorph	keulenförmige Stäbchen, „chinese letters“		verzweigte Filamente, stäbchenförmige und kokkoide Elemente
Größe	0,2-0,9 x 0,3-2,5µm	0,5-0,7 x 2,5µm		Breite 0,5-1,2µm, Länge bis zu 250µm
Kolonien	unpigmentiert		5mm groß, rund, opak und weißlich	klein, trocken; weiß, grau, rot, braun, orange oder gelb; Konsistenz krümelig bis sandähnlich, häufig mehlartiges Luftmycel; Oberfläche gefaltet; haften fest dem Agar an
Hämolyse	+	-	möglich	-
Besonderheiten	Rötung, Gerinnung und Peptonisierung von Lackmusmilch	Wachstum abhängig von verschiedenen Zusätzen	Wachstum abhängig von verschiedenen Zusätzen	partiell säure-, aber nicht alkoholfest (modifizierte Ziehl-Neelson-Färbung)
fakultativ anaerob	+			-
Katalasetest	-	+	+	+
Oxidasereaktion	-			
Gelatinehydrolyse	+			

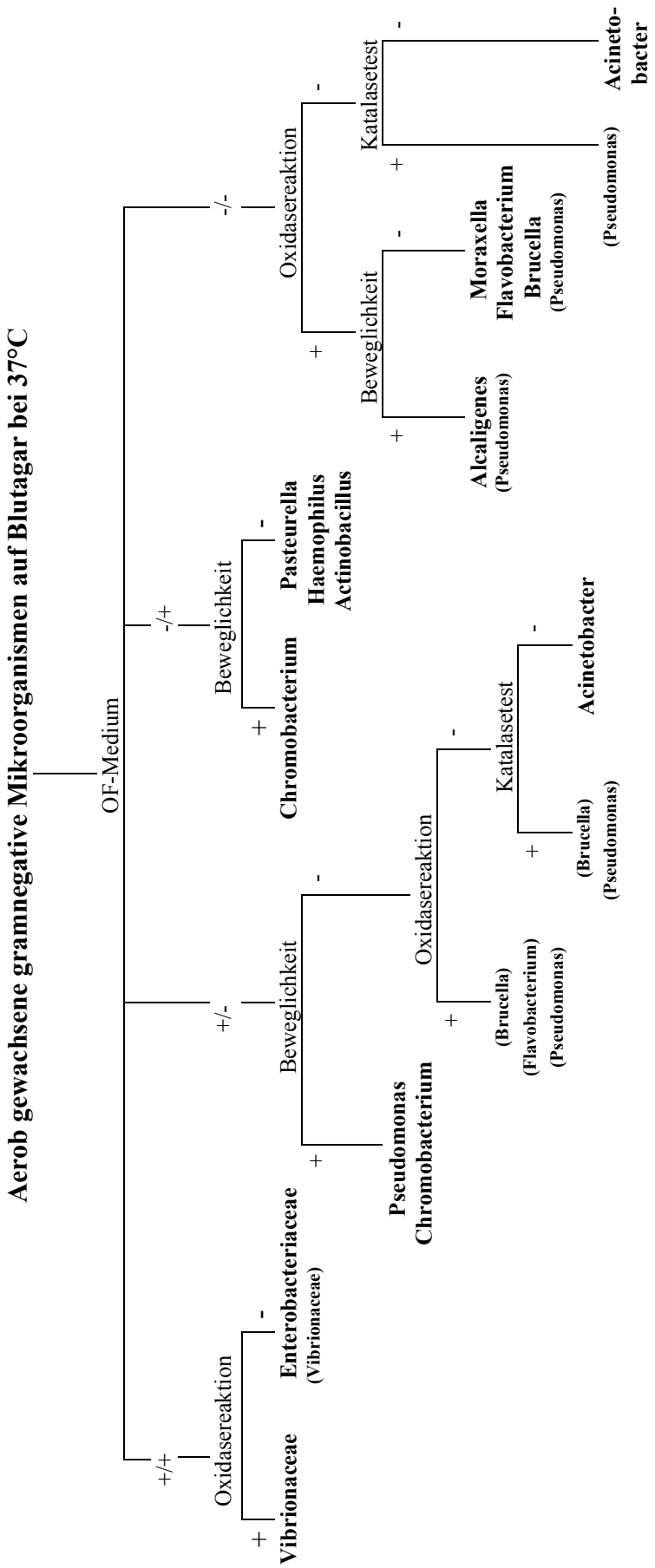


Abb. 3.4 Fließschema zur Indentifizierung von gramnegativen, aerob gewachsene Mikroorganismen

Tabelle 3.8: Schema zur Unterscheidung von strikt aerob wachsenden gramnegativen Bakterien

	Pseudomonas	**Moraxella**	**Acinetobacter**	**Flavobacterium**	**Alcaligenes**	**Brucella**
Mikros-kopisches Bild	Stäbchen	Kokken (einzeln, in Paaren oder seltener in Tetraden) oder häufig kurze, plumpe Stäbchen (Paare oder kurze Ketten)	Stäbchen, Paare oder Ketten	Stäbchen	einzeln liegende Kokken, kokkoide Stäbchen oder Stäbchen	Kokken oder kurze Stäbchen; einzeln, seltener in Paaren, kurzen Ketten oder kleinen Gruppen
Größe	0,5-1,0 x 1,5-5µm	Kokken Durchmesser von 0,6-1,0 µm; Stäbchen 1,0-1,5 x 1,5-2,5 µm	0,9-1,6 x 1,5-2,5µm	0,5 x 1,0-3,0µm	0,5-1,0 x 0,5-2,6µm	0,5-0,7 x 0,6-1,5µm
Kolonien auf Blutagar						nur mäßig; keine Hämolyse, manchmal aber eine grün-braune Verfärbung des Agars um die Kolonien
Pigment	variabel	-	-	gelb bis orange, selten -	-	
Anaerobes Wachstum	selten	- oder schwach	-	-	-	-
Wachstum Temperartur-optimum	4°C- 43°C 28°C bzw. 30-37°C	 33-35°C	 33-35°C.	5-30°C, klinische Isolate meist auch bei 37°C	 20-37°C	20-40°C 37°C
Beweglichkeit	(+)	-	-	-	+	-
Katalasetest	+	(+)	-	+	+	+
Oxidasereaktion	(+)	+	-	+	+	(+)
Penicillin		empfindlich	resistent			(resistent)
Nitratreduktion				-		+
Indolbildung					-	-
VPR-Reaktion						-
MR-Reaktion						-
Besonderheiten		Tendenz zur mangelhaften Entfärbung				viele Stämme benötigen bei Erstisolierung CO_2 zum Wachsen

Tabelle 3.9: Schema zur Unterscheidung von fakultativ anaerob wachsenden gramnegativen Bakterien

	Enterobacteriaceae	**Vibrionaceae**	**Pasteurella**	**Haemophilus**	**Actinobacillus**	**Chromobacterium**
Mikros-kopisches Bild	Stäbchen	Stäbchen	Stäbchen; einzeln oder seltener in Paaren oder kurzen Ketten	Stäbchen oder Kokkobazillen, deutlicher Pleomorphismus; manchmal auch Filamente oder fadenförmig	kokkoid bis stäbchenförmig; deutlicher Pleomorphismus; einzeln, Paare, selten in Ketten; Morsecode-Form	Stäbchen; einzeln, seltener in Paaren oder kurze Ketten
Größe	0,3-1,0 x 1,0-6,0 µm		0,3-1,0 x 1,0-2,0µm	Breite < 1µm	0,4±0,1 x 1,0±0,4µm; Länge bis 6µm	0,6-0,9 x 1,5-3,5µm
Kolonien auf Blutagar				viele Spezies wachsen nicht oder nur schwach auf normalem Blutagar	manchmal Hämolyse	
Pigment				- oder leicht gelblich	-	meist violett; auch weiße Varianten
Wachstum Temperartur-optimum			22-44°C 37°C	 35-37°C	20-42°C 37°C	speziesabhängig
Beweglichkeit	variabel	(+)	-	-	-	+
Katalasetest	(+)		+	variabel	variabel	variabel
Oxidasereaktion	-	(+)	(+)	variabel	+	+
Nitratreduktion	(+)		+	+	+	+
Indolbildung					-	
MR-Reaktion			-		-	
VPR-Reaktion			-			-
Gelantine-hydrolyse			-			
Besonderheiten		für optimales Wachs-tum benötigen die meisten Spezies 2-3% NaCl	häufig bipolare Anfärbung mit Methylenblau	viele Spezies abhängig von V- und/oder X-Faktor	bei Erstisolation Kolonien sehr klebrig, Haftung an Agar	bipolare Färbung und Lipideinschlüsse in den Zellen

3.4 Statistische Auswertung

Die statistische Aufarbeitung und Auswertung der Daten wurde mittels SPSS 17.0 für Windows® vorgenommen. Es wurden ausschließlich Methoden der explorativen Statistik angewendet.

Der Vergleich zwischen den Gruppen erfolgte mittels des Mann-Whitney-Tests. Es wurden paarweise U-Tests durchgeführt. Die Irrtumswahrscheinlichkeit wurde auf α=0,05 festgelegt und mittels der Korrektur nach Bonferroni auf 0,05/3 angepasst.

Bei der Darstellung von Boxplots werden bei SPSS solche Werte als Ausreißer gekennzeichnet, die zwischen dem 1,5- und 3-fachen der Boxhöhe über dem 75%- beziehungsweise unter dem 25%-Perzentil liegen. Extremwerte haben dagegen einen mindestens das 3-fache der Boxhöhe betragenden Abstand zur Box. Abgebildet werden Ausreißer als Kreise, Extremwerte durch Sternchen.

4 Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der im Herkunftsbetrieb erhobenen Daten

Insgesamt wurden 54 Tiere aus 2 Milchviehanlagen in die Untersuchungen aufgenommen (Kennzahlen zu den Betrieben sind in Tab. 1, Anhang Teil 3 wiedergegeben). Anhand des klinischen Befundes wurden 27 Tiere der Gruppe „Klinische Mastitis“, 21 Tiere der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ und 6 Tiere der „Kontrollgruppe“ zugeordnet (Tab. 4.1).

Tab. 4.1: Aufteilung der untersuchten Tiere aus 2 Milchviehbetrieben nach dem klinischen Befund

		Klinischer Befund			Gesamt
		Klinische Mastitis	erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	Kontroll-gruppe	
Betrieb	1	20	15	6	41
	2	7	6	0	13
Gesamt		27	21	6	54

Für diese Tiere wurden 16 verschiedene Schlachtgründe bzw. Kombinationen von Schlachtgründen von den Betrieben angegeben (Tab. 4.2). Bei dem mit 18 betroffenen Tieren am häufigsten aufgeführten Schlachtgrund handelte es sich um „Mastitis“, gefolgt von „hohe Zellzahl“ bei 13 Tieren und „Zuchtuntauglichkeit“ bei 5 Tieren.

Die genannten Schlachtgründe ließen sich ebenfalls den 3 Gruppen „Klinische Mastitis“, „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ und „Kontrollgruppe“ zuordnen (Tab. 4.3). Alle 24 Tiere mit dem Schlachtgrund „Klinische Mastitis“ wurden auch entsprechend ihrem klinischen Befund dieser Gruppe zugeordnet. 3 der 20 Kühe, die gemäß Schlachtgrund eine erhöhte Milchzellzahl ohne das Vorliegen einer klinischen Mastitis aufwiesen, mussten gemäß klinischem Befund der Gruppe „Klinische Mastitis“ zugeordnet werden, bei den übrigen 17 Tieren entsprach der Schlachtgrund dem klinischen Befund. 4 der 10 Kühe, die anhand des Schlachtgrundes der Kontrollgruppe zuzuordnen gewesen wären, wiesen bei der Untersuchung erhöhte Milchzellzahlen auf und wurden somit entsprechend dem klinischen

Befund der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ zugeordnet. Die übrigen 6 Tiere entsprachen auch nach der klinischen Untersuchung den Kriterien der Kontrollgruppe.

Tab. 4.2: Zusammenhang der angegebenen Schlachtgründe und dem klinischen Befund

		Klinischer Befund			
		Klinische Mastitis	erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	Kontroll-gruppe	Gesamt
Schlachtgrund	Mastitis	18	0	0	18
	hohe Zellzahl	3	10	0	13
	Zuchtuntauglichkeit	0	3	2	5
	niedrige Milchleistung	0	0	3	3
	hohe Milchzellzahl + Klauenerkrankung	0	2	0	2
	Mastitis + Euterform	2	0	0	2
	hohe Milchzellzahl + Zuchtuntauglichkeit	0	1	0	1
	Mastitis + Zitzenverletzung	1	0	0	1
	hohe Milchzellzahl + BHV1	0	2	0	2
	hohe Milchzellzahl + Dreistrich	0	1	0	1
	BHV1-Sanierung	0	1	0	1
	2-Strich	0	0	1	1
	Mastitis + Abort	1	0	0	1
	Mastitis + Zitzenkanalvereng. + Schwermelker	1	0	0	1
	hohe Milchzellzahl + Schwermelker	0	1	0	1
	Mastitis + Endometritis	1	0	0	1
Gesamt		27	21	6	54

Tab. 4.3: Zusammenhang zwischen den zusammengefassten, eingruppierten Schlachtgründen und dem klinischen Befund

		Klinischer Befund			
		Klinische Mastitis	erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	Kontroll-gruppe	Gesamt
Schlachtgrund	Klinische Mastitis	24	0	0	24
	erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	3	17	0	20
	Kontrollgruppe	0	4	6	10
Gesamt		27	21	6	54

Ausschließlich Tiere der Gruppe „Klinische Mastitis“ waren im Zeitraum vor der Schlachtung mit Arzneimitteln behandelt worden (Tab 4.4). 4 Tiere erhielten eine ausschließlich lokale antibiotische Behandlung des Euters, 1 Tier wurde ausschließlich systemisch mit Antibiotika behandelt, bei 5 Tieren wurde eine kombinierte lokale und systemische Antibiose durchgeführt, 2 Tiere wurden homöopathisch, eine Kuh mit Entzündungshemmern, Invertzucker und einer Vitamin-Aminosäure-Infusion behandelt. Die übrigen 9 Tiere der Gruppe blieben ebenso wie alle Tiere der anderen beiden Gruppen unbehandelt.

Tab. 4.4: Arzneimittelbehandlungen im Zeitraum vor der Schlachtung

		Klinischer Befund			
		Klinische Mastitis	erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	Kontroll-gruppe	Gesamt
Vorbehandlungen	nein	9	17	5	31
	lokale Antibiose Euter	4	0	0	4
	systemische Antibiose	1	0	0	1
	Antibiose systemisch + lokal Euter	5	0	0	5
	andere	3	0	0	3
Gesamt		22	17	5	44

Das Alter der Tiere mit klinischer Mastitis betrug im Median 4 Jahre, minimal 2 und maximal 7 Jahre. Bei den Rindern der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ lag der Median bei 5, das Minimum bei 3 und das Maximum bei 8 Jahren. Bei den Kontrolltieren betrug der Median des Alters 3,5 Jahre, das Minimum 2 und das Maximum 5 Jahre. Damit war das Alter der Tiere in der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ signifikant höher als das Alter der Tiere der Kontrollgruppe (Abb. 4.1) (p=0,012). Der Altersvergleich mit den Tieren aus der Gruppe „Klinische Mastitis“ erbrachte keine statistisch gesicherten Unterschiede.

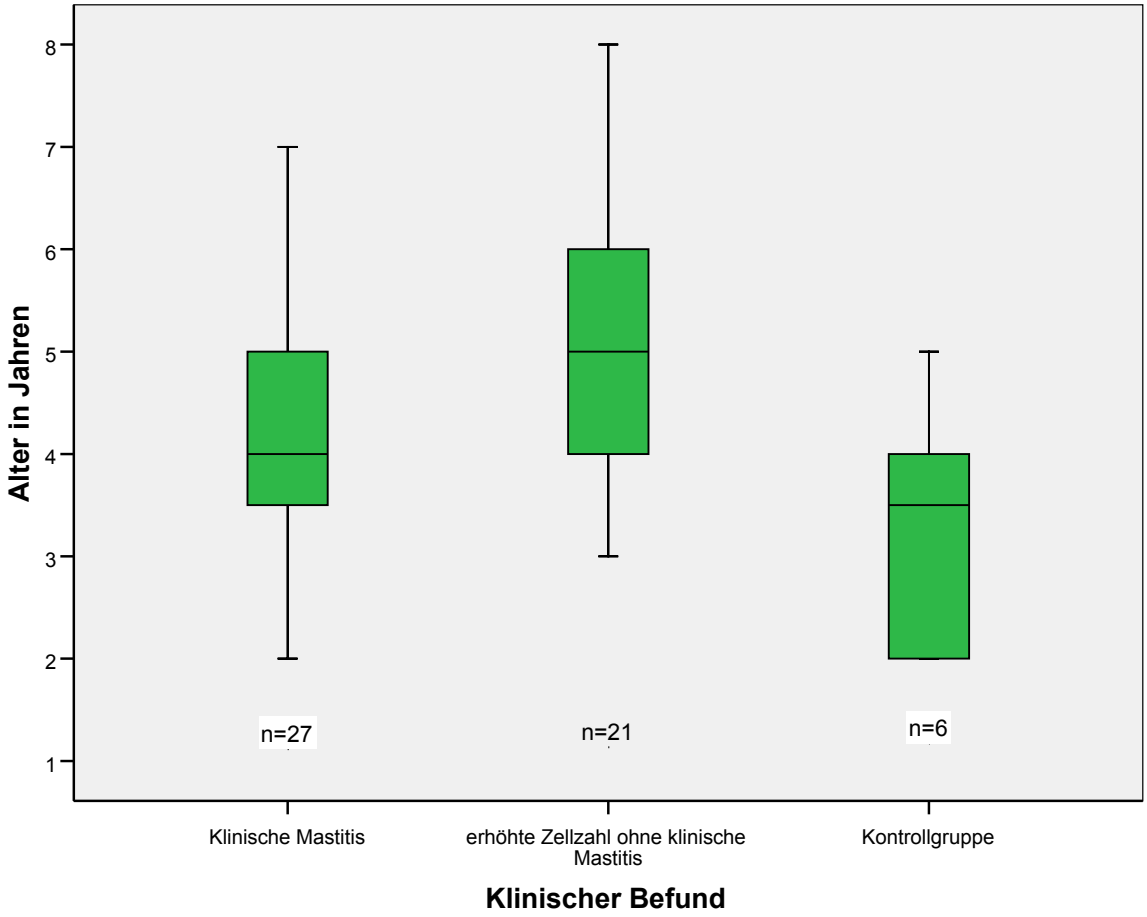


Abb. 4.1.: Tieralter der drei geprüften Fallgruppen

Bezogen auf die Anzahl der Kalbungen betrug für die Tiere der Gruppe „Klinische Mastitis“ der Median 3 und das Maximum 5 Kalbungen. In der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ lag der Median ebenfalls bei 3, das Maximum bei 7 Kalbungen. Bei den Kontrolltieren betrug der Median 2 und das Maximum 3 Kalbungen. Die minimale Anzahl von Kalbungen lag einheitlich in allen Gruppen bei einer Kalbung. Damit erbrachte der Vergleich zwischen den Tieren der verschiedenen Gruppen und der Anzahl der Kalbungen keine statistisch belegbaren Unterschiede (Abb. 4.2).

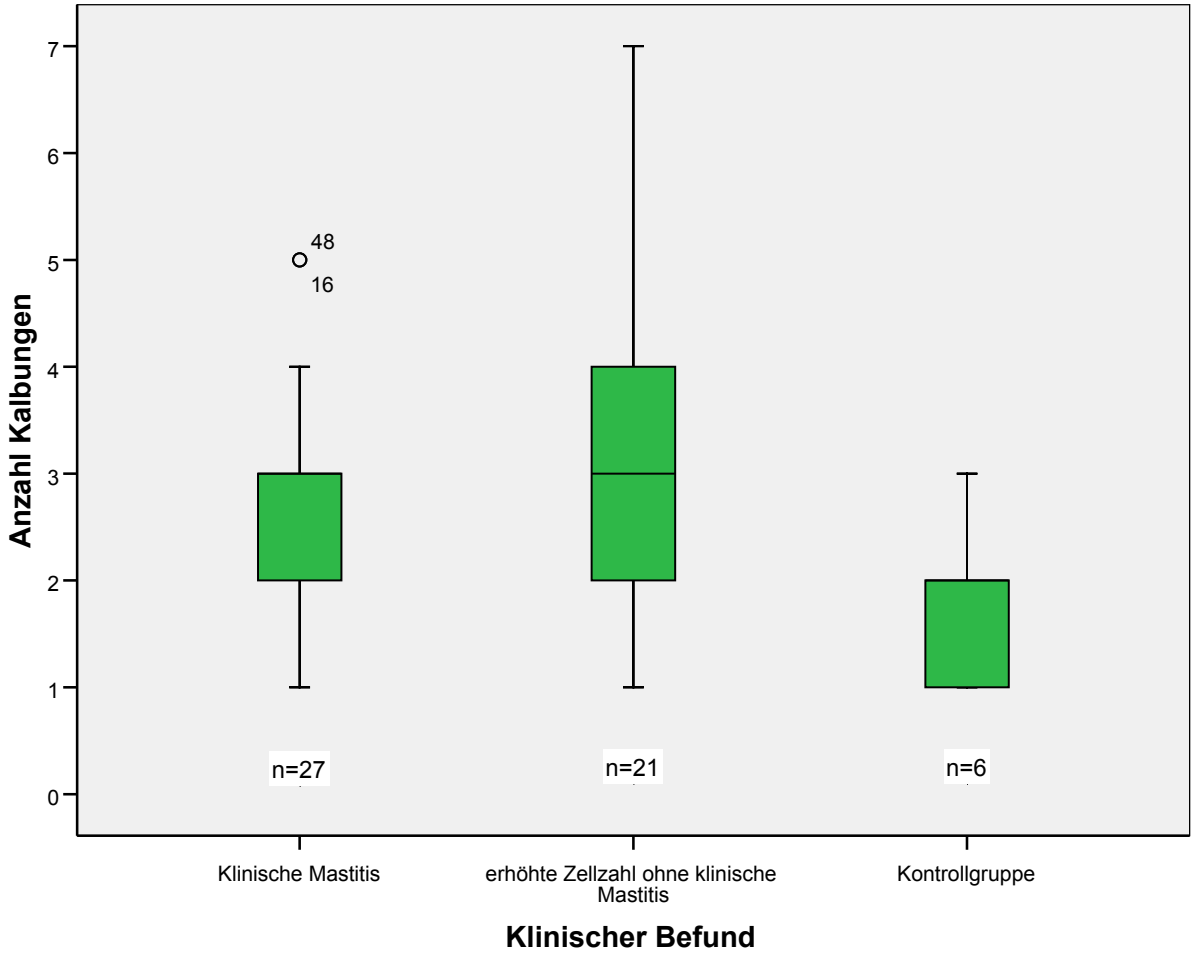


Abb. 4.2.: Anzahl der Kalbungen der drei geprüften Fallgruppen

Der Median der Anzahl der Tage der aktuellen Laktation betrug für die Tiere der Gruppe „Klinische Mastitis“ 103 Tage, das Minimum lag bei 0 Tagen, das Maximum bei 1048. Für die Tiere der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ lag der Median der Tage der laufenden Laktation bei 276 Tagen. Die Tiere dieser Gruppe waren mindestens 38 Tage und höchstens 775 seit der letzten Trockenstehzeit in Milch. Bei den Kontrolltieren betrug der Median der Tage der laufenden Laktation 120,5 Tage, das Minimum 3 und das Maximum 334 Tage. Damit war die Anzahl der Tage der aktuellen Laktation bei den Tieren der Gruppe „Klinische Mastitis“ signifikant geringer als bei den Tieren der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ (Abb. 4.3) (p=0,000). Der Vergleich mit den Tieren der Kontrollgruppe erbrachte keine statistisch gesicherten Unterschiede.

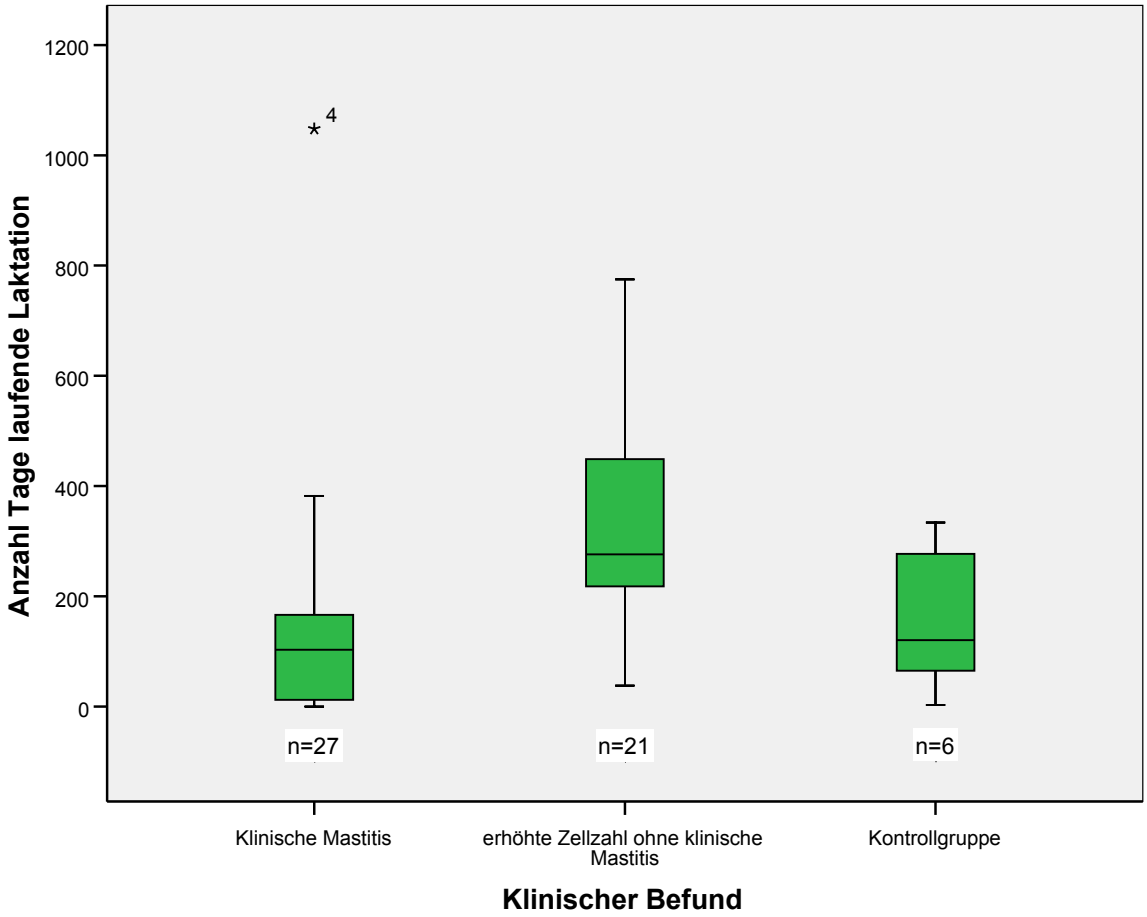


Abb. 4.3: Anzahl der Tage der laufenden Laktation der drei geprüften Fallgruppen

Die Anzahl der somatischen Zellen in der Milch lag bei den Tieren der Gruppe „Klinische Mastitis“ mindestens bei 74.000 und höchstens bei 6.851.000 Zellen/ml, der Median betrug 295.500 Zellen/ml. In der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ lag der Median bei 996.000 Zellen/ml Milch, das Minimum bei 31.000 und das Maximum bei 4.017.000 Zellen/ml. In der Kontrollgruppe betrug der Median 127.000 Zellen/ml, die minimale Anzahl an somatischen Zellen 71.000 und die maximale Anzahl 251.000 Zellen/ml Milch. Die Anzahl der somatischen Zellen war bei den Tieren der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ damit signifikant höher als bei den Tieren der Kontrollgruppe (Abb. 4.4) (p=0,015). Der Vergleich der Anzahl somatischer Zellen dieser beiden Grurppen mit der von den Tieren mit klinischer Mastitis erbrachte keinen statistisch gesicherten Unterschied.

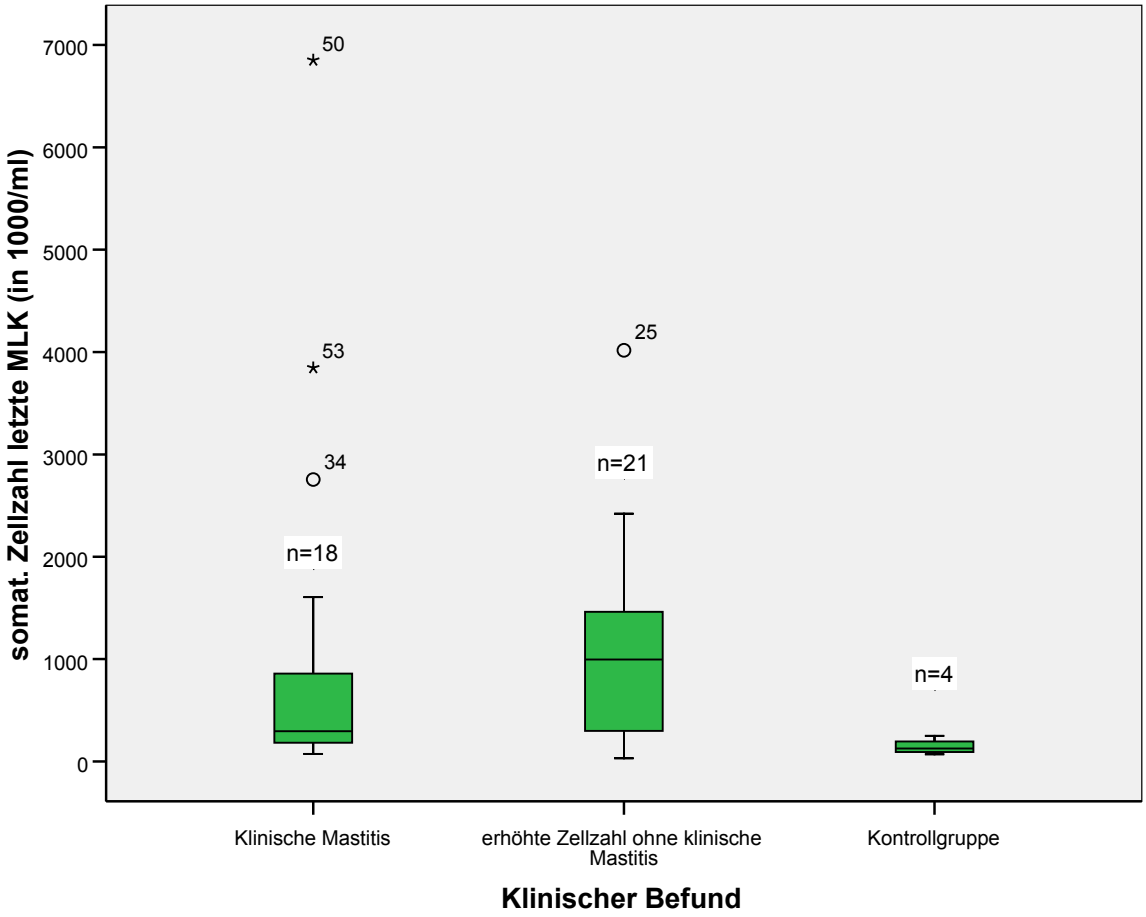


Abb. 4.4: Anzahl somatischer Zellen in der letzten Milchleistungskontrolle in den drei Fallgruppen

4.2 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen

4.2.1 Milchproben

Insgesamt wurden 211 Milchproben mikrobiologisch untersucht (Tab. 4.5). 26 Tiere der Gruppe „Klinische Mastitis“ wurden auf allen 4 Eutervierteln beprobt, von einem Tier dieser Gruppe mit einem nicht laktierenden Viertel stammten entsprechend 3 Milchproben. Bei den 21 Tieren der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ konnten von 19 Tieren Proben von allen Eutervierteln gewonnen werden, von 2 Tieren mit jeweils einem nicht laktierenden Viertel jeweils 3 Milchproben. 5 der 6 Kontrolltiere konnten ebenfalls auf allen vier Vierteln beprobt werden, ein Tier verfügte lediglich noch über 2 laktierende Euterviertel, die ebenfalls beprobt wurden.
In 3 Milchproben konnten keine Keime nachgewiesen werden, in 47 Milchproben lagen Keime in Reinkultur und in 45 Proben annähernd in Reinkultur vor. 116 Milchproben enthielten eine deutliche Mischflora.

Tab 4.5: Reinheit der isolierten Keimflora in den Milchproben

	Klinischer Befund			
Nachweis in Anzahl Milchproben	Klinische Mastitis	erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	Kontrollgruppe	Gesamt
keine Keime	3	0	0	3
Reinkultur	25	21	1	47
annähernd Reinkultur	26	15	4	45
deutliche Mischflora	53	46	17	116
Gesamt	107	82	22	211

In 25 Milchproben wurde S.uberis nachgewiesen (Tab. 4.6). 18 der Milchproben stammten von Tieren der Gruppe „Klinische Mastitis“, 2 Proben davon enthielten 11-100 KbE/0,1ml Milch, 16 Proben mehr als 100 KbE/0,1ml Milch. Die übrigen 7 Milchproben stammten von Tieren der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“. Eine Milchprobe enthielt 1-10 KbE/0,1ml Milch, 1 Probe 11-100 KbE/0,1ml Milch und 5 Proben mehr als 100 KbE/0,1ml Milch.

Tab. 4.6: Auftreten von S.uberis in den Milchproben

		Klinischer Befund			
	KbE (in 0,1ml Milch)	Klinische Mastitis	erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	Kontrollgruppe	Gesamt
S.uberis	1-10	0	1	0	1
	11-100	2	1	0	3
	>100	16	5	0	21
Gesamt		18	7	0	25

S.dysgalactiae (ursprüngliche „Spezies“ S.dysgalactiae, siehe 2.2.2.1) wurde in insgesamt 7 Milchproben nachgewiesen (Tab. 4.7). Alle 5 Proben, die von Tieren mit klinischer Mastitis stammten, enthielten mehr als 100 KbE/0,1ml Milch. Die 2 übrigen Proben waren von Tieren der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ genommen worden. Eine Milchprobe enthielt 1-10 KbE/0,1ml Milch, die andere mehr als 100 KbE/0,1ml Milch.

Tab. 4.7: Auftreten von S.dysgalactiae (ursprüngliche „Spezies“ S.dysgalactiae, siehe 2.2.2.1) in den Milchproben

		Klinischer Befund			
	KbE (in 0,1ml Milch)	Klinische Mastitis	erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	Kontrollgruppe	Gesamt
S.dysgalactiae	1-10	0	1	0	1
	11-100	0	0	0	0
	>100	5	1	0	6
Gesamt		5	2	0	7

S. agalactiae konnte nur in einer einzigen Milchprobe nachgewiesen werden (Tab. 4.8). Diese stammte von einem Rind mit klinischer Mastitis und enthielt mehr als 100 KbE/0,1ml Milch.

Tab. 4.8: Auftreten von S.agalactiae in den Milchproben

		Klinischer Befund			
	KbE (in 0,1ml Milch)	Klinische Mastitis	erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	Kontrollgruppe	Gesamt
S.agalactiae	1-10	0	0	0	0
	11-100	0	0	0	0
	>100	1	0	0	1
Gesamt		1	0	0	1

Auch Enterococcus wurde nur aus einer Milchprobe von einem Rind aus der Gruppe „Klinische Mastitis“ isoliert (Tab. 4.9). Diese Probe enthielt mehr als 100 KbE/0,1ml Milch.

Tab. 4.9: Auftreten von Enterococcus in den Milchproben

		Klinischer Befund			
	KbE (in 0,1ml Milch)	Klinische Mastitis	erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	Kontrollgruppe	Gesamt
Enterococcus	1-10	0	0	0	0
	11-100	0	0	0	0
	>100	1	0	0	1
Gesamt		1	0	0	1

In einer Milchprobe von einem Tier mit klinischer Mastitis wurde Streptococcus, Enterococcus oder Lactococcus in einer Konzentration von 11-100 KbE/0,1ml Milch nachgewiesen (Tab. 4.10).

Tab. 4.10: Auftreten von Streptococcus, Enterococcus oder Lactococcus in den Milchproben

		Klinischer Befund			
	KbE (in 0,1ml Milch)	Klinische Mastitis	erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	Kontrollgruppe	Gesamt
ScEcLc	1-10	0	0	0	0
	11-100	1	0	0	1
	>100	0	0	0	0
Gesamt		1	0	0	1

St.aureus wurde aus insgesamt 36 Milchproben isoliert (Tab. 4.11). 16 dieser Proben stammten von Tieren mit klinischer Mastitis, wovon 9 Proben wiederum mehr als 100 KbE/0,1ml Milch enthielten. Die übrigen 20 Proben waren Tieren mit erhöhter Milchzellzahl ohne klinische Mastitis zuzuordnen, wobei 16 dieser Milchproben ebenfalls mehr als 100 KbE/0,1ml Milch enthielten.

Tab. 4.11: Auftreten von St.aureus in den Milchproben

		Klinischer Befund			
	KbE (in 0,1ml Milch)	Klinische Mastitis	erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	Kontrollgruppe	Gesamt
St.aureus	1-10	3	1	0	4
	11-100	4	3	0	7
	>100	9	16	0	25
Gesamt		16	20	0	36

Andere Staphylokokken als St.aureus wurden in 64 Proben nachgewiesen (Tab. 4.12). 10 der 22 Proben von Tieren mit klinischer Mastitis enthielten mehr als 100 KbE/0,1ml Milch. Von den 29 Milchproben, die von Tieren der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ stammten, enthielten 9 ebenfalls mehr als 100 KbE/0,1ml Milch, genauso wie 5 der 13 Proben, die von Kontrolltieren genommen worden waren.

Tab. 4.12: Auftreten von anderen Staphylokokken als St.aureus in den Milchproben

		Klinischer Befund			
	KbE (in 0,1ml Milch)	Klinische Mastitis	erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	Kontrollgruppe	Gesamt
Staphylococcus*	1-10	4	10	0	14
	11-100	8	10	8	26
	>100	10	9	5	24
Gesamt		22	29	13	64

Nur in einer Milchprobe konnten Mikrokokken nachgewiesen werden (Tab. 4.13). Diese Probe war einem Rind aus der Gruppe „Klinische Mastitis“ zuzuordnen und enthielt mehr als 100 KbE/0,1ml Milch.

Tab. 4.13: Auftreten von Micrococcus in den Milchproben

		Klinischer Befund			
	KbE (in 0,1ml Milch)	Klinische Mastitis	erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	Kontrollgruppe	Gesamt
Micrococcus	1-10	0	0	0	0
	11-100	0	0	0	0
	>100	1	0	0	1
Gesamt		1	0	0	1

Enterobacteriaceae wurden ausschließlich aus Milchproben von Tieren mit klinischer Mastitis isoliert (Tab. 4.14). Von den 6 Proben enthielten 3 Proben 11-100 KbE/0,1ml Milch, die 3 übrigen mehr als 100 KbE/0,1ml Milch.

Tab. 4.14: Auftreten von Enterobacteriaceae in den Milchproben

		Klinischer Befund			
	KbE (in 0,1ml Milch)	Klinische Mastitis	erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	Kontrollgruppe	Gesamt
Enterobacteriaceae	1-10	0	0	0	0
	11-100	3	0	0	3
	>100	3	0	0	3
Gesamt		6	0	0	6

Auch alle 10 Milchproben, in denen A.pyogenes nachgewiesen werden konnte, stammten von Tieren der Gruppe „Klinische Mastitis“ (Tab. 4.15). 7 dieser Proben enthielten mehr als 100 KbE/0,1ml Milch.

Tab. 4.15: Auftreten von A.pyogenes in den Milchproben

		Klinischer Befund			
	KbE (in 0,1ml Milch)	Klinische Mastitis	erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	Kontrollgruppe	Gesamt
A.pyogenes	1-10	1	0	0	1
	11-100	2	0	0	2
	>100	7	0	0	7
Gesamt		10	0	0	10

C.bovis wurde in Milchproben aller 3 Gruppen nachgewiesen (Tab. 4.16). 16 der 52 Proben stammten dabei von Tieren mit klinischer Mastitis, 30 von Tieren aus der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ und 6 Proben von Tieren der Kontrollgruppe.

Tab. 4.16: Auftreten von C.bovis in den Milchproben

		Klinischer Befund			
	KbE (in 0,1ml Milch)	Klinische Mastitis	erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	Kontrollgruppe	Gesamt
V.a. C.bovis	1-10	0	0	0	0
	11-100	7	22	1	30
	>100	9	8	5	22
Gesamt		16	30	6	52

Sporenbildner konnten nur aus einer Milchprobe isoliert werden (Tab. 4.17). Diese Probe stammte von einem Tier mit klinischer Mastitis und enthielt mehr als 100 KbE/0,1ml Milch.

Tab. 4.17: Auftreten von Sporenbildnern in den Milchproben

		Klinischer Befund			
	KbE (in 0,1ml Milch)	Klinische Mastitis	erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	Kontrollgruppe	Gesamt
Sporenbildner	1-10	0	0	0	0
	11-100	0	0	0	0
	>100	1	0	0	1
Gesamt		1	0	0	1

Aus 5 Milchproben konnten Mikroorganismen isoliert werden, bei denen es sich vermutlich um Pilze handelte (Tab. 4.18). In allen Proben lag die Keimzahl bei mehr als 100 KbE/0,1ml Milch. 3 Proben stammten von Tieren mit klinischer Mastitis, 2 Milchproben von Tieren mit erhöhter Milchzellzahl ohne klinische Mastitis.

Tab. 4.18: Auftreten von Pilzen in den Milchproben

		Klinischer Befund			
	KbE (in 0,1ml Milch)	Klinische Mastitis	erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	Kontrollgruppe	Gesamt
V.a. Pilze	1-10	0	0	0	0
	11-100	0	0	0	0
	>100	3	2	0	5
Gesamt		3	2	0	5

4.2.2 Gesamtkeimzahl in den Gewebeproben

4.2.2.1 Gesamtkeimzahl im Eutergewebe

Bei Tieren der Gruppe „Klinische Mastitis“ lag der Median der GKZ im Eutergewebe bei log 3,12 KbE/g, das Minimum bei log 1,52 und das Maximum bei log 6,58 KbE/g Eutergewebe. Bei Tieren der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ lag der Median bei log 1,46, die minimale GKZ bei log 0,62, die maximale bei log 3,74 KbE/g Gewebe. Bei den Tieren der Kontrollgruppe betrug der Median log 1,40, das Minimum log 0,47 und das Maximum log 2,62 KbE/g Eutergewebe. Damit war die durchschnittliche Gesamtkeimzahl aller 4 Euterviertel bei den Tieren der Gruppe „Klinische Mastitis“ signifikant höher als bei den Tieren der beiden anderen Gruppen (Abb. 4.5; Anhang, Tab. 18-21) (p=0,000; p=0,001). Der Vergleich der durchschnittlichen Gesamtkeimzahl zwischen den Tieren der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ und der Kontrollgruppe erbrachte keine statistisch gesicherten Unterschiede.

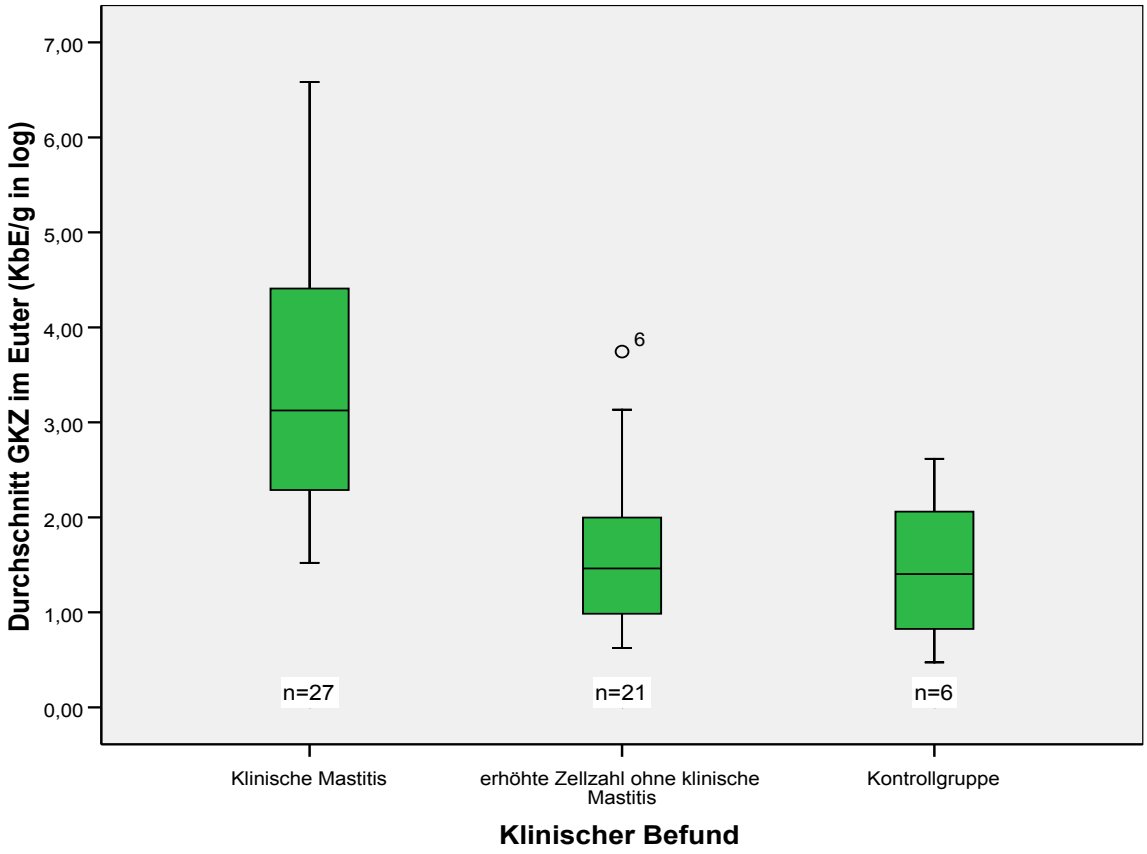


Abb. 4.5: Durchschnittliche Gesamtkeimzahl aller 4 Euterviertel und klinischer Befund

Der Vergleich der Gesamtkeimzahlen der jeweils mit der höchsten Keimzahl belasteten Euterviertel jeden Tieres erbrachte vergleichbare Ergebnisse (Abb. 4.6) (p=0,000; p=0,000). Hier betrug der Median bei den Tieren mit klinischer Mastitis log 5,15, das Minimum log 2,52 und das Maximum log 6,78 KbE/g Eutergewebe. Für die Rinder mit erhöhter Milchzellzahl ohne klinische Mastitis lag der Median bei log 2,15, die minimale, nachgewiesene GKZ bei log 0,70 und die maximale GKZ bei log 5,72 KbE/g, für die Tiere der Kontrollgruppe lag der Median bei log 1,62, die minimale GKZ bei log 0,70, die maximale GKZ bei log 3,26 KbE/g.

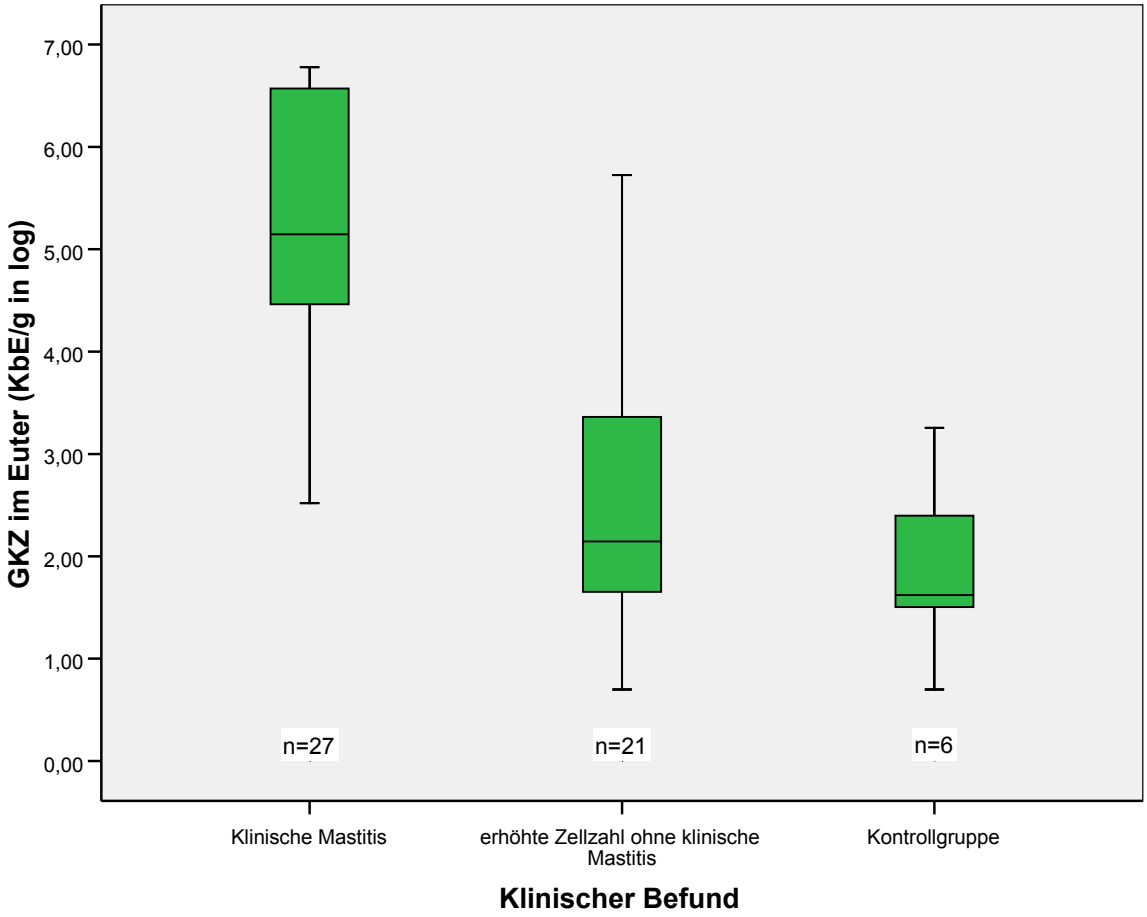


Abb. 4.6: Zusammenhang zwischen der GKZ in dem Euterviertel mit der höchsten Keimzahl jedes Tieres und dem klinischen Befund

4.2.2.2 Gesamtkeimzahl der Gewebe Muskulatur und Lymphknoten

Bei den Rindern mit klinischer Mastitis lag der Median der GKZ der Muskulatur bei log 0,70, das Minimum bei log 0,40 und das Maximum bei log 2,90 KbE/g Muskuelgewebe. Für die Tiere der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ betrugen Median und Minimum jeweils log 0,40, das Maximum log 2,45 KbE/g. Bei den Kontrolltieren lagen alle ermittelten Gesamtkeimzahlen der Muskulatur einheitlich bei log 0,40 KbE/g, damit auch Median, Minimum und Maximum. Zwischen den Tieren der 3 Gruppen konnte kein statistisch belegbarer Unterschied der Gesamtkeimzahl in der Muskulatur festgestellt werden (Abb. 4.7; Anhang, Tab. 22).

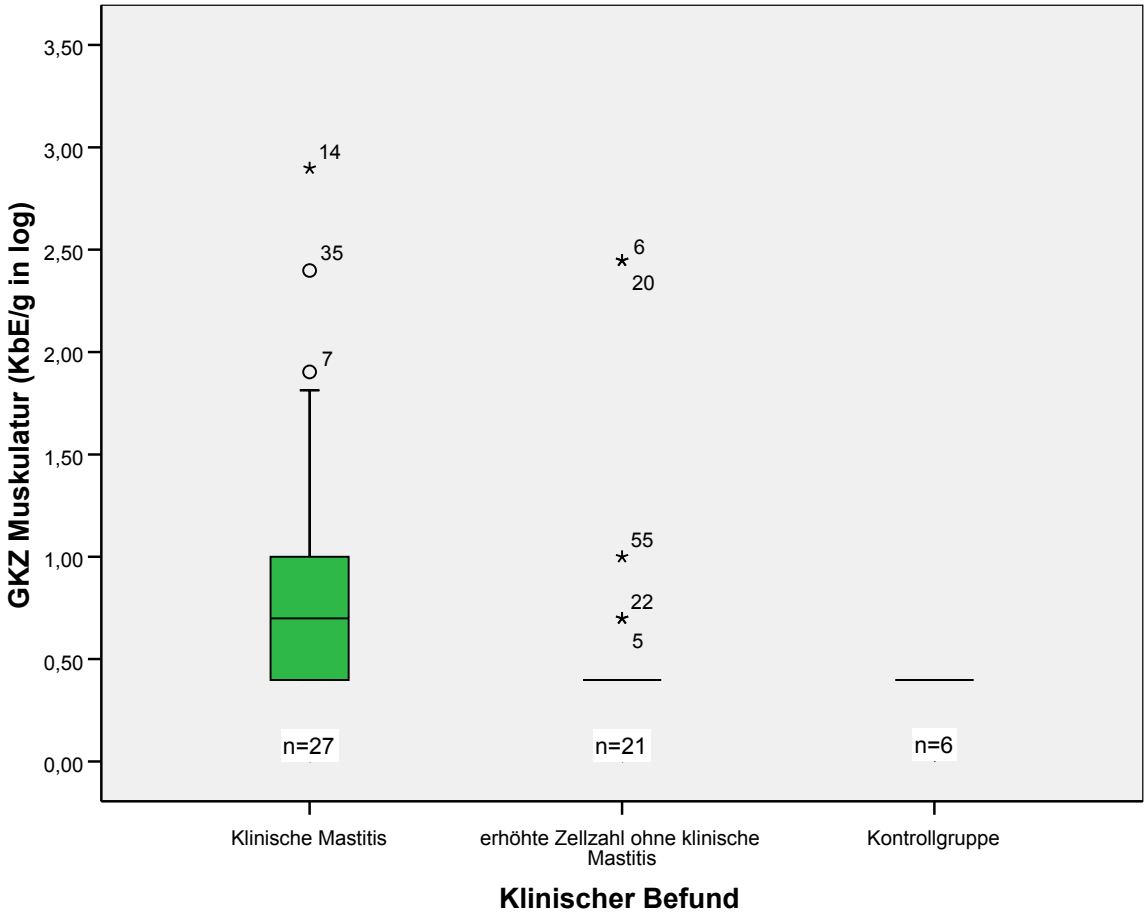


Abb. 4.7: Gesamtkeimzahl in der Muskulatur und klinischer Befund

Auch die Gesamtkeimzahl im Lymphknoten wies keine statistisch gesicherten Unterschiede zwischen den Gruppen auf (Abb. 4.8; Anhang, Tab. 23). Hier betrug der Median für die Rinder mit klinischer Mastitis log 1,00, das Minimum log 0,40 und das Maximum log 3,81 KbE/g Lymphknoten. Bei den Rindern mit erhöhter Milchzellzahl ohne klinische Mastitis lagen Median und Minimum bei log 0,40, das Maximum bei log 1,98 KbE/g. Die GKZ in den Lymphknoten der Kontrolltiere wiesen einen Median von log 1,10, einen minimalen Wert von log 0,40 und einen Maximalwert von log 3,15 KbE/g Lymphknoten auf.

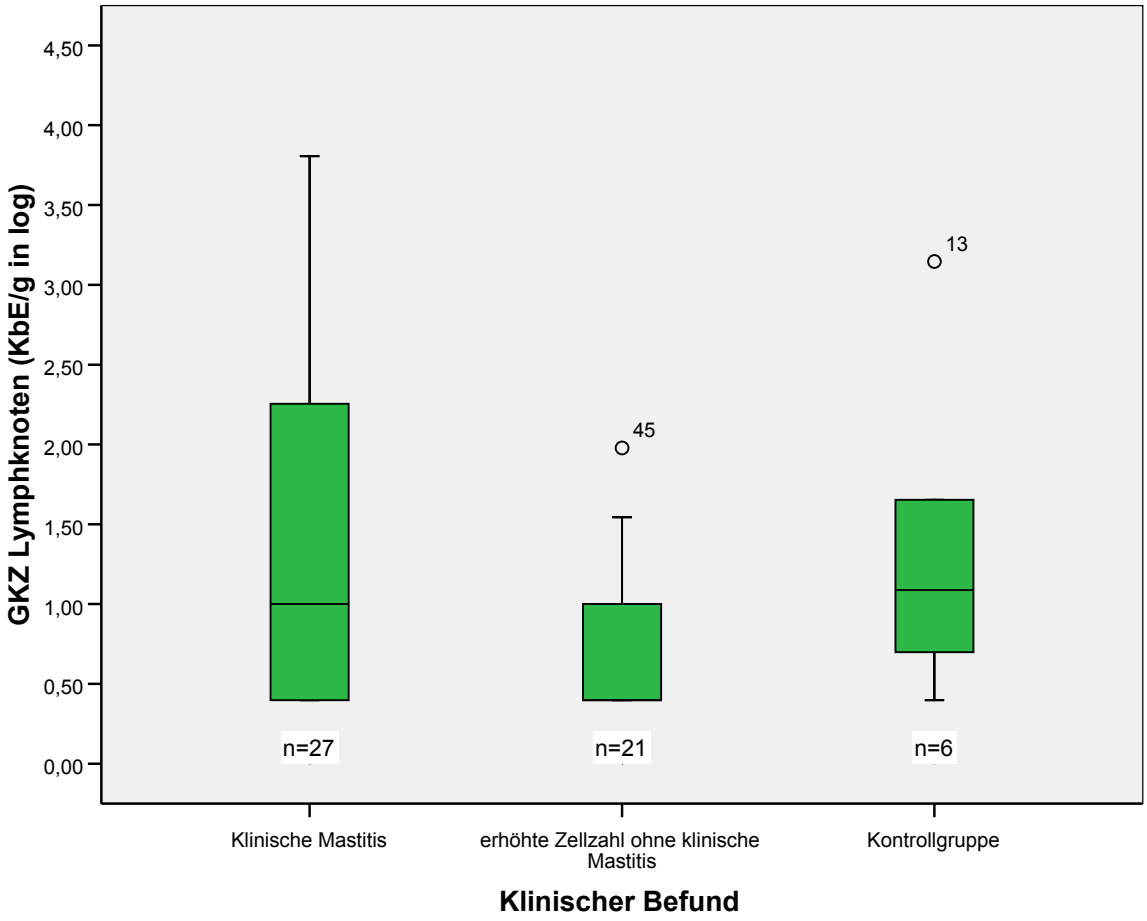


Abb. 4.8: Gesamtkeimzahl im Lymphknoten und klinischer Befund

4.2.3 Ergebnisse der taxonomischen Differenzierung der Bakterien

4.2.3.1 Nachgewiesenes Keimspektrum

In den untersuchten Milch- und Gewebeproben konnten vor allem grampositive Keimflora, aber auch (gramnegative) Enterobacteriaceae und einige mittels der angewandten Labormethoden nicht näher differenzierbare Keime nachgewiesen werden (Tab. 4.19; Tab. 2-15, Anhang Teil 3)

Tab. 4.19: Nachgewiesene Keime in den Milch- und Gewebeproben

Taxon	**Klinische Mastitis**	**erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis**	**Kontrollgruppe**	**Gesamt**
	Anzahl Tiere mit Vorkommen in Milch und / oder Gewebe			
S.uberis	17	6	1	24
S.dysgalactiae (ursprüngliche „Spezies“ S.dysgalactiae, siehe 2.2.2.1)	6	1	0	7
S.agalactiae	1	0	1	2
Enterococcus	2	2	0	4
Streptococcus, Enterococcus oder Lactococcus(1)	5	2	0	7
St.aureus	9	12	0	21
Staphylococcus (andere als St.aureus)	16	16	6	38
Micrococcus	4	2	1	7
A.pyogenes	7	2	2	11
C.bovis	10	15	4	29
Aerobe Sporenbildner	3	0	0	3
Enterobacteriaceae	11	2	2	15
V.a. Pilze	4	4	0	8
Andere(2)	7	11	3	21

(1) mittels der angewandten Labormethoden nicht weiter differenzierbare Stämme
(2) Isolierung nur aus Gewebeproben

4.2.3.2 Mikrobiologische Übereinstimmung in Euter und Muskulatur bzw. Lymphknoten

Bei einem Tier, welches der Gruppe „Klinische Mastitis“ zugeordnet war, wurde eine Übereinstimmung zwischen dem Keimspektrum in Euter und Muskulatur nachgewiesen (Tab. 4.20; Tab.16, Anhang Teil 3). Sowohl A.pyogenes als auch Enterobacteriaceae waren bei diesem Tier in mindestens einem Euterviertel, der Muskulatur sowie zusätzlich noch im Lymphknoten nachweisbar.

Tab. 4.20: Übereinstimmung der Keimflora in Euter, Muskulatur und Lymphknoten bei Kuh 14

Kuh 14	KbE/g in log	**Euter**				**Muskulatur**	**Lymph-knoten**
		VL	**VR**	**HL**	**HR**		
	A.pyogenes	n.n.	4,3	5,7	7,78(1)	2,18	3,08
	Enterobacteriaceae	n.n.	2,38	n.n.	n.n.	2,54	2,15

(1) : doppelte oberste Nachweisgrenze
n.n.: nicht nachgewiesen

Eine Übereinstimmung des Keimspektrums in Eutergewebe und Lymphknoten wurde in den Proben von 11 Tieren nachgewiesen (Tab. 4.21; Tab.17, Anhang Teil 3). Dabei handelte es sich um 10 Tiere mit klinischer Mastitis und ein Kontrolltier. Ein Tier wies Enterobacteriaceae und S.uberis, ein Tier Enterobacteriaceae und A.pyogenes sowie ein Tier St.aureus und S.uberis in Euter- und Lymphknotenprobe auf.

Tab. 4.21.: Übereinstimmung der Keimflora in mindestens einem Euterviertel und dem Lymphknoten

Taxon	**Anzahl Tiere**
S.uberis	5
St.aureus	1
Enterobacteriaceae	3
A.pyogenes	5

5 Diskussion

5.1 Material und Methoden

5.1.1 Datenerhebung

Eine sehr begrenzte Anzahl an Autoren hat sich bisher mit dem Zusammenhang zwischen Mastitis bei Milchkühen und dem Keimgehalt des Gewebes dieser Tiere beschäftigt. Die Diagnose „Mastitis“ wurde dabei entweder erst anhand der Befunde am Schlachthof selbst gestellt (SCHWEIGHARDT et al. 1993; DAHL et al. 2006; WEISSER 1979), oder aber es wurden Tiere mit schwerer klinischer Mastitis untersucht (SZÁZADOS 1971; SZÁZADOS 1972).

In dieser Arbeit wurden die Daten der klinischen Untersuchung der Tiere inklusive des SCHALM-Tests noch im Herkunftsbetrieb für die Diagnosestellung „Mastitis“ zu Grunde gelegt. Durch Verwendung des SCHALM-Tests konnten auch Tiere mit Sekretionsstörung und subklinischer Mastitis erkannt und von den eutergesunden Tieren der Kontrollgruppe unterschieden werden. Kühe mit dauerhaft hohen Zellzahlen, landläufig auch „Zellzahlmillionäre“ genannt, werden in einer nicht zu vernachlässigenden Anzahl der Schlachtung zugeführt, da die Anzahl somatischer Zellen in der Tank- bzw. Rohmilch sonst leicht rechtlich festgelegte Grenzwerte überschreiten kann (VO (EG) Nr. 853/2004). Entsprechende Sanktionen sollen so vermieden werden. Eine klinische Untersuchung des Euters wird auf dem Schlachthof in der Regel routinemäßig nicht durchgeführt. Ohne klinische Euteruntersuchung und SCHALM-Test ist jedoch eine praxistaugliche Beurteilung der Eutergesundheit kaum möglich. Hätte man sich also bei dieser Arbeit auf die Diagnosestellung „Mastitis“ im Schlachthof beschränkt, wären nur Tiere mit deutlicher klinischer Mastitis berücksichtigt worden. Zudem ergab sich durch das Aufsuchen der Tiere noch im Herkunftsbetrieb die Möglichkeit, weitere Tierdaten, wie Alter der Tiere, Vorbehandlungen und Daten der letzten Milchleistungskontrollen zu erfragen und in die Auswertung einzubeziehen.

Mit der klinischen Untersuchung der Tiere und der Entnahme von Milchproben für die bakteriologische Untersuchung im Herkunftsbetrieb, den von den einzelnen Kühen erfassten Tierdaten, der Probennahme von Euter, Lymphknoten und Muskulatur im Schlachthof und der anschließenden bakteriologischen Untersuchung der Milch- und Gewebeproben im Labor konnte ein umfassendes und auch praktisch fassbares Datenmaterial zu den einzelnen Tieren

zusammengestellt werden. Die Arbeit kann somit als Beitrag zur Lebensmittelkette für Milchkühe angesehen werden.

5.1.2 Vorgehen im Labor

5.1.2.1 Verfahren für den Ansatz der Gewebeproben

Für die Ermittlung der GKZ auf Standard-I-Nähragar wurde das im Gegensatz zum Spatelverfahren aufwendigere Plattengussverfahren eingesetzt. Dies trug der Tatsache Rechung, dass besonders in der Muskulatur mit einer sehr geringen Keimbelastung zu rechnen ist. Das Plattengussverfahren ist bei gleicher Verdünnungsstufe um eine Zehnerpotenz genauer als das Spatelverfahren und erschien daher als eher geeignete Methode. Für die taxonomische Differenzierung der Keime erschien dagegen die Verwendung von Blutplatten unumgänglich. Zum einen stellt gerade bei der Beurteilung vieler Mastitiserreger die Hämolyseform ein charakteristisches Merkmal dar. Zum anderen zeigen bestimmte bedeutsame Erreger wie A.pyogenes und C.bovis auf Standard-I-Nähragar ein nur schwaches oder sogar fehlendes Wachstum. Bei der Verwendung von Blutplatten ist das Plattengussverfahren jedoch nicht praktikabel, da im Agar eingeschlossene Kolonien leicht übersehen werden können und eine makroskopische Differenzierung der Kolonien nicht möglich ist. Auch die saubere Entnahme von Koloniematerial zur Subkultivierung ist nur schwer oder gar nicht durchzuführen. Darum wurde für diesen Ansatz das Spatelverfahren eingesetzt.

5.1.2.2 Erwartetes Keimspektrum

Neben S.uberis, S.agalactiae, S.dysgalactiae (ursprüngliche „Spezies“ S.dysgalactiae, siehe 2.2.2.1), Enterokokken, St.aureus, Koagulase-negativen Staphylokokken, Enterobacteriaceae, A.pyogenes und Hefen, die regelmäßig in Zusammenhang mit der Rindermastitis isoliert werden können, wird auch eine Vielzahl anderer Keime in den Milchproben entzündeter Euterviertel nachgewiesen (BLECKMANN u. HOEDEMAKER 1996; SOBIRAJ et al. 1997; LANGE u. BLECKMANN 1999; MILNE et al. 2002; SCHRÖDER et al. 2005). Um von vornherein eine Fokussierung auf die typischen Mastitiserreger zu vermeiden und somit das

eventuelle Auftreten von weniger typischen Erregern zu ignorieren, wurden die Fließschemata für die Erregerdifferenzierung sehr breit angelegt.

Um Arbeitsaufwand und Kosten bei der Differenzierung gleichzeitig in einem vertretbaren Rahmen zu halten, wurde bei einem großen Teil der isolierten Bakterien-Taxa auf eine Differenzierung bis hin zur Spezies verzichtet. So endete bei den Enterobacteriaceae die Differenzierung auf Stufe der Familie. Die von diesen abzugrenzenden Vertreter der Familie Vibrionaceae zeigen in der Regel optimales Wachstum bei 2-3% NaCl und reagieren meist Oxidase-positiv (BAUMANN a. SCHUBERT 1984). Die wenigen Ausnahmen werden hier in Kauf genommen, so dass mit großer Wahrscheinlichkeit davon auszugehen ist, dass es sich bei allen in dieser Arbeit isolierten, gram- und Oxidase-negativen Stäbchen mit respiratorischem und fermentativen Metabolismus um Enterobacteriaceae handelte. Dafür spricht ebenfalls, dass alle Isolate die gleiche Koloniemorphologie, nämlich ungewöhnlich große, graue und unangenehm riechende Kolonien aufwiesen und Vibrionaceae gemäß vorliegender Literatur bislang nicht im Zusammenhang mit Rindermastitis isoliert wurden. Darum wurde es für vertretbar gehalten, auf weitere Differenzierungsschritte zu verzichten.

Bei den Streptokokken erfolgte aufgrund der großen Bedeutung einiger Streptokokkenspezies bei der Rindermastitis eine Identifizierung von S.agalactiae, S.uberis, S.equi ssp. equi, S.equi ssp. zooepidemicus, S.dysgalactiae biotyp equisimilis, S.canis und S.dysgalactiae Serovar C und G. Bei den Enterokokken wurde auf eine sichere Zuordnung zu Enterococcus für Ec.faecalis, Ec.faecium und Ec.durans Wert gelegt, welche aus Milchproben von Rindern häufig isoliert werden können (WATTS 1988 II; LORENZEN 1968; FRANK 1969; SCHLERKA 1991; Tab. 2.2). Auf eine genaue Identifizierung der Spezies wurde aber verzichtet. Enterokokken, die kein Wachstum bei 10°C, 45°C oder 6,5% NaCl aufwiesen wurden genau wie Laktokokken und die übrigen Streptokokken nicht weiter differenziert und der Gruppe „Streptococcus, Enterococcus oder Lactococcus“ zugeordnet.

Da bei den Staphylokokken vor allem St.aureus als einzelner Spezies bei Mastitis große Bedeutung zukommt (Tabelle 2.1; BLOBEL et al. 1994; BLOBEL 1977; SEFFNER u. BERGMANN 1994), wurde diese Spezies als einzige unter den Staphylokokken exakt differenziert. Alle anderen Staphylokokken wurden lediglich als dem Genus Staphylococcus zugehörig bezeichnet. Eine Zuordnung zu der von vielen Autoren im Zusammenhang mit der Rindermastitis als wichtig erachteten Gruppe der Koagulase-negativen Staphylokokken (MARTIN u. BERGMANN 1993; SEFFNER u. BERGMANN 1994; PERRIN-COULLIOUD et al. 1991; JARP 1991; MATTHEWS et al. 1991; BIRGERSSON et al. 1992) unterblieb. Auf einen generellen Koagulase-Test bei Staphylokokken wurde vor

allem auf Grund der Kosten im Vergleich zum erwarteten Nutzen für die Untersuchungen verzichtet.
Für C.bovis ist die eindeutige biochemische Identifizierung schwierig, da der Keim sehr hohe Ansprüche an das Nährmedium stellt (HARRIGAN 1966; SKERMAN a. JAYNE-WILLIAMS 1966), welche von den gebräuchlichen Medien nicht erfüllt werden können. Darum wurde bei Keimen, die die typische Koloniemorphologie und das typische Bild im Grampräparat aufwiesen, positiv im Katalasetest reagierten sowie nach der ersten Subkultivierung von den Platten mit den Verdünnungsausstrichen bei weiteren Subkultivierungsversuchen kein Wachstum mehr auf Blut- oder Standard-I-Nähragarplatten zeigten, lediglich der Verdacht auf das Vorliegen von C.bovis ausgesprochen. Der Aufwand für die weitere Identifizierung hätte in keinem Verhältnis zur Bedeutung der Ergebnisse gestanden.
Auch bei den Pilzen wurde trotz ihrer Bedeutung für die Rindermastitis (MILNE et al. 2002; WENDT 1994 II; GEDEK 2002; WATTS 1988 II; MORETTI et al. 1998; WILSON 1963) auf eine weitere Identifizierung verzichtet. Dies lag vor allem darin begründet, dass die vorliegenden Untersuchungen auf den bakteriologischen Bereich festgelegt worden waren und das hygienische Risiko der Versporung des nicht auf Pilzdiagnostik spezialisierten Labors vermieden werden sollte. Darum wurden bei einem für Pilze typischen Bild im Grampräparat weitere Untersuchungen unterlassen und lediglich der Verdacht auf das Vorliegen von Pilzen aufgestellt.

5.1.2.3 Auswahl der Differenzierungsmethoden

Bei der Auswahl der Differenzierungsmethoden und der Erstellung der Fließschemata für die taxonomische Differenzierung der Keime wurde angestrebt, bei möglichst geringem Arbeitsaufwand und vertretbaren Kosten ein breites Spektrum an Bakterien möglichst sicher zu identifizieren. Vor diesem Hintergrund wurde allein mit den klassischen mikrobiologischen Methoden gearbeitet.

Besonders für die Differenzierung der bei Rindermastitis häufig isolierten Streptokokken (BLECKMANN, HOEDEMAKER 1996; SOBIRAJ et al. 1997; LANGE, BLECKMANN 1999; MILNE et al. 2002; SCHRÖDER et al. 2005) wurde eine sehr ausgiebige Literaturrecherche zugrunde gelegt. Die Bestimmung der Lancefield-Gruppen mittels

Latexagglutination erschien gerade für die Identifizierung typischer Mastitisstreptokokken eine geeignete und relativ zuverlässige Methode darzustellen, da viele dieser Keime den Lancefield-Gruppen B, C, D und G angehören (POUTREL 1983; INZANA u. IRITANI 1989; HOGAN et al. 1988; MARX 1985). Mit vertretbarem Aufwand ist mittels eines kommerziell erhältlichen Testkits eine Zuordnung zu den Lancefield-Gruppen A, B, C, D und G möglich. Die genaue Spezies-Identifizierung beziehungsweise –Absicherung erfolgte über einige Tests zum Metabolismus beziehungsweise Wachstumsverhalten der Keime. Eine sichere Spezies-Identifizierung allein über den Metabolismus hätte einen deutlich größeren Arbeits- und Materialaufwand bei einer sehr großen Anzahl von Tests bedeutet.

Tab. 5.1: Übersicht über die Abweichungen der Vorgehensweise bei vorliegender Arbeit von den Empfehlungen der OXOID-Produktinformation (2005)

		bei vorliegender Arbeit	**laut OXOID-Produkt-information 2005**
mittels Latexagglutination Test auf Lancefield-Gruppe	**B, D**	alle Streptokokken	alle Streptokokken
	C, G	alle Streptokokken*	ausschließlich β-hämolysierende Streptokokken
Vorgehen bei Stämmen, die mittels Latexagglutination keiner der Lancefield-Gruppen B, D, C und G zuzuordnen sind		weitere Tests auf Wachstums-verhalten und Metabolismus	

* basierend auf den Untersuchungen von POUTREL (1983); INZANA u. IRITANI (1989)

Anders als in der Oxoid-Produktinformation (Stand Juli 2005) empfohlen, wurde der Test bei unseren Untersuchungen auf die Lancefield-Gruppen A, C und G nicht auf β–hämolysierende Streptokokken-Stämme beschränkt, sondern ebenso wie beim Test auf die Gruppen B und D unabhängig von der Hämolyse-Form durchgeführt (siehe Tab. 5.1). Beweggrund dafür war vor allem die Untersuchung von POUTREL (1983), bei der mittels Latexagglutination über 94% der (nicht-β-hämolysierenden) S.dysgalactiae-Stämme der Serogruppe C zugeordnet werden konnten. Aber auch INZANA u. IRITANI (1989) konnten für immerhin noch 25% der S.dysgalactiae-Stämme die Lancefield-Gruppe C durch Latex-Agglutination ermitteln. INZANA u. IRITANI (1989) geben die Zugehörigkeit einiger S.dysgalactiae-Stämme zu anderen Serogruppen als der Gruppe C als mögliche Begründung für den hohen Anteil mittels Latexagglutination nicht identifizierbarer S.dysgalactiae-Stämme an. Würde man dem folgen und außerdem bedenken, dass die nicht der Lancefield-

Gruppe C zugehörigen S.dysgalactiae-Stämme S.dysgalactiae Serovar L nur selten (DEVRIESE 1991) und S.dysgalactiae Serovar G noch gar nicht (DEVRIESE 1991; LÄMMLER u. HAHN 1994) im Zusammenhang mit Rindermastitis isoliert werden konnten, kann davon ausgegangen werden, dass die aus Milchproben isolierten S.dysgalactiae-Stämme zu deutlich über 25% mittels Latexagglutination der Lancefield-Gruppe C zuzuordnen sind. Um trotzdem nicht außer Acht zu lassen, dass einige S.dysgalactiae „Serovar C"-Stämme unter Umständen nicht mittels Latexagglutination ihrer Lancefield-Gruppe zuzuordnen sein könnten, wurden alle mittels Latexagglutination nicht klassifizierbaren Streptokokken/Enterokokken/Laktokokken mittels einer überschaubaren Anzahl von Tests zum Metabolismus beziehungsweise Wachstumsverhalten der Keime gezielt daraufhin untersucht, ob es sich um S.dysgalactiae „Serovar C" handelte. Ebenso gezielt wurde auf die für Rindermastitis relevanten Enterokokken untersucht, da diese im Latexagglutinations-Test nicht sicher oder nur schwach reagieren (POUTREL 1983; OXOID-Produktinformation Stand Juli 2005) und auf S.uberis, der kein einheitliches Gruppenantigen besitzt (KHAN et al. 2003; HARDIE 1986 II; LÄMMLER u. HAHN 1994).

Auf den zur Identifizierung von S.agalactiae häufig eingesetzten CAMP-Test wurde bei der vorliegenden Arbeit verzichtet. Zwar geben viele Autoren den CAMP-Test als sicheres Diagnosekriterium an (LÄMMLER u. HAHN 1994; HEJLIČEK 1994 I; ZSCHÖCK u. FEHLINGS 2000), BANZHAF u. WALSER (1988), REMMERS (1975), HELLMANN et al. (1971), STÖPPLER u. HARR (1977), MARX (1985) und KUNTER (1988) fanden jedoch eine negative CAMP-Reaktion von S.agalactiae bzw. B-Streptokokken, die je nach Untersuchung 2,1% bis 25% (Werte aus Text berechnet) der getesteten Stämme betraf. Auf der anderen Seite konnten zudem auch positive CAMP-Reaktionen bei Streptokokken festgestellt werden, die nicht der Serogruppe B angehörten (REMMERS 1975; MARX 1985; HELLMANN et al. 1971; KUNTER 1988). Ihr Anteil betrug je nach Lancefield-Gruppe und Untersuchung bis zu 52,2% (REMMERS 1975). Diese Ergebnisse legten eine zu große Fehlerquote bei der Identifizierung von S.agalactiae mittels des CAMP-Tests nahe. Die Identifizierung von S.agalactiae mittels Zuordnung zur Lancefield-Gruppe B und anschließender Verifizierung durch Nachweis der fehlenden Fähigkeit zur Äskulinhydrolyse und zur Säurebildung aus Mannit schien eine deutlich sicherere Methode darzustellen und damit geeigneter zu sein (LÄMMLER u. HAHN 1994; STÖPPLER u. HARR 1977).

5.1.2.4 Milchproben

Bei den Milchproben wurde vom Vorgehen bei den Gewebeproben abgewichen.
Anders als bei den Gewebeproben war ein sofortiger Transport der in Mecklenburg-Vorpommern frisch entnommenen Proben in das Labor in Berlin aus zeitlichen, praktischen und Kostengründen nicht möglich. Dies lag zum einen daran, dass die Proben aufgrund des Ablaufs im landwirtschaftlichen Betrieb teilweise am Tag vor, oder auch wenige Stunden vor dem Transport auf den Schlachthof entnommen werden konnten. Eine Abholung der Proben am Vortag der Schlachtung hätte eine weitere, kosten- und zeitaufwendige Fahrt bedeutet, eine Abholung am Tag der Schlachtung hätte vor dem Schlachthofbesuch oft das Risiko bedeutet, nicht rechtzeitig zur Gewebeprobenentnahme anzukommen. Ein Verschicken der Milchproben auf dem Postweg erschien ebenfalls als nicht geeignet. Aufgrund der in den verschiedenen Jahreszeiten sehr variablen Außentemperaturen konnten so keine standardisierten Transportbedingungen gewährleistet werden. Darum wurde entschieden, die Proben direkt nach Probenentnahme vor Ort einzufrieren, um so Transport und Untersuchung flexibler gestalten zu können.
Auch wurde bei den Milchproben auf eine genaue Bestimmung der GKZ verzichtet. Zum einen war das Milchsekret gerade bei Tieren mit schwerer, klinischer Mastitis häufig sehr inhomogen und eine ausreichende Durchmischung nicht möglich. Zum anderen war eine gewisse Änderung der GKZ durch den Gefrier- und Auftauprozess nicht ausgeschlossen. Darum erschien es sinnvoller und für die vorliegende Untersuchung ausreichend aussagekräftig, den Keimgehalt in 4 Gruppen (0 KbE/0,1 ml; 1-10 KbE/0,1 ml; 11-100 KbE/0,1 ml und >100 KbE/0,1 ml Milch) anzugeben.
Aus den Milchproben wurde eine Untersuchung nur auf die typischen zu erwartenden Mastitiserreger durchgeführt. Dies lag darin begründet, dass beim Ansatz von Milchproben häufig eine große Begleitflora feststellbar ist. Diese Kolonien einzeln zu subkultiviern und identifizieren, hätte einen zu hohen Material- und Zeitaufwand bedeutet.

5.1.2.5 Qualitätssicherungsmaßnahmen

Um eine ausreichende Qualität der Nähr- und Testmedien gewährleisten zu können, wurde im Labor nach den langjährig etablierten und bewährten Methoden bei der Herstellung, Lagerung und dem Gebrauch gearbeitet (siehe Kap. 3.3.1; Anhang 1).

Zusätzlich wurde Wert auf einen möglichst standardisierten Umgang mit den Proben gelegt. Jede Probe wurde innerhalb eng festgesteckter Zeitfenster bestimmten Lagerungsbedingungen und Verarbeitungsschritten zugeführt, die jeweils für alle Proben so weit wie möglich identisch waren. Damit lagen für alle Proben vergleichbare Bedingungen vor. Lediglich die beiden großen Gruppen Gewebe- und Milchproben unterlagen dabei zwei verschiedenen Vorgehensweisen.
Der Doppelansatz beim Ansatz der einzelnen Proben erlaubte eine präzisere Bestimmung der GKZ im Vergleich zum Ansatz nur einer Platte und stellte zudem eine Absicherung der Ergebnisse da, wenn einzelne Platten sich trotz der internen Qualitätssicherung als kontaminiert herausstellten.

5.2 Ergebnisse

5.2.1 Unterschiede zwischen den Gruppen im Vorbericht

Wie erwartet, gab es zwischen den 3 Gruppen „Klinische Mastitis“, „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ und „Kontrolltiere“ deutliche Unterschiede bezüglich der jeweiligen Schlachtgründe (Tab. 4.2; Tab. 4.3). Bei 47 von 54 Tieren stimmte das Ergebnis der klinischen Untersuchung mit dem angegebenen Schlachtgrund überein. Davon abweichend wiesen 3 Tiere, die wegen erhöhter Milchzellzahlen zur Schlachtung gelangt waren, eine klinische Mastitis auf. 4 Tiere, die in Anlehnung an den Schlachtgrund (in 3 Fällen Zuchtuntauglichkeit und in einem Fall BHV1-Sanierung) der Kontrollgruppe hätten zugerechnet werden müssen, wurden nach dem klinischen Befund und demzufolge auch in vorliegender Arbeit der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ zugeordnet. Daraus wird ersichtlich, dass in größeren Milchviehbetrieben Abweichungen in der Eutergesundheit, sowohl in Form klinischer Mastitis als auch Zellzahlerhöhung, nicht immer erkannt werden.
In Bezug auf Arzneimittelbehandlungen im Zeitraum vor der Schlachtung lagen zu 10 Tieren keine Angaben vor. Ausschließlich für Tiere aus der Gruppe „Klinische Mastitis“ wurde eine Arzneimittelbehandlung im Zeitraum vor der Schlachtung dokumentiert. Dabei handelte es sich in 10 von 13 Fällen um antibiotische Behandlungen. Offen bleibt, warum für 9 Tiere mit klinischer Mastitis sowie 17 Tiere mit erhöhter Zellzahl ohne klinische Mastitis ein Behandlungsversuch unterblieb. Sicherlich wird die Entscheidung, ob ein

Behandlungsversuch unternommen wird, stark von den individuellen Erfahrungen in einem Betrieb abhängig gemacht. Auch wird der mögliche Schlachterlös ggf. mit in die Überlegungen einbezogen worden sein. Viele der häufig isolierten Mastitiserreger, wie S.uberis (LÄMMLER u. HAHN 1994), S.dysgalactiae (ursprüngliche „Spezies“ S.dysgalactiae, siehe 2.2.2.1) (HEJLIČEK 1994 I), St.aureus (FOX u. GAY 1993) und KNS (MARTIN u. BERGMANN 1993; SEFFNER u. BERGMANN 1994) verursachen häufig auch subklinische Mastitiden. Tiere mit subklinischer Mastitis fallen einzig und allein durch eine Erhöhung des Zellgehalts in der Milch auf, sie wurden daher in der vorliegenden Arbeit der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ zugerechnet. Denkbar ist, dass einige dieser subklinischen Mastitiden durch eine geeignete, durch Antibiogramm abgesicherte Antibiotika-Therapie hätten geheilt werden und die Tiere damit dem Betrieb hätten erhalten bleiben können. Angesichts der hohen Remontierungskosten für eine Milchkuh im Vergleich zu möglichen Behandlungskosten ist dies ein wirtschaftlicher Faktor, der mehr bedacht werden sollte.

Das Alter der Tiere in der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ lag signifikant höher als das Alter der Tiere in der Kontrollgruppe. Mechanische Belastung durch den Melkvorgang, die Produktion großer Mengen Milch und möglicherweise vorangegangene, teils antibiotisch behandelte klinische Mastitiden sind Faktoren, die auf ein Euter einwirken und sich daher gerade bei ältern Kühen nicht selten als subklinische Mastitis oder Sekretionsstörung bemerkbar machen können.

Ebenso wenig verwundert die Tatsache, dass die Anzahl der Tage der laufenden Laktation bei den Tieren mit klinischer Mastitis signifikant geringer war als bei den Tieren der Gruppe „Zellzahlerhöhung ohne klinische Mastitis“. Zum einen stellt der Beginn einer Laktation für eine Milchkuh eine sehr belastende Phase da. Ein weiterer Faktor ist das Persistieren von bestimmten Mastitiserregern wie S.agalactiae (SELBITZ 2002) während der Trockenstehphase, was sich nach dem Abkalben als klinische Mastitis manifestieren kann.

Die signifikant erhöhte Anzahl somatischer Zellen in der Milch von Tieren der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“ gegenüber den Tieren der Kontrollgruppe erklärt sich daraus, dass dieser Unterschied selbst ein grundlegendes Kriterium bei der Einteilung der Tiere in die einzelnen Gruppen darstellte.

5.2.2 Die nachgewiesenen Keime

5.2.2.1 Nachgewiesenes Keimspektrum

Alle in Tab. 4.19 aufgeführten Keime wurden bei mindestens einem Tier in mindestens einer Gewebe- oder Milchprobe nachgewiesen. Einige dieser Keime traten bei deutlich mehr als der Hälfte aller Tiere, eingeschlossen den Tieren der Kontrollgruppe auf.
Bei den in Milch- und Gewebeproben nachgewiesenen Keimen (siehe Tab. 4.19) handelte es sich um Erreger, die häufiger in Zusammenhang mit Milchproben beziehungsweise Mastitis isoliert werden. Bei 38 Tieren wurden andere Staphylokokken als St.aureus isoliert, gefolgt von C.bovis bei 29 Tieren und S.uberis bei 24 Tieren. Bei jeweils 21 Tieren wurden weitere Keime, hauptsächlich unregelmäßige Stäbchen, und St.aureus nachgewiesen. Es traten auch Formen auf, die mit den hier eingesetzten Fließschemata nicht differenziert werden konnten.
Andere Staphylokokken als St.aureus wurden bei allen 6 Kontrolltieren, St.aureus dagegen bei keinem der Kontrolltiere nachgewiesen. SOBIRAJ et al. (1988) konnten „andere Staphylokokken als St.aureus“ ausschließlich aus gesunden Euterviertel n isolieren, BABA et al. (1980) wiesen Koagulase-negative Staphylokokken in 64% aller untersuchten normalen Milchproben nach. St.aureus wird dagegen hauptsächlich als Verursacher von Sekretionsstörungen (SOBIRAJ et al. 1997; SCHWEIGHARDT et al. 1993; WATTS u. OWENS 1989) oder subklinischen bis schweren klinischen Mastitiden (SOBIRAJ et al. 1988; FOX u. GAY 1993) beschrieben.
Ähnlich wie andere Staphylokokken als St.aureus wurde auch C.bovis aus den Proben der Kontrolltiere isoliert. Auch dies deckt sich mit Literaturangaben, in denen ein relativ häufiges Vorkommen von C.bovis bei klinisch eutergesunden Tieren beschrieben wird (PITKÄLÄ et al. 2004; HELLMANN et al. 1995).
Der Nachweis von A.pyogenes in Euter- und Lymphknoten- bzw. von Enterobacteriaceae in Euterproben bei jeweils 2 Tieren der Kontrollgruppe bedarf einer Interpretation. Weder für A.pyogenes noch Enterobacteriaceae wird in der Literatur der Nachweis in der Milchdrüse eutergesunder Rinder beschrieben. Denkbar ist eine Infektion erst kurz nach klinischer Untersuchung und Entnahme der Milchproben im Herkunftsbetrieb, die sich zum Zeitpunkt der Schlachtung bereits manifestiert haben könnte. Dies hätte zufolge, dass sich das betroffene Tier nach der klinischen Untersuchung als eutergesund darstellt, und in den Milchproben im Gegensatz zu den Gewebeproben weder A.pyogenes noch Enterobacteriaceae nachzuweisen wären.

5.2.2.2 Pathogenes Potential für den Menschen

Viele der nachgewiesenen Keime besitzen humanpathogenes Potential. Ihre tatsächliche Bedeutung ist differenziert zu betrachten.

5.2.2.2.1 Grampositive Kokken

S. uberis (DEDIÉ et al.; 1993 LÄMMLER u. HAHN 1994; FACKLAM 1977) und **S.dysgalactiae** (ursprüngliche „Spezies“ S.dysgalactiae, siehe 2.2.2.1) (DEDIÉ et al. 1993; LÄMMLER u. HAHN 1994) wurden zwar in Einzelfällen als Erreger von Infektionen beim Menschen nachgewiesen, besitzen aber vermutlich keine Bedeutung als Zoonoseerreger. **S.agalactiae** ist zwar ein bedeutender Erreger für schwere Erkrankungen bei Säuglingen (KIELWEIN 1994), seine Bedeutung als Zoonoseerreger mit dem Übertragungsweg über rohe Kuhmilch ist allerdings umstritten (TOLLE 1972; DEVRIESE 1991). Den **Koagulase-negativen Staphylokokken** wird eine zunehmende Bedeutung als Infektionserreger beim Menschen zugeschrieben (BLOBEL et al. 1994; SELBITZ 2002; ENGST et al. 2002), es finden sich in der Literatur aber keine Hinweise zu einer möglichen Bedeutung als Zoonoseerreger. Auch **Laktokokken** sind eher unrelevant (FEHLHABER 2004 I).
Das Auftreten dieser Keime im Gewebe ist unerwünscht, das Risiko für die menschliche Gesundheit dürfte eher gering sein.

Kritischer zu betrachten ist der Nachweis von Enterokokken und St.aureus in für den menschlichen Verzehr vorgesehenem Gewebe.
Für **Enterokokken**, die verschiedene Infektionen beim Menschen (DEDIÉ et al. 1993; HARDIE u. WHILEY 1997), insbesondere auch des Magen-Darm-Trakts (FEHLHABER 2004 I) verursachen können, steht der endgültige Beweis als Verursacher von Lebensmittelinfektionen aus (FEHLHABER 2004 I). Auf jeden Fall kann dies nicht ausgeschlossen werden und sollte auch Beachtung finden, zumal sich Enterokokken häufig als antibiotikaresistent erwiesen haben (HARDIE u. WHILEY 1997; ENGST et al. 2002).
St.aureus besitzt Bedeutung als Zoonoseerreger, kann zwischen Mensch und Tier übertragen werden (SELBITZ 1992) und so zu Infektionen führen (GRINBERG et al. 2004). Daneben tritt St.aureus auch durch Enterotoxinbildung als Verursacher von Lebensmittelvergiftungen in Erscheinung (UNTERMANN 1994; SELBITZ 1992; BÜLTE 2004 I). Allerdings bildet nur

ein kleiner Anteil der mastitisverursachenden St.aureus-Stämme beim Rind Enterotoxine (BLOBEL 1977; BECKER u. MENK 1984; MÜLLER 1996 I). Zudem konnte in keiner der vorliegenden Euterproben ein Gehalt an St.aureus von über 10^3/g nachgewiesen werden. Um Symptome einer Lebensmittelvergiftung auszulösen, wäre dagegen ein Gehalt von wenigstens 10^5-10^6 enterotoxinbildenen St.aureus-Keimen/g Gewebe Voraussetzung (UNTERMANN 1994; SELBITZ 1992; BÜLTE 2004 I; MÜLLER 1996 I). Bei unsachgemäßer Lagerung von Gewebe könnte dieser Wert allerdings schnell erreicht werden.

5.2.2.2.2 Grampositive Stäbchen

C.bovis spielt als Infektionserreger für den Menschen eine geringe Rolle. Seine Beteiligung an humanen Infektionen gilt als fraglich (HELLMANN et al. 1995).
A.pyogenes wurde zwar in Einzelfällen als Erreger von Infektionen beim Menschen nachgewiesen, besitzt aber vermutlich als Zoonoseerreger keine Bedeutung (SELBITZ 1992; SELBITZ 2002; LÄMMLER u. HARTWIGK 1995). Mit A.pyogenes infiziertes Muskelfleisch ist aus lebensmittelhygienischer Sicht sicher unerwünscht, eine Risikoanalyse zur lebensmittelhygienischen Bedeutung von A.pyogenes wäre sinnvoll.

Die Besiedlung von für den menschlichen Verzehr vorgesehenem Gewebe mit aeroben Sporenbildnern besitzt dagegen ein größeres humanpathogenes Potential. Einigen **Bacillus spp.**-Stämmen kommt durch ihre Fähigkeit zur Bildung von Enterotoxinen eine Bedeutung als Verursacher von Lebensmittelvergiftungen beim Menschen zu (SELBITZ 1995; FEHLHABER 2004 II). Zum Auftreten der Symptome wie Durchfall oder Erbrechen (SELBITZ 1995; FEHLHABER 2004 II) muss die Keimkonzentration im Lebensmittel allerdings mindestens einen Wert von 10^5/g erreichen (MÜLLER 1996 I). Diese Konzentration wurde in keiner der beiden Euterproben erreicht, in denen aerobe Sporenbildner festgestellt werden konnten. In einer der beiden Proben konnte allerdings ein Keimgehalt im Bereich 10^4 Keime/g nachgewiesen werden. Auch hier wäre vorstellbar, dass es während der Lagerung oder Verarbeitung zu einer Vermehrung der Keime und daraus resultierend zu einer kritischen Keimkonzentration kommen könnte.

5.2.2.2.3 Gramnegative Stäbchen

Kritisch zu betrachten ist ebenfalls das Auftreten von **Enterobacteriaceae** in für den menschlichen Verzehr vorgesehenem Gewebe.
Zum Nachweis von Enterobacteriaceae in der Muskulatur unterblieb zwar in der vorliegenden Arbeit die weitergehende Differenzierung, jedoch hat das Agens immerhin die Blut-Euter-Schranke durchbrochen. Weiterhin stellt gerade das Rind ein wichtiges Erregerreservoir für E.coli der EHEC-Gruppe dar, welche als einzige E.coli-Stämme Zoonoseerreger darstellen und Bedeutung bei Lebensmittelinfektionen besitzen (SELBITZ 2002). Die Infektionsdosis von <100 Keimen (KRAUSS et al. 1997) wäre bei Kuh Nr.14, dem einzigen Tier mit Übereinstimmung von Keimflora in Euter und Muskelgewebe, schon bei einem Gramm Muskulatur erreicht. Auch andere Enterobacteriaceae-Taxa können unter Umständen, vor allem bei immungeschwächten Personen, zu Infektionen führen (KLEER 2004 I; ENGST et al. 2002). Salmonellen müssen an dieser Stelle jedoch gesondert betrachtet werden. Ihr Auftreten als Mastitiserreger ist zwar ausgesprochen selten (WATTS II), Erwähnung finden müssen sie trotz allem, da es sich um sehr bedeutende Zoonoseerreger handelt (KRAUSS et al. 1997), die zu schwerwiegenden Infektionsverläufen führen können (KRAUSS et al. 1997; SELBITZ 2002).

5.2.3 GKZ im Gewebe

Die GKZ im Euter war bei den Tieren der Gruppe „Klinische Mastitis“ signifikant höher als bei den Tieren der anderen beiden Gruppen (Abb.4.5, Abb. 4.6). In der Muskulatur lag der Median der logarithmierten Werte bei den klinisch an Mastitis erkrankten Tieren zwar mit 0,7 geringfügig höher im Vergleich zu 0,4 KbE/g bei den anderen beiden Gruppen, und auch der logarithmierte Maximalwert überschritt mit 2,9 KbE/g die Maximalwerte der Tiere mit erhöhter Zellzahl ohne klinische Mastitis (2,45 KbE/g) und der Kontrolltiere (0,4 KbE/g) (Abb. 4.7). Jedoch waren diese Unterschiede zwischen den Gruppen bei Median und Maximalwerten statistisch nicht belegbar. Auch bei der GKZ in den Lymphknoten konnte kein statistisch abgesicherter Zusammenhang mit dem klinischen Befund festgestellt werden (Abb. 4.8). Allgemein ließ sich aber bei allen 3 Tiergruppen feststellen, dass die GKZ im Eutergewebe durchschnittlich höher war als im Lymphknoten und die GKZ im Lymphknoten wiederum höher als in der Muskulatur. Es kann aufgrund der Ergebnisse die Aussage

getroffen werden, dass Kühe mit klinischer Mastitis zwar erwartungsgemäß höhere Keimzahlen im Eutergewebe aufwiesen, die Keimbelastung der regionalen Lymphknoten und der Muskulatur dagegen, stellvertretend für andere Gewebe des Tieres, statistisch betrachtet nicht höher ausfiel als bei Rindern ohne klinische Mastitis. Daraus lässt sich ableiten, dass die Blut-Milch-Schranke ein effektives System darstellt, eine Streuung aus einer lokalen Infektion des Euters ins Blutsystem und das umliegende Gewebe abzuwehren.

Ob Mikroorganismen in der Muskulatur von Rindern, die zum Zeitpunkt der Schlachtung für gesund befunden wurden, bei adäquater Untersuchungstechnik nachweisbar sind oder nicht, wird in der Literatur seit vielen Jahren sehr kontrovers diskutiert (AYRES 1955; CORRY 1978; GILL 1979). Viele Autoren konnten in Muskulaturproben solcher Rinder keine Keime nachweisen (RADOUCO-THOMAS et al. 1959; OCKERMAN a. CAHILL 1967; OCKERMAN et al. 1969; BUCKLEY et al. 1976). In anderen Untersuchungen wurden bei einem Teil der Muskelproben Keimzahlen bis zu einer Größenordung von maximal 10^2 (LEPOVETSKY et al. 1953) beziehungsweise 10^3 KbE/g (VANDERZANT a. NICKELSON 1969) nachgewiesen. In der vorliegenden Arbeit lag die Keimzahl in den Muskelproben der nach klinischer Untersuchung für frei von Infektionen befundenen Kontrolltieren in allen 6 Fällen an der unteren Nachweisgrenze. Ebenso lag die Keimzahl bei 16 der 21 Tiere mit erhöhter Zellzahl ohne klinische Mastitis und bei 13 der 27 Tiere mit klinischer Mastitis an der unteren Nachweisgrenze (Abb. 4.7; Tab. 22, Anhang Teil 3). Auch lassen sich keine Unterschiede zwischen den 3 Tiergruppen erkennen, die statistisch zu untermauern wären. Festzustellen ist jedoch, dass in keiner Gruppe die Muskelproben einen Keimgehalt von 10^2 KbE/g überschritten. Diese Maximalwerte stimmen mit den Maximalwerten von LEPOVETSKY et al. (1953) und VANDERZANT a. NICKELSON (1969) für Muskelproben gesunder Rinder überein. Diese Tatsache würde ebenfalls darauf hindeuten, dass die Muskulatur euterkranker Rinder nicht stärker keimbelastet ist als die eutergesunder Tiere.
Als Ursache für die endogene Kontamination von Muskulatur wird eine Vielzahl von Faktoren, die vor und während der Schlachtung auf ein Tier einwirken, genannt (SCHÜPPEL et al. 1994; FEHLHABER et al. 1989; PIEKENBROCK et al. 1998). Dabei werden isolierte Entzündungsherde beziehungsweise Infektionen sowohl als mögliche Stressoren (FEHLHABER et al. 1989; FEHLHABER et al. 1992) als auch als Ausgangspunkt für bakterielle Streuung diskutiert (PIEKENBROCK et al. 1998). WEISSER (1979) vermutete aufgrund seiner Daten, dass verschiedene Verletzungen, Folgen von Geburtskomplikationen und eitrige Prozesse aller Art die Ursprungsquelle der Streuung potentieller Mastitiserreger in

Muskulatur, Körperlymphknoten und Organe darstellten, dagegen nur selten eine Euterentzündung.
Als Ergebnis dieser Arbeit kann somit festgestellt werden, dass eine Euterentzündung bei einer Milchkuh, die aufgrund klinischer Befunde als schlachtfähig, d.h. als nicht krank bewertet wird, in der Regel keine erhöhte endogene Kontamination für das zum Verzehr kommende Gewebe darstellt.

5.2.4 Zusammenhang Keimnachweis Euter/Muskulatur und Euter/Lymphknoten

Eine Übereinstimmung zwischen der Keimflora in Muskulatur und Eutergewebe konnte nur bei einem Tier nachgewiesen werden (Tab. 4.20). Bei den in beiden Gewebetypen nachgewiesenen Keimen handelte es sich um A.pyogenes und Enterobacteriaceae. Beide werden häufig auch im Zusammenhang mit schwerwiegenden Mastitiden mit möglicher zusätzlicher systemischer Symptomatik beschrieben (KLASTRUP 1994 I; LÄMMLER u. HARTWIGK 1995; DEUTZ et al. 1999; BERGMANN 1994). Das Potential von A.pyogenes zur hämatogenen Streuung in andere Organe ist bekannt (KLASTRUP 1994 I; LÄMMLER u. HARTWIGK 1995).
Eine Übereinstimmung zwischen der Keimflora in Eutergewebe und den Ileofemoral-Lymphknoten konnte bei einer deutlich größeren Anzahl von Tieren, hauptsächlich bei Rindern mit klinischer Mastitis, beobachtet werden (Tab. 4.21). Dieser Umstand entsprach durchaus den Erwartungen und spricht dafür, dass diese Lymphknoten in der Lage sind, Keime zu filtern und an einer weiteren Streuung in den Körper zu hindern. Dies gilt in besonderem Maße auch für Tiere mit klinischer Mastitis, bei welchen die Blut-Euter-Schranke unter Umständen versagt. Neben A.pyogenes und Enterobacteriaceae handelte es sich bei den in Euter- und Lymphknotenprobe nachgewiesenen Keimen auch um St.aureus, für den gelegentliche schwerwiegende Verläufe bekannt sind (SOBIRAJ et al. 1988; FOX u. GAY 1993). Für den in diesem Zusammenhang bei 5 Tieren isolierte S.uberis wird dagegen eher von Euterentzündungen ohne Störung des Allgemeinbefindens berichtet (LÄMMLER u. HAHN 1994).
Dieses Keimspektrum weist deutliche Parallelen zu den Untersuchungsbefunden von SZÁZADOS (1971) auf, der ebenfalls Proben von wegen Mastitis geschlachteten Rindern untersuchte. Er konnte bei über einem Viertel der untersuchten Fälle eine Generalisierung der

mastitisverursachenden Keime nachweisen. Neben A.pyogenes[*2)], St.aureus, Enterobacteriaceae, Streptokokken und Mischinfektionen wurden ebenfalls Pseudomonas aeruginosa und Clostridium perfringens festgestellt, welche beide zu Euterentzündungen mit schweren Störungen des Allgemeinbefindes führen können (PACKER 1977 I; KLASTRUP 1994 II; BERGMANN u. SEFFNER 1994). Eine weitere Arbeit von SZÁZADOS (1972) untermauerte das Ergebnis, dass Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella, A.pyogenes[*2)], E.coli und St.aureus als Mastitiserreger zu einem relativ hohen Prozentsatz in andere Gewebe streuen. Warum SZÁZADOS (1971; 1972) eine so häufige Keimstreuung feststellen konnte, kann auf die Auswahl der Tiere zurückgeführt werden. Anders als in vorliegender, auch subklinische Euterentzündungen berücksichtigender Arbeit, sind in die Untersuchungen von SZÁZADOS (1971; 1972) hauptsächlich Rinder mit schwerer, klinischer Mastitis eingegangen. Zudem stammte ein Teil der Schlachtrinder aus Notschlachtungen. Diese Tiere wiesen vermutlich ein massiv gestörtes Allgemeinbefinden aufgrund von schwersten Formen von Mastitis auf. In der vorliegenden Arbeit wurden dagegen ausschließlich normalgeschlachtete Rinder untersucht. Es ist davon auszugehen, dass schwere Mastitiden mit entsprechend hohem Keimgehalt im Eutergewebe zu stärkerer Irritation und Schädigung der Blut-Euter-Schranke führen als mildere Formen. Das Spektrum der häufiger zu schweren Mastitiden führenden Keime, wie A.pyogenes und Enterobacteriaceae, unterscheidet sich von dem der eher zu milden beziehungsweise subklinischen Mastitisformen führenden. Die von SZÁZADOS (1971; 1972) häufiger festgestellte und in der Literatur allgemein eher als selten auftretend beschriebene (BLECKMANN u. HOEDEMAKER 1996; LANGE u. BLECKMANN 1999; SCHRÖDER et al. 2005; SMITH a. HOGAN 1993) Pseudomonas aeruginosa-Mastitis konnte in der vorliegenden Arbeit nicht ein einziges Mal nachgewiesen werden. Es ist möglich, dass Tiere mit dieser ohnehin nur selten auftretenden Erkrankung aufgrund der Schwere der Erkrankung nur ausgesprochen selten der normalen Schlachtung zugeführt werden können. Die Forderung von SZÁZADOS (1972) nach ergänzenden bakteriologischen Untersuchungen bei der Schlachtung euterkranker Kühe ist unter Berücksichtigung des dort untersuchten Tiermaterials nachvollziehbar, kann jedoch in Abwägung der eigenen Ergebnisse, wirtschaftlicher und praktischer Aspekte nicht verallgemeinert werden.

WEISSER (1979), der Organe, Muskelfleisch und Körperlympknoten von hauptsächlich not- oder krankgeschlachteten Rindern auf Streptokokken und Enterokokken untersuchte, schloss

[*2)] vom Autor als Corynebaterium pyogenes bezeichnet, siehe 2.2.3.1

für die Mehrzahl der isolierten Kokken das entzündete Euter als Ursprungsquelle bakterieller Streuung aus. Dies deckt sich, was die Streuung in die Muskulatur betrifft, insofern mit der vorliegenden Arbeit, als auch hier eine Streuung grampositiver Kokken aus dem Euter in die Muskulatur nicht nachgewiesen werden konnte.

5.2.5 Vergleich des Keimnachweises in Euter und Milch

Bei der taxonomischen Differenzierung der aus Milch- und Eutergewebeproben isolierten Keime wurden Übereinstimmungen eher selten gefunden (Tab. 5.2).

Tab. 5.2: Übereinstimmung der Keimdifferenzierung in Milch- und Eutergewebsproben

		Nachweis in Milch und Gewebe	Nachweis nur in Milch	Nachweis nur in Gewebe	Gesamt
S.dysgalactiae	Anzahl	4	3	1	8
	%	50,0%	37,5%	12,5%	
S.agalactiae	Anzahl		1	2	3
	%		33,3%	66,7%	
S.uberis	Anzahl	23	2	24	49
	%	46,9%	4,1%	49,0%	
Enterococcus	Anzahl	1		3	4
	%	25,0%		75,0%	
Streptococcus, Enterococcus oder Lactococcus (1)	Anzahl		1	6	7
	%		14,3%	85,7%	
St.aureus	Anzahl	13	23	1	37
	%	35,1%	62,2%	2,7%	
Staphylococcus (außer St.aureus)	Anzahl	16	48	13	77
	%	20,8%	62,3%	16,9%	
Micrococcus	Anzahl	1		4	5
	%	20,0%		80,0%	
Enterobacteriaceae	Anzahl	3	3	20	26
	%	11,5%	11,5%	76,9%	
A.pyogenes	Anzahl	10		20	30
	%	33,3%		66,7%	
V.a. C.bovis	Anzahl	8	44	8	60
	%	13,3%	73,3%	13,3%	
Sporenbildner	Anzahl		1	1	2
	%		50,0%	50,0%	
V.a. Pilze	Anzahl	4	1	5	10
	%	40,0%	10,0%	50,0%	

(1) mittels der angewandten Labormethoden nicht weiter differenzierbare Stämme

Große Unterschiede traten zwischen den einzelnen Spezies beziehungsweise Familien auf. Allgemein konnten am häufigsten die Keime nur im Gewebe gefunden werden, gefolgt von einer Isolierung nur aus der Milch. Warum häufig keine Übereinstimmung der Keimflora in Milch- und Eutergewebeproben feststellbar ist, kann mehrere Ursachen haben.

Zum einen kann es bei der Entnahme von Proben zu einer unbeabsichtigten Kontamination kommen (BLECKMANN u. HOEDEMAKER 1996). Dies gilt vor allem für Keime, die wie St.aureus (HOEDEMAKER 2001) und S.dysgalactiae (ursprüngliche „Spezies“ S.dysgalactiae, siehe 2.2.2.1) (HEJLIČEK 1994 I) häufig auch außerhalb der Milchdrüse isoliert werden können.

Von Staphylokokken ist bekannt, dass sie die Fähigkeit besitzen, intrazellulär in Phagozyten zu überleben (COSTA et al. 2000). Es ist denkbar, dass die verschiedene Lagerung und Bearbeitung der Milch- und Gewebeproben Einfluss auf den Nachweis der Keime genommen hat. Durch den Gefrier- und Auftauprozess können die Phagozyten in der Milch zerstört werden, wodurch die dort enthaltenen Staphylokokken freigesetzt wurden. Darüber hinaus könnte die Bearbeitung der Gewebeproben die Phagozyten geschont haben. Diese Vermutung wird durch die Tatsache unterstützt, dass in der vorliegenden Arbeit alle Staphylokokken, inklusive St.aureus, am häufigsten nur aus der Milch isoliert werden konnten.

St.aureus kann jedoch auch aus den Gangsystemen der Milchdrüse in das Euterparenchym übertreten, wo er für intrazisternal verabreichte Antibiotika schwer erreichbar ist (SOBIRAJ et al. 1997). In der Folge könnte es zu einer intermittierenden Ausscheidung kommen, wie sie beispielsweise für S.equi ssp. zooepidemicus beschrieben wurde (EDWARDS u. ROULSON 1988). Dies könnte dazu führen, dass der Keim zwar im Eutergewebe noch nachweisbar ist, in der Milch selbst jedoch nicht.

Häufig mussten die Milchproben schon einen Tag vor der Schlachtung und der Entnahme der Euterproben genommen werden. Auch dies könnte bei einigen Tieren zu einer Differenz der Keimzahl beziehungsweise des Keimspektrums in Milch- und Euterprobe geführt haben, da sich innerhalb eines Tages eine Mastitis entweder stärker ausprägen kann oder aber die Abwehrmechnismen im Rindereuter eine Euterentzündung in dieser Zeitspanne auch deutlich eindämmen können.

5.2.6 Zusammenhang zwischen GKZ und den Ergebnissen der taxonomischen Differenzierung

Von den 324 untersuchten Gewebeproben fiel bei 55 Proben eine Differenz zwischen der GKZ und der ermittelten Keimzahl auf den Blutplatten auf, die für die logarithmierten Ergebnisse mindestens 1,00 beziehungsweise -1,00 betrug (Tab. 18-23, Anhang Teil 3). In Tab. 5.3 ist dies genauer aufgeschlüsselt.

Dass bei 42 Proben auf Blutagar keine Keime nachgewiesen werden konnten, auf dem Standard-I-Nähragar jedoch eine Keimzahl im Bereich log 1, lässt sich hauptsächlich durch die verschiedenen Methoden im Ansatz der Proben erklären. Zur Ermittlung der GKZ wurde mit dem Plattengussverfahren gearbeitet, die Keimdifferenzierung erfolgte dagegen von Blutplatten, auf die mittels Spatelverfahren 0,1ml ausgestrichen wurden, mit der Folge einer um eine Zehnerpotenz höheren minimalen Nachweisgrenze. Da bei 37 der Proben die Keimzahl unter der unteren Nachweisgrenze der Blutplatten von log 1,7 lag, war ein Keimnachweis von den Blutplatten rechnerisch nicht zu erwarten. Das Ergebnis der übrigen 5 Proben, bei denen die Keimzahl die untere Nachweisgrenze im Spatelverfahren erreichte oder leicht überschritt, lässt sich mit geringfügigen, natürlichen Schwankungen beim Ansatz erklären.

Tab. 5.3: Proben mit einer Differenz der logarithmierten Werte von GKZ und Keimzahl auf Blutplatten (KZ(BP)) von ≥ 1,00 beziehungsweise – 1,00.

GKZ (Standard I – Nähragar)	**Keimwachstum auf Blutplatten**	**Differenz GKZ – KZ(BP)**	Anzahl Proben		
			Euter	**Musku-latur**	**Lymph-knoten**
log 1,0 – 1,99	kein Keimnachweis	1,0 – 1,99 davon < 1,7	25 22	5 3	12 12
untere Nachweisgrenze bis log 3,0	Verdacht auf C.bovis	-1,0 – (-1,99)	6	0	0
		-2,0 – (-2,99)	3	0	0
obere Nachweisgrenze	A.pyogenes → obere Nachweisgrenze	-1,0	2	0	0
log 5,7	A.pyogenes → obere Nachweisgrenze	-2,08	1(1)	0	0
obere Nachweisgrenze	Enterobacteriaceae → obere Nachweisgrenze	-1,0	1	0	0

(1) zusätzlich Nachweis von S.dysgalactiae (ursprüngliche „Spezies“ S.dysgalactiae, siehe 2.2.2.1), Keimzahl S.dysgalactiae (5,74) ≈ GKZ

Die Unterschiede zwischen GKZ und der Keimzahl von C.bovis lassen sich vermutlich durch die recht hohen Anforderungen dieser Bakterienspezies an das Nährmedium erklären (HARRIGAN 1966; SKERMAN a. JAYNE-WILLIAMS 1966). Es ist anzunehmen, dass der etwas gehaltvollere Blutagar im Zusammenspiel mit vorhandenen Restmengen von Milch eher zu einem makroskopisch sichtbaren Koloniewachstum führt als der einfachere Standard-I-Nähragar. In fast allen Fällen, in denen die GKZ deutlich über log 1 lag, kann dies durch das Wachstum ein oder zwei weiterer Keime, die in ihrer Anzahl ungefähr der GKZ entsprachen, erklärt werden.

Zwei der Fälle, in denen die Keimzahl von A.pyogenes um genau log 1,0 von der GKZ abweicht, lassen sich durch das Auseinanderliegen einer Zehnerpotenz der oberen Nachweisgrenzen von Spatel- und Plattengussverfahren erklären. Dies gilt ebenso für die Differenz von GKZ und Keimzahl von Enterobacteriaceae, die bei einer Probe auftrat.

In dem einen Fall, in dem die GKZ von der Keimzahl von A.pyogenes um mehr als log 2 abwich, konnte zusätzlich S.dysgalactiae (ursprüngliche „Spezies“ S.dysgalactiae, siehe 2.2.2.1) auf der Blutplatte nachgewiesen werden. Die Keimzahl von S.dysgalactiae entsprach mit log 5,74 fast exakt der GKZ von 5,70. Es ist davon auszugehen, dass der in der Koloniemorphologie deutlich größer in Erscheinung tretene S.dysgalactiae A.pyogenes auf dem Standard-I-Nähragar weitgehend verdrängte.

Neben der rechnerischen (Ansatzsystematischen) Erklärung und dem Nachweis der Agentien mit speziellen Wachstumsbedürfnissen ist eine weitere Erklärung möglich: Der Blutbasierte Agar offeriert grundsätzlich bessere Wachstumsbedingungen. Das kann jedoch nicht verallgemeinert werden, da die letztlich vorgefundenen KbE auch die Keimflora der Probe reflektieren (Fries a. Kobe 1996).

5.2.7 Ergebnisse im Zusammenhang mit den rechtlichen Vorgaben

Dass Rinder mit dauerhaft erhöhten Milchzellzahlen und Mastitiden häufig zur Schlachtung gelangen, liegt vor allem in Anhang III, Abschnitt IX, Kapitel I der Verordnung (EG) Nr. 853/2004 des europäischen Parlaments und des Rates vom 29.4.2004 begründet. Die abgelieferte Milch darf pro Milliliter nicht mehr als 100.000 KbE und nicht mehr als 400.000 somatische Zellen enthalten. Zudem darf die Milch von Rindern mit klinischer Mastitis sowie Milch, die in anderer Art und Weise ein potentielles Risiko für die menschliche Gesundheit darstellt, nicht abgeliefert werden. In Konsequenz werden Rinder, deren Milch dauerhaft die

Kriterien an die Tankmilch nicht erfüllt, der Schlachtung zugeführt. Abgewogen werden müssen dabei hauptsächlich wirtschaftliche, aber auch praktische Aspekte. Auf der einen Seite stehen die hohen Remontierungskosten für eine hochleistende Milchkuh, auf der anderen Seite die Erfolgsaussichten und Kosten für eine Behandlung, möglicherweise erfolglos stattgefundene Therapieversuche und der Schlachterlös für das Tier.

Andererseits muss bei der Schlachtung von Tieren mit klinischer Mastitis beachtet werden, dass gemäß Anhang I, Abschnitt II, Kapitel III, Absatz 4 der Verordnung (EG) Nr. 854/2004 des europäischen Parlaments und des Rates vom 29.4.2004 Rinder nicht für den menschlichen Verzehr geschlachtet werden dürfen, wenn über ihr Fleisch Krankheiten auf den Menschen übertragen werden können oder wenn sie sonstige klinische Anzeichen für eine systemische Erkrankung aufweisen. Keime wie St.aureus, A.pyogenes und Enterobacteriaceae sind durchaus in der Lage, schwere Mastitiden auszulösen, die zu gravierenden Störungen des Allgemeinbefindens führen können. Als problematisch ist dabei anzusprechen, dass solche Tiere in der ante mortem Untersuchung nicht erkannt werden, da eine Einzeltieruntersuchung in der Praxis kaum stattfindet. Es ist anzunehmen, dass das einzige Tier in dieser Untersuchung, das eine mikrobiologische Übereinstimmung in Muskulatur und Euter aufwies, nach klinischer Untersuchung am Schlachthof für den menschlichen Verzehr nicht mehr hätte geschlachtet werden dürfen. Die Übereinstimmung betraf A.pyogenes und Enterobacteriaceae, also Keime, die bekanntermaßen immer wieder zu systemischer Erkrankung führen können. Der Nachweis von Mastitiserregern im Fleisch euterkranker Kühe darf also auch auf die sich möglicherweise widersprechenden Vorgaben im Recht (Verordnung (EG) Nr. 854/2004 vs. Verordnung (EG) Nr. 853/2004) und weniger auf eine nachlässig durchgeführte ante mortem Untersuchung der beteiligten Personen zurückgeführt werden.

Darüber hinaus beleuchtet dieser Umstand die Notwendigkeit, in der Lebensmittelkette vorhandene Informationen (in diesem Fall der aktuelle Untersuchungsbefund des betreffenden Tieres) in die Informationsschiene einzufügen.

Inwieweit auch dann eine Schlachterlaubnis hätte ausgesprochen werden können, bleibt offen, zumal eine Risikoanalyse zu den hier aufgetretenen Erregern nicht vorliegt.

Der Fall verdeutlicht exemplarisch das Dreieck zwischen

- Schlachtung (Lebensmittelkette Fleisch)
- Milchgewinnung (Lebensmittelkette Milch)
- Tötung / Therapie

und ggf. auch die Nöte, mit denen sich Besitzer und auch Tierarzt im praktischen Fall konfrontiert sehen.

Anhang III, Abschnitt I, Kapitel IV, Absatz 7 der Verordnung (EG) Nr. 853/2004 schreibt vor, dass der Schlachtkörper beim Entfernen des Euters nicht mit Milch oder Kolostrum verunreinigt werden darf. Bedenkt man, in wie vielen Eutergewebsproben bei vorliegender Untersuchung Keime in unterschiedlichster Konzentration nachgewiesen werden konnten, und dies nicht nur bei Rindern mit klinischer Mastitis, sondern auch bei den Kontrolltieren und den Tieren aus der Gruppe „erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis“, erscheint die Einhaltung dieser Verordnung umso wichtiger. SCHWEIGHARDT et al. (1993), der das Eutergewebe von 100 laktierenden Rindern nach der Schlachtung untersuchte, konnte in fast 57% der Euter Keime nachweisen. Es muss also generell mit einer relativ hohen Keimbelastung im Eutergewebe von Milchrindern gerechnet werden, unabhängig vom klinischen Befund am lebenden Tier. Zu diskutieren wäre angesichts solcher Ergebnisse, ob das Euter laktierender Rinder überhaupt für den menschlichen Verzehr freigegeben werden sollte. Gemäß Anhang I, Abschnitt IV, Kapitel I, Absatz B.11. der Verordnung (EG) Nr. 854/2004 ist es nach eingehender Untersuchung des Euters und seiner Lymphknoten möglich, Eutergewebe für den menschlichen Verzehr freizugeben. SCHÜPPEL et al. (1995) kamen nach Auswertung ihrer Ergebnisse zu dem Schluss, dass das Euter von Milchkühen generell als untauglich für den menschlichen Verzehr beurteilt werden sollte. Diese Forderung kann anhand der Ergebnisse dieser Arbeit voll unterstützt werden.

6 Zusammenfassung

Euterentzündungen und dauerhaft erhöhte Milchzellzahlen stellen eine der bedeutendsten Abgangsursachen für Rinder in Milchviehbetrieben dar. Ein Großteil dieser Tiere wird der Schlachtung zugeführt. Auf dem Schlachthof ist es praktisch nicht möglich, Milchkühe zuverlässig als euterkrank zu erkennen. Dabei ist noch weitgehend unbekannt, ob im Gewebe von Tieren mit klinischer oder subklinischer Mastitis eine erhöhte und eventuell sogar lebensmittelhygienisch bedenkliche Keimkonzentration vorliegt gegenüber dem Gewebe von Milchkühen, die zum Zeitpunkt der Schlachtung keine Anzeichen einer Infektion und einen unauffälligen Euterstatus aufweisen.

Ziel dieser Arbeit war es zu prüfen, ob das Gewebe von Milchkühen, die mit klinischer Mastitis, subklinischer Mastitis oder erhöhten Milchzellzahlen geschlachtet werden, einen erhöhten Keimgehalt in für den Verbraucher bedenklicher Konzentration aufweist.
Dazu wurden 54 zur Schlachtung vorgesehene Rinder vor dem Transport zum Schlachthof im Milchviehbetrieb klinisch untersucht, Viertelgemelksproben entnommen und ein kurzer Vorbericht erhoben. Nach der Schlachtung wurden Proben von Eutergewebe, Ileofemorallymphknoten und Muskulatur entnommen und ebenso wie die Milchproben mikrobiologisch untersucht. Bei 27 Milchkühen handelte es sich um Tiere mit klinischer Mastitis, 21 Tiere wiesen eine erhöhte Milchzellzahl auf, ohne dass eine klinische Euterentzündung vorlag, und 6 Rinder waren eutergesunde Kontrolltiere. Die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung wurden anschließend zusammen mit den im Herkunftsbetrieb erhobenen Daten ausgewertet.

Bei den Rindern mit klinischer Euterentzündung wurde eine signifikant höhere Keimzahl im Eutergewebe nachgewiesen als bei den Tieren mit erhöhten Milchzellzahlen ohne klinische Mastitis und den Kontrolltieren. Erhöhte Keimzahlen in Lymphknoten- und Muskelgewebsproben bei Tieren mit klinischer Mastitis gegenüber den Tieren der beiden anderen Gruppen konnten dagegen statistisch nicht abgesichert werden.
Nur bei einem Rind, welches eine klinische Mastitis aufwies, konnten die im Euter nachgewiesenen Keime auch aus dem Muskelgewebe isoliert werden. Beide Gewebe enthielten ebenso wie der Lymphknoten A.pyogenes und Enterobacteriaceae.
Bei 11 Tieren lag eine Übereinstimmung der Keimflora von Euter- und Lymphknotenprobe vor. Betroffen waren 10 Milchkühe mit klinischer Mastitis und ein Kontrolltier. Bei den

nachgewiesenen Keimen handelte es sich um S.uberis, A.pyogenes, Enterobacteriaceae und St.aureus.
Das Spektrum der aus Milch- und Gewebeproben isolierten Keime umfasste hauptsächlich typische Mastitiserreger, darunter auch einige mit humanpathogenem Potential unterschiedlichen Schweregrades, wie Enterokokken, St.aureus, Bacillus spp. und Enterobacteriaceae.

Die Ergebnisse legen den Schluss nahe, dass die Praxis, euterkranke Rinder der Schlachtung zuzuführen, in der Regel kein erhöhtes Gefährdungspotential für den Verbraucher darstellt. Blut-Euter-Schranke und nachgeschaltete Lymphknoten scheinen ein effektives System darzustellen, um Mastitiserreger aus dem Euter an einer Streuung in die Muskulatur zu hindern.
Es ist anzunehmen, dass die Vorschriften zum Inverkehrbringen von Milch (lebendes Tier) den Tierhalter u.U. dazu bringen können, sich von einem Tier zu trennen. In Konsequenz können jedoch genau diese Mechanismen dazu führen, das ein Konflikt mit den Vorgaben der Lebensmittelketteninformation entsteht, nach denen ein Tier mit einem (derzeit unklaren) Gefahren-/Risikopotential nicht für den menschlichen Verzehr geschlachtet werden darf.
Der Nachweis teilweise hoher Keimkonzentrationen im Euter, auch eutergesunder Tiere, wirft darüber hinaus die Frage auf, ob das Euter von Milchkühen nicht generell als untauglich für den menschlichen Verzehr beurteilt werden sollte. Eine derartige Forderung wird vor allem durch den Umstand untermauert, dass in vielen Euterproben auch Keime mit humanpathogenem Potential nachgewiesen werden konnten.

6 Summary

Bacteriological status of the tissue in cows that were slaughtered with mastitis

Inflammations of the udder and permanently elevated somatic cell counts belong to the most significant reasons for remonting cows on dairy farms. A major part of these animals is sent to slaughter. At the abattoir, it is practically not possible to reliably tell that these cows have an udder disease. It is still largely unknown whether – in the tissues of animals with clinical or subclinical mastitis– there is an increased concentration of microorganisms that may even be on concern with regard to food hygiene vis-à-vis the tissue of dairy cows that present no signs of an infection and apparently healthy udders at the time of slaughter.

The aim of this study was to examine whether the tissue of dairy cows that are slaughtered with clinical mastitis, subclinical mastitis or elevated somatic cell counts displays an elevated bacterial content at a concentration that would be of concern for consumers.
For this purpose, 54 cows for slaughter were clinically examined in the dairy farm before being transported to the abattoir; quarter milk samples were taken and a short case report was made. After slaughter, samples of udder tissue, iliofemoral lymph nodes and musculature were taken and microbiologically examined. Milk samples were also examined. Twenty-seven (27) of the cows had clinical mastitis, 21 had elevated somatic cell counts without any clinical inflammation of the udder being present and 6 cows were control animals with apparently healthy udders. The results of the microbiological examination were then evaluated, together with the data gathered in the farm they originated from.

Cows with clinical udder inflammation had a significantly higher bacterial count in their udder tissue than animals with elevated somatic cell counts without clinical mastitis and the control animals. Increased bacterial counts in lymph nodes and muscle tissue samples in animals with clinical mastitis vis-à-vis the animals of the two other groups could, on the other hand, not be statistically proven.
Only in one cow with clinical mastitis could the bacteria found in the udder also be isolated from the muscle tissue. Both tissues contained *A. pyogenes* and *Enterobacteriaceae*, just as the lymph nodes did.

In 11 animals, the bacterial microflora in the udder and lymph node samples corresponded. This affected 10 dairy cows with clinical mastitis and one control animal. The bacteria confirmed were *S. uberis*, *A. pyogenes*, *Enterobacteriaceae* and *St. aureus*.
The spectrum of bacteria isolated from the milk and tissue samples mainly comprised typical mastitis agents, among them also some human pathogens with the potential to cause illnesses of varying degrees of seriousness, such as *enterococci*, *St. aureus*, *Bacillus spp.* and *Enterobacteriaceae*.

The findings suggest that the practice of slaughtering cows suffering from mastitis does not generally represent any potential threat to the consumer. Blood-udder barrier and downstream lymph nodes appear to represent an effective system that prevents mastitis agents from the udder spreading to the musculature.
It can be assumed that the legal rules regarding the placing on the market of milk (living animal) could possibly make the animal owner part with an animal. Consequently, however, it might be precisely these mechanisms that lead to a conflict with the food chain information system, according to which an animal may not be slaughtered for human consumption if it represents an (as yet unclear) potential threat or risk to consumers.
The detection of, in part, higher concentrations of bacteria in the udder, even those belonging to animals with healthy udders, also raises the question of whether the udders of dairy cows should generally be viewed as unfit for human consumption. Such a requirement is, above all, underpinned by the circumstance that human-pathogenic bacteria were also detected in many udder samples.

7 Literaturverzeichnis

AARESTRUP, F.M., H.C. WEGENER, V.T. ROSDAHL, and N.E. JENSEN (1995):
Staphylococcal and other bacterial species associated with intramammary infections in danish dairy herds.
Acta. Vet. Scand. 36, 475-487

AYRES, J.C. (1955):
Microbiological implications in the handling, slaughtering and dressing of meat animals.
Adv. Food. Res. 6, 110-161

BABA, E., T. FUKATA, and H. MATSUMOTO (1980):
Ecological studies on coagulase-negative staphylococci in and around bovine udder.
Bull. Osaka. Pref. Ser. B 32, 69-75

BANZHAF, K. und K. WALSER (1988):
Identifizierung von Streptococcus agalactiae mit Latex-Agglutionations-Tests und mit dem CAMP-Test.
Tierärztl. Umschau 43, 444-449

BARROW, G.I., and R.K.A. FELTHAM (Eds.) (1993):
Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria.
Press Syndicate of the University of Cambridge, Cambridge, New York, Oakleigh, Victoria, pp. 70-108

BAUMANN, P., and R.H.W. SCHUBERT (1984):
Family II. Vibrionaceae
in: Krieg, N.R., and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Volume 1
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 516-517

BECKER, W. und W. MENK (1984):
Zoonosen-Fibel
Verlag H. Hoffmann, Berlin, S. 86

BERGAN, T., and M. KOCUR (1986):
Genus II. Stomatococcus
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1008-1010

BERGMANN, A. (1991):
Gelber Galt
in: Wiesner, E. und R. Ribbeck (Hrsg.): Wörterbuch der Veterinärmedizin A-K, 3. Auflage.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 540

BERGMANN, A. (1994):
Escherichia-coli-, Klebsiella- und Enterobacter-Mastitiden
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 359-371

BERGMANN, A. und W. SEFFNER (1994):
Sporenbildner als Mastitiserreger
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 404-411

BERGMANN, A., E. KUNTER, CH. WEHNERT, S. HAASMANN, S. SIGGELKOW, A. STEINER, R. HOFFMANN, B. BACH, P. GROßMANN, H. KUTZER und G. TEMPLIN (1980):
Vorkommen und Bedeutung von nicht zur Gruppe B gehörenden Streptokokken als Mastitiserreger in galtfreien und schwach galtverseuchten Milchviehanlagen.
Monatsh. Veterinärmed. 35, 184-190

BERGMANN, A., J. SCHULZ, R. HEILMANN und K. BUMBEL (1991):
Zur Diagnostik des Actinomyces pyogenes-anaerob-Syndroms.
Monatsh. Veterinärmed. 46, 459-461

BIRGERSSON, A., P. JONSSON, and O. HOLMBERG (1992):
Species identification and some characteristics of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine udders.
Vet. Microbiol. 31, 181-189

BLECKMANN, E. und M. HOEDEMAKER (1996):
Möglichkeiten und Grenzen der bakteriologischen Untersuchung von Milchproben in der Tierarztpraxis.
Prakt. Tierarzt 77 (Sondernummer), 22-23

BLOBEL, H. (1977):
Zur Bakteriologie der Rindermastitis.
Tierärztl. Umschau 32, 55-59

BLOBEL, H., T. SCHLIEßER , J. BRÜCKLER und S. SCHWARZ (1994):
Staphylokokken-Infektionen
in: H. Blobel und T. Schließer (Hrsg.): Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren, Band II/1, 2.Auflage, Staphylokokken-Infektionen und -Enterotoxine.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 11-251

BØVRE, K. (1984 I):
Family VIII. Neisseriaceae
in: Krieg, N.R., and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 1.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 288-290

BØVRE, K. (1984 II):
Genus II. Moraxella
in: Krieg, N.R., and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 1.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 296-303

BRAGULLA, H., H. KÖNIG und K.-D. BUDRAS (2002):
Das Euter
in: K.-D. Budras (Hrsg.) und A. Wünsche: Atlas der Anatomie des Rindes.
Verlag Schlütersche, Hannover, S. 88-89

BRENNER, D.J. (1984):
Familiy I. Enterobacteriaceae
in: Krieg, N.R., and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 1.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 408-420

BROWN, R.W. (1973):
Intramammary infections produced by various strains of Staphylococcus epidermidis and Micrococcus.
Cornell. Vet. 63, 630-645

BUCKLEY, J., P.A. MORRISSEY, and M. DALY (1976):
Aseptic technique for obtaining sterile beef tissue.
J. Food. Technol. 11, 427-430

BÜLTE, M. (2004 I):
Staphylococcus aureus-Intoxikationen
in: H.-J. Sinell (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene.
Verlag Parey, Stuttgart, S. 68-71

BÜLTE, M. (2004 II):
Listeria monocytogenes
in: H.-J. Sinell (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene.
Verlag Parey, Stuttgart, S. 50-51

CAMPOS, J.M. (1999):
Haemophilus
in: P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Yolken (Eds.): Manual of clinical microbiology, 7.Auflage.
ASM PRESS, Washington, D.C., pp. 604-613

CANALE-PAROLA, E. (1986):
Genus Sarcina
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1100-1103

CARTER, G.R. (1984):
Genus I. Pasteurella
in: Krieg, N.R., and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 552-558

CFSAN (Center for Food Safety and Applied Nutrition of the United States Food and Drug Administration) (2003):
Quantitative assessment of the relative risk to public health from foodborne Listeria monocytogenes among selected categories of ready-to-eat foods.
www.cfsan.fda.gov/~dms/lmr2-toc.html

CHRISTIE, R., N.E. ATKINS, and E. MUNCH-PETERSON (1944):
A note on a lytic phenomenon shown by group B streptococci.
Aust. J. Exp. Biol. Med. 22, 197-200

COBB, R.W., and I.K. WALLEY (1962):
Corynebacterium bovis as a probable cause of bovine mastitis.
Vet. Rec. 74, 101

COLLINS, M.D., and D. JONES (1982):
Reclassification of Corynebacterium pyogenes (Glage) in the genus Actinomyces, as Actinomyces pyogenes comb. nov.
J. Gen. Microbiol. 128, 901-903

COLLINS, M.D., D. JONES, J.A.E. FARROW, R. KLIPPER-BÄLZ, and K.H. SCHLEIFER (1984 I):
Enterococcus avium nom. rev., comb. nov,; E.casseliflavus nom. rev., comb. nov,; E.durans nom. rev., comb. nov,; E.gallinarum comb. nov.; and E.malodoratus sp. nov.
Int. J. Syst. Bacteriol. 34, 220-223

COLLINS, M.D., J.A.E. FARROW, V. KATIC, and O. KANDLER (1984 II):
Taxonomic studies on streptococci of serological group E, P, U and V: Description of Streptococcus porcinus sp. nov.
Syst. Appl. Microbiol. 5, 402-413

CORBEL, M.J., and W.J. BRINLEY-MORGAN (1984):
Genus Brucella
in: Krieg, N.R., and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 1.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 377-388

CORRY, J.E.L. (1978):
A review: sources of ethanol ante- and postmortem: its relationship to the biochemistry and microbiology of decomposition.
J. Appl. Bacteriol. 44, 1-56

COSTA, E.O., N.R. BONITES, J.L. GUERRA, and P.A. MELVILLE (2000):
Antimicrobial susceptibility of Staphylococcus spp. isolated from mammary parenchymas of slaughtered dairy cows.
J. Vet. Med. B 47, 99-103

DAHL, P., C. ZWEIFEL, R. MÜLLER und R. STEPHAN (2006):
Retrospektive Auswertung von Befunden der mikrobiologischen Fleischuntersuchung (MFU) von Kälbern und Kühen.
Schweiz. Arch. Tierh. 148, 349-355

DAVIDSON, T.J., I.R. DOHOO, A.W. DONALD, H. HARIHARAN, and K. COLLINS (1992):
A cohort study of coagulase negative staphylococcal mastitis in selected dairy herds in Prince Edwards Island.
Can. J. Vet. Res. 56, 275-280

DEDIÉ, K., J. BOCKEMÜHL, H. KÜHN, K.-J. VOLKMER und T. WEINKE (1993):
Bakterielle Zoonosen bei Tier und Mensch.
Verlag Ferdinand Enke, Stuttgart, S. 330-334

DEUTZ, A. und W. OBRITZHAUSER (1996):
Beitrag zur akuten Streptokokkenmastitis des Rindes.
Prakt. Tierarzt 77, 406-412

DEUTZ, A., W. OBRITZHAUSER, J. KÖFER, D. HÖNGER und H. GRUBER (1999):
Beitrag zur Colimastitis des Rindes – Klinik, Therapie und zoonotische Aspekte.
Prakt. Tierarzt 80, 614-620

DEVRIESE, L.A. (1979):
Identification of clumping-factor-negative staphylococci isolated from cows udders.
Res. Vet. Sci. 27, 313-320

DEVRIESE, L.A. (1991):
Streptococcal ecovars associated with different animal species: epidemiological significance of serogroups and biotypes.
J. Appl. Bacteriol. 71, 478-483

DEVRIESE, L.A., and V. HAJEK (1980):
A review: Identification of pathogenic staphylococci isolated from animals and foods derived from animals.
J. Appl. Bacteriol. 49, 1-11

DEVRIESE, L.A., J. HOMMEZ, H. LAEVENS, B. POT, P. VANDAMME, and F. HAESEBROUCK (1999):
Identification of aesculin-hydrolyzing streptococci, lactococci, aerococci and enterococci from subclinical intramammary infections in dairy cows.
Vet. Microbiol. 70, 87-94

DEVRIESE, L.A., J. HOMMEZ, R. KLIPPER-BÄLZ, and K.H. SCHLEIFER (1986):
Streptococcus canis sp. nov.: a species of group G streptococci from animals.
Int. J. Syst. Bacteriol. 36, 422-425

EBERHART, R.J. (1977):
Coliform Mastitis.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 170, 1160-1163

EBERHART, R.J., and S.B. GUSS (1970):
Group G Streptococci in the Udders of a Pennsylvania Dairy Herd.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 157, 1195-1199

EDWARDS, A.T., and M. ROULSON (1988):
A milk-borne outbreak of serious infection due to Streptococcus zooepidemicus (Lancefield group C).
Epidemiol. Infect. 101, 43-51

EIELAND, E. (1952):
Mastitis hos kyr forårsaket av pneumokokker.
Nord. Vet. Med. 4, 703-706

ENGST, R., R. FENSKI, C. PÄTZOLD, J. STECHER, B.I. TSHISUAKA und S. WITZEL (2002):
Pschyrembel – Klinisches Wörterbuch, 259. Auflage.
Verlag Walter de Gruyter, Berlin - New York, S .25-1599

EVANS, J.B. (1986):
Genus Aerococcus
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, p. 1080

FACKLAM, R.R. (1977):
Physiological differentation of viridans streptococci.
J. Clin. Microbiol. 5, 184-201

FACKLAM, R.R., D.F. SAHM, and L. MARTINS TEIXEIRA (1999):
Enterococcus
in: P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Yolken (Eds.): Manual of clinical microbiology, 7th edition.
ASM PRESS, Washington, D.C., pp. 297-305

FAO/WHO (Food and Agriculture Organisation / World Health Organization) 2001:
Hazard indentification and hazard characterization of Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods.
www.who.int//fsf/micro/scientificdocuments/mra001.pdf

FARROW, J.A.E., and M.D. COLLINS (1984):
Taxonomic studies on streptococci of serological group C, G and L and possibly related taxa.
Syst. Appl. Microbiol. 5, 483-493

FEHLHABER, K. (2004 I):
Streptokokken- und „unspezifische“ Lebensmittelvergiftungen
in: H.-J. Sinell (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene.
Verlag Parey, Stuttgart, S. 79-80

FEHLHABER, K. (2004 II):
Bacillus cereus-Lebensmittelvergiftung
in: H.-J. Sinell (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene.
Verlag Parey, Stuttgart, S. 77-78

FEHLHABER, K., E. STRYCZEK und H. SCHÜPPEL (1992):
Untersuchungen zur lebensmittelhygienischen Bedeutung von Lungenveränderungen bei Schlachtschweinen.
Fleischwirtschaft 72, 778-784

FEHLHABER, K., V. SCHUBERT und G. KRÜGER (1989):
Einfluß von Organerkrankungen auf den prämortalen Belastungszustand von Schlachtschweinen.
Monatsh. Veterinärmed. 44, 877-879

FESTL, D. und K.WALSER (1990):
Untersuchungen über Clumping-factor-negative Staphylokokken aus Viertelgemelksproben von Kühen.
Tierärztl. Umschau 45, 418-424

FORBES, D. (1970):
The pathogenic significance of various intramammary infections.
Brit. Vet. J. 126, 260-267

FOX, L.K., and J.M. GAY (1993):
Contagious mastitis.
Vet. Clin. N. Am.-Food. A 9, 475-487

FRANK, W. (1969):
Streptokokkendifferenzierung im Rahmen des Eutergesundheitsdienstes des Tiergesundheitsamtes Hannover.
Arch. Lebensmittelhyg. 20, 11-13

FRIES, R., and A. KOBE (1996):
Food of animal origin – impact of laboratory factors on results of analysis
in: Proc. 4. Microbial methods for the meat industry, Gent, Belgium, 14-16 October 1996, pp. 53-65

FUCHS, H.W. (1994 I):
Listerien-Mastitis
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 404-405

FUCHS, H.-W. (1994 II):
Pasteurellen-Mastitis
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 399-400

FUCHS, H.-W. (1994 III):
Euterveränderungen bei Leptospirose
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 400-401

FUCHS, H.-W. (1994 IV):
Infektionen durch Fusobacterium necrophorum
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 401

FUCHS, H.-W. (1994 V):
Infektionen durch Chlamydien und Rickettsien
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 418-422

FUCHS, H.-W. (1994 VI):
Virusinfektionen
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 422-425

FUCHS, H.-W. (1994 VII):
Schimmelpilzinfektionen
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 430-431

FUCHS, H.-W. (1994 VIII):
Brucellen-Mastitis
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 401-404

FUNKE, G. (1999):
Algorithm for identification of aerobic gram-positive rods
in: P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Yolken (Eds.): Manual of clinical microbiology, 7th edition.
ASM PRESS, Washington, D.C., pp. 316-318

GARVIE, E.I. (1986 I):
Genus Leuconostoc
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1071-1075

GARVIE, E.I. (1986 II):
Genus Pediococcus
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1075-1079

GARVIE, E.I., and A.J. BRAMLEY (1979 I):
Streptococcus bovis – an approach to its classification and its importance as a cause of bovine mastitis.
J. Appl. Bacteriol. 46, 557-566

GARVIE, E.I., and A.J. BRAMLEY (1979 II):
Streptococcus uberis: an Approach to ist Classification.
J. Appl. Bacteriol. 46, 295-304

GEDEK, B. (2002):
Pilzkrankheiten der Haustiere
in: M. Rolle und A. Mayr (Hrsg.):
Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre.
Verlag Enke, Stuttgart, S. 613-632

GILL, C.O. (1979):
A review: intrinsic bacteria in meat.
J. Appl. Bacteriol. 47, 367-378

GILL, C.O., and N. PENNEY (1979):
Survival of bacteria in carcasses.
Appl. Environ. Microb. 37, 667-669

GILL, C.O., N. PENNEY, and P.M. NOTTINGHAM (1978):
Tissue sterility in uneviscerated carcasses.
Appl. Environ. Microb. 36, 356-359

GOODFELLOW, M., and M.P. LECHEVALIER (1986):
Genus Nocardia
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1459-1471

GRINBERG, A., A. HITTMAN, M. LEYLAND, L. ROGERS, and B. LE QUESNE (2004):
Epidemiological and molecular evidence of a monophyletic infection with Staphylococcus aureus causing a purulent dermatitis in a dairy farmer and multiple cases of mastitis in his cows.
Epidemiol. Infect. 132, 507-513

HAHN, G., W. HEESCHEN und A. TOLLE (1970):
Streptococcus, eine Studie zur Struktur, Biochemie, Kultur und Klassifizierung.
Kieler Milchw. Forsch. 22, S. 433-490

HAMANN, J. und K. FEHLINGS (2002):
Leitlinien zur Bekämpfung der Mastitis des Rindes als Bestandsproblem.
in: Proc. DVG, unter Mitarbeit des Sachverständigenausschusses „Subklinische Mastitis" des Arbeitskreises Eutergesundheit der Fachgruppe Milchhygiene des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene, Hannover, S. 13-14

HAMANN, J., R. REDETZKY, N. GRABOWSKI und A. HEIDE (2003):
Zur „Mastitisdiagnostik" auf der Grundlage von Entzündungsindikatoren
in: Proc. DVG, Tagung des Arbeitskreises „Eutergesundheit", 3.4.-4.4., Kiel, S. 65-78

HAMILTON, C.A., and D.M. STARK (1970):
Occurrence and characterization of Lancefield group G streptococci in bovine mastitis.
Am. J. Vet. Res. 31, 397-398

HAMMER, D. und H.K. ENGLERT (1958):
Pneumokokken-Mastitis (Diplococcus pneumoniae) beim Rind mit Berücksichtigung der Infektionsquelle.
Deut. Tierärztl. Woch. 65, 504-507

HARDIE, J.M. (1986 I):
Genus Streptococcus
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1043-1047

HARDIE, J.M. (1986 II):
Other Streptococci
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1068-1069

HARDIE, J.M., and R.A. WHILEY (1997):
Classification and overview of the genera Streptococcus and Enterococcus.
J. Appl. Microbiol. Symposium Supplement 83, 1S-11S

HARRIGAN, W.F. (1966):
The nutritional requirements and biochemical reactions of Corynebacterium bovis.
J. Appl. Bacteriol. 29, 380-394

HEJLIČEK, K. (1994 I):
Streptokokken-Infektionen
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 332-349

HEJLIČEK, K. (1994 II):
Sekretionsstörung
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs (Hrsg.): Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 326-332

HELLMANN, E., H. HARTWIGK, M. MARX und A. LÜBKE (1995):
Corynebacterium-Infektionen
in: H. Blobel und T. Schließer (Hrsg.): Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren, Band II/3, 2.Auflage, Listeriose, Corynebacterium-, Actinomyces-, Arcanobacterium-, Rhodococcus- und Bacillus-Infektionen.
Verlag Gustav Fischer, Jena, Stuttgart, S. 155-195

HELLMANN, E., J. HENTSCHKE und B. STALDER (1971):
Untersuchung von Streptokokken aus Milch mastitiskranker und gesunder Rinder mit dem Camp-Test und mit gruppenspezifischen Seren.
Berl. Münch. Tierärztl. 84, 121-125

HINCKLEY, L.S. (1985):
Incidence of Streptococcus zooepidemicus mastitis.
J. Food Protect. 48, 751-753

HIRSCH, H.-P. (1982):
Untersuchungen über Eutererkrankungen bei auf dem Karusselmelkstand gemolkenen Kühen.
Monatsh. Veterinärmed. 37, 826-829

HOBLET, K.H., J.S. BAILEY, and D.E. PRITCHARD (1988):
Coagulase-positive staphylococcal mastitis in a herd with low somatic cell counts.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 192, 777-780

HOEDEMAKER, M. (1996):
Klinische Untersuchung und Labordiagnostik
in: Proc. DVG, Tagung der Fachgruppe „Milchhygiene“, Arbeitskreis „Eutergesundheit“, 27.9.-28.9., Grub, S. 51-56

HOEDEMAKER, M. (2001):
Neuere Aspekte zur Bekämpfung von Staphylococcus aureus als Mastitiserreger.
Tierärztl. Prax. G. N. 29, 1-7

HOGAN, J.S., K.L. SMITH, D.A. TODHUNTER, and P.S. SCHOENBERGER (1988):
Sensitivity and specificity of latex agglutination tests used to identify Streptococcus agalactiae and Staphylococcus aureus isolated from bulk tank milk.
Am. J. Vet. Res. 49, 1537-1539

HOLMES, B., R.J. OWEN, and T.A. MCMEEKIN (1984):
Genus Flavobacterium
in: Krieg, N.R., and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 1.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 353-361

HOLT, J.G., N.R. KRIEG, P.H.A. SNEATH, J.T. STALEY, and S.T. WILLIAMS (Eds.) (1994):
Bergey's manual of determinative bacteriology, 9th edition.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 527- 635

INZANA, T.J., and B. IRITANI (1989):
Rapid detection of group C streptococci from animals by latex agglutination.
J. Clin. Microbiol. 27, 309-312

JARP, J. (1991):
Classification of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine clinical and subclinical mastitis.
Vet. Microbiol. 27, 151-158

JASPER, D.E. (1977):
Mycoplasma and Mycoplasma Mastitis
J. Am. Vet. Med. Assoc. 170, 1167-1168

JONES, D. (1986):
Genus Erysipelothrix
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1245-1249

JONES, D., and M.D. COLLINS (1986):
Irregular, nonsporing gram-positive rods
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1261-1266

JUNI, E. (1984)
Genus III. Acinetobacter
in: Krieg, N.R., and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 1.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 303-307

KANDLER, O., and N. WEISS (1986):
Genus Lactobacillus
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1209-1234

KEDDIE, R.M., and S. SHAW (1986):
Genus Kurthia
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1255-1258

KERSTERS, K., and J. DE LEY (1984):
Genus Alcaligenes
in: Krieg, N.R., and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 1.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 361-373

KHAN, I.U., A.A. HASSAN, A. ABDULMAWJOOD, C. LÄMMLER, W. WOLTER, and M. ZSCHÖCK (2003):
Identification and epidemiological characterization of Streptococcus uberis isolated from bovine mastitis using conventional and molecular methods.
J. Vet. Sci. 4, 213-223

KIELWEIN, G. (1994):
Leitfaden der Milchkunde und Milchhygiene, 3.Auflage.
Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin, S. 68-100

KILIAN, M., and E.L. BIBERSTEIN (1984):
Genus II. Haemophilus
in: Krieg, N.R., and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 1.
Verlag Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 558-569

KING, J.S. (1981):
Streptococcus uberis: A review of its role as a causative organism of bovine mastitis
I.Characteristics of the organism.
Brit. Vet. J. 137, 36-52

KISKA, D.L., and P.H. GILLIGAN (1999):
Pseudomonas
in: P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Yolken (Eds.): Manual of clinical microbiology, 7.Auflage.
ASM PRESS, Washington, D.C., pp. 517-525

KLASTRUP, N.O. (1994 I):
Pyogenes-Mastitis
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 371-381

KLASTRUP, N.O. (1994 II):
Infektion mit Pseudomonas aeruginosa
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 381-384

KLEER, J. (2004 I):
Andere Enterobacteriaceae und weitere Opportunisten
in: H.-J. Sinell (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene.
Verlag Parey, Stuttgart, S.42-43

KLEER, J. (2004 II):
Mikroorganismen in Lebensmitteln
in: H.-J. Sinell (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene.
Verlag Parey, Stuttgart, S. 9-19

KLEER, J. (2004 III):
Aeromonas spp.
in: H.-J. Sinell (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene.
Verlag Parey, Stuttgart, S. 50-51

KLESIUS, P.H., and V.T. SCHUHARDT (1968):
Use of lysostaphin in the isolation of highly polymerized deoxyribonucleic acid and the taxonomy of aerobic Micrococcaceae.
J. Bacteriol. 95, 739-743

KLIPPER-BÄLZ, R., and K.-H. SCHLEIFER (1984):
Nucleic acid hybridization and cell wall composition studies of pyogenic streptococci.
FEMS Microbiol. Lett. 24, 355-364

KLOOS, W.E., and K.H. SCHLEIFER (1986):
Genus IV. Staphylococcus
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1013-1035

KLOOS, W.E., and T.L. BANNERMAN (1999):
Staphylococcus and Micrococcus
in: P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Yolken (Eds.): Manual of clinical microbiology, 7th edition.
ASM PRESS, Washington, D.C., pp. 264-282

KLOOS, W.E., D.N. BALLARD, C.G. GEORGE, J.A. WEBSTER, R.J. HUBNER, W. LUDWIG, K.H. SCHLEIFER, F. FIEDLER, and K. SCHUBERT (1998):
Delimiting the genus Staphylococcus through description of Macrococcus caseolyticus gen. nov., comb. nov. and the new species Macrococcus equipercicus sp. nov., Macrococcus bovicus sp. nov., and Macrococcus carouselicus sp. nov.
Int. J. Syst. Bacteriol. 48, 859-877

KOCH, C., and E. STACKEBRANDT (1995):
Reclassification of Micrococcus agilis (Ali-Cohen 1889) to Athrobacter as Athrobacter agilis comb. nov. and emendation of the genus Athrobacter.
Int. J. Syst. Bacteriol. 45, 837-839

KOCUR, M. (1986 I):
Genus I. Micrococcus
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol.2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1004-1008

KOCUR, M. (1986 II):
Genus III. Planococcus
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1011-1013

KOLB, E. und W. FRITSCH (1991):
Koagulase
in: E. Wiesner und R. Ribbeck (Hrsg.): Wörterbuch der Veterinärmedizin, 3. Auflage.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 786-787

KOWALSKI, J.J. (1977):
Microbial Agents and Bovine Mastitis.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 170, 1175-1177

KRAUSS, H., A. WEBER, B. ENDERS, H.G. SCHIEFER, W. SLENCZKA und H. ZAHNER (1997):
Zoonosen.
Deutscher Ärzte-Verlag, Köln, S. 32ff, 41ff, 51ff, 76ff

KUNTER, E. (1988):
Zur bakteriologischen Diagnostik des Streptococcus agalactiae in Milchproben: CAMP-Test, Hydrolyse von Äskulin, Hämolysearten.
Arch. Exp.Vet. Med. 42, 71-82

LÄMMLER, C. und H. HARTWIGK (1995):
Actinomyces pyogenes und Arcanobacterium haemolyticum
in: H. Blobel und T. Schließer (Hrsg.): Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren, Band II/3, 2.Auflage, Listeriose, Corynebacterium-, Actinomyces-, Arcanobacterium-, Rhodococcus- und Bacillus-Infektionen.
Verlag Gustav Fischer, Jena, Stuttgart, S. 196-240

LÄMMLER,C. und G. HAHN (1994):
Streptokokken-Infektionen
in: H. Blobel und T. Schließer (Hrsg.): Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren, Band II/2 Streptokokken – Infektionen und Rotlauf.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 15-134

LANGE, J. und E. BLECKMANN (1999):
Erregerspektrum und Antibiotikaresistenz bei katarrhalischen Mastitiden des Rindes.
Prakt. Tierarzt 80, 807-812

LEHNER, B. und M. NEUMAYER (1987):
Akute parenchymatöse Mastitis verursacht durch Streptococcus pneumoniae – ein Fallbericht.
Wien. Tierärztl. Monat. 74, 254- 256

LEPOVETSKY, B.C., H.H. WEISER, and F.E. DEATHERAGE (1953):
A microbiological studiy of lymph nodes, bone marrow and muscle tissue obtained from slaughtered cattle.
Appl. Microbiol. 1, 57-59

LORENZEN, P. (1968):
Zum Vorkommen von Streptokokken verschiedener serologischer Gruppen als Mastitiserreger unter besonderer Berücksichtigung der Gruppe L.
Arch. Lebensmittelhyg. 19, 57-60

LUDWIG, W., E. SEEWALDT, R. KLIPPER-BÄLZ, K.H. SCHLEIFER, L. MAGRUM, C.R. WOESE, G.F. FOX, and E. STACKEBRANDT (1985):
The phylogenetic position of Streptococcus and Enterococcus.
J. Gen. Microbiol. 131, 543-551

MACKEY, B.M., and C.M. DERRICK (1979):
Contamination of the deep tissues of carcasses by bacteria present on the slaughter instruments or in the gut.
J. Appl. Bacteriol. 46, 355-366

MACLACHLAN, G.K., C.D. WILSON, and P. STUART (1958):
A Herd Outbreak of Mastitis Associated with Streptococcus pneumoniae Infection.
Vet. Rec. 70, 987-988

MARTIN, G. und A. BERGMANN (1991):
Laboruntersuchungen über Antagonismus von im Rindereuter vorkommenden Bakterien.
Monatsh. Veterinärmed. 46, 774-779

MARTIN, G. und A. BERGMANN (1993):
Untersuchungen über koagulase-negative Staphylokokken aus Eutersekretproben von Rindern auf dem Gebiet der östlichen Bundesländer.
Monatsh. Veterinärmed. 48, 559-565

MARX, M. (1985):
Zur Differenzierung β- bzw. α/(β)-hämolysierender Streptokokken unter besonderer Berücksichtigung serologischer „Schnellverfahren“.
Berl. Münch. Tierärztl. 98, 208-216

MATTHEWS, K.R., R.J. HARMON, and B.E. LANGLOIS (1991):
Effect of Naturally Occurring Coagulase-Negative Staphylococci Infections on New Infections by Mastitis Pathogens in the Bovine.
J. Dairy Sci. 74, 1855-1859

MCDONALD, J.S. (1977):
Streptococcal and Staphylococcal Mastitis.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 170, 1157-1159

MCDONALD, T.J., and J.S. MCDONALD (1976):
Streptococci Isolated from Bovine Intramammary Infections.
Am. J. Vet. Res. 37, 377-381

MICHEL, G. (1993):
Morphologische Grundlagen der Keimabwehr in der Milchdrüse
in: Proc. DVG, Tagung der Fachgruppe „Milchhygiene“, Arbeitskreis „Eutergesundheit“, 15.10.-16.10., Leipzig, S. 107-111

MICHEL, G. (1994):
Anatomie der Milchdrüse
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 17-51

MIELKE, H. und G. MICHEL (1994):
Schutz und Abwehrmechanismen (Immunologie) des Rindereuters
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 94-105

MILNE, M.H., D.C. BARRETT, J.L. FITZPATRICK, and A.M. BIGGS (2002):
Prevalence and aetiology of clinical mastitis on dairy farms in Devon.
Vet. Rec. 151, 241-243

MORETTI, A., P. PASQUALI, G. MENCARONI, L. BONCIO, and D. PIERGILI FIORETTI (1998):
Relationship Between Cell Counts in Bovine Milk and the Presence of Mastitis Pathogens (Yeasts and Bacteria):
J. Vet. Med. B 45, 129-132

MÜLLER, G. (1996 I):
Mikrobielle Lebensmittelvergiftungen
in: Müller, G. und H. Weber: Mikrobiologie der Lebensmittel, Grundlagen.
Behr's Verlag, Hamburg, S. 211-285

MÜLLER, G. (1996 II):
Allgemeine Mikrobiologie
in: Müller, G. und H. Weber: Mikrobiologie der Lebensmittel, Grundlagen.
Behr's Verlag, Hamburg, S. 38-65

MURRAY, R.G.E., and B.W. BROOKS (1986):
Genus I. Deinococcus
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1035-1043

NORCROSS, N.L. (1991):
Specific defence mechanisms of the udder.
Flem. Vet. J. 62, Suppl. 1, 129-139

OCKERMAN, H.W., and V.R. CAHILL (1967):
How to get bacteria free meet samples.
National Provisioner 156, 35-38

OCKERMAN, H.W., V.R. CAHILL, H.H. WEISER, C.E. DAVIS, and J.R. SIEFKER (1969):
Comparison of sterile and inoculated beef tissue.
J. Food Sci. 34, 93-99

PACKER, R.A. (1977 I):
Bovine Mastitis Caused by Pseudomonas aeruginosa.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 170, 1166

PACKER, R.A. (1977 II):
Bovine Mastitis Produced by Corynebacteria.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 170, 1164-1165

PALLERONI, N.J. (1984 I):
Familiy I. Pseudomonadaceae
in: Krieg, N.R., and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 1.
Williams & Wilkins, Baltimore, p. 141

PALLERONI, N.J. (1984 II):
Genus I. Pseudomonas
in: Krieg, N.R., and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 1.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 141-199

PERRIN-COULLIOUD, I., J.L. MARTEL, P. BROUILLET et M. FEDIDA (1991):
Identification et sensibilité aux antibiotiques des diverses espèces de staphylocoques associées à des mammites bovines inapparentes et subcliniques.
Rev. Med. Vet.-Toulouse 142, 39-47

PFÜTZNER, H. (1994):
Mycoplasmen-Infektion
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 411-417

PHILLIPS, J.E. (1984):
Genus III. Actinobacillus
in: Krieg, N.R., and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 1.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 570-575

PIEKENBROCK, S., H. KONERMANN, S. GUNDLACH, H.-H. NEUMANN, M. MARAHRENS, J. HARTUNG und F. FELDHUSEN (1998):
Mikrobielle Primärkontamination von Organen und Muskelgewebe bei Schlachtschweinen nach definierten Belastungszuständen.
Fleischwirtschaft 78, 737-740

PITKÄLÄ, A., M. HAVERI, S. PYÖRÄLÄ, V. MYLLYS, and T. HONKANEN-BUZALSKI (2004):
Bovine Mastitis in Finland 2001 – Pevalence, Distribution of Bacteria, and Antimicrobial Resistence.
J. Dairy Sci. 87, 2433-2441

POCIECHA, J.Z. (1989):
Influence of Corynebacterium bovis on constituents of milk and dynamics of mastitis.
Vet. Rec. 125, 628

POUTREL, B. (1983):
Comparative evaluation of commercial latex agglutination and coagglutination reagents for groups B, C, and D mastitis streptococci.
Am. J. Vet. Res. 44, 490-492

RADOUCO-THOMAS, C., C. LATASTE-DOROLLE, R. ZENDER, R. BUSSET, H.M. MEYER, and R.F. MOUTON (1959):
The anti-autolytic effect of epinephrine in skeletal muscle: non-additive process for preservation of meat.
Food Res. 24, 453-482

RAINARD, P., M. DUCELLIEZ, and B. POUTREL (1990):
The contribution of mammary infections by coagulase-negative staphylococci to the herd bulk milk somatic cell count.
Vet. Res. Commun. 14, 193-198

RAMOS, C.P., G. FOSTER, and M.D. COLLINS (1997):
Phylogenetic Analysis of the Genus Actinomyces Based on 16S rRNA Gene Sequences: Description of Arcanobacterium phocae sp. nov., Arcanobacterium bernardiae comb. nov., and Arcanobacterium pyogenes comb. nov..
Int. J. Syst. Bacteriol. 47, 46-53

REDDY, C.A., C.P. CORNELL, and A.M. FRAGA (1982):
Transfer of Corynebacterium pyogenes (Glage) Eberson to the genus Actinomyces as Actinomyces pyogenes (Glage) comb. nov.
Int. J. Syst. Bacteriol. 32, 419-429

REMMERS, J. (1975):
Bestimmung der B-Streptokokken (Sc. agalactiae) mit Hilfe serologischer Methoden (Präzipitation, FA-Technik) und im CAMP-Test.
Arch. Lebensmittelhyg. 26, 104-106

REYN, A. (1986):
Genus Gemella
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1081-1082

RIZK, G. und P. JANETSCHKE (1972):
Über die Rolle von Corynebacterium bovis am Mastitisgeschehen und Untersuchungen zu seiner biochemischen Aktivität.
Monatsh. Veterinärmed. 27, 470

ROBERSON, J.R., L.K. FOX, D.D. HANCOCK, J.M. GAY, and T.E. BESSER (1996):
Prevalence of coagulase-positive staphylococci, other than Staphylococcus aureus, in bovine mastitis.
Am. J. Vet. Res. 57, 54-58

RØMER, O. (1959):
Bovine Mastitis Due to Streptococcus pneumoniae.
Nord. Vet. Med. 11, 361-374

ROTTSCHEIDT, W. und H. HANSEN (1998):
Beitrag zur subklinisch verlaufenden Streptokokken-Mastitis des Rindes.
Tierärztl. Umschau 53, 351-352

RUOFF, K.L., R.A. WHILEY, and D. BRIGHTON (1999):
Streptococcus
in: P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Yolken (Eds.): Manual of clinical microbiology, 7.Auflage.
ASM PRESS, Washington, D.C., pp. 283-296

SANDERS, J.E., and J.L. FRYER (1986):
Genus Renibacterium
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1253-1254

SASSHOFER, K. und H. HAUPT (1986):
Zum Resistenzverhalten von aus Milchproben isolierten Streptokokken in Niederösterreich.
Wien. Tierärztl. Monat. 73, 305-311

SCHLEIFER, K.H. (1986):
Gram-Positive Cocci
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 999-1002

SCHLEIFER, K.H., and W.E. KLOOS (1975):
A simple test for the separation of staphylococci from micrococci.
J. Clin. Microbiol. 1, 337-338

SCHLEIFER, K.H., and R. KLIPPER-BÄLZ (1984):
Transfer of Streptococcus faecalis and Streptococcus faecium to the Genus Enterococcus nom. rev. as Enterococcus faecalis comb. nov. And Enterococcus faecium comb. nov.
Int. J. Syst. Bacteriol. 34, 31-34

SCHLEIFER, K.H., and R. KLIPPER-BÄLZ (1987):
Molecular and chemotaxonomic approaches to the classifacation of streptococci, enterococci and lactococci: a review.
Syst. Appl. Microbiol. 10, 1-19

SCHRECKENBERGER, P.C., and A. VON GRAEVENITZ (1999):
Acinetobacter, Achromobacter, Alcaligenes, Morxella, Methylobacterium, and other nonfermentative gram-negative rods
in: P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Yolken (Eds.): Manual of clinical microbiology, 7.Auflage.
ASM PRESS, Washington, D.C., pp. 539-560

SCHRECKENBERGER, P.C., J.M. JANDA, J.D. WONG, and E.J. BARON (1999):
Alogorithms for identification of aerobic gram-negative bacteria
in: P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Yolken (Eds.): Manual of clinical microbiology, 7.Auflage.
ASM PRESS, Washington, D.C., pp. 438-441

SCHRÖDER, A., M. HOEDEMAKER und G. KLEIN (2005):
Resistenzen von Mastitiserregern im norddeutschen Raum.
Berl. Münch. Tierärztl. 118, 393-398

SCHULZ, J. (1994):
Erkrankungen der Milchdrüse des Rindes, Grundsätze
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 226-301

SCHÜPPEL, H., F. SACHERT und K.-F. SCHÜPPEL (1995):
Untersuchung zum Einfluß von Mastitiden und weiteren Organveränderungen auf die mikrobielle Kontamination des Fleisches bei Schlachtkühen.
Fleischwirtschaft 75, 1025-1028

SCHÜPPEL, H., K. FEHLHABER und E. STRYCZEK (1994):
Endogene Kontamination bei Schlachttieren (Literaturübersicht).
Berl. Münch. Tierärztl. 107, 23-29

SCHWEIGHARDT, H., A. RATZENBÖCK und E. LAUERMANN (1993):
Vergleichende mikrobiologische und histopathologische Euterviertelunterschungen von Schlachrindern.
Wien. Tierärztl. Monat. 80, 166-170

SEELIGER, H.P.R., and D. JONES (1986):
Genus Listeria
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1235-1245

SEFFNER, W. (1994):
Prototheken-Mastitis
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 431-434

SEFFNER, W. und A. BERGMANN (1994):
Staphylokokken-Infektionen
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 332-349

SEFFNER, W. und SCHULZ, J. (1994):
Erkrankungen der Milchdrüse, Pathogenese
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 238-244

SELBITZ, H.-J. (1992):
Lehrbuch der veterinärmedizinischen Bakteriologie.
Verlag Gustav Fischer, Jena, S. 152-159

SELBITZ, H.-J. (1995):
Weitere Bacillus-Infektionen
in: H. Blobel und T. Schließer (Hrsg.): Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren, Band II/3, 2.Auflage, Listeriose, Corynebacterium-, Actinomyces-, Arcanobacterium-, Rhodococcus- und Bacillus-Infektionen.
Verlag Gustav Fischer, Jena, Stuttgart, S. 349-365

SELBITZ, H.-J. (2002):
Bakterielle Krankheiten der Tiere
in: M. Rolle und A. Mayr (Hrsg.):
Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre.
Verlag Enke, Stuttgart, S. 417-588

SHARP, M.W., M.J. PRINCE, and J. GIBBENS (1995):
S. zooepidemicus infection and bovine mastitis.
Vet. Rec. 137, 128

SKERMAN, T.M., and D.J. JAYNE-WILLIAMS (1966):
Nutrition of coryneform bacteria from milk ans dairy sources.
J. Appl. Bacteriol. 29, 167-178

SMITH, K.L., and J.S. HOGAN (1993):
Environmental Mastitis.
Vet. Clin. N. Am.-Food. A 9, 489-498

SMULDERS, F.J.M. und M. UPMANN (2000):
Verminderung der bakteriellen Belastung auf frischem Fleisch.
Fleischwirtschaft 80(9), 32-35

SNEATH, P.H.A. (1984):
Genus Chromobacterium
in: Krieg, N.R., and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 1.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 580-582

SNEATH, P.H.A., and D. JONES (1986):
Genus Brochothrix
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1249-1253

SOBIRAJ, A., A. KRONE, U. SCHOLLMEYER und K. FAILING (1997):
Bundesweite Untersuchung zur Erregerverteilung und In-vitro-Resistenz euterpathogener Bakterien in der Milch von Kühen mit subklinischer Mastitis.
Tierärztl. Prax. 25, 108-115

SOBIRAJ, A., H.-U. OSTERTAG, D. PEIP, H. BOSTEDT und G. KIELWEIN (1988):
Klinische und bakteriologische Untersuchungsbefunde zur Mastitishäufigkeit erstmalig laktierender Rinder intra und post partum.
Tierärztl. Prax. 16, 243-249

SØRENSEN, G.H. (1978):
Bacteriological Examination of Summermastitis Secretions. The Demonstration of Bacteroidaceae.
Nord. Vet. Med. 30, 199-204

STACKEBRANDT, E., C. KOCH, O. GVOZDIAK, and P. SCHUHMANN (1995):
Taxonomic Dissection of the Genus Micrococcus: Kocuria gen. nov., Nesterkonia gen. nov., Kytococcus gen. nov., Dermacoccus gen. nov., and Micrococcus Cohn 1872 gen. emend.
Int. J. Syst. Bacteriol. 45, 682-692

STÖPPLER, H. und M. HARR (1977):
Beitrag zur serologischen Absicherung der kulturellen Galtdiagnose.
Arch. Lebensmittelhyg. 28, 61-65

STUKER, G., R. SCHÄLLIBAUM und R. SCHWEIZER (1977):
Zur Beurteilung des Keimgehaltes von Leber- und Milzproben, die zur bakteriologischen Untersuchung eingesandt wurden.
Schweiz. Arch. Tierh. 119, 469-472

SZÁZADOS, I. (1971):
Die Bedeutung der Euterentzündung im Rahmen der Fleischhygiene.
Fleischwirtschaft 51, 49-52

SZÁZADOS, I. (1972):
Die Häufigkeit des Vorkommens bakterieller Streuung bei ansteckenden Euterentzündungen und deren fleischhygienische Bedeutung.
Fleischwirtschaft 52, 1165-1168

THAWLEY, D.G., R.B. MARSHALL, L. CULLINANE, and J. MARKHAM (1977):
Atypical Staphylococcal Mastitis in a Dairy Herd.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 171, 425-428

TOLLE, A. (1972):
Streptokokken im Rahmen eines Konzeptes zur Mastitisbekämpfung.
Arch. Lebensmittelhyg. 23, 248-253

TRENTINI, W.C. (1986):
Genus Caryophanon
in: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (Eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2.
Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1259-1260

UNTERMANN, F. (1994):
Staphylokokken-Enterotoxine
in: H. Blobel und T. Schließer (Hrsg.): Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren, Band II/1, 2.Auflage, Staphylokokken-Infektionen und -Enterotoxine.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 252-284

VANDERZANT, C., and R. NICKELSON (1969):
A microbiological examination of muscle tissue of beef, pork, and lamb carcasses.
J. Milk Food Technol. 32, 357-361

VERORDNUNG (EG) Nr. 2073/2005 DER KOMMISSION vom 15. November 2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel

VERORDNUNG (EG) Nr. 853/2004 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 29. April 2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs

VERORDNUNG (EG) Nr. 854/2004 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 29. April 2004 mit besonderen Vorschriften für die amtliche Überwachung von zum Verzehr bestimmten Erzeugnissen tierischen Ursprungs

Verordnung zum Schutz der Brucellose der Rinder, Schweine, Schafe und Ziegen (Brucellose-VO) in der Fassung der Bekanntmachung vom 20. Dezember 2005

WASHINGTON, J.A. (Eds.) (1981):
Laboratory Procedures in Clinical Microbiology.
Springer, New York, Heidelberg, Berlin, p. 142

WATTS, J.L. (1988 I):
Characterization and Identification of Streptococci Isolated from Bovine Mammary Glands.
J. Dairy. Sci. 71, 1616-1624

WATTS, J.L. (1988 II):
Etiological Agents of Bovine Mastitis.
Vet. Microbiol. 16, 41-66

WATTS, J.L., and W.E. OWENS (1989):
Prevalence of staphylococcal species in four dairy herds.
Res. Vet. Sci. 46, 1-4

WATTS, J.L., S.C. NICKERSON, and J.W. PANKEY (1984):
A Case of Streptococcus Group G Infection In A Dairy Herd.
Vet. Microbiol. 9, 571-579

WEIß, R. und G. AMTSBERG (1995):
Listeriose
in: H. Blobel und T. Schließer (Hrsg.): Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren, Band II/3, 2.Auflage, Listeriose, Corynebacterium-, Actinomyces-, Arcanobacterium-, Rhodococcus- und Bacillus-Infektionen.
Verlag Gustav Fischer, Jena, Stuttgart, S. 13-154

WEISSER, W. (1979):
Streptokokkenisolierungen aus Organen von not- und krankgeschlachteten Rindern und Kälbern im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung.
Arch. Lebensmittelhyg. 30, 186-192

WENDT, K. (1994 I):
Mykobakterien-Infektionen
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 384-392

WENDT, K. (1994 II):
Hefeinfektionen
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 425-430

WENDT, K. (1994 III):
Nocardia-Infektion
in: K. Wendt, H. Bostedt, H. Mielke und H.-W. Fuchs: Euter- und Gesäugekrankheiten.
Verlag Gustav Fischer, Jena-Stuttgart, S. 392-397

WILLIAMS SMITH, H., and J.W. STABLES (1958):
An Outbreak of Bovine Mastitis caused by Streptococcus pneumoniae.
Vet. Rec. 70, 986- 987

WILLIAMS, A.M., and M.D. COLLINS (1990):
Molecular taxonomic studies on Streptococcus uberis types I and II. Description of Streptococcus parauberis sp. nov.
J. Appl. Bacteriol. 68, 485-490

WILSON, C.D. (1963):
The Microbiology of Bovine Mastitis in Great Britain.
Bull. Off. Int. Épiz. 60, 533-551

ZSCHÖCK, M. und K. FEHLINGS (2000):
Leitlinien zur Entnahme von Milchproben unter antiseptischen Bedingungen und Leitlinien zur Isolierung und Identifizierung von Mastitiserregern
in: Proc. DVG, Fachgruppe „Milchhygiene“, Sachverständigenausschuss „Subklinische Mastitis“, Gießen, S. 27-30

ANHANG TEIL 1:

Beschreibung der Differenzierungsmethoden

1. Katalasetest

Für den Katalasetest wurde nach ca. 24h Bebrütung eine kleine Menge Koloniematerial von der Standard-I-Platte mittels Öse auf einen Objektträger aufgebracht. Der Bakterienmasse wurde anschließend 1 Tropfen 3%iges H_20_2 aufgetropft.

Auswertung:

- positiv: Bildung von Gasbläschen innerhalb kurzer Zeit
- negativ: keine Bildung von Gasbläschen

Kontrollstämme:

- positv: Staphylococcus aureus ATCC 6538
- negativ: Enterococcus faecalis DSM 2570

2. Überprüfung auf anaerobes Wachstum

Mit jedem zu überprüfenden Stamm wurden zwei Blutplatten im Verdünnungsausstrich beimpft. Eine Platte wurde aerob, die andere anaerob im Brutschrank für 24h inkubiert.
Für die anaerobe Bebrütung wurden die Agarplatten im Plattenkorb in einen Anaerobentopf gestellt. Ein Anaerotest®-Streifen (Fa. Merck) wurde zum Nachweis der Anaerobiose am Korb befestigt. Anschließend wurde pro 2,5 Liter Fassungsvermögen des Anaerobentopfes ein Anaerocult® A (Fa. Merck) mit in den Topf verbracht. Jeder Anaerocult® A wurde dafür innerhalb von 15-20 Sekunden gleichmäßig über sein Spezialpapier mit 35 ml Wasser durchfeuchtet. Anschließend wurde der Anaerocult® A zügig mit der bedruckten Seite den Platten zugewandt in den Anaerobentopf hineingestellt. Dieser wurde dann zügig dicht verschlossen.
Der Anaerotest®-Streifen zeigte durch Farbwechsel von blau nach weiß nach 4h das Vorliegen der Anaerobiose an.

Auswertung:

- positiv: aerobes und anaerobes Wachstum
- negativ: aerobes, aber kein anaerobes Wachstum

Kontrollstämme:

- positiv: Staphylococcus aureus ATCC 6538
- negativ: Micrococcus luteus DSM 20030

3. Gasbildung aus Glucose

Für die Überprüfung auf Gasbildung aus Glucose wurden Zuckerröhrchen verwendet, die jeweils ein mit der Öffnung nach unten zeigendes, vollständig mit glucosehaltiger Bouillon (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 4) gefülltes Durhamröhrchen enthielten. Diese wurden mittels etwas Koloniematerial beimpft und 3 Tage lang bei 37°C bebrütet.

Auswertung:

- positiv: mindestens erbsengroße Gasblase im Durhamröhrchen, Trübung des Mediums
- negatv: keine Gasbildung im Durhamröhrchen

Kontrollstämme:

- positiv: E.coli ATCC 25922
- negativ: Enterococcus faecalis DSM 2570

4. Oxidasetest

Von dem ca. 24h bebrüteten Standard-I-Nähragar wurde eine Impföse mit Koloniematerial entnommen und auf der Reaktionszone eines Bactident® Oxidase-Teststäbchens (Fa. Merck) verrieben. Nach 20-60 Sekunden erfolgte der Vergleich mit der Farbskala auf dem Behälter.

Auswertung:

- positiv: Reaktionszone blau bis blauviolett
- negativ: keine Verfärbung der Reaktionszone

Kontrollstämme:

- positiv: Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442
- negativ: *Salmonella* Typhimurium

5. Beweglichkeit

Zur Prüfung auf Beweglichkeit wurden pro Testkeim jeweils 2 Reagenzgläser mit halbfestem Medium (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 5) beimpft. Dazu wurde Koloniematerial mittels Stichöse aufgenommen und ungefähr 0,5cm tief in den Nährboden eingebracht. Die Bebrütung erfolgte 3 Tage lang, wobei ein Röhrchen bei 20°C, das andere bei 37°C inkubiert wurde.

Auswertung:

- positiv: wolkige Schwärmzone am Stichkanal beziehungsweise fortschreitende Trübung
- negativ: Wachstum ausschließlich am Stichkanal

Kontrollstämme:

- positiv / positiv: *Salmonella* Typhimurium
- positiv (20°C) / negativ (37°C): Listeria monocytogenes DSM 20600
- negativ / negativ: Acinetobacter lwoffi CCUG 33984

6. Lysozym-/Lysostaphin-Empfindlichkeit

Die zu testenden Keime wurden für 18-24h bei 37°C in BHI-Bouillon (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 6) angezüchtet.
Pro Testkeim wurden 2 Röhrchen mit P-Agar (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 7) im Dampftopf verflüssigt und anschließend im Wasserbad auf 37°C abgekühlt und flüssig gehalten. Jedes P-Agar-Röhrchen wurde mit 0,1ml der bewachsenen Bouillon beimpft und auf dem Schüttler gut gemischt. Danach wurde der Inhalt jedes Röhrchens auf einer Standard-I-Platte verteilt. Nach dem Antrocknen des P-Agars wurde nun jeweils auf eine mit dem Testkeim beimpfte Platte ein Tropfen Lysozym-Lösung (400µg/ml, Fa. Sigma), auf die

andere ein Tropfen Lysostaphin-Lösung (200µg/ml, Fa. Sigma) mittels Öse aufgebracht. Die Platten wurden dann 24h bei 37°C bebrütet.

Auswertung:

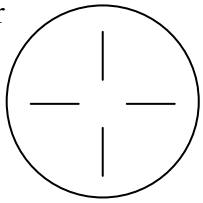
- Empfindlich (E): kein Wachstum im Bereich, wo die Lösung aufgetragen wurde
- Resistent (R): Wachstum auf der gesamten Agarfläche

Kontrollstämme:

- Lysozym E / Lysostaphin R: Micrococcus luteus DSM 20030
- Lysozym R / Lysostaphin E: Staphylococcus aureus ATCC 6538

7. DNAse-Nachweis

Der zu testende Keim wurde mittels eines massiven Impfstrichs auf den DNAse-Agar (Fa. Merck; siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 8) aufgebracht. Auf jeden Agar konnten bis zu vier Impfstriche verschiedener Keime aufgebracht werden.
Die Bebrütung erfolgte für 18-24h bei 37°C.
Die bewachsene DNAse-Platte wurde anschließend mit 1 N HCl überschichtet. Die Ablesung erfolgte innerhalb von 5 Minuten.



Auswertung:

- positiv: klarer Hof um den Impfstrich.
- negativ: Medium um den Impfstrich getrübt

Kontrollstämme:

- positiv: Staphylococcus aureus ATCC 6538
- negativ: Escherichia coli ATCC 25922

8. Koagulase-Test

Der Testkeim wurde für 20-24h bei 37°C in BHI-Bouillon angezüchtet. Anschließend wurde 0,1ml der bewachsenen BHI-Bouillon in ein Kurlturröhrchen mit 0,3ml rehydratisierter

Bactident® Coagulase (Fa. Merck) überführt. Der Inhalt wurde vorsichtig vermischt und bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Die Ablesung durch vorsichtiges Seitwärtsneigen erfolgte nach 1h, 4h und 24h.

Auswertung:

- positiv: vollständige Koagulation mit Anlagerung am Röhrchen auch bei vorsichtiger Drehbewegung oder große, weitgehend organisierte Klumpen
- negativ: keine Koagulation oder kleine Klumpen

Kontrolle:

- positiv: Staphylococcus aureus ATCC 6538
- negativ: Ansatz mit unbeimpfter BHI-Bouillon

9. VOGES-PROSKAUER-Reaktion

Ein mit 5ml MR-VP-Bouillon (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 9) befülltes Röhrchen wurde mit dem zu testenden Keim beimpft und 4 Tage bei 37°C bebrütet.
Nach der Inkubation wurde der Bouillon 3 ml BARRITT-Reagenz (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 10) sowie 1 ml 40%ige Kalilauge zugesetzt. Die Ablesung erfolgte nach ungefähr 5 Minuten.

Auswertung:

- positiv: Farbumschlag nach Rot
- negativ: kein Farbumschlag

Kontrollstämme:

- positiv: Staphylococcus aureus ATCC 6538
- negativ: Acinetobacter lwoffi CCUG 33984

10. Einteilung in die serologischen Gruppen nach Lancefield

Die Untersuchung auf die Lancefield-Gruppen erfolgte mittels des STREPTOKOKKEN-IDENTIFIZIERUNGS-TESTs der Firma Oxoid. Dazu wurden von einer über Nacht bewachsenen Blutplatte mittels Öse 2-5 Kolonien in 0,4ml resuspendiertes Extraktionsenzym eingerührt. Im Anschluss erfolgte für 5 Minuten eine Inkubation der Teströhrchen bei 37°C im Wasserbad. Nach kräftigem Schütteln wurde die Inkubation für weitere 5 Minuten fortgesetzt. Auf einem Testkärtchen wurde dann jeweils ein Tropfen des abgekühlten Extraktes und ein Tropfen Latex-Reagenz A, B, C, D beziehungsweise G mittels Rührstäbchen über ein Testfeld des Kärtchens verteilt und 30 Sekunden lang vorsichtig hin- und hergeschwenkt.

Auswertung für die einzelnen Lancefield-Gruppen:

- positiv: Agglutination innerhalb von 30 Sekunden
- negativ: keine Agglutination

Als Positivkontrolle diente die polyvalente Postivkontrolle der Firma Oxoid.

11. Wachstum bei 10°C, 45°C und 6,5% NaCl

Zur Überprüfung des Wachstums wurden drei Röhrchen Iso-Bouillon (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 11) mit „10°C“, „45°C“ und „37°C“ und ein Röhrchen Iso-Bouillon mit einem Zusatz von 6,5% NaCl (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 12) mit „6,5%“ beschriftet. Die Bouillon wurde jeweils mit wenig Koloniematerial beimpft. Die Inkubation bei 10°C und 45°C erfolgte im Wasserbad, die Inkubation des 37°C- und 6,5%-Röhrchens im Brutschrank bei 37°C. Nach 48 Stunden wurde das Wachstum beurteilt.

Auswertung:

- positiv: deutliche Trübung der Bouillon nach Vermischung auf Schüttler
- negativ: keine Trübung der Bouillon

Kontrollstämme:

- Enterococcus faecalis DSM 2570: positiv in allen Röhrchen

- Streptococcus dysgalactiae ATCC 9932: positv bei 37°C, negativ bei 10°C, 45°C und bei 6,5% NaCl

12. Äskulinhydrolyse

Zur Überprüfung auf Äskulinhydrolyse wurde ein Röhrchen mit Äskulin-Bouillon (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 13) mit dem zu testenden Keim beimpft und für 24h bei 37°C beimpft. Anschließend wurde die Bouillon mit einigen Tropfen 10%iger EisenIIICitratlösung versetzt.

Auswertung:
- positiv: Schwarzfärbung
- negativ: keine oder kaum Farbänderung

Kontrollstämme:
- positiv: Listeria monocytogenes DSM 20600
- negativ: *Salmonella* Typhimurium

13. Kohlenhydratfermentation

Röhrchen mit Zucker- bzw. Alkoholhaltigem, halbfesten Nährboden (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 14) wurden mittels Öse bis zum Grund des Röhrchens mit dem zu testenden Keim beimpft. Anschließend erfolgte eine Inkubation im Brutschrank für 48h bei 37°C.

Auswertung:
- positiv: Gelbfärbung des Testmediums
- negativ: keine Verfärbung des Mediums, es bleibt rot

Kontrollstämme:

Mannitol:
- positiv: Enterococcus faecalis DSM 2570

- negativ: S. dysgalactiae ATCC 9932; S.suis DSM 9682

Sorbitol:
- positiv: Enterococcus faecalis DSM 2570
- negativ: S.suis DSM 9682

Trehalose:
- positiv: Enterococcus faecalis DSM 2570
- negativ: S.uberis 10059/315

Raffinose:
- positiv: S.suis DSM 9682
- negativ: Enterococcus faecalis DSM 2570; S. dysgalactiae ATCC 9932

Glucose:
- positiv: Listeria monocytogenes DSM 20600
- negativ: Alcaligenes faecalis 11/86

14. Na-Hippurat-Hydrolyse

Verdächtige Kolonien wurden in einem Röhrchen mit 0,4ml Natriumhippuratlösung (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 15) gut vermischt und 2h bei 37°C im Brutschrank inkubiert. Anschließend erfolgte eine vorsichtige Überschichtung der Lösung mit 0,2ml 3%iger Ninhydrinlösung (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 16). Dabei wurden Schüttelbewegungen vermieden. Nach weiteren 10 Minuten Inkubation bei 37°C im Brutschrank wurde das Ergebnis abgelesen.

Auswertung:
- positiv: violetter Ring
- negativ: keine oder nur geringe Verfärbung

Kontrollstämme:

- positiv: S.uberis 10059/315
- negativ: S. dysgalactiae ATCC 9932

15. Argininhydrolyse

Zum Nachweis der Argininhydrolyse wurde ein Röhrchen mit Arginin-Bouillon (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 17) mit einer zu testenden Kolonie beimpft, gut geschüttelt und für 48h bei 37°C im Brutschrank inkubiert. Anschließend wurden der Bouillon 0,5ml Neßlers Reagenz (Fa. Merck) zugesetzt und das Röhrchen kräftig geschüttelt.

Auswertung:

- positiv: orange-braune, trübe Färbung
- negativ: kein Farbumschlag, Bouillon bleibt klar

Kontrolle:

- positiv: Enterococcus faecalis DSM 2570
- negativ: unbeimpfte Bouillon

16. Nitratreduktion

Ein Röhrchen mit Nitrat-Bouillon (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 18) wurde mit dem zu überprüfenden Keim beimpft und für 24h bei 37°C im Brutschrank inkubiert. Anschließend wurde die Bouillon mit 0,5ml GRIESS-ILOSVAYS (Fa. Merck) Reagenz versetzt und geschüttelt.

Auswertung:

- Farbumschlag nach Rot innerhalb von 1 Minute: positiv
- kein Farbumschlag: die Bouillon wurde mit einer Spatelspitze Zinkstaub (Fa. Merck) versetzt
  - Farbumschlag nach Rot innerhalb 10 Minuten: negativ
  - kein Farbumschlag: positiv

Kontrollstämme:

- positiv: *Salmonella* Typhimurium
- negativ: Listeria monocytogenes DSM 20600

17. Gelantinasenachweis

Ein Röhrchen mit Gelantinenährboden (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 19) wurde mit einer Stichöse bis zum Grund beimpft und 4 Tage lang bei 37° Grad bebrütet. Anschließend wurde das Röhrchen für 1h im Kühlschrank abgekühlt.

Auswertung:

- positiv: Nährboden bleibt nach Abkühlung flüssig
- negativ: Nährboden wird fest

Kontrollstämme:

- positiv: Arcanobacterium pyogenes 993/32
- negativ: Listeria monocytogenes DSM 20600

18. Indol-Bildung

Zur Überprüfung auf Indol-Bildung wurde die Bouillon (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 20) mit Öse beimpft und 24h bei 37°C im Brutschrank inkubiert. Anschließend erfolgte die Zugabe von KOVÁCS Indolreagenz (Fa. Merck) und das Röhrchen wurde leicht geschüttelt.

Auswertung:

- positiv: rotgefärbte Reagenz steigt zur Oberfläche auf
- negativ: Reagenz bleibt gelblich

Kontrollstämme:

- positiv: E.coli ATCC 25922
- negativ: Listeria monocytogenes DSM 20600

19. Methylrot-Reaktion

Eine MR-VP-Bouillon (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 9) wurde mit einer zu testenden Kultur beimpft. Danach wurde das Röhrchen für 4d bei 37°C im Brutschrank inkubiert und anschließend mit 5 Tropfen Methylrot-Indikatorlösung (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 21) versetzt.

Auswertung:

- positiv: Rotfärbung
- negativ: Gelbfärbung

Kontrollstämme:

- positiv: Listeria monocytogenes DSM 20600
- negativ: Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442

20. H_2S-Bildung

Ein Schrägagarröhrchen mit KLIGLER Agar (Fa. Merck; siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 22) wurde sowohl auf der Schrägfläche als auch in der Hochschicht bis zum Grund beimpft. Anschließend erfolgt die Inkubation im Brutschrank bei 37°C für 48h.

Auswertung:

- positiv: Schwärzung des Agars
- negativ: keine Schwärzung

Kontrollstämme:

- positiv: *Salmonella* Typhimurium
- negativ: Listeria monocytogenes DSM 20600

21. Harnstoff-Spaltung

Für die Überprüfung auf Harnstoffabbau wurde ein Schrägagarröhrchen mit Harnstoffagar nach CHRISTIANSEN (Fa. Merck; siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 23) mit reichlich Koloniematerial auf der Oberfläche beimpft. Die Bebrütung erfolgte für 48h bei 37°C.

Auswertung:

- positiv: Rotfärbung des Mediums
- negativ: Gelbfärbung

Kontrollstämme:

- positiv: Micrococcus luteus DSM 20030
- negativ: Listeria monocytogenes DSM 20600

22. Lackmusmilch-Test

Zur Überprüfung eines Teststammes auf Rötung, Gerinnung und Peptonisierung in Lackmusmilch wurde ein Röhrchen mit Lackmusmilch (siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 24) mittels Öse beimpft. Die Inkubation erfolgte für 5-6d bei 37°C im Brutschrank.

Kontrollen:

- Arcanobacterium pyogenes 993/32: Rötung, Gerinnung und Peptonisierung
- E.coli ATCC 25922: Rötung, Koagulation
- Alcaligenes faecalis 11/86: Blaufärbung
- Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442: Peptonisierung
- Proteus vulgaris: keine Veränderung
- Unbeimpfte Lackmusmilch: keine Veränderung

23. Oxidativer und fermentativer Metabolismus

Zur Überprüfung des Glukoseabbaus auf oxidativem und fermentativem Wege wurden zwei Röhrchen mit glukosehaltigem OF-Testnährboden nach HUGH und LEIFSON (Fa. Merck,

siehe Anhang Teil 2, Rezeptur 25) mittels Stichöse bis auf den Röhrchengrund beimpft. Anschließend wurde eines der beiden Röhrchen 1cm hoch mit dickflüssigem, sterilen Paraffinöl überschichtet. Die Inkubation erfolgte 48h lang bei 37°C im Brutschrank.

Auswertung:

Oxidativer Glukosemetabolismus:

- positiv: Gelbfärbung im offenen Röhrchen
- negativ: Grün- oder Blaufärbung im offenen Röhrchen

Fermentativer Glukosemetabolismus:

- positiv: Gelbfärbung im überschichteten Röhrchen
- negativ: Grün- oder Blaufärbung im überschichteten Röhrchen

Kontrollstämme:

- *Salmonella* Typhimurium: Oxidativer und fermentativer Metabolismus
- Alcaligenes faecalis 11/86: weder oxidativer noch fermentativer Metabolismus

ANHANG TEIL 2:

Rezepturen der Nähr- und Testmedien

Rezeptur 1: NaCl-Pepton

Rezeptur:

Pepton (Casein, tryptisch verdaut)	1,0g
Natriumchlorid	8,5g
Aqua dest.	1000ml

- bei Bedarf in Röhrchen zu 9ml abfüllen
- Autoklavieren bei 121°C / 15 Minuten
- pH-Wert 7,0 ± 0,1

Rezeptur 2: Standard-I-Nähragar (Fa. Merck)

Rezeptur:

Pepton	15,0g
Hefeextrakt	3,0g
Natriumchlorid	6,0g
D(+)-Glukose	1,0g
Agar-Agar	12,0g
Aqua dest.	1000ml

- Autoklavieren bei 121°C / 15 Minuten
- pH-Wert 7,5 ± 0,2 bei 25°C
- Platten gießen

Rezeptur 3: Blutagar (Grundlage Standard-I-Nähragar, Fa. Merck)

Rezeptur:

Pepton	15,0g
Hefeextrakt	3,0g
Natriumchlorid	6,0g
D(+)-Glukose	1,0g
Agar-Agar	12,0g
Aqua dest.	950ml
Hammelblut defibriniert (Fa. Elocin-Lab GmbH)	50ml

- Autoklavieren bei 121°C / 15 Minuten
- pH-Wert 7,5 ± 0,2 bei 25°C
- erst nach dem Autoklavieren und Abkühlung auf 50°C wird der Rezeptur das Hammelblut zugefügt
- Platten gießen

Rezeptur 4: Medium zur Prüfung auf Gasbildung aus Glukose

Rezeptur:

Pepton aus Casein, tryptisch verdaut	5g
di-Kaliumhydrogenphosphat	5g
Glukose	5g
Aqua dest.	1000ml

- in Röhrchen mit Durhamröhrchen abfüllen
- Autoklavieren bei 121°C / 15 Minuten
- pH-Wert 7,0 ± 0,2

Rezeptur 5: Medium zum Nachweis von Beweglichkeit

Rezeptur:

Pepton aus Fleisch (tryptisch)	5g
Pepton aus Casein (tryptisch)	5g
Fleischextrakt	3g
Hefeextrakt	5g
Glukose	1g
Agar	2,5g
Aqua dest.	1000ml

- Abfüllen in Röhrchen zu 5ml
- Autoklavieren bei 121°C / 15 Minuten
- pH-Wert 7,0 ± 0,1 bei 25°C

Rezeptur 6: BHI-Bouillon (Hirn-Herz-Bouillon, Brain Heart Broth; Fa. Merck)

Rezeptur:

Nährsubstrat (Hirn-, Herzextrakt und Pepton)	27,5g
D(+)-Glukose	2,0g
Natriumchlorid	5,0g
di-Natriumhydrogenphosphat	2,5g
Aqua dest.	1000ml

- in Röhrchen zu 3ml abfüllen
- Autoklavieren bei 121°C / 15 Minuten
- pH-Wert 7,4 ± 0,2 bei 25°C

Rezeptur 7: P-Agar

Rezeptur:

Pepton aus Fleisch	10g
Hefeextrakt	5g
NaCl	5g
Glukose	1g
Agar	3g
Aqua dest.	1000ml

- Abfüllen in Röhrchen zu 3ml
- Autoklavieren bei 121°C / 15 Minuten

Rezeptur 8: DNase-Testagar (Fa. Merck)

Rezeptur:

Tryptose	20g
Natriumchlorid	5g
Desoxyribonucleinsäure	2g
Agar-Agar	15g
Aqua dest.	1000ml

- Autoklavieren bei 121°C / 15 Minuten
- pH-Wert 7,3 ± 0,2 bei 25°C
- Platten gießen

Rezeptur 9: MR-VP-Bouillon (Methylrot-VOGES-PROSKAUER-Bouillon)

Rezeptur:

Pepton aus Fleisch	7g
D(+)-Glukose	5g
Natriumchlorid	5g
Aqua dest.	1000ml

- Abfüllen in Röhrchen zu 5ml
- Autoklavieren bei 121°C / 15 Minuten
- pH-Wert 6,9 ± 0,2 bei 25°C

Rezeptur 10: BARRITT-Reagenz

Rezeptur:

1-Naphthol	5g
Ethanol absolut	100ml

Rezeptur 11: Iso-Bouillon

Rezeptur:

Fleischextrakt	3g
Hefeextrakt	5g
Pepton aus Casein	15g
D(+)-Glukose	1g
Aqua dest.	1000ml

- Abfüllen in Röhrchen zu 5ml
- Autoklavieren bei 121°C / 15 Minuten
- pH-Wert 7

Rezeptur 12: Iso-Bouillon + 6,5% NaCl

- Grundrezeptur wie „Iso-Bouillon“ plus 6,5% Natriumchlorid
- Abfüllen in Röhrchen zu 5ml
- Autoklavieren bei 121°C / 15 Minuten
- pH-Wert 6,9 ± 0,2 bei 25°C

Rezeptur 13: Bouillon zum Nachweis von Äskulinhydrolyse

Rezeptur:

Bacto-Pepton	10g
Natriumchlorid	5g
Äskulin	1g
Aqua dest.	1000ml

- Abfüllen in Röhrchen zu 5ml
- Autoklavieren bei 121°C / 10 Minuten
- pH-Wert 7,5

Rezeptur 14: Medium zur Prüfung der Kohlenhydratfermentation

Rezeptur:

L-Cystin	0,5g
Casein, pankreatisch abgebaut	20g
Agar	2,5g
Natriumchlorid	5g
Natriumsulfit	0,5g
Phenolrot	0,017g
Aqua dest.	1000ml

- Autoklavieren bei 121°C / 15 Minuten
- pH-Wert 7,3 ± 0,2

- auf ungefähr 50°C abkühlen lassen
- 10g des Kohlenhydrats in wenig sterilem Aqua dest. auflösen, durch einen Spritzenfilter sterilfiltrieren und der Grundrezeptur untermischen
- in sterile Röhrchen zu 3ml abfüllen
- der fertige Nährboden ist rot

Rezeptur 15: Natriumhippuratlösung

Rezeptur für Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS):

Natriumchlorid	8,5g
Na_2HPO_4	1,28g
NAH_2PO_4, H_20	14,0g
Aqua dest.	1000ml

- Autoklavieren bei 121°C / 15 Minuten
- 5g Hippursäure-Na-Salz in der PBS-Lösung auflösen
- in strile Röhrchen zu 0,4ml abfüllen, Lagerung bei -20°C

Rezeptur 16: 3,5%ige Ninhydrinlösung

Rezeptur:

Ninhydrin	1,75g
Aceton	25ml
Butanol	25ml

Rezeptur 17: Arginin-Bouillon

Rezeptur:

Pepton aus Casein	5g
Fleischextrakt	5g
K_2HPO_4	2g
Glukose	0,5g
Argininmonohydrochlorid	3g
Aqua dest.	1000ml

- Abfüllen in Röhrchen zu 5ml
- Autoklavieren bei 121°C / 20 Minuten
- pH-Wert 7,0

Rezeptur 18: Nitrat-Bouillon

Rezeptur:

Pepton aus Fleisch	8,6g
Natriumchlorid	6,4g
Kaliumnitrat	1,5g
Aqua dest.	1000ml

- Abfüllen in Röhrchen zu 5ml
- Autoklavieren bei 121°C / 15 Minuten
- pH-Wert 7,2 ± 0,2 bei 25°C

Rezeptur 19: Gelantinenährboden (Basis: Nährbouillon Nr.2, Fa. Oxoid)

Rezeptur Nährbouillon Nr.2:

Fleischextrakt „Lab-Lemco“	10g
Pepton	10g
Natriumchlorid	5g
Aqua dest.	1000ml

- Nährbouillon Nr.2 in Wasser auflösen
- pH-Wert auf 9,7 einstellen
- je nach Jahreszeit 120-150g Gelantine zugeben, mindestens 1h quellen lassen
- 30-60 Minuten in den Dampftopf
- Überprüfung pH-Wert, gegebenenfalls einstellen auf 7,6-7,8
- in sterile Röhrchen zu 8 ml abfüllen
- 15 Minuten Dampftopf

Rezeptur 20: Bouillon zur Überprüfung auf Indol-Bildung

Rezeptur:

Pepton aus Casein, tryptisch verdaut	20g
Natriumchlorid	5g
Tryptone (Difco)	15g
Aqua dest.	1000ml

- in Röhrchen zu 5ml abfüllen
- Autoklavieren bei 121°C / 15 Minuten
- pH-Wert 7,2 ± 0,2 bei 25°C

Rezeptur 21: Methylrot-Indikatorlösung

Rezeptur:

Methylrot	0,04g
Ethanol absolut	60ml

- pH-Wert auf 5,0 einstellen → Lösung wird orange

Rezeptur 22: KLIGLER-Agar (Fa. Merck)

Rezeptur:

Pepton aus Casein	15g
Pepton aus Fleisch	5g
Fleischextrakt	3g
Hefeextrakt	3g
Natriumchlorid	5g
Laktose	10g
D(+)-Glukose	1g
Ammoniumeisen(III)-citrat	0,5g
Natriumthiosulfat	0,5g
Phenolrot	0,024g
Agar-Agar	12g
Aqua dest.	1000ml

- in Röhrchen zu 8ml abfüllen
- Autoklavieren bei 121°C / 15 Minuten
- pH-Wert 7,4 ± 0,2 bei 25°C
- als Schrägagar erstarren lassen, der fertige Nährboden ist klar und rot

Rezeptur 23: Harnstoffagar nach CHRISTIANSEN (Fa. Merck)

Rezeptur (Basisnährboden, Fa. Merck):

Pepton aus Fleisch	1g
D(+)-Glukose	1g
Natriumchlorid	5g
Kaliumhydrogenphosphat	2g
Phenolrot	0,012g
Agar-Agar	12g
Aqua dest.	1000ml

- Autoklavieren bei 121°C / 15 Minuten
- Auf 50°C abkühlen lassen
- 50ml steril filtrierte 40%ige Harnstofflösung (aus 20g Harnstoff z.A., Fa. Merck + 50ml Aqua dest.) einmischen
- in sterile Röhrchen zu 8ml abfüllen
- als Schrägagarröhrchen erstarren lassen, der fertige Nährboden ist klar und rot
- pH-Wert 6,8 ± 0,2 bei 25°C

Rezeptur 24: Lackmusmilch

Rezeptur:

Magermilchpulver	100g
Lackmuslösung nach Kubel und Tiemann (0,5%ig)	100ml
Aqua dest.	1000ml

- in Röhrchen zu 5ml abfüllen
- fraktioniert im Dampftopf sterilisieren (jeweils 10 Minuten an 3 aufeinander folgenden Tagen)
- die Lackmusmilch hat eine blaurote Farbe

Rezeptur 25: OF-Testnährboden nach HUGH und LEIFSON

Rezeptur Basis (Fa. Merck):

Pepton aus Casein	2g
Hefeextrakt	1g
Natriumchlorid	5g
di-Kaliumhydrogenphosphat	0,2g
Bromthymolblau	0,08g
Agar-Agar	2,5g
Aqua dest.	1000ml

- Autoklavieren bei 121°C / 15 Minuten
- auf 50°C abkühlen lassen
- 100ml sterilfiltrierte 10%ige D(+)-Glukose-Lösung einmischen
- in Röhrchen zu 5ml abfüllen, der fertige Nährboden ist klar und von grün-blauer Farbe
- pH-Wert 7,1 ± 0,2 bei 25°C

ANHANG TEIL 3: Ergebnistabellen

Tab. 1: Betriebskennzahlen

	Betrieb 1	**Betrieb 2**
→ Stallsystem	Liegeboxen-Laufstallhaltung; TS (8-3 Wochen a.p.) Frühjahr bis Herbst stallnahe Außenflächen mit Vorlage Totale Mischration; TS (3 Wochen a.p. bis Partus) Laufbox/Tiefstreu mit Auslauf	Laufstall (Asphalt, Spaltenboden, Stroh), Liegeboxen (Häckselstroh, Stroh-Kalk-Gemisch), tragende Färsen: Weidegang
→ Anzahl der melkenden Kühe	572 (Gesamtbestand 2006)	380 Tiere (445 Tiere insgesamt)
→ Leistungsdurchschnitt der Tiere 2005	10034 kg Milch / Kuh	8600 kg Milch / Kuh
→ Routine-Milchproben-Untersuchung:		
- Anzahl der bakteriologischen Untersuchungen	- bei TS Schalmtest, bei allen positiven Tieren BU (ohne Resistogramm)	- Keimbestimmung regelmäßig durch Molkerei
- Zellzahl (Durchschnitt)	- 210000 / ml (2006)	- 290000 / ml
→ Melk-Management:		
- Melkzeiten	- 3x pro Tag	- 2x pro Tag
- Melksystem	- 2 Fischgrätenmelkstände, je 14 Plätze	- Doppel-12er-Fischgräte
- Melkreihenfolge	- klinisch Euterkranke zum Schluss, davor Frisch-abkalber (bis 5d p.p.), keine Trennung von St.aureus-positiven / -negativen Kühen	- Abmelker → Hochleistungskühe → „Problemkühe“ (Euter, Klauen, Gliedmaße) → Euterkranke
- Vormelkbecher	- ja	- ja
- Eutertücher	- Eutertücher, Reinigung (Waschmaschine) nach jedem Gebrauch	- Einmaltücher (Papier mit Desinfektionslösung)
- Zitzendippen	- ja (z.B. Ujosan, Jod- / Milchsäurebasis)	- ja (CIP DIP 200)
- Zwischendesinfektion	- ja	- ja
→ Trockenstellen:		
- Wie?	- unter Antibiotikaschutz	- mit Benestermycin und Dippmittel (Zitzenversiegler)
- Wann?	- ab 225.-235. Trächtigkeitstag	- 6-8 Wochen vor dem Kalben und bei Milchleistung < 10 kg / Tag
→ Mastitis :		
- Neuerkrankungen im Bestand pro Monat	- 10 – 20 Tiere (inklusive Wiedererkrankungen)	- ca. 17 Tiere (ohne Zellzahl-Behandlungen)
- Mastitiskranke Kühe (%)	- 1-3%	
→ Abgänge:		
- Remontierungsrate 2006	- 35,2%	- 38% (Zellzahlsanierung)
- Remontierungsrate 2005	- 33,6%	- 41% (BHV1-Sanierung)
- Durchschnittsalter / Abgänge	- 4,9 Jahre	- 4,8 Jahre
- Abgangsursache Mastitis (in % aller Abgänge pro Jahr)	- 11% des durchschnittlichen Bestandes inklusive Melkbarkeit, Zellzahlen, Strichverletzungen	- 10%

Tab. 2: Übersicht Nachweis S.uberis in Milch- und Gewebeproben

Klinischer Befund	Laufende Tiernummer	Milch VL S.uberis	Milch VR S.uberis	Milch HL S.uberis	Milch HR S.uberis	S.uberis Euter VL	S.uberis Euter VR	S.uberis Euter HL	S.uberis Euter HR	S.uberis Muskulatur	S.uberis Lymphknoten
		KbE/0,1 ml				KbE/g in log					
Klinische Mastitis	7	.	.	.	.	.	5,30	.	.	.	3,08
	8	.	.	.	.	5,78	5,85	7,48	7,30	.	3,78
	11	>100	.	.	.	4,85	.	5,65	.	.	.
	16	.	.	.	.	.	.	.	3,11	.	.
	19	>100	>100	>100	>100	6,85	6,70	5,78	6,85	.	2,45
	23	.	>100	.	.	.	5,49	2,18	.	.	.
	32	.	>100	.	.	.	3,78	.	3,38	.	.
	34	>100	.	.	.	5,69	.	.	.	.	.
	39	>100	>100	>100	>100	2,87	4,90	4,66	4,98	.	.
	40	.	.	.	.	3,46	.	2,41	2,18	.	.
	46	.	>100	.	.	.	4,95	.	3,11	.	1,78
	47	.	.	.	.	1,60	2,23	.	2,20	.	.
	48	.	.	.	.	1,60	.	1,48	.	.	.
	49	>100	.	.	.	2,30	.	.	.	.	.
	50	.	11-100	.	.	.	4,80	.	.	.	.
	53	.	>100	11-100	.	.	4,51	2,30	4,18	.	.
	57	.	.	>100	.	.	.	4,70	2,74	.	1,90
erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	5	.	.	.	.	3,78	.	3,30	.	.	.
	6	>100	.	.	.	4,18	4,90	.	.	.	.
	20	.	.	>100	.	.	.	2,00	.	.	.
	22	.	.	.	.	.	.	.	1,70	.	.
	51	11-100	1-10	>100	.	2,30	.	3,26	.	.	.
	52	>100	>100	.	.	3,15	.	.	.	.	.
Kontrollgruppe	12	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1,00

Tab. 3: Übersicht Nachweis S.dysgalactiae in Milch- und Gewebeproben

Klinischer Befund	Laufende Tiernummer	Milch VL S.dysgalactiae	Milch VR S.dysgalactiae	Milch HL S.dysgalactiae	Milch HR S.dysgalactiae	S.dysgalactiae Euter VL	S.dysgalactiae Euter VR	S.dysgalactiae Euter HL	S.dysgalactiae Euter HR	S.dysgalactiae Muskulatur	S.dysgalactiae Lymphknoten
		KbE/0,1 ml				KbE/g in log					
Klinische Mastitis	10	.	.	.	.	4,52	.	.	.	.	.
	11	.	.	.	>100	.	.	.	5,46	.	.
	14	.	.	.	>100	.	.	.	5,74	.	.
	32	.	.	>100	.	.	.	3,43	.	.	.
	39	.	.	>100	.	.	.	.	.	.	.
	41	>100	.	.	.	3,81	.	.	.	.	.
erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	37	.	1-10	>100	.	.	.	.	.	.	.

Tab. 4: Übersicht Nachweis S.agalactiae in Milch- und Gewebeproben

Klinischer Befund	Laufende Tiernummer	Milch VL S.agalactiae	Milch VR S.agalactiae	Milch HL S.agalactiae	Milch HR S.agalactiae	S.agalactiae Euter VL	S.agalactiae Euter VR	S.agalactiae Euter HL	S.agalactiae Euter HR	S.agalactiae Muskulatur	S.agalactiae Lymphknoten
		KbE/0,1 ml				KbE/g in log					
Klinische Mastitis	48	.	.	.	>100	.	.	.	.	.	.
Kontrollgruppe	12	.	.	.	.	.	1,57	2,88	.	.	.

Tab. 5: Übersicht Nachweis Enterococcus in Milch- und Gewebeproben

Klinischer Befund	Laufende Tiernummer	Milch VL Enterococcus	Milch VR Enterococcus	Milch HL Enterococcus	Milch HR Enterococcus	Enterococcus Euter VL	Enterococcus Euter VR	Enterococcus Euter HL	Enterococcus Euter HR	Enterococcus Muskulatur	Enterococcus Lymphknoten
		KbE/0,1 ml				KbE/g in log					
Klinische Mastitis	4	.	.	.	.	2,65	.	.	.	.	.
	50	.	.	.	>100	.	.	.	2,74	.	.
erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	5	.	.	.	.	.	.	.	2,48	.	.
	6	.	.	.	.	.	.	.	2,48	.	.

Tab. 6: Übersicht Nachweis Streptococcus, Enterococcus und Lactococcus (mittels der angewandten Labormethoden nicht weiter differenzierbare Stämme) in Milch- und Gewebeproben

Klinischer Befund	Laufende Tiernummer	Milch VL ScEcLc	Milch VR ScEcLc	Milch HL ScEcLc	Milch HR ScEcLc	ScEcLc Euter VL	ScEcLc Euter VR	ScEcLc Euter HL	ScEcLc Euter HR	ScEcLc Muskulatur	ScEcLc Lymphknoten
		KbE/0,1 ml				KbE/g in log					
Klinische Mastitis	7	.	.	.	11-100	.	.	.	.	.	.
	39	.	.	.	.	.	.	4,61	4,18	.	.
	40	.	.	.	.	2,18	.	.	.	.	.
	48	.	.	.	.	.	.	.	3,08	.	.
	50	.	.	.	.	.	.	.	.	1,00	.
erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	5	.	.	.	.	3,00	.	.	.	.	.
	31	.	.	.	.	.	.	.	1,95	.	.

Tab. 7: Übersicht Nachweis St.aureus in Milch- und Gewebeproben

Klinischer Befund	Laufende Tiernummer	Milch VL St.aureus	Milch VR St.aureus	Milch HL St.aureus	Milch HR St.aureus	St.aureus Euter VL	St.aureus Euter VR	St.aureus Euter HL	St.aureus Euter HR	St.aureus Muskulatur	St.aureus Lymphknoten
		KbE/0,1 ml				KbE/g in log					
Klinische Mastitis	4	.	>100	>100	.	.	2,40	2,00	.	.	.
	10	.	.	>100	.	.	.	3,40	.	.	.
	34	.	>100	11-100	>100	.	.	.	.	.	.
	35	11-100	>100	.	>100	.	2,45	.	1,60	.	.
	46	.	.	11-100	1-10	.	.	.	.	.	.
	47	.	1-10	.	.	.	.	.	.	.	.
	49	.	>100	.	.	.	3,04	.	.	.	.
	53	11-100	.	.	.	2,65	.	.	.	.	.
	57	.	.	1-10	>100	1,30	.	.	3,30	.	2,61
erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	5	>100	>100	>100	>100	2,85	2,60	.	.	.	.
	6	.	.	>100	>100	.	.	3,48	.	.	.
	21	.	.	.	11-100	.	.	.	.	.	.
	22	.	>100	.	.	.	.	.	.	.	.
	24	.	.	>100	.	.	.	.	.	.	.
	25	.	>100	.	>100	.	3,38	.	3,28	.	.
	26	.	.	.	>100	.	.	.	.	.	.
	28	>100	>100	.	.	.	.	.	.	.	.
	30	.	11-100	.	>100	.	.	.	.	.	.
	31	>100	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	36	>100	.	.	11-100	.	.	.	.	.	.
	45	.	.	1-10	.	.	.	.	.	.	.

Tab. 8: Übersicht Nachweis Staphylococcus (ohne St.aureus) in Milch- und Gewebeproben

Klinischer Befund	Laufende Tiernummer	Milch VL Staphylococcus	Milch VR Staphylococcus	Milch HL Staphylococcus	Milch HR Staphylococcus	Staphylococcus Euter VL	Staphylococcus Euter VR	Staphylococcus Euter HL	Staphylococcus Euter HR	Staphylococcus Muskulatur	Staphylococcus Lymphknoten
		KbE/0,1 ml				KbE/g in log					
Klinische Mastitis	4	.	.	.	.	.	.	2,00	.	.	.
	9	.	.	11-100	.	.	.	.	.	.	.
	11	.	11-100	.	.	.	.	.	.	.	.
	15	.	.	.	.	.	.	1,00	.	.	.
	16	.	.	.	11-100	.	.	.	3,49	.	.
	32	11-100	>100	.	>100	.	.	.	.	.	.
	35	.	.	.	.	.	.	.	.	2,30	.
	38	.	>100	>100	>100	.	.	.	.	.	.
	39	>100	.	.	.	1,70	.	.	.	.	.
	40	11-100	.	>100	>100	.	.	.	.	.	.
	41	.	.	.	1-10	.	.	.	.	.	.
	47	.	1-10	1-10	11-100	.	.	.	.	.	.
	48	.	.	11-100	11-100	.	.	.	.	.	.
	49	.	.	1-10	.	.	.	.	.	.	.
	50	.	.	>100	.	.	.	1,85	.	.	.
	57	.	>100	.	.	1,48	3,58	.	.	.	.
erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	5	.	.	.	.	2,78	.	.	.	.	.
	6	.	1-10	.	.	.	.	.	.	.	.
	20	11-100	.	.	.	.	1,48	.	.	1,78	.
	24	1-10	.	.	11-100	.	2,15	.	1,00	.	.
	25	.	>100	11-100	.	.	.	.	.	.	.
	26	.	.	11-100	.	1,00	.	1,00	.	.	.
	28	11-100	>100	1-10	.	.	1,48	.	.	.	.
	29	.	.	11-100	11-100	.	.	.	2,08	.	.
	30	1-10	1-10	>100	>100	.	.	.	.	.	.
	31	.	11-100	1-10	>100	.	.	.	1,00	.	.
	37	.	1-10	11-100	.	.	1,48	.	1,78	.	.
	43	.	1-10	.	1-10	1,00	.	.	.	.	.
	45	1-10	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	52	>100	>100	>100	>100	.	3,81	3,11	2,30	.	.
	55	.	.	11-100	.	.	1,48	.	.	.	.
	56	.	.	.	.	1,00	.	.	3,20	.	.
Kontrollgruppe	12	11-100	>100	11-100	>100	1,30	.	2,30	.	.	.
	13	11-100	11-100	11-100	11-100	.	.	.	.	.	.
	17	>100	.	.	.	1,00	1,00	.	.	.	.
	33	.	11-100	.	.	.	.	.	.	.	.
	42	>100	>100	.	.	.	.	.	.	.	.
	44	.	11-100	.	.	.	.	.	.	.	.

Tab. 9: Übersicht Nachweis Micrococcus in Milch- und Gewebeproben

Klinischer Befund	Laufende Tiernummer	Milch VL Micrococcus	Milch VR Micrococcus	Milch HL Micrococcus	Milch HR Micrococcus	Micrococcus Euter VL	Micrococcus Euter VR	Micrococcus Euter HL	Micrococcus Euter HR	Micrococcus Muskulatur	Micrococcus Lymphknoten
		KbE/0,1 ml				KbE/g in log					
Klinische Mastitis	11	.	.	.	.	.	2,00	.	.	.	.
	15	.	.	.	.	.	.	1,00	.	.	.
	16	.	.	.	.	.	.	.	.	1,30	.
	18	.	.	>100	.	.	.	2,85	.	.	.
erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	20	.	.	.	.	.	.	.	.	1,78	.
	54	.	.	.	.	.	.	1,70	.	.	.
Kontrollgruppe	12	.	.	.	.	1,90	.	.	.	.	.

Tab. 10: Übersicht Nachweis Enterobacteriaceae in Milch- und Gewebeproben

Klinischer Befund	Laufende Tiernummer	Milch VL Enterobacteriaceae	Milch VR Enterobacteriaceae	Milch HL Enterobacteriaceae	Milch HR Enterobacteriaceae	Enterobacteriaceae Euter VL	Enterobacteriaceae Euter VR	Enterobacteriaceae Euter HL	Enterobacteriaceae Euter HR	Enterobacteriaceae Muskulatur	Enterobacteriaceae Lymphknoten
		KbE/0,1 ml				KbE/g in log					
Klinische Mastitis	4	.	.	.	11-100	2,74	3,52	2,30	.	.	.
	7	11-100	.	.	.	4,78	5,60	6,40	.	.	2,30
	9	.	.	.	.	.	.	6,46	.	.	.
	14	.	.	.	.	.	2,38	.	.	2,54	2,15
	16	.	.	>100	.	1,85	.	7,45	.	.	.
	27	.	.	.	.	.	.	4,93	.	.	.
	32	.	.	>100	.	.	.	.	.	.	.
	38	.	.	.	.	.	.	.	.	1,30	1,00
	41	.	>100	.	.	2,65	7,78	2,00	1,60	.	2,32
	49	11-100	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	53	.	.	.	.	.	.	2,84	4,15	.	.
erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	5	.	.	.	.	.	.	.	2,78	.	.
	6	.	.	.	.	.	.	3,00	2,00	.	.
Kontrollgruppe	17	.	.	.	.	.	1,00	.	.	.	.
	42	.	.	.	.	1,70	1,00	.	.	.	.

Tab. 11: Übersicht Nachweis A.pyogenes in Milch- und Gewebeproben

Klinischer Befund	Laufende Tiernummer	Milch VL A.pyogenes	MIlch VR A.pyogenes	Milch HL A.pyogenes	Milch HR A.pyogenes	A.pyogenes Euter VL	A.pyogenes Euter VR	A.pyogenes Euter HL	A.pyogenes Euter HR	A.pyogenes Muskulatur	A.pyogenes Lymphknoten
		KbE/0,1 ml				KbE/g in log					
Klinische Mastitis	14	.	.	.	>100	.	4,30	5,70	7,78	2,18	3,08
	18	>100	>100	11-100	.	7,78	4,18	3,08	3,85	.	2,08
	40	.	>100	.	>100	.	7,40	.	3,90	.	2,54
	46	.	>100	.	.	.	5,40	2,18	3,04	.	.
	47	.	.	.	.	2,58	2,04	2,08	2,26	.	.
	48	.	.	.	.	.	1,70	2,40	.	.	.
	49	11-100	.	1-10	>100	5,00	4,00	5,81	7,78	.	3,00
erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	43	.	.	.	.	1,30	.	.	.	.	.
	45	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1,70
Kontrollgruppe	12	.	.	.	.	1,00	2,85	3,41	2,48	.	.
	13	.	.	.	.	2,40	.	1,48	1,95	.	2,95

Tab. 12: Übersicht C.bovis-Verdacht in Milch- und Gewebeproben

Klinischer Befund	Laufende Tiernummer	Milch VL V.a. C.bovis	Milch VR V.a. C.bovis	Milch HL V.a. C.bovis	Milch HR V.a. C.bovis	C.bovis Euter VL	C.bovis Euter VR	C.bovis Euter HL	C.bovis Euter HR	C.bovis Muskulatur	C.bovis Lymphknoten
		KbE/0,1 ml				KbE/g in log					
Klinische Mastitis	16	>100	>100	.	.	.	.	.	.	.	.
	23	>100	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	32	11-100	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	38	.	.	.	.	2,00	.	.	.	.	.
	40	>100	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	46	>100	.	>100	>100	.	.	.	.	.	.
	47	11-100	11-100	11-100	.	.	.	.	.	.	.
	48	11-100	.	11-100	.	2,76	.	.	.	.	.
	50	>100	.	11-100	.	2,04	.	.	.	.	.
	53	>100	.	.	.	2,65	.	.	.	.	.
erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	20	.	.	.	11-100	1,48	.	.	.	.	.
	21	.	.	.	11-100	.	.	.	.	.	.
	26	.	.	.	.	.	.	1,70	.	.	.
	28	11-100	.	11-100	11-100	.	.	.	.	.	.
	29	.	11-100	.	.	.	.	.	.	.	.
	30	.	11-100	.	11-100	.	2,60	2,73	2,60	.	.
	31	>100	>100	>100	>100	.	.	.	.	.	.
	36	.	.	>100	>100	.	3,11	2,98	2,93	.	.
	37	>100	.	.	.	3,04	.	.	1,78	.	.
	43	11-100	11-100	11-100	11-100	.	.	.	.	.	.
	45	.	.	.	11-100	.	.	.	.	.	.
	51	11-100	11-100	.	.	.	.	.	.	.	.
	52	.	11-100	11-100	.	.	.	.	.	.	.
	54	11-100	.	11-100	.	.	.	.	.	.	.
	55	11-100	11-100	>100	11-100	.	.	.	.	.	.
Kontrollgruppe	12	11-100	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	13	.	.	.	.	.	.	1,70	1,85	.	.
	42	>100	>100	>100	>100	.	.	.	.	.	.
	44	.	>100	.	.	.	.	.	.	.	.

Tab. 13: Übersicht Nachweis Sporenbildner in Milch- und Gewebeproben

Klinischer Befund	Laufende Tiernummer	Milch VL Sporenbildner	Milch VR Sporenbildner	Milch HL Sporenbildner	Milch HR Sporenbildner	Sporenbildner Euter VL	Sporenbildner Euter VR	Sporenbildner Euter HL	Sporenbildner Euter HR	Sporenbildner Muskulatur	Sporenbildner Lymphknoten
		KbE/0,1 ml				KbE/g in log					
Klinische Mastitis	14	.	.	.	.	.	.	.	.	1,60	.
	15	.	.	.	.	.	4,20	.	.	.	.
	32	.	.	.	>100	.	.	.	.	.	.

Tab. 14: Übersicht Pilz-Verdacht in Milch- und Gewebeproben

Klinischer Befund	Laufende Tiernummer	Milch VL V.a. Pilze	Milch VR V.a. Pilze	Milch HL V.a. Pilze	Milch HR V.a. Pilze	Pilze Euter VL	Pilze Euter VR	Pilze Euter HL	Pilze Euter HR	Pilze Muskulatur	Pilze Lymphknoten
		KbE/0,1 ml				KbE/g in log					
Klinische Mastitis	7	.	.	.	.	.	.	.	3,90	.	.
	14	>100	>100	.	.	5,00	2,57	.	.	.	.
	16	.	.	.	.	1,30	.	.	.	.	.
	47	.	.	.	>100	.	.	.	.	.	.
erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	31	.	.	.	.	.	.	.	1,90	.	.
	45	>100	.	>100	.	5,26	.	5,70	.	.	.
	54	.	.	.	.	.	.	.	2,48	.	.
	56	.	.	.	.	.	.	1,70	.	.	.

Tab. 15: Übersicht Nachweis anderer Keime in Gewebeproben

Klinischer Befund	Laufende Tiernummer	Andere Euter VL	Andere Euter VR	Andere Euter HL	Andere Euter HR	Andere Muskulatur	Andere Lymphknoten
		KbE/g in log					
Klinische Mastitis	4	2,78	.	.	2,54	.	.
	14	.	3,70	.	.	2,00	.
	15	.	.	1,78	.	.	.
	16	2,04	.	.	.	.	.
	27	1,90	.	.	.	.	.
	32	2,00	.	.	.	.	.
	38	.	2,90	.	3,26	.	.
erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	5	.	2,30	.	.	.	.
	6	.	.	3,60	2,00	2,60	.
	20	.	.	.	.	2,20	.
	25	2,70	.	.	.	.	.
	26	1,60	1,85	1,70	2,04	.	.
	28	.	1,48	.	.	.	.
	31	.	.	.	2,34	.	.
	37	.	.	1,60	.	.	.
	43	1,00	.	.	.	.	.
	54	2,48	1,90	2,60	.	.	.
	55	.	1,00	.	.	1,30	.
Kontrollgruppe	12	1,60	.	.	.	.	1,30
	17	.	.	1,60	.	.	.
	42	1,60	.	.	.	.	.

Tab. 16: Übereinstimmung Keimspektrum Eutergewebe und Muskulatur

		mind. 1 Euterviertel +, Muskulatur +	alle Euterviertel -, Muskulatur -	mind. 1 Euterviertel +, Muskulatur -	alle Euterviertel -, Muskulatur +	Gesamt
S.uberis	Anzahl	0	31	23	0	54
	%		57,4%	42,6%		100,0%
S.dysgalactiae	Anzahl	0	49	5	0	54
	%		90,7%	9,3%		100,0%
S.agalactiae	Anzahl	0	53	1	0	54
	%		98,1%	1,9%		100,0%
Enterococcus	Anzahl	0	50	4	0	54
	%		92,6%	7,4%		100,0%
Streptococcus, Enterococcus und Lactococcus (1)	Anzahl	0	48	5	1	54
	%		88,9%	9,3%	1,9%	100,0%
St. aureus	Anzahl	0	45	9	0	54
	%		83,3%	16,7%		100,0%
Staphylococcus (ohne St.aureus)	Anzahl	1(2)	33	19	1	54
	%	1,9%	61,1%	35,2%	1,9%	100,0%
Micrococcus	Anzahl	0	47	5	2	54
	%		87,0%	9,3%	3,7%	100,0%
Enterobacteriaceae	Anzahl	1	41	11	1	54
	%	1,9%	75,9%	20,4%	1,9%	100,0%
A.pyogenes	Anzahl	1	44	9	0	54
	%	1,9%	81,5%	16,7%		100,0%
V.a. C.bovis	Anzahl	0	44	10	0	54
	%		81,5%	18,5%		100,0%
Sporenbildner	Anzahl	0	52	1	1	54
	%		96,3%	1,9%	1,9%	100,0%
V.a. Pilze	Anzahl	0	47	7	0	54
	%		87,0%	13,0%		100,0%

+ positiv
- negativ
(1) mittels der angewandten Labormethoden nicht weiter differenzierbare Stämme
(2) Isolate biochemisch keine Übereinstimmung

Tab. 17: Übereinstimmung Keimspektrum Eutergewebe und Lymphknoten

		mind. 1 Euterviertel +, Lymphknoten +	alle Euterviertel -, Lymphknoten -	mind. 1 Euterviertel +, Lymphknoten -	alle Euterviertel -, Lymphknoten +	Gesamt
S.uberis	Anzahl	5	30	18	1	54
	%	9,3%	55,6%	33,3%	1,9%	100,0%
S.dysgalactiae	Anzahl	0	49	5	0	54
	%		90,7%	9,3%		100,0%
S.agalactiae	Anzahl	0	53	1	0	54
	%		98,1%	1,9%		100,0%
Enterococcus	Anzahl	0	50	4	0	54
	%		92,6%	7,4%		100,0%
Streptococcus, Enterococcus und Lactococcus (1)	Anzahl	0	49	5	0	54
	%		90,7%	9,3%		100,0%
St. aureus	Anzahl	1	45	8	0	54
	%	1,9%	83,3%	14,8%		100,0%
Staphylococcus (ohne St.aureus)	Anzahl	0	34	20	0	54
	%		63,0%	37,0%		100,0%
Micrococcus	Anzahl	0	49	5	0	54
	%		90,7%	9,3%		100,0%
Enterobacteriaceae	Anzahl	3	41	9	1	54
	%	5,6%	75,9%	16,7%	1,9%	100,0%
A.pyogenes	Anzahl	5	43	5	1	54
	%	9,3%	79,6%	9,3%	1,9%	100,0%
V.a. C.bovis	Anzahl	0	44	10	0	54
	%		81,5%	18,5%		100,0%
Sporenbildner	Anzahl	0	53	1	0	54
	%		98,1%	1,9%		100,0%
V.a. Pilze	Anzahl	0	47	7	0	54
	%		87,0%	13,0%		100,0%

+ positiv
- negativ
(1) mittels der angewandten Labormethoden nicht weiter differenzierbare Stämme

Tabelle 18: Quantitative Ergebnisse Euter VL auf Standard I-Nähragar und Blutplatten

Klinischer Befund	**Laufende Tiernummer**	**GKZ** (KbE/g in log)	**Keimzahl (BP)**(KbE/g in log)	**Differenz GKZ – Keimzahl (BP)**
Klinische Mastitis	4	3,04	3,20	-,16
	7	5,04	4,78	,26
	8	6,08	5,78	,30
	9	,40	n.n.	,40
	10	4,46	4,52	-,06
	11	4,85	4,85	,00
	14	4,90	5,00	-,10
	15	1,00	n.n.	1,00
	16	2,28	2,30	-,02
	18	6,78	7,78	-1,00
	19	6,78	6,85	-,07
	23	,70	n.n.	,70
	27	1,56	1,90	-,35
	32	1,54	2,00	-,46
	34	5,57	5,69	-,12
	35	1,40	n.n.	1,40
	38	,40	2,00	-1,60
	39	2,89	2,90	-,01
	40	3,48	3,48	-,01
	41	3,79	3,84	-,06
	46	1,30	n.n.	1,30
	47	2,18	2,62	-,45
	48	1,65	2,79	-1,14
	49	5,08	5,00	,08
	50	,40	2,04	-1,64
	53	3,00	2,95	,05
	57	1,96	1,70	,26
erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	5	4,15	3,92	,23
	6	3,69	4,18	-,49
	20	,40	1,48	-1,08
	21	1,00	n.n.	1,00
	22	,40	n.n.	,40
	24	,40	n.n.	,40
	25	2,51	2,70	-,19
	26	1,96	1,70	,26
	28	,40	n.n.	,40
	29	,70	n.n.	,70
	30	,70	n.n.	,70
	31	1,18	n.n.	1,18
	36	,70	n.n.	,70
	37	1,30	3,04	-1,74
	43	1,00	1,60	-,60
	45	5,04	5,26	-,21
	51	2,20	2,30	-,10
	52	3,23	3,15	,08
	54	2,04	2,48	-,44
	55	,70	n.n.	,70
	56	1,30	1,00	,30
Kontrollgruppe	12	2,04	2,18	-,13
	13	2,28	2,40	-,12
	17	1,61	1,00	,61
	33	,40	n.n.	,40
	42	1,54	1,95	-,41
	44	,70	n.n.	,70

BP Blutplatten; n.n. nicht nachgewiesen

Tabelle 19: Quantitative Ergebnisse Euter VR auf Standard I-Nähragar und Blutplatten

Klinischer Befund	**Laufende Tiernummer**	**GKZ** (KbE/g in log)	**Keimzahl (BP)**(KbE/g in log)	**Differenz GKZ – Keimzahl (BP)**
Klinische Mastitis	4	3,40	3,55	-,15
	7	5,67	5,78	-,11
	8	5,98	5,85	,13
	9	1,70	n.n.	1,70
	10	1,00	n.n.	1,00
	11	2,20	2,00	,20
	14	4,56	4,41	,15
	15	4,46	4,20	,26
	16	,70	n.n.	,70
	18	4,18	4,18	,00
	19	6,78	6,70	,08
	23	5,54	5,49	,05
	27	,70	n.n.	,70
	32	4,00	3,78	,22
	34	1,00	n.n.	1,00
	35	2,52	2,45	,07
	38	3,26	2,90	,35
	39	5,00	4,90	,10
	40	6,78	7,40	-,62
	41	6,78	7,78	-1,00
	46	4,90	5,53	-,63
	47	3,08	2,45	,63
	48	1,54	1,70	-,15
	49	4,41	4,05	,37
	50	4,83	4,80	,03
	53	4,59	4,51	,09
	57	3,51	3,58	-,07
erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	5	2,43	2,78	-,35
	6	4,76	4,90	-,15
	20	1,61	1,48	,14
	21	1,40	n.n.	1,40
	22	1,00	n.n.	1,00
	24	2,15	2,15	,00
	25	3,52	3,38	,14
	26	1,78	1,85	-,07
	28	1,48	1,78	-,30
	29	,40	n.n.	,40
	30	,70	2,60	-1,90
	31	1,00	n.n.	1,00
	36	,70	3,11	-2,41
	37	1,83	1,48	,36
	43	,70	n.n.	,70
	45	,70	n.n.	,70
	51	,40	n.n.	,40
	52	3,76	3,81	-,05
	54	1,00	1,90	-,90
	55	1,61	1,60	,01
	56	1,00	n.n.	1,00
Kontrollgruppe	12	2,79	2,87	-,08
	13	1,91	n.n.	1,91
	17	1,65	1,30	,35
	33	1,51	n.n.	1,51
	42	1,54	1,00	,54
	44	,40	n.n.	,40

BP Blutplatten; n.n. nicht nachgewiesen

Tabelle 20: Quantitative Ergebnisse Euter HL auf Standard I-Nähragar und Blutplatten

Klinischer Befund	**Laufende Tiernummer**	**GKZ** (KbE/g in log)	**Keimzahl (BP)**(KbE/g in log)	**Differenz GKZ – Keimzahl (BP)**
Klinische Mastitis	4	2,34	2,60	-,26
	7	6,23	6,40	-,17
	8	6,78	7,48	-,70
	9	6,36	6,46	-,10
	10	3,28	3,40	-,12
	11	4,99	5,65	-,66
	14	5,53	5,70	-,17
	15	1,91	1,90	,01
	16	6,78	7,45	-,67
	18	3,40	3,28	,12
	19	6,00	5,78	,22
	23	2,08	2,18	-,10
	27	4,92	4,93	-,01
	32	3,58	3,43	,15
	34	,40	n.n.	,40
	35	,40	n.n.	,40
	38	,40	n.n.	,40
	39	4,65	4,94	-,29
	40	2,40	2,41	-,02
	41	2,45	2,00	,45
	46	1,96	2,18	-,22
	47	2,04	2,08	-,04
	48	2,34	2,45	-,10
	49	5,63	5,81	-,18
	50	1,40	1,85	-,45
	53	2,79	2,95	-,16
	57	4,69	4,70	-,01
erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	5	3,15	3,30	-,15
	6	3,73	3,90	-,17
	20	1,83	2,00	-,17
	21	1,60	n.n.	1,60
	22	,70	n.n.	,70
	24	1,00	n.n.	1,00
	25	1,00	n.n.	1,00
	26	1,85	2,04	-,20
	28	,40	n.n.	,40
	29	,70	n.n.	,70
	30	,70	2,73	-2,03
	31	,40	n.n.	,40
	36	2,99	2,98	,01
	37	1,18	1,60	-,43
	43	,70	n.n.	,70
	45	5,72	5,70	,03
	51	3,36	3,26	,11
	52	3,18	3,11	,06
	54	2,23	2,65	-,42
	55	,40	n.n.	,40
	56	1,36	1,70	-,34
Kontrollgruppe	12	3,26	3,55	-,29
	13	1,65	1,90	-,25
	17	1,70	1,60	,10
	33	,40	n.n.	,40
	42	1,00	n.n.	1,00
	44	,40	n.n.	,40

BP Blutplatten; n.n. nicht nachgewiesen

Tabelle 21: Quantitative Ergebnisse Euter HR auf Standard I-Nähragar und Blutplatten

Klinischer Befund	**Laufende Tiernummer**	**GKZ** (KbE/g in log)	**Keimzahl (BP)**(KbE/g in log)	**Differenz GKZ – Keimzahl (BP)**
Klinische Mastitis	4	2,63	2,54	,09
	7	3,89	3,90	-,02
	8	6,78	7,30	-,52
	9	1,74	n.n.	1,74
	10	1,00	n.n.	1,00
	11	5,54	5,46	,08
	14	5,70	7,78	-2,08
	15	1,30	n.n.	1,30
	16	3,43	3,64	-,21
	18	4,08	3,85	,23
	19	6,78	6,85	-,07
	23	,40	n.n.	,40
	27	,40	n.n.	,40
	32	3,38	3,38	,00
	34	,40	n.n.	,40
	35	1,77	1,60	,17
	38	3,26	3,26	,00
	39	5,15	5,04	,10
	40	3,79	3,91	-,13
	41	1,54	1,60	-,06
	46	3,23	3,38	-,15
	47	2,57	2,53	,04
	48	3,32	3,08	,24
	49	6,78	7,78	-1,00
	50	2,81	2,74	,07
	53	4,54	4,46	,08
	57	3,38	3,41	-,03
erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	5	2,81	2,95	-,14
	6	2,80	2,70	,10
	20	,40	n.n.	,40
	21	1,00	n.n.	1,00
	22	1,65	1,70	-,05
	24	1,77	1,00	,77
	25	3,38	3,28	,10
	26	1,81	2,04	-,23
	28	,40	n.n.	,40
	29	2,15	2,08	,07
	30	,40	2,60	-2,20
	31	2,65	2,60	,05
	36	2,96	2,93	,03
	37	1,54	2,08	-,54
	43	,40	n.n.	,40
	45	,70	n.n.	,70
	51	,40	n.n.	,40
	52	2,36	2,30	,06
	54	2,72	2,48	,25
	55	,40	n.n.	,40
	56	3,28	3,20	,07
Kontrollgruppe	12	2,38	2,48	-,10
	13	2,40	2,20	,19
	17	1,18	n.n.	1,18
	33	1,00	n.n.	1,00
	42	1,00	n.n.	1,00
	44	,40	n.n.	,40

BP Blutplatten; n.n. nicht nachgewiesen

Tabelle 22: Quantitative Ergebnisse Muskulatur auf Standard I-Nähragar und Blutplatten

Klinischer Befund	**Laufende Tiernummer**	**GKZ** (KbE/g in log)	**Keimzahl (BP)**(KbE/g in log)	**Differenz GKZ – Keimzahl (BP)**
Klinische Mastitis	4	1,18	n.n.	1,18
	7	1,90	n.n.	1,90
	8	1,81	n.n.	1,81
	9	,70	n.n.	,70
	10	,70	n.n.	,70
	11	,40	n.n.	,40
	14	2,90	2,81	,09
	15	1,00	n.n.	1,00
	16	,70	1,30	-,60
	18	,40	n.n.	,40
	19	,40	n.n.	,40
	23	,40	n.n.	,40
	27	,40	n.n.	,40
	32	,40	n.n.	,40
	34	,40	n.n.	,40
	35	2,40	2,30	,10
	38	1,00	1,30	-,30
	39	,70	n.n.	,70
	40	,40	n.n.	,40
	41	,40	n.n.	,40
	46	,40	n.n.	,40
	47	,40	n.n.	,40
	48	,40	n.n.	,40
	49	1,00	n.n.	1,00
	50	1,18	1,00	,18
	53	,40	n.n.	,40
	57	,70	n.n.	,70
erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	5	,70	n.n.	,70
	6	2,45	2,60	-,15
	20	2,45	2,45	,00
	21	,40	n.n.	,40
	22	,70	n.n.	,70
	24	,40	n.n.	,40
	25	,40	n.n.	,40
	26	,40	n.n.	,40
	28	,40	n.n.	,40
	29	,40	n.n.	,40
	30	,40	n.n.	,40
	31	,40	n.n.	,40
	36	,40	n.n.	,40
	37	,40	n.n.	,40
	43	,40	n.n.	,40
	45	,40	n.n.	,40
	51	,40	n.n.	,40
	52	,40	n.n.	,40
	54	,40	n.n.	,40
	55	1,00	1,30	-,30
	56	,40	n.n.	,40
Kontrollgruppe	12	,40	n.n.	,40
	13	,40	n.n.	,40
	17	,40	n.n.	,40
	33	,40	n.n.	,40
	42	,40	n.n.	,40
	44	,40	n.n.	,40

BP Blutplatten; n.n. nicht nachgewiesen

Tabelle 23: Quantitative Ergebnisse Lymphknoten auf Standard I-Nähragar und Blutplatten

Klinischer Befund	**Laufende Tiernummer**	**GKZ** (KbE/g in log)	**Keimzahl (BP)**(KbE/g in log)	**Differenz GKZ – Keimzahl (BP)**
Klinische Mastitis	4	,40	n.n.	,40
	7	2,94	3,15	-,20
	8	3,81	3,78	,03
	9	,40	n.n.	,40
	10	,40	n.n.	,40
	11	1,18	n.n.	1,18
	14	2,76	3,13	-,36
	15	,70	n.n.	,70
	16	,40	n.n.	,40
	18	2,04	2,08	-,04
	19	2,43	2,45	-,02
	23	1,00	n.n.	1,00
	27	,40	n.n.	,40
	32	,70	n.n.	,70
	34	,70	n.n.	,70
	35	,40	n.n.	,40
	38	1,30	1,00	,30
	39	,40	n.n.	,40
	40	2,28	2,54	-,27
	41	2,23	2,32	-,09
	46	1,48	1,78	-,30
	47	,40	n.n.	,40
	48	1,00	n.n.	1,00
	49	2,81	3,00	-,19
	50	,40	n.n.	,40
	53	1,00	n.n.	1,00
	57	2,75	2,69	,06
erhöhte Zellzahl ohne klinische Mastitis	5	1,54	n.n.	1,54
	6	1,40	n.n.	1,40
	20	1,18	n.n.	1,18
	21	,40	n.n.	,40
	22	,40	n.n.	,40
	24	,40	n.n.	,40
	25	,40	n.n.	,40
	26	,40	n.n.	,40
	28	,40	n.n.	,40
	29	1,00	n.n.	1,00
	30	,40	n.n.	,40
	31	,40	n.n.	,40
	36	,40	n.n.	,40
	37	,40	n.n.	,40
	43	1,48	n.n.	1,48
	45	1,98	1,70	,28
	51	,40	n.n.	,40
	52	,70	n.n.	,70
	54	1,00	n.n.	1,00
	55	,40	n.n.	,40
	56	,40	n.n.	,40
Kontrollgruppe	12	1,65	1,48	,18
	13	3,15	2,95	,19
	17	1,18	n.n.	1,18
	33	1,00	n.n.	1,00
	42	,70	n.n.	,70
	44	,40	n.n.	,40

BP Blutplatten; n.n. nicht nachgewiesen

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei der Anfertigung und Fertigstellung dieser Dissertation unterstützt haben.
Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. R. Fries für die Überlassung des Themas, die gute Betreuung, die freundlich gewährte Unterstützung sowie seine kritischen Ratschläge.
Insbesondere möchte ich mich auch bei meinem Schwiegervater, Dr. Hans-Heinrich Daetz, bedanken, ohne dessen unermüdlichen Einsatz in den Milchviehbetrieben die Doktorarbeit so nicht hätte stattfinden können.
Unter den Mitarbeitern des Instituts für Fleischhygiene und -technologie der FU Berlin gilt mein ganz besonderer Dank Frau Ludewig für ihre großartige Unterstützung bei der mikrobiologischen Aufarbeitung der Proben sowie Ilona.
Ganz herzlich bedanken will ich mich auch bei Claudia, Hubert und Carsten, die sich oftmals sehr spontan dazu bereit erklärt haben, mir bei der Probenentnahme auf dem Schlachthof hilfreich zur Seite zu stehen.
Außerdem danke ich den Verantwortlichen auf dem beteiligten Schlachthof für die Erlaubnis zur Durchführung der Probenentnahme sowie allen Mitarbeitern für ihre freundliche und hilfreiche Unterstützung.
Ein besonderer Dank gilt auch den Mitarbeitern der beiden Milchviehbetriebe für die Bereitschaft, die Untersuchung zu unterstützen, in Frage kommende Milchkühe zu melden und die Daten zu diesen Tieren zur Verfügung zu stellen.
Für die sehr nette Einführung in die praktische Mastitisdiagnostik möchte ich PD Dr. Tenhagen und Frau Hille danken.
Außerdem bedanke ich mich bei Frau Dr. Arndt für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung meiner Daten.
Meinem Mann Carsten danke ich für das ungeliebte, mühselige Korrekturlesen und dafür, dass er mir oft den Rücken freigehalten hat.
Schlussendlich gilt mein ganz besonderer Dank auch meiner gesamten Familie, die mich immer unterstützt hat und Yvonne, ohne die ich vielleicht nie bis hierher gekommen wäre.

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Tramm, den 19.12.2010

Janka Daetz-Heisler