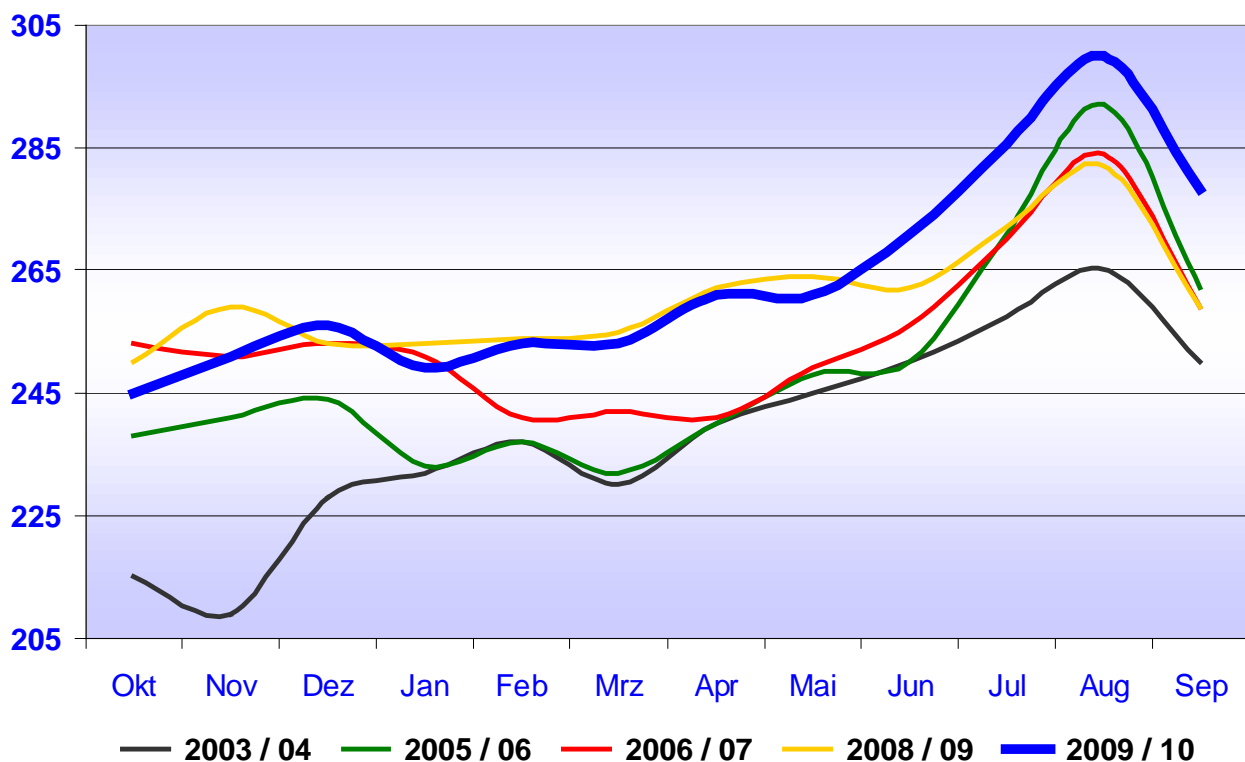


Neu beim LKV: Untersuchung auf Mastitiserreger

Der Zellgehalt in der Milch gilt seit langer Zeit als guter Maßstab bei der Beurteilung der Eutergesundheit der einzelnen Kuh und der ganzen Herde. Aufgrund der im Labor des LKV vorhandenen modernen und präzisen Analysentechnik kann der Zellgehalt sehr schnell und relativ preiswert ermittelt werden. Im Rahmen der Milchleistungsprüfung bekommt der Landwirt monatlich für jede Kuh neben der Milchmenge und den Inhaltsstoffen auch Informationen über den Zellgehalt in der Milch. Zusätzlich wird der Zellgehalt aufgrund gesetzlicher Regelungen regelmäßig aus der Tankmilch, die an die Meierei geliefert wird, ermittelt und in der Milchgeldabrechnung bezahlungswirksam berücksichtigt.

Wenn man die Entwicklung der Zellzahlen – und damit der Eutergesundheit – über mehrere Jahre auswertet, ist eine langsame, aber kontinuierliche Erhöhung der Zellzahlen festzustellen.

Abbildung 1: Durchschnittlicher Zellgehalt je Kuh am MLP-Prüftag (LKV Schleswig-Holstein)



Ebenso deutlich wird die Verschlechterung der Eutergesundheit bei der Betrachtung von Überschreitungen bestimmter Zellzahlengrenzen. Aus Tabelle 1 wird ersichtlich, dass der Anteil Betriebe, deren Herdendurchschnittszellzahl ein oder mehrere Male die Grenzen von 250.000 bzw. 400.000 Zellen/ml überschreiten, von Jahr zu Jahr größer wird.

In der Milch, die an die Meiereien abgeliefert und verkauft wird, sind die Zellgehalte normalerweise etwas niedriger als in der Milchleistungsprüfung, da Milch von kranken bzw. behandelten Kühen nicht verkehrsfähig ist und nicht abgeliefert werden darf. Trotzdem steigt der durchschnittliche Zellgehalt auch in der Anlieferungsmilch stetig weiter an (siehe Abbildung 2). Als Folge davon

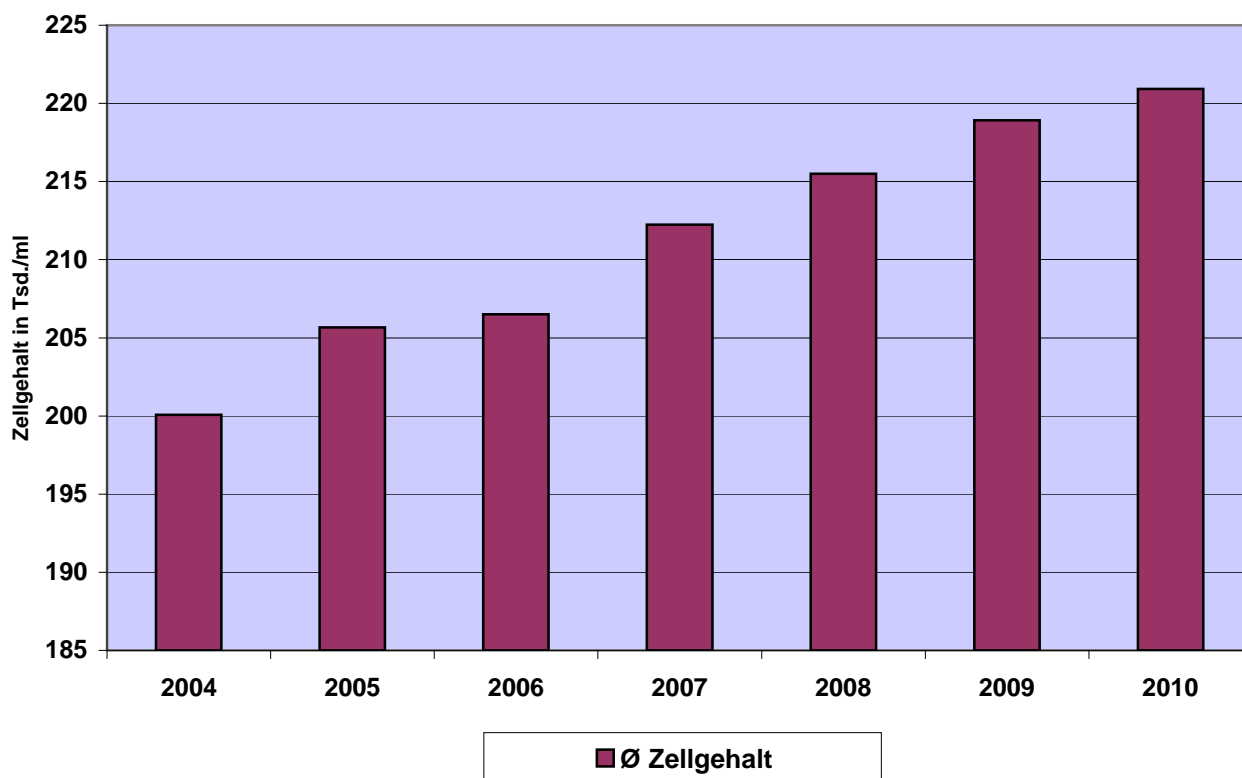
müssen zunehmend mehr Milcherzeuger Abzüge vom Milchgeld hinnehmen bzw. bekommen immer weniger Betriebe die Möglichkeit, aufgrund guter Eutergesundheit einen Zuschlag zum Milchgeld in Form der S-Klasse zu erhalten.

Tabelle 1: Anteil der MLP-Betriebe, deren Herdenzellzahl einen definierten Grenzwert überschreitet (LKV Schleswig-Holstein)

Zellzahl-Grenzwert	MLP-Prüfjahr	Anzahl Überschreitungen pro Jahr					
		0	1	2	3	4	5 u. m.
250.000	2006	11,0	12,2	13,0	10,4	9,4	44,0
	2008	10,8	11,2	10,1	9,8	9,7	48,4
	2010	8,8	10,4	9,4	9,3	8,6	53,5
400.000	2006	48,9	21,4	10,7	6,3	4,0	8,7
	2008	47,4	20,0	11,0	7,3	5,0	9,3
	2010	44,2	20,5	12,0	7,3	5,9	10,1

Als weitere Folge des Anstiegs der Herdenzellzahl in der Anlieferungsmilch mussten wegen der Überschreitung des gesetzlichen Grenzwertes von 400.000 Zellen/ml von Jahr zu Jahr mehr Milcherzeugerbetriebe befristet von der Milchanlieferung ausgeschlossen werden. Im Jahr 2010 betrug der Verlust in Schleswig-Holstein, allein verursacht durch Kürzungen des Milchgeldes, den Milchverlust während der Liefersperre sowie die Kosten für das Wiederaufnahmeverfahren, ca. 255.000 €. Für die betroffenen Landwirte wären eine Ursachenforschung und die Bekämpfung der Mastitis auslösenden Faktoren meistens erheblich günstiger gewesen als in die Liefersperre zu geraten.

Abbildung 2: Durchschnittlicher Zellgehalt in der Anlieferungsmilch



Doch trotz der immensen direkten Mindereinnahmen und der Kosten für eventuelle Liefersperren ist der Verlust, der bei einer subklinischen Mastitis durch eine verringerte Milchleistung entsteht, erheblich höher als durch akute Mastitiden verursachte Kosten. Die Ursache liegt darin, dass subklinische Mastitiden sehr viel häufiger vorkommen und dass die Verringerung der Milchleistung schon bei vergleichsweise niedrigen Zellzahlen beginnt. Untersuchungen haben gezeigt, dass bereits ab 100.000 Zellen/ml eine geringere Milchproduktion erfolgt als bei absolut gesunden Tieren. Ab einer Zellzahl von 400.000/ml erhöht sich die Minderleistung massiv. Deshalb sollten vorbeugende Maßnahmen und eine bessere Überwachung des Gesundheitszustandes des Euters mehr in den Vordergrund der täglichen Arbeit rücken. Durch regelmäßige Erregerbestimmungen bei ca. 10 bis 15 % der Kühe in der Herde, vornehmlich von Tieren mit hoher Zellzahl, kann in Zusammenarbeit mit dem Tierarzt das stallindividuelle Erregerspektrum bekämpft werden. So kann zumindest die Kenntnis des Leitkeims in Verbindung mit einer guten Hygiene im Stall und Melkstand zu einer Verringerung der Zellzahlen, der Mastitiden und Ausgaben führen und so die Eutergesundheit der Herde sichern.

Da die derzeitige Situation in Schleswig-Holstein einer kostengünstigen Produktion des gesunden Lebensmittels Milch entgegensteht, hat sich der LKV entschieden, seinen Mitgliedern Hilfe bei der Verbesserung der Eutergesundheit durch die Identifizierung der krank machenden Erreger anzubieten.

Eingesetzt wird dazu eine neue Untersuchungstechnik, die sich seit zwei Jahren weltweit etabliert hat und einige Vorteile gegenüber der traditionellen Untersuchungsmethode aufweist. Der vollständige Name des Untersuchungsverfahrens lautet „PathoProof™ Mastitis PCR Assay“, im folgenden wird es jedoch kurz PathoProof™ bzw. PCR-Methode genannt.

Wie funktioniert PathoProof™

Bei der Untersuchung wird die Technik der *Polymerase-Ketten-Reaktion* genutzt. Dabei werden während der Analyse genau definierte DNA-Sequenzen (Abschnitte der Erbinformation) der Mastitiserreger identifiziert und exponentiell vervielfacht. Infolgedessen werden Erreger bei Vorhandensein in der Probe sicher erkannt und durch die Vervielfachung wird eine hohe Sensitivität erreicht. Dies bedeutet, dass auch Erreger, die nur in einer geringen Konzentration vorhanden sind, sicher nachgewiesen werden können.

Zurzeit können mit dem im LKV-Labor verwendeten Untersuchungskit folgende 11 Erreger bestimmt werden:

Staphylococcus aureus
Koagulase negative Staphylokokken (KNS, Staphylococcus sp.)
Streptococcus agalactiae
Streptococcus dysgalactiae
Streptococcus uberis
Escherichia coli
Corynebacterium bovis
Enterococcus faecalis, E. Faecium
Klebsiella pneumoniae, K. oxytoca
Serratia marcescens
Arcanobacterium pyogenes, Peptostreptococcus indolicus

Weiterhin wird ein bakterielles Resistenzgen nachgewiesen, das vor allem von Staphylokokken gebildet wird. Bei Vorhandensein dieses Gens wird das Enzym Beta-Lactamase gebildet, welches die antibiotische Wirkung eines Medikamentes beeinträchtigen bzw. ganz aufheben kann.

Bei den aufgeführten Erregern handelt es sich sowohl um kuhassoziierte Keime, die im Euter der Kuh leben, als auch um umweltassoziierte Keime, die überall im Kuhstall vorkommen. Insgesamt decken diese Erreger ca. 95 % der subklinischen und klinischen Mastitisfälle ab.

Drei Schritte der DNA-Bestimmung

Zunächst wird die Milchprobe von allen „störenden“ Bestandteilen, die das Analyseverfahren beeinträchtigen könnten, befreit. In einem Verfahren, das speziell für Kuhmilch entwickelt wurde, wird die Bakterien DNA extrahiert und gereinigt. Dieser Schritt nimmt ca. 2 Stunden in Anspruch. In der nun folgenden DNA Amplifikation werden Bakterien spezifische DNA-Abschnitte vervielfacht. Nach 10 Vervielfältigungszyklen liegt schon eine 1000fache Vermehrung des bestimmten Bakterien-DNA-Abschnittes vor. Nach 30 Zyklen kommt es zu einer 1.000.000fachen Vermehrung. Dieser Prozess ist nach ca. 1,5 Stunden abgeschlossen. Mit einer speziell entwickelten Software werden die Ergebnisse ausgewertet. Die Auswertung der ermittelten Daten muss sehr sorgfältig erfolgen und nimmt ca. 30 Minuten in Anspruch.

Ergebnisse und deren Interpretation

Aussagekräftige und sichere Ergebnisse lassen sich nur aus hygienisch einwandfreien Proben gewinnen. Deshalb sollten die Probenahmehinweise auf den Untersuchungsaufträgen genau beachtet werden. Im LKV-Labor wird aus den Viertelgemelksproben jeweils die Zellzahl gemessen. Anschließend werden sie für die Erregerbestimmung zu einer Poolprobe zusammengeführt. Durch die Kombination dieser Untersuchungen kommen aussagekräftige Ergebnisse zustande und es werden Kosten eingespart.

Tabelle 2: Beispielergebnisse einer PCR-Untersuchung

Probenbezeichnung	Erreger / Erregergruppen	Quantität	Proportion	Zellzahlen in 1.000/ml			
				VR	HR	VL	HL
110	Staphylococcus sp. (KNS)	+		546	1.517	1.801	432
	Str. agalactiae	+++	>90%				
	Str. uberis	++					
79	Str. dysgalactiae	++	>99%	977	805	271	2.320
	Str. uberis	++					
200	Staphylococcus sp. (KNS)	++		959	5.920	20.048	322
	Str. uberis	++					
	Str. dysgalactiae	+					

Oft wird in einer Probe mehr als ein Erreger nachgewiesen. Für Bekämpfungsmaßnahmen ist es in diesem Fall notwendig, den Leitkeim zu kennen. Auf der Ergebnismitteilung werden die nachgewiesenen Erreger deshalb in die folgenden Kategorien eingeordnet:

- + ein schwacher Erregerbefall
- ++ ein mittlerer Erregerbefall
- +++ ein starker Erregerbefall

Zusätzlich wird der Leitkeim im Bericht durch Angabe der mengenmäßigen Proportion in Form einer Kennzeichnung mit > 90 % oder > 99 % ausgewiesen (siehe Tabelle 2). Nach der Untersuchung wird sowohl der Landwirt und – auf dessen Wunsch – auch der Tierarzt möglichst schnell per Fax informiert.

Für eine umfassende Interpretation der Ergebnisse sollte nicht nur an die gefundene Erregerart gedacht werden. Da die identifizierten Erreger sowohl aus dem Euter (kuhassoziiert) als auch aus der Umwelt stammen können, sollten weitere Einflussfaktoren berücksichtigt und beurteilt werden: Zellzahl, klinische Symptome, Vorgeschichte der Kuh, Situation in der Herde, Sauberkeit der

Stallumgebung, der Liegeboxen und der Melkanlage, bis hin zur Hygiene bei der Probenahme. Eine umfassende Beurteilung und vor allem eine erfolgreiche Behandlungsstrategie kann nur in enger Zusammenarbeit und Abstimmung mit dem Hoftierarzt erfolgen.

Chancen und Grenzen der PCR-Methode

Einer der größten Vorteile der PCR-Methode ist neben der hohen Empfindlichkeit die Geschwindigkeit. Da im Vergleich zur mikrobiologischen Untersuchung keine Bebrütung der Proben über mindestens 48 Stunden erforderlich ist, stehen die Ergebnisse schon nach ca. fünf Stunden zur Verfügung. Diesen Geschwindigkeitsvorteil kann der Milcherzeuger nicht nur bei der Behandlung einer akuten Entzündung ausnutzen. Als prophylaktische Maßnahme kann er z. B. Zukaufstiere vor der Einstallung untersuchen lassen. Ebenso ist die Untersuchung von Kühen ratsam, die trocken gestellt werden sollen. Anhand der Ergebnisse dieser Untersuchungen kann beurteilt werden, ob der Einsatz von antibiotisch wirkenden Trockenstellern notwendig ist, oder ob eventuell Zitzenversiegler ausreichend sind.

Durch weitere Untersuchungen auffälliger Tiere besteht die Möglichkeit, einen herdenspezifischen Leitkeim zu erkennen und gezielte Bekämpfungsmaßnahmen vorzunehmen. Nicht nur eine therapeutische Behandlung, die immer in Absprache mit dem Hoftierarzt stattfinden sollte, sondern auch prophylaktische Maßnahmen können effektiver eingesetzt werden, Erregerquellen und mögliche Übertragungswege können gefunden und beseitigt werden und somit die Gesundheit der ganzen Herde gefördert werden.

Da bei dieser Untersuchungsmethode die Erbsubstanz der Erreger identifiziert wird, kann auch die Milch von bereits behandelten Kühen untersucht werden. Dies kann zur Kontrolle der Wirksamkeit einer Behandlungsmaßnahme geschehen. Doch auch hier gilt es, eine enge Abstimmung mit dem Hoftierarzt zu pflegen.

Weiterhin kann der Anteil der Proben, die bei der mikrobiologischen Untersuchung aus verschiedenen Gründen ohne Befund bleibt, durch den Einsatz der PCR-Methode um ca. 40 % verringert werden, da im Wachstum gehemmte und abgetötete Bakterien erkannt und somit ausgewertet werden können. Außerdem bietet die PCR-Methode nicht nur einen qualitativen (Erregeridentifizierung), sondern auch einen quantitativen Nachweis. Das Untersuchungsergebnis enthält eine Angabe über das Mengenverhältnis der gefundenen Keime.

Obwohl bereits ein Großteil der problematischen Keime identifiziert werden kann, wird vom Hersteller intensiv an einer Erweiterung des zu untersuchenden Keimspektrums gearbeitet. Von Tierärzten wird insbesondere eine Ergänzung um Hefen und Mycoplasmen gewünscht. Diese Keime sind in der mikrobiologischen Methode nur schwer zu identifizieren und würden deshalb in der PCR-Methode eine ideale Ergänzung sein.

Da in der PCR-Methode keine Anreicherung von Keimen während der Bebrütung erforderlich wird, ist die Anfertigung eines AntibioGRAMMs (Resistenztests) mit diesem Verfahren nicht möglich. Um eine Veränderung der Resistenzlage im Betrieb zu erkennen sollte deshalb in regelmäßigen Abständen – z.B. vierteljährlich – ein AntibioGRAMM erstellt werden.

Aufgrund der vielfältigen Erfahrungen mit der PCR-Methode in den wichtigsten Milcherzeugerländern in Europa, Nordamerika und Australien soll noch in diesem Jahr in Deutschland eine wissenschaftliche Studie über die Einsatzmöglichkeiten der PCR-Methode als prophylaktische Screening-Methode unter Nutzung der monatlich anfallenden MLP-Proben erarbeitet werden. Im Gegensatz zur mikrobiologischen Methode kann das PathoProofTM-Verfahren auch zur Untersuchung der konservierten MLP genutzt werden. In der Studie soll geprüft werden, inwieweit die Verschleppung über die MLP-Messgeräte für die Mastitisuntersuchung vernachlässigt werden kann und trotzdem aussagekräftige Ergebnisse zur Beschreibung des Mastitisgeschehens in der Herde möglich sind.

Das Probenmaterial (Röhrchen) kann direkt vom LKV-Labor in Kiel bezogen werden (Telefon: 0431-33987 53). Das LKV-Mitglied kann jedoch auch den jeweils zuständigen Zuchtwart ansprechen. Die Probenahmeröhrchen müssen vor der Probenahme mit den mitgelieferten Etiketten eindeutig beschriftet werden, damit keine Verwechslung auftreten kann. Der vollständig ausgefüllte Probenbegleitschein muss den Proben beigelegt werden. Damit die Ergebnisse auch an den betreuenden Tierarzt gesendet werden können, sollte auch dessen Anschrift und Faxnummer aufgeführt sein. Das fertige Probenpaket kann an die Postfachadresse des LKV-Labors gesendet werden. Alternativ kann der Versand auch nach Absprache mit dem Leistungsprüfer über den täglichen LKV-Probentransport erfolgen.

Der LKV berechnet seinen Mitgliedern Kosten von 15,- € je Tier zuzüglich gesetzlicher Mehrwertsteuer. Die Mitglieder erhalten damit ein weiteres Dienstleistungsangebot, um mit gesunden Kühen kostengünstig ein gesundes Lebensmittel zu produzieren.

H. Rowehl