

Unterschiede im Auftreten von Euterinfektionen
mit *Staphylococcus aureus* und Koagulase-negativen
Staphylokokken und deren Auswirkungen auf die
Milchleistung in Thüringer Rinderbeständen

Juliane Heinze



INAUGURAL-DISSERTATION zur Erlangung des Grades eines **Dr. med. vet.**
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei dem Autor dieses Werkes.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2014

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2014

© 2014 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus dem Klinikum Veterinärmedizin,
Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit
Tierärztlicher Ambulanz und dem
Tiergesundheitsdienst der Thüringer Tierseuchenkasse

Betreuer: Prof. Dr. A. Wehrend

**Unterschiede im Auftreten von Euterinfektionen
mit *Staphylococcus aureus* und Koagulase-negativen
Staphylokokken und deren Auswirkungen auf die
Milchleistung in Thüringer Rinderbeständen**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

Juliane Heinze

Tierärztin aus Blankenhain

Gießen 2014

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. Martin Kramer

Gutachter: Prof. Dr. Axel Wehrend
Prof. Dr. E. Usleber

Tag der Disputation: 01.07.2014

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	IV
Tabellenverzeichnis.....	V
Abbildungsverzeichnis.....	VII
1 Einleitung.....	1
2 Literaturübersicht.....	2
2.1 Staphylokokken als Mastitiserreger	2
2.1.1 Taxonomie und Nomenklatur der Staphylokokken	2
2.1.2 Eigenschaften und Morphologie von <i>Staphylococcus aureus</i>	3
2.1.3 Eigenschaften von Koagulase-negativen Staphylokokken	4
2.2 Pathogenität für das bovine Euter	5
2.2.1 Epidemiologie der Mastitiden durch <i>Staphylococcus aureus</i>	5
2.2.2 Übertragung von <i>Staphylococcus aureus</i>	6
2.2.3 Pathogenese der Mastitiden durch <i>Staphylococcus aureus</i>	7
2.2.4 Epidemiologie der Mastitiden durch Koagulase-negative Staphylokokken....	9
2.2.5 Übertragung von Koagulase-negativen Staphylokokken	9
2.2.6 Pathogenese der Mastitiden durch Koagulase-negative Staphylokokken ...	10
2.2.7 Pathogenitätsfaktoren der Staphylokokken	12
2.3 Diagnostik.....	16
2.4 Bedeutung von Staphylokokken im Mastitisgeschehen.....	22
2.4.1 Bedeutung von <i>Staphylococcus aureus</i>	22
2.4.2 Bedeutung von Koagulase-negativen Staphylokokken.....	25
3 Material und Methoden.....	29
3.1 Literatursuche.....	29
3.2 Auswahl der Betriebe	30
3.3 Befragung in den Betrieben.....	30
3.4 Milchproben	31
3.4.1 Probenentnahme	31
3.4.2 Probenuntersuchung und Probenauswertung	32
3.5 Erhebung der Leistungsdaten.....	34
3.6 Grundsätzliches Vorgehen	34
3.7 Definitionen.....	34
3.8 Datenanalyse.....	37

4	Ergebnisse.....	39
4.1	Prävalenzen von <i>Staphylococcus aureus</i> in Viertelgemelksproben.....	39
4.1.1	Prävalenzen in den untersuchten Milchproben.....	39
4.1.2	Prävalenzen in den einzelnen Betrieben	39
4.1.3	Beziehung der Untersuchungstermine	40
4.1.4	Jahreszeitliche Einteilung der Untersuchungstermine	40
4.1.5	Prävalenzen auf Viertelebene.....	41
4.1.6	Melktagesklassen und Laktationsverlauf	41
4.1.7	Laktationsklassen	44
4.2	Prävalenzen von Koagulase-negativen Staphylokokken in Viertelgemelksproben.....	45
4.2.1	Prävalenzen in den untersuchten Milchproben.....	45
4.2.2	Prävalenzen in den einzelnen Betrieben	45
4.2.3	Beziehung der Untersuchungstermine	46
4.2.4	Jahreszeitliche Einteilung der Untersuchungstermine	46
4.2.5	Prävalenzen auf Viertelebene.....	47
4.2.6	Melktagesklassen	48
4.2.7	Laktationsklassen	48
4.3	Milchleistungsergebnisse von Kühen mit Nachweis von <i>Staphylococcus aureus</i>	49
4.3.1	Milchmenge	49
4.3.2	Fettgehalt.....	51
4.3.3	Eiweißgehalt.....	51
4.3.4	Laktosegehalt	52
4.3.5	Zellgehalt der Milch	54
4.4	Milchleistungsergebnisse von Kühen mit Nachweis von Koagulase- negativen Staphylokokken.....	56
4.4.1	Milchmenge	56
4.4.2	Fettgehalt.....	57
4.4.3	Eiweißgehalt.....	59
4.4.4	Laktosegehalt	60
4.4.5	Zellgehalt der Milch	61
4.5	Faktorenanalyse staphylokokkenbedingter Euterinfektionen.....	63

4.5.1	Haltung	63
4.5.2	Melktechnik und Melkhygiene.....	69
4.5.3	Mastitismanagement	77
5	Diskussion	82
5.1	Diskussion der Fragestellung	82
5.2	Diskussion der Methode	83
5.3	Diskussion der Ergebnisse	85
5.3.1	Prävalenzuntersuchungen.....	85
5.3.2	Milchleistungsergebnisse	88
5.3.3	Faktorenanalyse	91
5.4	Schlussfolgerung.....	99
6	Zusammenfassung	101
7	Literaturverzeichnis	106
8	Anhang	124
	Danksagung	134
	Erklärung	135

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AdöR	Anstalt des öffentlichen Rechts
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
ca.	circa
CAMP	Christie-Atkins-Munch-Petersen
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DVG	Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft
et al.	et alii
EU	Europäische Union
e. V.	eingetragener Verein
g	Gramm
kg	Kilogramm
KNS	Koagulase-negative Staphylokokken
KOH	Kaliumhydroxid
KPS	Koagulase-positive Staphylokokken
Ig ZZ	logarithmierte Zellzahl
ml	Milliliter
mm	Millimeter
µm	Mikrometer
MLP	Milchleistungsprüfung
n. s.	nicht signifikant
p	Signifikanzniveau (p-value)
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
ssp.	Subspezies
Tab.	Tabelle
TGD	Tiergesundheitsdienst
VO	Verordnung
w. V.	wirtschaftlicher Verein
%	Prozent
>	größer als
<	kleiner als

Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Vorkommen von zellwandassoziierten Proteinen und Exoproteinen bei Staphylokokken.....	12
Tab. 2:	Diagnostika und ihre prozentual positive Differenzierung bei verschiedenen Staphylokokkenarten	18
Tab. 3:	Differenzierungsschema für KNS.....	18
Tab. 4:	Korrekte Identifizierungsrate für Staphylokokken von verschiedenen Testkits und deren Besonderheiten	20
Tab. 5:	Zellzahlgehalte verschiedener Untersuchungen bei KNS-Euterinfektion und deren Vergleich mit Kühen derselben Herde	27
Tab. 6:	Zitierte Bücher mit Themenkomplex Staphylokokkenmastitis	29
Tab. 7:	Verteilung der Betriebsgröße	30
Tab. 8:	Prävalenzen von <i>S. aureus</i> -infizierten Kühen in Abhängigkeit von der Jahreszeit der Probennahme	41
Tab. 9:	Nachweishäufigkeit von <i>S. aureus</i> in Milchproben in Abhängigkeit von der Lokalisation des Euterviertels	41
Tab. 10:	Verteilung und Prävalenzen <i>S. aureus</i> -infizierter Kühe in den Melktagesklassen	42
Tab. 11:	Verteilung und Prävalenzen <i>S. aureus</i> -infizierter Kühe in den vier Laktationsklassen	44
Tab. 12:	Prävalenzen von KNS-infizierten Kühen in Abhängigkeit von der Jahreszeit der Probennahme	47
Tab. 13:	Verteilung und Prävalenzen KNS-infizierter Kühe in den Melktagesklassen	48
Tab. 14:	Verteilung und Prävalenzen KNS-infizierter Kühe in den vier Laktationsklassen	48
Tab. 15:	Ergebnisse der Varianzanalyse zu Einflussfaktoren auf den Laktosegehalt in der Milch von <i>S. aureus</i> -infizierten Kühen	53
Tab. 16:	Ergebnisse der Varianzanalyse zu Einflussfaktoren auf die lg ZZ in der Milch von <i>S. aureus</i> -infizierten Kühen	55
Tab. 17:	Ergebnisse der Varianzanalyse zu Einflussfaktoren auf die Milchmengenleistung von KNS-infizierten Kühen	56
Tab. 18:	Ergebnisse der Varianzanalyse zu Einflussfaktoren auf den Fettgehalt in der Milch KNS-infizierter Kühe	58

Tab. 19:	Ergebnisse der Varianzanalyse zu Einflussfaktoren auf den Eiweißgehalt in der Milch KNS-infizierter Kühe.....	59
Tab. 20:	Ergebnisse der Varianzanalyse zu Einflussfaktoren auf die Ig ZZ in der Milch KNS-infizierter Kühe.....	62
Tab. 21:	Unterschiede von den Faktoren Bestandsgröße und Zusammenbringen der Tiergruppen in der Prävalenz von <i>S. aureus</i> - und KNS-infizierten Kühen.....	64
Tab. 22:	Unterschiede von Haltungsfaktoren bei Trockenstehern, Tieren im Abkalbestall und der Leistungsherde in der Prävalenz von <i>S. aureus</i> - und KNS-infizierten Kühen.....	67
Tab. 23:	Unterschiede von Faktoren der Melktechnik in Leistungsherde und Abkalbestall in der Prävalenz von <i>S. aureus</i> - und KNS-infizierten Kühen	71
Tab. 24:	Unterschiede von Faktoren der Melkhygiene in Leistungsherde und Abkalbestall in der Prävalenz von <i>S. aureus</i> - und KNS-infizierten Kühen	75
Tab. 25:	Unterschiede von Faktoren des Mastitismanagements bei laktierenden Kühen in der Prävalenz von <i>S. aureus</i> - und KNS-infizierten Kühen	79
Tab. 26:	Unterschiede von Faktoren des Mastitismanagements bei Trockenstehern in der Prävalenz von <i>S. aureus</i> - und KNS-infizierten Kühen	81

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Verteilung des Keimnachweises aller positiv auf Mastitiserreger untersuchten Milchproben.....	39
Abb. 2:	Prävalenzen und Standardfehler von <i>S. aureus</i> -positiven Tieren der beiden Untersuchungsreihen aller Betriebe	40
Abb. 3:	Prävalenzen und deren Standardfehler von Kühen mit <i>S. aureus</i> -Nachweisen für die gebildeten Melktagesklassen	43
Abb. 4:	Darstellung des Quotienten der Anzahl <i>S. aureus</i> -infizierter Tiere zur Anzahl untersuchter Tiere in Abhängigkeit des Laktationsverlaufes sowie deren Trendlinie.....	43
Abb. 5:	Prävalenzen und deren Standardfehler von Kühen mit <i>S. aureus</i> -Infektion für die gebildeten Laktationsklassen eins bis vier	45
Abb. 6:	Prävalenzen und Standardfehler von KNS-positiven Tieren der beiden Untersuchungsreihen aller Betriebe	46
Abb. 7:	Nachweishäufigkeiten und deren Standardfehler von KNS-Euterinfektionen in den einzelnen Eutervierteln	47
Abb. 8:	Prävalenzen und deren Standardfehler von Kühen mit KNS-Infektion in den gebildeten vier Laktationsklassen	49
Abb. 9:	Darstellung des Mittelwertes und Standardfehlers der Milchmenge von Kühen mit <i>S. aureus</i> -Nachweis und bakteriologisch negativen Kühen in den einzelnen Betrieben	50
Abb. 10:	Darstellung des Mittelwertes und Standardfehlers des Fettgehaltes in der Milch von Kühen mit <i>S. aureus</i> -Nachweis und bakteriologisch negativen Kühen in den einzelnen Betrieben.....	51
Abb. 11:	Darstellung des Mittelwertes und Standardfehlers des Eiweißgehaltes in der Milch von Kühen mit <i>S. aureus</i> -Nachweis und bakteriologisch negativen Kühen in den einzelnen Betrieben.....	52
Abb. 12:	Darstellung des Mittelwertes und Standardfehlers des Laktosegehaltes in der Milch von Kühen mit <i>S. aureus</i> -Nachweis und bakteriologisch negativen Kühen in den einzelnen Betrieben.....	54
Abb. 13:	Darstellung des Mittelwertes und Standardfehlers der Ig ZZ in der Milch von Kühen mit <i>S. aureus</i> -Nachweis und bakteriologisch negativen Kühen in den einzelnen Betrieben.....	55

Abb. 14:	Darstellung des Mittelwertes und Standardfehlers der Milchmenge von Kühen mit KNS-Nachweis und bakteriologisch negativen Kühen in den einzelnen Betrieben	57
Abb. 15:	Darstellung des Mittelwertes und Standardfehlers des Fettgehaltes in der Milch von Kühen mit KNS-Nachweis und bakteriologisch negativen Kühen in den einzelnen Betrieben.....	58
Abb. 16:	Darstellung des Mittelwertes und Standardfehlers des Eiweißgehaltes in der Milch von Kühen mit KNS-Nachweis und bakteriologisch negativen Kühen in den einzelnen Betrieben.....	60
Abb. 17:	Darstellung des Mittelwerts und Standardfehlers des Laktosegehaltes in der Milch von Kühen mit KNS-Nachweis und bakteriologisch negativen Kühen in den einzelnen Betrieben.....	61
Abb. 18:	Darstellung des Mittelwertes und Standardfehlers der Ig ZZ in der Milch von Kühen mit KNS-Nachweis und bakteriologisch negativen Kühen in den einzelnen Betrieben	62

1 Einleitung

Euterinfektionen stellen eine erhebliche ökonomische Belastung in der Milchproduktion dar (Zoche-Golob & Spilke, 2013). Die ökonomischen Verluste ergeben sich aus einer Reduktion der Milchmenge und einer Verschlechterung der Qualität der Ablieferungsmilch. Des Weiteren ergeben sich negative Effekte auf die Fertilität, hohe Behandlungskosten sowie ein zusätzlicher Arbeitsaufwand (SCHRICK et al., 2001; HUIJPS et al., 2009). Eutergesundheitsstörungen spielen ferner eine wichtige Rolle als Abgangsursache und führen zum Leiden von Tieren (ANACKER, 2009). Auch subklinische Euterentzündungen, die ohne äußerlich erkennbare Symptome einhergehen, sollten aufgrund eines erhöhten Zellgehaltes nicht vernachlässigt werden. Das Tierumfeld und der Kuhkomfort sind entscheidende Faktoren bei der Aufrechterhaltung der Eutergesundheit und unterstützen das Wohlbefinden des Tieres. Zudem liegt das Ziel der tierärztlichen Bestandsbetreuung von milchproduzierenden Betrieben in einer Reduktion der Neuerkrankungsrate sowie einer nachhaltigen Therapie der betroffenen Tiere (KIRCHHOFER et al., 2007).

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung sollen folgende Fragestellungen beantwortet werden:

- Welche Prävalenzen liegen für Infektionen mit *Staphylococcus aureus* und Koagulase-negative Staphylokokken in Milchviehbetrieben im Verlauf einer Laktation und über die Anzahl der Laktationen vor?
- Welchen Einfluss besitzen subklinische Euterinfektionen mit *Staphylococcus aureus* und Koagulase-negativen Staphylokokken auf die Milchleistung und Milchqualität?
- Lassen sich Managementfaktoren darstellen, die Unterschiede in der Prävalenz von Euterinfektionen mit *Staphylococcus aureus* sowie Koagulase-negative Staphylokokken hervorrufen?

2 Literaturübersicht

2.1 Staphylokokken als Mastitiserreger

2.1.1 Taxonomie und Nomenklatur der Staphylokokken

Die Gattung *Staphylococcus* (S.), die ursprünglich mit den Gattungen *Micrococcus*, *Stomatococcus* und *Planococcus* zur Familie der *Micrococcaceae* gezählt wurde, gehört entsprechend aktueller Nomenklatur der Familie der *Staphylococcaceae* an (VALENTIN-WEIGAND, 2011). Ihre Differenzierung erfolgt anhand struktureller Merkmale der Zellwand sowie physiologischer, biochemischer und molekularer Eigenschaften (FOSTER, 2002). Die Namensgebung prägte 1883 der schottische Chirurg Alexander Ogston, der die Bakterien aus dem Eiter von Abszessen isolierte und dabei als erster den Namen Staphylokokken verwendete. Die Bezeichnung leitet sich von den griechischen Begriffen *staphyle* (= Traube) und *coccus* (= Kugel) ab und bezieht sich auf die trauben- bis teilweise haufenförmige Anlagerung im mikroskopischen Präparat (OGSTON, 1883).

Die Abgrenzung der Gattung *Staphylococcus* von der Gattung *Micrococcus* ist von diagnostischer Bedeutung, da die meisten Arten beider Gattungen als natürliche Besiedler von menschlicher sowie tierischer Haut und Schleimhaut vorkommen. Staphylokokken spalten mit Ausnahme von *S. cohnii*, *S. saprophyticus*, *S. sciuri*, *S. vitulinus* und *S. xylosus* im Gegensatz zu Mikrokokken unter anaeroben Bedingungen Glukose unter Bildung von D- und/oder L-Milchsäure (KLOOS & SCHLEIFER, 1986; WEBSTER et al., 1994). Jedoch können auch einige atypisch reagierende *Micrococci* Milchsäure bilden, was zu falschen Identifikationen führen kann (SCHLEIFER & KLOOS, 1976). Als weitere Unterscheidungsmerkmale werden eine Resistenz gegenüber Bacitracin sowie die Empfindlichkeit der Staphylokokken gegenüber Lysostaphin angeführt. Lysostaphin spaltet Glycyl-Glycin-Peptid-Bindungen, die sich bei Staphylokokken, nicht aber bei Mikrokokken in der Zellmembran befinden (BLOBEL & SCHLIESSER, 1994).

Bei den Staphylokokken werden zahlreiche Arten unterschieden. Schon 1884 erstellte Rosenbach die erste taxonomische Einteilung und unterschied aufgrund ihrer Koloniefarbe zwei Arten, *S. aureus* und *S. albus* (KLOOS, 1980). Anhand von Zellwandzusammensetzung, Koloniemorphologie, Enzym- und Stoffwechselaktivität sowie Antibiotika- und Phagenresistenz differenzierten KLOOS UND SCHLEIFER (1986) weitere Arten. Ein zusätzliches wichtiges Merkmal, das für die taxonomische

Einteilung genutzt wird, stellt die Fähigkeit zur Bildung des Enzyms Koagulase dar. Die Koagulase-reaktion, die eine Verklumpung des Blutes hervorruft, wurde früher mit einer gewissen Virulenz in Verbindung gebracht. In neueren Studien wird darauf hingewiesen, dass die Einteilung in Koagulase-positive und Koagulase-negative Spezies nicht mit der Virulenz dieser Bakterien im Zusammenhang steht (BADDOUR et al., 1994; PETERS & PULVERER, 1994).

Weiterhin kann für die Abgrenzung der Staphylokokken von anderen Gattungen die Untersuchung der bakteriellen DNA herangezogen werden. Im Gegensatz zu Mikrokokken besitzen sie dabei einen deutlich geringeren Guanin- und Cytosingehalt. Beide Gattungen sind deshalb nicht miteinander verwandt (BLOBEL & SCHLIESSER, 1994). Nach aktueller Nomenklatur wird folgende Einteilung der Staphylokokken vorgeschlagen (VALENTIN-WEIGAND, 2011).

Stamm: *Firmicutes*
Klasse: *Bacilli*
Ordnung: *Bacillales*
Familie: *Staphylococcaceae*
Gattung: *Staphylococcus*
Spezies: *S. aureus*, *S. chromogenes*, *S. epidermidis*, ...

2.1.2 Eigenschaften und Morphologie von *Staphylococcus aureus*

Namensgebend für *S. aureus* ist die goldfarbene Pigmentierung seiner Kolonien. Weitere Farbgebungen von grauweiß, weiß über gelb bis gelborange kommen ebenfalls vor (KLOOS & SCHLEIFER, 1986; BLOBEL & SCHLIESSER, 1994). *S. aureus* stellt den bedeutendsten Vertreter aus der Gruppe der Koagulase-positiven Staphylokokken (KPS) dar und wurde mit großer Häufigkeit aus bovinen Mastitisproben isoliert (KAMATA et al., 1990). Zur Gruppe der KPS gehören weiterhin *S. aureus* ssp. *anaerobius*, *S. delphini*, *S. hyicus* (Koagulase-variabel), *S. intermedius*, *S. lutrae*, *S. pseudintermedius*, sowie *S. schleiferi* ssp. *coagulans* (DEVRIESE et al., 2005).

Staphylokokken besitzen einen Durchmesser von 0,5-1,5 µm und erzeugen häufig Haufenformen durch ihre Teilung in mehreren Ebenen. Sie sind Katalase-positiv, fakultative Anaerobier sowie nicht sporenbildend. Auf Rinder- und Schafblutagar bilden sie nach etwa 18 Stunden Bebrütung bei 37°C weiße bis gelbliche, meist glatte, gewölbte Kolonien mit einem Durchmesser von 2 mm. Verschiedene große

Hämolysezonen können die Bakterien umgeben. Weiterhin zeichnen sie sich durch eine hohe Widerstandsfähigkeit aus, da sie selbst bei Kochsalzgehalten von 10 % zum Wachstum fähig sind (PETERS & PULVERER, 1994; VALENTIN-WEIGAND, 2011).

Schon 1985 wurden sie von SERIEYS zu den *major pathogens* der bovinen Mastitiden gezählt und BORM et al. (2006) benennen sie in ihrer Studie als die am häufigsten isolierten major pathogens bei Färsenmastitiden. Die Bezeichnung dieser Gruppe von Mastitiserregern leitet sich aus der Pathogenität für das bovine Euter ab. Es entstehen Infektionen, die durch eine Zellzahlerhöhung und Veränderung der Milchzusammensetzung gekennzeichnet sind. Die ökonomischen Verluste sind groß und die Mastitiserreger weisen in betroffenen Herden eine hohe Prävalenz auf (HARMON, 1994; WILSON et al., 1996).

2.1.3 Eigenschaften von Koagulase-negativen Staphylokokken

Die Koagulase-negativen Staphylokokken (KNS) gehören zu den *minor pathogens* und sind wie die anderen Vertreter dieser Gruppe in der Lage, Mastitiden mit meist subklinischer Verlaufsform und mäßiger Zellzahlerhöhung auszulösen. In den 80er Jahren wurden die KNS zusammen mit den Corynebakterien lediglich nur als minor pathogens bezeichnet und sind bis dahin selten in Mastitisstudien ausgewiesen wurden (BRAMLEY & DODD, 1984; SERIEYS, 1985). GENTILINI et al. (2002) schrieben ihnen dagegen schon eine größere Bedeutung zu, nachdem POUTREL (1984) KNS als Auslöser echter Euterinfektionen bezeichnete und sie in der Untersuchung von DEVRIESE et al. (1994) bei klinischen Mastitisfällen isoliert werden konnten. In den letzten Jahren etablierte sich die Bezeichnung der KNS als *emerging mastitis pathogens*, da sie in vielen Ländern die häufigsten Mastitiserreger sind (BRADLEY et al., 2007; PIEPERS et al., 2007; FOX et al., 2009; TENHAGEN et al., 2009).

Zur Gruppe der KNS gehören über 50 Spezies (HOEDEMAKER, 2012). *S. chromogenes* liegt dabei in vielen Studien mit Nachweisen von 30 % bis über 45 % am häufigsten vor (SAMPIMON et al., 2009a; SUPRÉ et al., 2011; QUIRK et al., 2012). In nulliparen sowie primiparen Kühen kann *S. chromogenes* ebenso als die am zahlreichsten vorkommende Spezies beschrieben werden (TRINIDAD et al., 1990a; RAJALA-SCHULTZ et al., 2006; TAPONEN et al., 2006). Weitere Untersuchungen zeigen für *S. simulans* die meisten Nachweise auf (JARP et al., 1991;

TAPONEN et al., 2008; PIESENS et al., 2011). *S. xylosus* sowie *S. epidermidis* gehören ebenso zu den häufig isolierten Spezies aus Mastitismilchproben (MYLLYS et al., 1995; LUTHJE & SCHWARTZ, 2006; SUPRÉ et al., 2011; QUIRK et al., 2012).

2.2 Pathogenität für das bovine Euter

2.2.1 Epidemiologie der Mastitiden durch *Staphylococcus aureus*

Mastitiserreger können in die folgenden drei Klassen untergliedert werden: kontagiös, umweltassoziiert und opportunistisch (DVG, 2002). *S. aureus* wird zu den kontagiösen Erregern gezählt (BRAMLEY & DODD, 1984; FOX & GAY, 1993; BARKEMA et al., 2009). Er ist jedoch weniger an das Eutergewebe angepasst als der ebenfalls kontagiöse *Streptococcus agalactiae* (SEFFNER & BERGMANN, 1994). *S. aureus* besitzt vor allem die Fähigkeit subklinische Infektionen mit periodisch auftretenden klinischen Episoden hervorzurufen und über viele Laktationen im Euter zu persistieren (BANNERMAN et al., 2004).

Neben dem Nachweis in der Milch konnte McDIARMID (1947) *S. aureus* auch in Tupferproben von Zitzenspitzen gesunder Kühe nachweisen. Weiterhin fanden EDWARDS & RIPPON (1957) Staphylokokken nicht nur an der Zitzenhaut, sondern auch an Zitzenbechern sowie in der Desinfektionslösung dieser Becher vor. Sie isolierten die Keime zusätzlich von mehr als der Hälfte der Melkerhände. Weiterhin hält sich *S. aureus* am Körper der Milchkühe auf. In der Studie von EDWARDS & SMITH (1970) bestand eine prozentuale Kontamination von über 50 % an den Extremitäten, 37 % am Abdomen und 33 % an der Sakralregion. Auch in neueren Studien, wie in der von MATOS et al. (1991), wurde die Verteilung von *S. aureus* untersucht. Sie isolierten die Bakterien ebenso vorwiegend an Euter, Zitzen und euternahen Regionen. Bei Tieren unter zwölf Monaten stellten sie eine hohe Keimbesiedlung an den Nares und der Zitzenhaut fest. Im Stall wurden die Keime dagegen nur in einer Boxeneinstreu nachgewiesen. In der Stallluft traten sie nicht auf. In weiteren Untersuchungen wie denen von ROBERSON et al. (1994) sowie ROBERSON et al. (1998), wurde *S. aureus* nicht nur von der Zitzenhaut, den Körperöffnungen, Liegeboxen und dem Futter von Färsen, sondern auch von den Menschen, aus der Luft und dem Equipment isoliert. Es können daher für die Weiterverbreitung von *S. aureus* auch

andere Quellen als das bovine Euter verantwortlich sein, wobei die wichtigste Bedeutung Euterinfektionen anderer Kühe zukommt (ROBERSON et al., 1994).

Übereinstimmend dazu differenzierten ZADOKS et al. (2002) mittels Pulsgelfeld-elektrophorese *S. aureus*-Stämme aus der Zitzenhaut sowie aus Milchproben und stellten dar, dass Stämme der Zitzenhaut nicht als wichtige Quelle von intramammären Infektionen anzusehen sind.

2.2.2 Übertragung von *Staphylococcus aureus*

Eine galaktogene Infektion verursacht einen Großteil aller Mastitiden. Der Zustand des Strichkanals besitzt daher einen großen Einfluss auf die Entstehung intramammärer Infektionen. Ein gerade verlaufender, weder zu langer noch zu kurzer und gut schließender Strichkanal mit intaktem Epithel, stellt einen wirksamen Schutz gegen eine Infektion mit pathogenen Keimen dar (RUPP & BOICHARD, 1999; KLEIN et al., 2005). Der Strichkanal selbst besitzt einen Eigenschutz durch eine Proteinfraction in der Keratinschicht, die die Vermehrung der Staphylokokken reduzieren kann (HIBBIT et al., 1969). Bei einer Verletzung der Zitzen und Verlust des Keratins wird der Schutz des Euters vor Keimen reduziert. Die Läsionen stellen zudem ein wichtiges Reservoir für die Übertragung der Staphylokokken dar (ROBERSON et al., 1998; BHUTTO et al., 2010). Obwohl der Zusammenhang von Zitzenläsionen und subklinischen Mastitiden häufig unterschätzt wird, beschrieben AGGER & WILLEBERG schon 1986 ein um 50 % höheres Risiko für Euterinfektionen in einem Zeitraum von bis zu zehn Monaten nach einer Verletzung.

Die Übertragung der Staphylokokken erfolgt hauptsächlich während des Melkens von Euter zu Euter und von Viertel zu Viertel (NEAVE et al., 1969; HOEDEMAKER et al., 2001). Zudem stellen die Hände der Melker, die Tücher für die Euterreinigung und das Melkzeug einen weiteren Vektor dar, der eine Weiterverbreitung fördern kann (FOX & GAY, 1993). Es besteht die Möglichkeit durch Vakuumschwankungen während des Melkens einen Rückfluss von kontaminierter Milch in das Euter herbeizuführen. Dies wird als *impact phenomenon* bezeichnet (BRAMLEY & DODD, 1984; SUTRA & POUTREL, 1994). Auf diesem Weg können die Bakterien die Barriere des Zitzenkanals nicht nur durch Vermehrung und selbstständigen Antrieb, sondern auch durch Vortrieb aufgrund des nicht korrekten Maschinenmelkens überwinden. Der In-

vasionsprozess kann schon während dieser Zeit beginnen und durch Kapillarkräfte unterstützt werden (PHILPOT, 1979; TSCHISCHKALE, 2002).

Als weitere Ursache für die Übertragung von Mastitiden innerhalb eines Bestandes benennen OWENS et al. (1998) die Kleine Weidestechfliege (*Haematobia irritans*). In ihrer Untersuchung lösten *S. aureus*-infizierte Fliegen eine intramammäre Infektion bei drei von vier Färsen aus. Schorfwunden an den Zitzen gelten als potentielle Eintrittspforte für die Staphylokokken. Übereinstimmend dazu stellten NICKERSON et al. (1995) fest, dass Färsen aus Herden mit kontrollierter Fliegenbekämpfung eine niedrigere Mastitisprävalenz besitzen als Färsen aus Beständen ohne entsprechendes Kontrollmanagement. GILLESPIE et al. (1999) bekräftigten diesen Zusammenhang zwischen Fliegen und Mastitisvorkommen für Färsen. Sie isolierten mittels Genotypisierung aus Milch- und Tupferproben *S. aureus*-Stämme von Färsen und von Fliegen aus demselben Kuhstall und ermittelten eine Übereinstimmung der gefundenen Isolate. Weiterhin erkannten sie, dass sich diese Stämme jedoch von denen pluriparer Kühe unterscheiden, wodurch den Fliegen eine wichtige Rolle in der Übertragung von Färsenmastitiden zugesprochen werden kann. Auch ANDERSON et al. (2012) ermittelten einen bestimmten *S. aureus*-Genotyp, der sowohl in Rohmilchproben als auch bei *Haematobia irritans* vorkam. Die Fliegenbekämpfung stellt damit eine wirksame prophylaktische Maßnahme in der Reduzierung von Euterinfektionen mit *S. aureus* dar (OWENS et al., 1998; KRÖMKER, 2010).

Nach erfolgter Invasion in den Zitzenkanal kann *S. aureus* über Monate in ihm persistieren. Auch über die Trockenstehperiode hinaus wird der Erreger nicht zwingend eliminiert. Befindet sich *S. aureus* im Zitzenkanal, steigt der Zellgehalt der Milch zunächst nicht an. Mit Beginn der Entzündungskaskade tritt jedoch ein deutlicher Anstieg der Zellzahl ein. Die Infektion kann durch eine weiterhin bestehende Besiedlung des Strichkanals aufrecht erhalten bleiben (FROST et al., 1977; BRAMLEY & DODD, 1984).

2.2.3 Pathogenese der Mastitiden durch *Staphylococcus aureus*

Infektionen können in einen dreiphasigen Prozess untergliedert werden (FROST et al., 1977). Als erstes kommt es zum Eintritt der Bakterien, der durch oben genannte Faktoren wie Strichverletzungen sowie Fehler und Unsauberkeit beim Melken er-

leichtert wird. Danach folgt die spezifische Adhärenz der Keime an das Epithel, die ein Auswaschen aus dem Strichkanal verhindert und letztendlich schließt sich die Invasion in das Eutergewebe mit der Entstehung einer Entzündung an.

Nach Eintritt von *S. aureus* in die Milchdrüse erfolgt eine Bindung an die Fettkügelchen in der Milch. Dadurch können die Erreger dem Milchfluss nicht nur stand halten, sondern durch Flotation der Fetttropfen sogar in die oberen Regionen des Gangsystems vordringen (SANDHOLM et al., 1989; LINDAHL et al., 1990).

Die folgende Adhärenz an das Epithel, die bei kontagiösen Keimen sehr stark ausgeprägt ist, kann auf unterschiedlichen Wegen eintreten. Eine Bindung an das Epithel über physikalisch-chemische Wechselwirkungen ist möglich. In der Untersuchung von MAMO et al. (1988) zeigten 63 % der *S. aureus*-Stämme eine hohe und nur 29 % eine niedrige Oberflächenhydrophobizität. Diese Hydrophobie der Bakterien kann eine Fixation an der hydrophilen Euterepithelzelle hervorrufen und so zur Adhäsion führen. Die hydrophoben Eigenschaften variieren jedoch zwischen den einzelnen *S. aureus*-Isolaten (MAMO et al., 1987). Ein weiterer Mechanismus bei der Anlagerung ist eine spezifische Interaktion zwischen den in der Bakterienzellwand verankerten Adhäsinen und den als Rezeptoren dienenden Komponenten des Wirtes. Fibronectin, Fibrinogen und Typ II Kollagen werden von den Bakterien für die Bindung genutzt (MAMO et al., 1988). Die Anlagerung an Fibronectin ist spezifisch, zeitabhängig und irreversibel (RYDÉN et al., 1983). Der Gehalt der Fibronectinbindungsproteine variiert zwischen den Spezies. Stämme, die an viele Fibronectinmoleküle binden können, besitzen eine hohe Gewebsinvasivität (PROCTOR et al., 1984; HOLDERBAUM et al., 1986).

Nach einer Bindung der Bakterien an die Euterepithelzellen oder Phagozyten wird in der Zelle eine Signaltransduktionskaskade gestartet, die zum Umbau des Zytoskeletts führt. Da die Invasion eine aktive Teilnahme mit den Zytoskelettkomponenten der Epithelzellen benötigt, kann diese durch Hemmstoffe der F-Aktin-Mikrofilamentpolymerisation unterbunden werden. Dafür nutzten ALMEIDA et al. (1996) Cytochalasin D. Die Invasion konnte jedoch nicht verringert werden, wenn die Zellen mit Colchicin behandelt wurden, dass die Mikrotubulibildung hemmt. Demzufolge sind die F-Aktin-Mikrofilamente an der Invasion der Staphylokokken in die Zellen beteiligt. Das Eindringen in die Zellen hilft den Bakterien die Abwehrmechanismen des Wirtes zu umgehen und in den Phagozyten zu überleben. Weiterhin sind sie

damit einer Behandlung mit antibakteriellen Wirkstoffen nur schwer zugänglich (CRAVEN & ANDERSON, 1984, HENSEN et al., 2000).

2.2.4 Epidemiologie der Mastitiden durch Koagulase-negative Staphylokokken

Die KNS gehören zur normalen Hautmikroflora und werden den opportunistischen Keimen zugeordnet, da sie von extramammären Stellen wie der Haut als auch vom Zitzenkanal isoliert werden können (MATTHEWS et al., 1992; DE VliegHER et al., 2003). Einige KNS-Spezies werden dabei häufiger von extramammären Stellen isoliert, andere vermehrt aus dem bovinen Euter. MATOS et al. (1991) isolierten *S. xylosus*, *S. sciuri* und *S. saprophyticus* als dominierende Spezies in der Umgebung der Milchkühe. Für *S. simulans* sowie *S. haemolyticus* konnte ebenso die Umwelt als Reservoir gefunden werden, wodurch diese Mastitiden möglicherweise umweltbedingten Ursprungs sind (PIESSENS et al., 2011). Dieses Ergebnis steht der Untersuchung von TAPONEN et al. (2008) gegenüber, die *S. simulans* nur selten extramammär beschrieben. In einer weiteren Studie isolierten WHITE et al. (1989) *S. chromogenes* nicht nur von Nase, Vagina und Fell, sondern auch vom Zitzenkanal der Färsen. *S. epidermidis* wiesen sie nur vereinzelt auf der Haut nach. AARESTRUP & JENSEN (1997) sowie TAPONEN et al. (2008) isolierten *S. chromogenes* dagegen lediglich von der Euterhaut, dem Zitzenkanal und dem Milchsekret der Färsen und laktierenden Kühe. Weiterhin wurde *S. chromogenes* in vielen Studien besonders bei subklinischen Färsenmastitiden gefunden (MATTHEWS et al., 1992; DE VliegHER et al., 2003; TAPONEN et al., 2006; PIESSENS et al., 2011). Übereinstimmend dazu isolierten auch TENHAGEN et al. (2009) *S. chromogenes* häufiger in primiparen Kühen. *S. epidermidis* kam im Gegensatz dazu vor allem bei Pluriparen vor. Der von THORBERG et al. (2006) isolierte *S. epidermidis* stammte sowohl aus boviner Mastitismilch als auch von den Händen der Melker. Es handelte sich dabei um genetisch identische Stämme, womit eine entscheidende Quelle für die Übertragung des Erregers aufgezeigt werden konnte.

2.2.5 Übertragung von Koagulase-negativen Staphylokokken

Eine geänderte Haltung der Milchkühe kann zum Anstieg der Mastitiden durch opportunistische Keime führen. Diese Änderung geht mit einer Zunahme von Laufställen und Abnahme der Weidehaltung einher (DVG, 2002). COMPTON et al. (2007) be-

kräftigen dies mit ihrer Untersuchung, in der Färsen, die überwiegend auf Weiden gehalten werden, eine niedrigere Prävalenz von KNS-Mastitiden aufweisen als Färsen in Stallhaltung. Allerdings kann es in den wärmeren Monaten auf den Weiden zu einer Erhöhung der Mastitisprävalenz durch Fliegen kommen, da sie als Überträger pathogener Keime fungieren (OWENS et al., 1998; SAMPIMON et al., 2009a). In Herden mit Fliegenkontrolle treten dabei die niedrigsten Raten an Euterinfektionen auf (TRINIDAD et al., 1990a). Ein weiterer Faktor, der Einfluss auf die KNS-Infektionen besitzt, ist die Gruppengröße. Die Ursache einer hohen Prävalenz in großen Kuhgruppen liegt in einem schlechteren Fütterungsregime sowie steigendem Stress in der Herde (BARKEMA et al., 1999).

Da eine Übertragung der KNS von der Zitzenhaut in das Euter möglich ist, verglichen QUIRK et al. (2012) die Anzahl der Mastitiden zwischen einer Euterhälfte, die nach dem Melken mit Jod gedippt wurde, mit einer Kontrolle, die nicht mit Jod versorgt wurde. Die Kontrollviertel wiesen ein signifikant höheres Mastitisvorkommen auf, womit ein Zusammenhang mit der Mastitisentstehung bei allen KNS beobachtet wurde. Jedoch erzielte die Zitzendesinfektion für einige Spezies weniger Reduktion als für andere.

Nach der Infektion der Milchdrüse folgt eine speziesabhängige Zeitdauer der Persistenz. Diese kann nicht nur einen Großteil der Laktation, sondern den gesamten Zeitraum dieser einnehmen (TIMMS & SCHULTZ, 1987; RAINARD et al., 1990; CHAFFER et al., 1999). TAPONEN et al. (2007) untersuchten 228 Eutervierviertel von Kühen. Dabei ermittelten sie bei der Hälfte der KNS-Infektionen eine Persistenz, die über die gesamte Laktation andauern konnte. Bei Betrachtung der einzelnen KNS-Spezies verursachte *S. chromogenes* die meisten persistierenden Infektionen (SUPRÉ et al., 2011). Bei AARESTRUP & JENSEN (1997) weist andernfalls *S. simulans* die längste Persistenz auf. *S. xylosus* sowie *S. haemolyticus* stehen vermehrt mit transienten Infektionen in Verbindung (THORBERG et al., 2009).

2.2.6 Pathogenese der Mastitiden durch Koagulase-negative Staphylokokken

KNS sind in der Lage sowohl klinische als auch subklinische Mastitiden hervorzurufen. Die klinischen Mastitiden, die durch Entzündungssymptome des Euters wie Schmerz (Dolor), Wärme (Calor), Rötung (Rubor), Umfangsvermehrung (Tumor) und

Funktionsverlust (Functio laesa) gekennzeichnet sind, besitzen bei KNS-Infektionen einen milderen Verlauf (Taponen et al., 2006). Bei subklinischen Mastitiden sind sie häufiger vertreten als bei klinischen Verläufen. Die KNS können als die dominierende Bakterienspezies bei dieser Form isoliert werden (MYLLYS et al., 1995). In einer deutschen Studie von TENHAGEN et al. (2006) kommen sie in 35 % der subklinisch infizierten Euterviertel vor. Geringere Prävalenzen mit 14,9 % - 23,5 % werden in weiteren Untersuchungen ermittelt (BRADLEY et al., 2007; KOIVULA et al., 2007). Die Beteiligung an der klinischen Form reicht von 6,0 % - 17,6 % (OLDE RIEKERINK et al., 2007; BRADLEY et al., 2007; KOIVULA et al., 2007). Desweiteren ist die Prävalenz einer klinischen Erscheinungsform bei primiparen Kühen mit 27,4 % signifikant höher als bei Pluriparen mit 16,4 % (TENHAGEN et al., 2009).

In der Untersuchung von BENITES et al. (2002), bei der in 53,8 % der Euter von Schlachtkühen KNS gefunden wurden, lagen keine signifikanten Unterschiede in den pathohistologischen Veränderungen zwischen KNS- und *S. aureus*-Infektion vor. Jedoch fielen in nur vier von 99 erfassten Vierteln keine entzündlichen Reaktionen auf. In den anderen Eutervierteln lagen jedoch verschiedene Stadien akuter bis chronisch entzündlicher Reaktionen vor. An den chronischen Verläufen waren sowohl *S. aureus* als auch KNS beteiligt. SUPRÉ et al. (2011) beschreiben übereinstimmend dazu für *S. chromogenes*, *S. simulans* und *S. xylosus* ähnliche entzündliche Reaktionen im Eutergewebe wie bei einer *S. aureus*-Infektion. Dagegen ermittelten STABENFELDT & SPENCER (1966) sowie TRINIDAD et al. (1990b) bei KNS-Mastitiden mildere Reaktionen. Die N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase-Aktivität, die eine Eutergewebsschädigung während einer Entzündung aufzeigt, steigt beim Vorliegen einer KNS-Mastitis moderat an und sinkt innerhalb einer Woche auf das Normalniveau. Dies lässt auch auf einen geringen Gewebsschaden im Euter schließen. Weitere Ergebnisse der Studie von SIMOJOKI et al. (2009), die sechs Kühe mit *S. chromogenes*-Nachweisen untersuchten, zeigten eine sinkende Milchmenge 30 bis 46 Stunden nach einer Infektion auf. Bei Betrachtung der Milchdrüse fielen milde Veränderungen wie Schwellungen, Verhärtungen des Drüsengewebes sowie Wärme auf. Nur eine Kuh besaß Abweichungen im Milchsekret in Form von Flocken.

Fokale pathohistologische Veränderungen durch KNS-Infektion sind durch Atrophie gekennzeichnet, die keine physiologische Involution darstellt. In vielen Fällen weisen aneinandergrenzende Areale Vakuolen im Alveolarepithel sowie mit Neutrophilen

besetzte Alveolen auf. Ein gehäuftes Vorkommen von Fibroblasten, Lymphozyten und Plasmazellen kennzeichnet die chronische Erscheinungsform (STABENFELDT & SPENCER, 1966). TRINIDAD et al. (1990b) untersuchten Färsen mit *S. aureus*-als auch KNS-Euterinfektionen. Es zeigte sich bei infizierten Tieren eine stärkere Leukozyteninfiltration sowie mehr interalveoläres Stroma als bei nicht infizierten Kühen. Jedoch sind die pathohistologischen Veränderungen, die mit einer KNS-Mastitis einhergehen, weniger schwerwiegend als die *S. aureus*-bedingten Euterinfektionen.

2.2.7 Pathogenitätsfaktoren der Staphylokokken

S. aureus besitzt eine Vielzahl von Pathogenitätsfaktoren und weist daher unter allen Staphylokokkenspezies die höchste Pathogenität auf (PETERS & PULVERER, 1994). Es werden bei den Pathogenitätsfaktoren zellwandassoziierte Proteine und in die Umgebung sezernierte Enzyme oder Toxine unterschieden. Zellwandgebundene Stoffe, als Adhäsine bezeichnet, besitzen die Fähigkeit, sich an Immunglobuline, Fibrinogen und Fibronectin sowie an Gewebsstrukturen wie Kollagen, Elastin und Laminin zu binden (BLOBEL & SCHLIESSER, 1994). Damit vermitteln die Adhäsine den ersten Schritt der Pathogenese. Tabelle 1 gibt einen Überblick über das Vorkommen zellwandassoziierter Proteine sowie von Exoproteinen der Staphylokokken (BLOBEL & SCHLIESSER, 1994).

Tab. 1: Vorkommen von zellwandassozierten Proteinen und Exoproteinen bei Staphylokokken

Zellwandassoziierte Proteine	Exoproteine
Protein A	Koagulase
Kapsel	Hämolytine
Schleimsubstanzen (Glykokalix)	Leukozidine
Clumping- Faktor	Enterotoxine
Fibronectinbindendes Protein	Toxic Shock Syndrome Toxin 1
Kollagenbindendes Protein	Exfoliativtoxine
Elastinbindendes Protein	Lipase, Protease, Hyaluronidase
Lamininbindendes Protein	Thermonuklease

Im Folgenden werden einige wichtige zellwandassoziierte Substanzen näher erläutert.

Kapsel

Das Vorkommen einer Bekapselung von *S. aureus* geht aus den Beobachtungen von BIGGER et al. (1927) hervor. Die Kapseln bestehen aus einer Polysaccharidstruktur und können bis zu 12 Serotypen aufweisen. SAU et al. (1997) konnten eine Expression von Kapselpolysaccharid 5 und 8 bei Kühen dokumentieren. Die *S. aureus*-Stämme mit diesen Kapselpolysaccharidtypen besitzen mehr Resistenz gegenüber der Phagozytose durch polymorphkernige Leukozyten als unbekapselte *S. aureus*-Stämme (KARAKAWA et al., 1988). POUTREL et al. (1990) untersuchten KNS-Kulturen auf eine Bekapselung und fanden dabei 15,5 % bekapselt vor. Für *S. simulans*, der die Fähigkeit zur Bildung von Kapseln besitzt, konnte eine deutliche Resistenz in Bezug auf die Phagozytose durch neutrophile Granulozyten gefunden werden. Damit besitzt er eine größere Invasivität als unbekapselte Stämme (OHSHIMA et al., 1990).

Schleimsubstanzen (Glykokalix)

Schleim stellt eine Exopolysaccharidkomponente dar und ist im Gegensatz zur Kapsel nur locker mit der Bakterienoberfläche verbunden. Er besteht als Glukokonjugat aus Glukose, Galaktose, Mannose, Glukosamin und Glukuronsäure sowie wenigen Proteinanteilen und wird daher auch als Glykokalix bezeichnet (ROZGONYI & SELTMANN, 1985). Der Schleim kann die Bakterien in Gruppen von Mikrokolonien abgrenzen. Diese sind aufgrund ihrer Größe und Formation gegenüber der Phagozytose durch Makrophagen und neutrophile Granulozyten nicht angreifbar. Es können lediglich Bakterien, die sich von der Kolonie gelöst haben, eliminiert werden. Auch gegenüber Antibiotika bildet der Schleim einen Schutz. Die Arzneimittelanreicherung in einer Kolonie ist einerseits meist nicht ausreichend und andererseits besteht bei den Bakterien im Zentrum häufig ein niedriger Stoffumsatz und damit einhergehend eine niedrige Sensitivität gegenüber Medikamenten (BASELGA et al., 1994). Schleimproduzierende Stämme sind dementsprechend virulenter als Stämme ohne dieses Merkmal. Es wurde beschrieben, dass Bakterien mit Glykokalix zudem eine höhere Adhärenz zu Fibroblasten aufweisen und der Schleim eine verstärkte Bindung an Epithelzellen herbeiführt (BASELGA et al., 1994).

Bei den KNS unterscheidet sich die Schleimproduktion zwischen den einzelnen Arten. Insgesamt wiesen BOYNUKARA et al. (2007) 60 % schleimproduzierende KNS in ihrer Studie nach. Nur bei *S. capitis* lag dieser Pathogenitätsfaktor nicht vor. In einer weiteren Studie von SIMOJOKI et al. (2012) produzierten von den häufig in Mastitisproben isolierten Spezies *S. chromogenes* nur 0,2 % und *S. simulans* nur 3,5 % Schleimsubstanzen, dagegen über 40 % der *S. epidermidis*-Isolate. Die Fähigkeit zur Schleimproduktion ist oft assoziiert mit einer Biofilmbildung, wodurch Bakterien vor Phagozytose und antimikrobieller Therapie geschützt werden.

Clumping Faktor

Der Clumping Faktor reagiert ohne Beteiligung eines Plasmafaktors direkt mit Fibrinogen, was zur Verklumpung der Staphylokokken im Plasma führt. Da dieser Faktor von nahezu allen pathogenen Staphylokokken gebildet wird, gilt er als taxonomisches Kriterium (PULVERER, 1986). Die makroskopisch erkennbare Verklumpung, die beim Test durch Verreiben von *S. aureus*-Kolonien mit Kaninchenplasma entsteht, wird durch direkte Bindung der zellwandständigen Rezeptoren an Fibrinogen hervorgerufen (BRÜCKLER et al., 1974). Die Pathogenität dieses Virulenzfaktors kann durch die Arbeit von RÖDER (1985) veranschaulicht werden. Er ermittelte, dass *S. aureus*-Stämme ohne Clumping Faktor Mastitiden mit niedrigeren Zellgehalten auslösen als Stämme mit diesem Pathogenitätsfaktor.

Fibronektinbindendes Protein

Fibronektin ist ein Glykoprotein, welches im Serum sowie anderen Körperflüssigkeiten in löslicher und im Gewebe in unlöslicher Form vorkommt (ESPERSEN et al., 1982). Durch dieses Protein besitzen Staphylokokken die Fähigkeit, sich sowohl an Epithel- als auch Endothelzellen und damit einhergehend auch an das bovine Euter zu binden (DZIEWANOWSKA et al., 1999). Fibronektinbindendes Protein ist von entscheidender Bedeutung für die Adhäsion und Invasion. Dies verdeutlichen DZIEWANOWSKA et al. (1999) mit der Erkenntnis, dass die Verwendung von Antikörpern gegen Fibronektin die Adhärenz von *S. aureus* an Endothel- sowie Epithelzellen signifikant senken.

S. aureus produziert einige Exoproteine, die die Kolonisation des Wirtes begünstigen. Ihre Hauptfunktion besteht darin, die Immunantwort des Organismus zu hem-

men (DINGES et al., 2000). Im Folgenden werden einige wichtige extrazelluläre Enzyme und Toxine erläutert.

Koagulase

Die Fähigkeit, Koagulase zu bilden, zeigt ein wichtiges Identifizierungskriterium von *S. aureus* auf und besitzt Bedeutung für die Virulenz. Die meisten Stämme, die das Rindereuter befallen, koagulieren bovines Plasma (SUTRA & POUTREL, 1994).

Die Koagulation entsteht durch Polymerisation des Fibrinogens. Durch diese Fibrinbarriere können sich die Staphylokokken vor den Abwehrmechanismen des Wirtes schützen und auf diesem Wege der Phagozytose entgehen (CHENG et al., 2010).

Hämolytine

S. aureus bildet die vier Hämolytine α , β , γ und δ . Sie können Gewebe zerstören und die Bakterien vor der Immunantwort schützen (DINGES et al., 2000).

Das α -Hämolytin, auch α -Toxin genannt, besitzt toxisches Potential für viele Säugerzellen und wird von 20 – 50 % der sich im Eutergewebe befindlichen *S. aureus*-Stämme produziert (SUTRA & POUTREL, 1994). Eine hämorrhagische Nekrose der Milchdrüse, die laut SEFFNER & BERGMANN (1994) auf eine Vasokonstriktion zurückzuführen ist, konnte schon bei WARD et al. (1979) festgestellt werden. Das β -Toxin ruft eine Entzündungsreaktion des Gewebes bis hin zu toxinbedingten Gewebnekrosen, eine verminderte sekretorische Aktivität des Alveolarepithels sowie ein verändertes Milchsekret mit Flockenbildung und erhöhter Zellzahl hervor. Die Infektion kann auch eine Störung des Allgemeinbefindens bedingen (SUTRA & POUTREL (1994). Ein γ -Toxin wird von 99 % der *S. aureus*-Stämme produziert. Es kann neutrophile Granulozyten und Makrophagen schädigen sowie die Erythrozyten vieler Säugetiere lysieren (DINGES et al., 2000). Die δ -Hämolytine sind weiterhin in der Lage Erythrozyten sowie andere Säugetierzellen und zelluläre Strukturen, wie membrangebundene Organellen, zu zerstören (FREER et al., 1982).

Leukozidine

Leukozidine sind gegen Leukozyten gerichtete Zytolysine. Das bekannteste ist das Panton-Valentine-Leukozidin (PRÉVOST et al., 1995). Der Wirkungsmechanismus besitzt große Ähnlichkeit mit dem der β -Hämolytine. ÜNAL et al. (2012) wiesen die-

ses bei 66,6 % der untersuchten *S. aureus*-Stämme nach. Bei KNS wurde das Toxin nicht gefunden.

Enterotoxine

Die Staphylokokkenenterotoxine gehören mit dem Toxic Shock Syndrome Toxin 1 sowie einigen Streptokokkentoxinen zur Gruppe der pyrogenen Toxine. Diese Gruppe kann sowohl Lebensmittelintoxikationen als auch den toxischen Schock sowie diverse allergische und autoimmune Erkrankungen durch ihre Wirkung als Superantigen hervorrufen (BALABAN & RASOOLY, 2000).

Toxic Shock Syndrome Toxin 1

Dieses Toxin ist verantwortlich für das Toxic Shock Syndrome, was eine akute, unter Umständen sogar tödlich verlaufende Erkrankung darstellt. Typische Symptome bestehen aus Fieber und Hautveränderungen wie Rötungen sowie nach ein bis zwei Wochen entstehenden Desquamationen. Desweiteren treten Hypotension, Hypoalbuminämie sowie daraus resultierende Ödeme neben möglichen Bewusstseinsstörungen, Durchfall und Erbrechen auf. Bei einem Toxic Shock Syndrome sind drei oder mehr Organsysteme involviert (DINGES et al., 2000).

2.3 Diagnostik

Einen klinisch wichtigen Aspekt stellt die Unterscheidung von *S. aureus* und anderen Staphylokokken dar (LAM et al., 1995). Für diese Differenzierung werden kulturell-biochemische Methoden sowie Schnellagglutinations- und genetische Tests eingesetzt.

Den kulturell-biochemischen Methoden sind die Koagulasereaktion, der Nachweis des Clumping-Faktors, das Hämolyseverhalten und die Verstoffwechslung von Kohlenhydraten zuzuordnen. Auch die Anzucht auf Selektivmedien stellt eine geeignete Darstellung zur Identifizierung der verschiedenen Staphylokokken dar.

Bei der Koagulasereaktion erfolgt durch Anwesenheit von Koagulase die Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin und damit eine Koagulation des Blutes. Für den Koagulasetest beschreiben YAZDANKHAH & OLSEN (1998) eine Sensitivität von 88,5 %. Die Spezifität liegt in ihrer Studie von subklinischen Mastitismilchproben bei 100 %. Die Unterscheidung der KPS untereinander sowie von *S. hyicus*, der in der

Koagulasereaktion variabel reagieren kann, erfordern jedoch weitere Reaktionen, wie den Nachweis des Clumping-Faktors. Der Nachweis des letztgenannten Virulenzfaktors erfolgt als Objektträgerschnelltest. Positive Reaktionen zeigen sich durch Verklumpung des Plasmas innerhalb von ein bis zwei Minuten. *S. hyicus* reagiert bei dieser Reaktion im Gegensatz zu *S. aureus* negativ, wodurch eine Differenzierung beider Spezies eindeutig möglich ist (DEVRIESE & HÁJEK, 1980).

Die Identifikation mittels Hämolyse zeigt gleichermaßen eine hohe Spezifität. Die Sensitivität beträgt jedoch lediglich 80 % (LAM et al., 1995). Das Verfahren des Hämolyse nachweises stellt eine weitere wichtige Möglichkeit zur Abgrenzung in der Gruppe der KPS dar, da *S. aureus* unter diesen die einzige in Milchproben gefundene Spezies mit hämolytischer Aktivität ist. Daher ist nach LAM et al. (1995) die Identifizierung mittels einer Kombination des Hämolyse- und Koagulasenachweises das Optimum.

Die Differenzierung der Staphylokokken kann zudem mittels der Vergärung von Mannitol sowie der Untersuchung der Acetoin-Produktion erweitert werden. Unter den KPS besitzt lediglich *S. aureus* die Fähigkeit Mannitol anaerob zu fermentieren (ROBERSON et al., 1992). Aerob ist dieses auch bei *S. intermedius* möglich. Die Fähigkeit zur Produktion von Acetoin aus Glucose liegt bei einem Großteil der *S. aureus*-Stämme, jedoch bei kaum einen *S. intermedius* oder *S. hyicus* vor (ROBERSON et al., 1992).

Neben diesen Tests stellen Selektivmedien eine weitere diagnostische Möglichkeit dar. Nach CAPURRO et al. (1999) erlaubt die Kombination der drei Tests auf Hämolyse, β -Galaktosidase sowie die Anzüchtung auf Acriflavin-Agar eine einfache sowie schnelle Differenzierung. Der Acriflavin-Agar stellt mit zehn Mikrogramm Acriflavin pro Disk eine sinnvolle Detektionsmethode dar, denn bei dieser Konzentration zeigt lediglich *S. aureus* Resistenz (WALLACE et al., 1998). Häufig erfolgreich genutzt wird zudem der modifizierte Baird-Parker-Agar (ROBERSON et al., 1992). Diesem Agar können auch Antibiotika zugesetzt werden, um eine unerwünschte Begleitflora zu unterdrücken (BLOBEL & SCHLIESSER, 1994).

Zur Unterscheidung einzelner Staphylokokken stellt Tabelle 2 die positiven Testergebnisse einiger Diagnostika dar (ROBERSON et al., 1992).

Tab. 2: Diagnostika und ihre prozentual positive Differenzierung bei verschiedenen Staphylokokkenarten

Diagnostikum	Positives Testergebnis in %		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. hyicus</i>
Baird-Parker Agar	100	0	0
Acriflavin-Agar	100	0	0
Acetoin-Produktion	94	1	0
Anaerobe Mannitfermentation	99	0	0
β-Galaktosidase	0	100	0

Neben der Identifizierung von *S. aureus* besteht die Möglichkeit, die Gruppe der KNS genauer zu untersuchen. Dafür werden verschiedene Differenzierungsschemata vorgeschlagen. Die Novobiocinempfindlichkeit hat dabei einen bedeutenden Stellenwert (WHITE et al., 1989; PETERS et al., 1992). Resistent gegenüber diesem Antibiotikum sind beispielsweise *S. saprophyticus* und *S. sciuri* sowie der in boviner Milch relevante *S. xylosus* (BLOBEL & SCHLIESSER, 1994; DEVRIESE et al., 1994). In den DVG-Leitlinien wird in Tabelle 3 dargestelltes Differenzierungsverfahren nach DEVRIESE et al. (1994) empfohlen.

Tab. 3: Differenzierungsschema für KNS

Spezies	DNase	Protease	Novobiocin	Desferoxamin	Fosfomycin
<i>S. hyicus</i>	+	+	S	R	S
<i>S. chromogenes</i>	W	+	S	R	S
<i>S. simulans</i>	-	-/w	S	R	S
<i>S. warneri</i> / <i>S. haemolyticus</i>	-	-/w	S	R	R
<i>S. epidermidis</i>	-	-/w	S	S	V
<i>S. hominis</i>	-	-/w	S	S	R
Andere*	-/w	-/w	R	R	V

*: Novobiocin-resistente Spezies, S: Sensibel, R: Resistent, V: Variable Sensitivität, W: Schwache Reaktion, kleine Zonen

Für die biochemische Differenzierung stehen kommerzielle Testkits zur Verfügung. Diese wurden ursprünglich anhand humaner Staphylokokkenstämme entwickelt und identifizieren die bovinen Spezies teilweise falsch. In der Datenbank dieser Systeme existiert jedoch auch eine limitierte Anzahl von Staphylokokken bovinen Ursprungs (THORBERG & BRÄNDSTRÖM, 2000). Ein weiteres Problem dieser Tests liegt darin, dass innerhalb einer Spezies eine unterschiedliche Expression von Virulenz- und Oberflächenfaktoren stattfinden kann (WATTS et al., 1984). Tabelle 4 beinhaltet eine Übersicht über die Testsysteme und deren korrekte Identifizierungsrate der Staphylokokken.

Tab. 4: Korrekte Identifizierungsrate für Staphylokokken von verschiedenen Testkits und deren Besonderheiten

Jahr	Autor	Testkit	Herkunft der Staphylokokken	Identifizierungsrate aller Staphylokokken in %	Identifizierungsrate einzelner Spezies in %	Besonderheiten
1984	LANGLOIS et al.	DMS Staph-Trac-System	Bovine	91,2 %	90,9 % <i>S. aureus</i>	DMS Staph-Trac nutzt mehr biochemische Reaktionen als API Staph-Ident, weniger falsch bei <i>S. hyicus</i>
1984	WATTS et al.	Staphase-Test	Bovine	89,2 %	98,6 % <i>S. aureus</i> 100 % KNS	Nur 60,0 % korrekt für <i>S. hyicus</i>
1986	RATHER et al.	API Staph-Ident	Bovine	45,2 %	82,3 % <i>S. aureus</i> 31,1 % KNS	
1986	WATTS & NICKERSON	Staph-Ident	Bovine	88,1 %	100 % <i>S. aureus</i>	88,6 % <i>S. hyicus</i> korrekt
		Staph-Trac	Bovine	66,1 %	80,9 % <i>S. aureus</i>	45,5 % <i>S. hyicus</i> korrekt
1986 ^a	WATTS et al.	Minitek Gram-Positive Set	Bovine	79,2 %	100 % <i>S. aureus</i>	Höchste Fehlerrate bei <i>S. hyicus</i>
1986 ^b	WATTS et al.	API 20 GP System	Bovine	56,1 %	90,2 % <i>S. aureus</i>	Unakzeptable Methode für veterinärmedizinische Diagnostik
1990	BRUN et al.	ATB 32 Staph Gallery	Bovine	95,5 %		Praktikable und nützliche Methode zur Routinedifferenzierung

Jahr	Autor	Testkit	Herkunft der Staphylokokken	Identifizierungsrate aller Staphylokokken in %	Identifizierungsrate einzelner Spezies in %	Besonderheiten
1990	MATTHEWS et al.	API Staph-Trac	Bovin	80,8 %	100 % <i>S. aureus</i>	Identifizierungsrate einzelner Spezies zwischen 25 - 100 % <i>S. chromogenes</i> nicht differenzierbar, geringe Anzahl veterinärmedizinischer Isolate in der Datenbank
		VITEK Gram-positive Identification card	Bovin	44,6 %	100% <i>S. aureus</i>	
1991	KLOOS & GEORGE	MicroScan POS ID System	Human, Animal	80 - 90 %	99,0 % <i>S. aureus</i>	Beide liefern eine schnelle und akkurate Methode zur Identifikation
		Rapid POS ID Panel System				
2000	THORBERG & BRÄNDSTRÖM	Staph-Zym	Bovin	94,0 %		Bei 45 % zusätzliche Tests erforderlich, problematische Identifikation bei <i>S. chromogenes</i> , <i>S. haemolyticus</i> , <i>S. simulans</i> , <i>S. warneri</i> , <i>S. epidermidis</i>
		ID 32 Staph	Bovin	77,0 %		
2009 ^b	SAMPIMON et al.	API Staph ID 32	Bovin		41,0 % KNS	Nur KNS getestet; <i>S. warneri</i> 15 %, <i>S. equorum</i> 0%
		Staph-Zym	Bovin		31,0 % KNS	<i>S. chromogenes</i> & <i>S. equorum</i> 0 %; Test laut Autoren nicht geeignet
2009	CAPURRO et al.	Staph-Zym	Bovin		61,0 % KNS	Nur KNS getestet

Die phänotypisierten Identifizierungsmethoden werden häufig als insuffizient für die Identifikation von KNS angesehen (CAPURRO et al., 2009; SAMPIMON et al., 2009b; PARK et al., 2011). Daher gilt die Genotypisierung als bessere Methode um genaue Informationen über die einzelnen Spezies der Gruppe der KNS zu gewinnen (ZADOKS & WATTS, 2009).

In der Genotypisierung können verschiedene Methoden angewendet werden. Für eine große Anzahl von KNS stehen Gensequenzen in den Genbanken zur Verfügung und wurden zur Identifizierung boviner Mastitisisolate verwendet. Deren Vorteil stellt sich in einer sehr speziesspezifischen, schnellen sowie leicht durchführbaren Detektionsvariante dar (BOERLIN et al., 2003; CAPURRO et al., 2009; SUPRÉ et al., 2009). Nachteilig ist die teilweise falsche Identifikation bei nah verwandten Spezies (PARK et al., 2011). Andere genotypisierte Verfahren verwenden den Vergleich von DNA-Fragmenten, bei denen Isolate mit Referenzstämmen verglichen werden. Durch eine große Datenbank wird mit der DNA-basierten Genotypisierung eine akurate Identifikation möglich (ZADOKS & WATTS, 2009). Eine weitere Methode, die als nützlich angesehen wird, ist das AFLP (Amplified fragment length polymorphism). Zudem gibt es das MALDI-TOF (Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry analysis). Beide benötigen jedoch ein spezielles Equipment und bedingen dadurch einen höheren finanziellen Aufwand in der Diagnostik (TAPONEN et al., 2006; TAPONEN et al., 2007).

2.4 Bedeutung von Staphylokokken im Mastitisgeschehen

2.4.1 Bedeutung von *Staphylococcus aureus*

Eine Infektion mit *S. aureus* führt zu einer Erhöhung der Zellzahl in der Milch (BRADLEY, 2002; COULON et al., 2002; PARK et al., 2007; SCHUKKEN et al., 2009). BANNERMAN et al. (2004) stellten die maximale Zellzahlerhöhung 40 Stunden nach einer experimentellen Infektion fest. Diese beträgt in ihrer Studie $32,1 \times 10^6 \pm 5,9 \times 10^6$ Zellen/ml. Wenige Stunden danach fällt diese jedoch wieder deutlich ab. Im Laufe einer Staphylokokkeninfektion können die Zellzahlen in den betroffenen Eutervierteln fluktuieren. Eine geringe Variation kann auch in den nicht infizierten Vierteln vorkommen, bleibt aber im Vergleich zu infizierten unter 200.000 Zellen/ml. Die Schwankungsbreite des Zellgehaltes der Milch von Kühen mit *S. aureus*-

Nachweis erstreckt sich von 193.000 bis 1.551.000 Zellen/ml, wobei die nicht infizierten Viertel zwischen 28.000 und 182.000 Zellen/ml aufweisen (HARMON, 1994). Aufgrund dieser großen Spannen werden häufig Durchschnittswerte für *S. aureus*-infizierte Viertel angegeben, die 174.000 bis 762.000 Zellen/ml betragen (DJABRI et al., 2002; SCHALLENBERGER et al., 2002, KÜMPEL, 2012). Auch der Laktationsstand der Tiere kann die Zellzahl beeinflussen. WHIST et al. (2009) ermittelten bei Färsen mit *S. aureus*-Mastitiden während der ersten Wochen nach der Kalbung eine höhere somatische Zellzahl in der anschließenden Laktation als bei Färsen ohne Mastitisnachweis. Dieser Effekt steigt mit der Anzahl der infizierten Viertel.

Ein weiterer Faktor, der bei Kühen zu einer Erhöhung führt, ist das Zitzendippen von Kühen mit mehr als zwei *S. aureus*-positiven Vierteln. Bei bakteriologisch negativen Tieren wurde jedoch festgestellt, dass die Zellzahl durch Joddippen sinkt. WHIST et al. (2009) beschrieben als Grund dafür, dass andere Erreger mit Infektionspotential für das Euter durch Dippen unschädlich gemacht werden und sich dadurch *S. aureus* besser ausbreiten kann.

Ein Keimnachweis auf allen Vierteln führt bei Färsen zu einer Verringerung der Milchmenge während der ersten Wochen der Laktation. Sind weniger als zwei Viertel betroffen, tritt dieselbe Milchkurve wie bei nicht infizierten Herdenmitgliedern auf. Einen weiteren ausschlaggebenden Faktor stellt die Keimdichte der Staphylokokken dar. So zeigen Jungkühe mit einem Nachweis von mehr als 1.500 Keimen/ml einen größeren Milchrückgang als bei geringerem Erregervorkommen (REKSEN et al., 2007). Auch die Ausgangsmilchproduktion der Kühe ist entscheidend, da Tiere mit hoher Milchmenge schneller mit *S. aureus* infiziert werden (COULON et al., 2002). Mit einem Nachweis kann zudem eine geringere Milchproduktion einhergehen. So beschrieben TESFAYE et al. (2010) bei einem erkrankten Viertel einen durchschnittlichen Verlust von 34,5 % der potentiell produzierbaren Milchmenge. Wird die Milchmengenleistung pro Kuh betrachtet, resultiert durch eine Infektion eine Abnahme von 6,8 %. Einen Einfluss auf die Milchmenge besitzen zudem die Anzahl der infizierten Viertel sowie das Stadium und das Erscheinungsbild der Infektion. Liegt bei multiparen Kühen nur ein erkranktes Viertel in der ersten Laktation vor, vermindert sich die Milchproduktion in den folgenden Laktationen um 94 – 161 kg. Bei mehr als zwei erkrankten Vierteln sinkt die Milchmenge sogar um 303 – 390 kg (WHIST et al., 2009). Während der klinischen Phase einer *S. aureus*-Mastitis konnten COULON et al.

(2002) einen Milchrückgang von 1,6 kg/Tag feststellen. Dieser Abfall der Milchmenge stellt sich im Vergleich mit einem anderen *major pathogens* wie *Escherichia coli* moderat dar, da bei letzterem ein Verlust bis 15,5 kg/Tag festgestellt wurde. PARADIS et al. (2010) ermittelten bei *S. aureus*-Mastitiden während des ersten Monats der Laktation dagegen keine Veränderung der Milchmenge. Dies kann darauf zurückzuführen sein, dass entweder nur wenige Viertel betroffen waren oder nur ein geringer Keimdruck vorlag. Die Kompensation der Leistung erkrankter Euterviertel durch Leistungsanstieg der übrigen kann zudem einen Einfluss auf das Untersuchungsergebnis aufweisen. Sie beträgt bei ausgefallenem Viertel 4 %, bei zwei ausgefallenen 10 % und bei drei ausgefallenen bis zu 14 % (HAMANN & REICHMUTH, 1990). Damit ist eine Milchminderleistung bei Ausfall mehrerer Viertel vorprogrammiert und das Risiko des Ausmerzens dieser Kühe steigt (REKSEN et al., 2006; COMPTON et al., 2007). *S. aureus*-Infektionen können weiterhin einen Einfluss auf die Zusammensetzung der Milch besitzen. PARK et al. (2007) wiesen bei KPS-infizierten Tieren einen Laktosegehalt von 4,59 % nach. Im Vergleich dazu liegt der Gehalt von nicht infizierten bei 4,85 % (PARK et al., 2007). Weiterhin wurde bei HORVÁTH et al. (1981) der größte Rückgang des Laktosegehaltes in der Staphylokokkengruppe gefunden. COULON et al. (2002) ermittelten übereinstimmend einen Rückgang des Laktosegehaltes von 4,40 % bei subklinischen und 16,77 % bei klinischen *S. aureus*-Mastitiden. Dagegen konnte bei KÜMPEL (2012) im Vergleich von Betrieben mit hoher und niedriger Prävalenz von *S. aureus* im Milchsekret kein signifikanter Unterschied zu negativen Kühen dieser Betriebe nachgewiesen werden. Der Laktosegehalt betrug in allen Gruppen 4,7 %. Der Proteingehalt lag bei PARK et al. (2007) in der Milch KPS-infizierter Tiere mit 3,13 % niedriger als bei nicht infizierten Tieren mit 3,21 %. Diese Veränderung im Proteingehalt tritt jedoch nur bei klinischer *S. aureus*-Mastitis auf. Bei stichprobenartigen Viertelgemelkskontrollen, die bei KÜMPEL (2012) untersucht wurden, konnte sogar ein Anstieg im Eiweißgehalt von 3,5 % bei nicht infizierten Tieren auf 3,6 % in der Milch von Kühen mit *S. aureus*-Nachweis beschrieben werden. Casein als Eiweißanteil der Milch erfährt bei einer klinischen Mastitis einen Rückgang, der 1,2 g/kg ausmacht. Legt man das Augenmerk auf das Casein/Protein-Verhältnis, liegt auch bei einer subklinischen Infektion ein geringerer Gehalt vor. Dies kann auf eine verminderte Produktion im Euter zurückzuführen sein und durch die Chronizität sowie Schwere einer Staphylokokkenmastitis erklärt werden (COULON et al., 2002).

Unterschiedliche Angaben liegen für den Fettgehalt der Milch vor. Ein Rückgang im Milchfett wurde bei KING (1969) und PARK et al. (2007) beschrieben. Er betrug bei infizierten Tieren 3,38 %. In der negativen Vergleichsgruppe wurden 3,79 % ermittelt (PARK et al., 2007). Bei KÜMPEL (2012) wurde dagegen ein geringer Anstieg von 2,7 % auf 3,2 % beschrieben.

Die chemische Zusammensetzung der Milch zeigt ebenfalls Abweichungen. So steigt bei einer Infektion mit Staphylokokken sowohl der Natrium- und Chloridgehalt als auch der pH-Wert an (HORVÁTH et al., 1981). Calcium und Phosphor sinken bei klinischer *S. aureus*-Mastitis von 1,27 auf 1,17 g/kg und von 0,95 auf 0,90 g/kg. Bei der subklinischen Form sind dagegen nur geringe Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung erkennbar (COULON et al., 2002).

Es kommt weiterhin zum Anstieg des Enzyms Arylesterase, das die Spaltung von Phenylacetat hydrolysiert (MARQUARDT et al., 1966; PRASAD & NEWBOULD, 1968). In 91 % der 22 *S. aureus*-infizierten Viertel verzeichneten PRASAD & NEWBOULD (1968) einen Anstieg. Nur zwei Viertel zeigten keinen Anstieg der Enzymaktivität. Trotzdem fand in diesen beiden eine initiale Leukozytose statt. Die Ursache liegt darin, dass die Entzündungsreaktion in diesen Vierteln nicht so stark war und damit kein Transsudat durch gesteigerte Kapillarpermeabilität in die Milch gelangen kann. Des Weiteren sind die akute Phase Proteine wie Serum Amyloid A und Haptoglobin während der beginnenden Infektion in der Milch und im Blutserum erhöht. Serum Amyloid A steigt auch während der chronischen subklinischen Mastitis (GRÖNLUND et al., 2003). Beide Proteine sind spezifisch für das infizierte Euter.

2.4.2 Bedeutung von Koagulase-negativen Staphylokokken

Euterviertel mit KNS-Infektionen sind durch einen Zellzahlanstieg gekennzeichnet. Dieser liegt zwischen dem in der Milch von nicht infizierten und dem von *S. aureus*-infizierten Tieren vorkommenden Gehalt (COULON et al., 2002; SCHUKKEN et al., 2009; THORBERG et al., 2009). SAMPIMON et al. (2009a) untersuchten die Zellgehalte der Rohmilch zusätzlich bei den einzelnen KNS-Spezies. Dabei entsprach der geometrische Mittelwert der Zellen KNS-infizierter Kühe dem nicht infizierter Tiere und nur für *S. chromogenes*, *S. capitis* sowie *S. xylosus* konnte eine höhere Zellzahl gefunden werden. Zudem ermittelten THORBERG et al. (2009) sowohl bei transienten als auch persistenten Infektionen mit *S. chromogenes*, *S. epidermidis* und *S. simulans* einen höheren Zellgehalt als bei gesunden Kühen vor. Zwischen den

drei einzelnen KNS-Spezies stellten sie keine signifikanten Unterschiede fest. SCHUKKEN et al. (2009) untersuchten weiterführend den Einfluss der KNS auf die Tankmilchzellzahl. In Herden mit weniger als 200.000 Zellen/ml wurden 17,9 % KNS-Mastitiden gefunden, bei Zellgehalten von 200.000 - 500.000 Zellen/ml bestanden 11,9 % KNS-Infektionen und bei einem Gehalt von über 500.000 Zellen/ml sank das KNS-Vorkommen dagegen auf nur 7,9 %. Die Autoren sehen als Ursache hoher Zellzahlen vor allem das Vorkommen von anderen Infektionserregern des Euters anstelle von KNS.

Weiterhin untersuchten PARADIS et al. (2010) den Einfluss der Laktationszahl auf das KNS-Vorkommen. Dabei stellen sie bei primiparen Kühen, die mit KNS während des ersten Laktationsmonats infiziert wurden, einen höheren Zellzahlgehalt gegenüber nicht infizierten Kühen während der gesamten Laktation fest. Dies wurde von DE VliegHER et al. (2004a) sowie DE VliegHER et al. (2005) bestätigt. Diese kamen jedoch zusätzlich zu dem Ergebnis, dass ein Zellzahlanstieg während der ersten fünf Tage post partum weniger Effekt auf Zellzahlerhöhung und die Milchproduktion ausübt, als ein steigender Zellzahlgehalt, der erst 14 Tage nach der Kalbung gemessen wird. Dies kann das Resultat gesteigerter körperlicher Abwehrkräfte kurz nach der Geburt sein. Dagegen besitzen subklinische Infektionen mit KNS während der frühen Laktation keinen signifikanten Einfluss auf die durchschnittliche Zellzahl während der ersten fünf Monate nach der Kalbung (KIRK et al., 1996).

Einen Überblick verschiedener Untersuchungen über den bei KNS-Infektion vorliegenden Zellgehalt der Milch gibt Tabelle 5.

Tab. 5: Zellzahlgehalte verschiedener Untersuchungen bei KNS-Euterinfektion und deren Vergleich mit Kühen derselben Herde

Jahr	Autor	KNS-Infektion	Angaben zu Vergleichstieren in identischer Herde
		Mittlere Zellzahl pro ml Milch	
1986	DANIEL et al.	311.000	Nicht infiziert: 134.000
1990	RAINARD et al.	38% > 500.000 42% 200.000 - 500.000 20% < 200.000	
1995	NICKERSON et al.	<i>S. chromogenes</i> : 168.000 <i>S. hyicus</i> : 193.000	
2002	DJABRI et al.	138.000	<i>S. aureus</i> : 357.000
2007	TAPONEN et al.	Persistente Infektion: 657.600 Transiente Infektion: 619.000	<i>S. aureus</i> : 3.286.00 Nicht infiziert : 60.000
2010	PIEPERS et al.	84.000	Nicht infiziert: 53.000 Major pathogens: 195.000
2011	SUPRÉ et al.	137.000 <i>S. chromogenes</i> : 225.700 <i>S. simulans</i> : 130.000 <i>S. xylosus</i> : 84.600	Nicht infiziert: 26.800 <i>S. aureus</i> : 494.900

PARADIS et al. (2010) wiesen keinen Unterschied zwischen der Milchmengenleistung KNS-infizierter und nicht infizierter Tiere nach. Auch KIRK et al. (1996) konnten in ihrem Untersuchungszeitraum der ersten fünf Monate nach der Kalbung keinen negativen Effekt eines Nachweises auf die Milchmenge beobachten. In den Studien von COMPTON et al. (2007), SCHUKKEN et al. (2009) sowie PIEPERS et al. (2013) wiesen KNS-infizierte Kühe im Vergleich mit nicht infizierten Tieren sogar eine höhere Milchproduktion auf. Es besteht jedoch die Möglichkeit, dass diese vor dem Feststellen der KNS-Mastitis mehr Milch als die Kontrollkühe produziert haben (GRÖHN et al., 2004).

Weiterhin liegen von THORBERG et al. (2009) Untersuchungen auf die Infektionsdauer vor. In diesen weisen Kühe mit persistenter subklinischer Mastitis wie auch

gesunde Kühe eine höhere tägliche Milchmenge als Kühe mit transienter subklinischer KNS-Mastitis auf. Innerhalb der einzelnen KNS-Spezies wurden dabei keine Unterschiede festgestellt.

SIMOJOKI et al. (2009) beschrieben bei *S. chromogenes*-Infektion dagegen einen Rückgang der Milchproduktion um 16,3%. Sie ermittelten dabei übereinstimmend zu KIRK et al. (1996) sowie PARADIS et al. (2010) keinen Abfall in der Milchmengenleistung älterer Kühe. Das eine klinische Verlaufsform einer KNS-Mastitis Einfluss auf die Leistung zeigt, beschrieben GRÖHN et al. (2004). Bei dem Vorliegen einer akuten klinischen Euterentzündung beobachteten sie eine Reduktion der Milchmenge. Diese beträgt zu Beginn 3,2 kg pro Tier und Tag. Eine Woche später macht der Rückgang nur noch 1 - 3 kg aus (GRÖHN et al., 2004).

Weiterhin besitzen die KNS neben dem Einfluss auf die Milchmenge einen Einfluss auf die Laktosekonzentration. Diese wird leicht um 1,8 g/kg reduziert. Weitere signifikante Änderungen in der chemischen Zusammensetzung lagen nicht vor (COULON et al., 2002).

3 Material und Methoden

3.1 Literatursuche

Für die Literatursuche wurden die Suchmaschinen PubMed, Cab Abstracts sowie Google scholar verwendet. Zusätzlich wurden die Zeitschriften Kieler milchwirtschaftliche Forschungsberichte, Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift sowie Der praktische Tierarzt der Jahrgänge 1970 - 2013 durchgearbeitet. Weiterhin gingen relevante Publikationen aus dem Literaturverzeichnis der verwendeten Artikel mit in die Suche ein. In Tabelle 6 sind zitierte Textbücher aufgeführt.

Tab. 6: Zitierte Bücher mit Themenkomplex Staphylokokkenmastitis

Textbuch	Jahr	Herausgeber	Verlag
Staphylococci and staphylococcal diseases	1976	JELJASZEWICZ	Gustav Fischer, Jena
Bergey's Manual of Systematic Bacteriology	1986	SNEATH, MAIR, SHARPE, HOLT,	The Williams & Willkins Co, Baltimore
Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren, Band II, Teil I	1994	BLOBEL & SCHLIEßER	Gustav Fischer, Jena
Euter- und Gesäugekrankheiten	1994	WENDT, BOSTEDT, MIELKE, FUCHS	Gustav Fischer, Jena
Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie	1994	BRANDIS, EGGERS, KÖHLER, PULVERER	Gustav Fischer, Jena
Molecular Medical Microbiology	2002	SUSSMANN	Academic Press, San Diego
Kurzes Lehrbuch Milchkunde und Milchhygiene	2007	KRÖMKER	Parey, Stuttgart
Praktischer Leitfaden Mastitis	2009	WINTER	Parey, Stuttgart
Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre	2011	SELBITZ, TRUYEN, VALENTIN-WEIGAND	Enke, Stuttgart

3.2 Auswahl der Betriebe

Die Auswahl der 34 Milchviehherden erfolgte für ein breites Spektrum vorherrschender Herdengrößen sowie Haltungsformen im Freistaat Thüringen. In diesen Betrieben fanden zweimalig Untersuchungen der Viertelgemelksproben im Labor des Tiergesundheitsdienstes (TGD) der Thüringer Tierseuchenkasse Jena statt.

Die Herdengröße der Betriebe reichte von 21 bis 1815 Tieren. Die durchschnittliche Tierzahl betrug 399 Rinder mit einem Alter über 24 Monate.

Für die Auswertung wurde die Einteilung in Betriebe mit < 300, 300 - 600 und > 600 Kühen genutzt (Tabelle 7).

Tab. 7: Verteilung der Betriebsgröße

Größenklasse	Anzahl der Betriebe
< 300 Kühe	17
300 - 600 Kühe	11
> 600 Kühe	6

In allen Beständen ist hauptsächlich die Rasse Holstein Friesian vertreten. Laufstallhaltung ist in den Ställen vorherrschend. 20 Betriebe besitzen einen Fischgrätenmelkstand, acht Betriebe ein Karussell und sechs Betriebe ein Auto-Tandem. Die Melkfrequenz der Leistungsherde beläuft sich bei 29 Beständen auf zwei Einheiten pro Tag, drei Bestände melken dreimal täglich und zwei Bestände melken nur die Kühe in der Hochlaktation dreimalig. In Anhang 1 sind die Leistungsdaten aller 34 Bestände aufgelistet.

3.3 Befragung in den Betrieben

In jedem Betrieb beantworteten die betreuenden Tierärzte des TGD Jena mit den Anlagenverantwortlichen die Fragebögen (Anhang 2). Die Tierärzte, die die Ställe seit einigen Jahren betreuten, können die Sauberkeit der Betriebe über die Befragung hinaus am besten einschätzen. Die Erfassungsbögen beinhalteten 30 Fragen zu den Bereichen: Haltungsbedingungen, Melktechnik und Melkhygiene sowie Mastitismanagement. Die zehn Fragen zu den Haltungsbedingungen waren in die

Gruppen Abkalbbereich, Leistungsgruppe und Tiere in den letzten Trächtigtigkeitswochen untergliedert. Sie erfassten vorrangig die Art und Sauberkeit der Liege- und Laufflächen sowie das Stallklima und die Gruppeneinteilung. Die zwölf Fragen zur Melktechnik und -hygiene wurden für die Leistungsherde und den Abkalbestall differenziert. Diese befassten sich mit der Melkanlage sowie der Reinigung und Desinfektion des Melkzeugs, des Euters inklusive der Zitzen und dem Melkpersonal. Die acht Fragen zum Mastitismanagement bezogen sich auf Tiere in der Laktation sowie das Management zum Trockenstellen. Die Fragestellungen beinhalteten dabei die Kontrolle des Sekrets, der bakteriologischen Untersuchung bei klinischen Fällen sowie des Behandlungszeitpunktes von Kühen mit Euterinfektionen. Es lag weiterhin ein besonderes Augenmerk auf der Art des Trockenstellens, der Durchführung einer bakteriologischen Untersuchung vor diesem sowie der Verwendung von Zitzenverschlüssen. Die Befragung wurde im Zeitraum vom 30.10.2009 bis 18.01.2011 durchgeführt und nachfolgend ausgewertet.

In der Auswertung der Fragebögen konnten fünf Fragen nicht berücksichtigt werden, da die Verteilung der Betriebe in den Antwortmöglichkeiten uniform war und damit die Berechnung der Prävalenzen nicht erfolgen konnte.

3.4 Milchproben

3.4.1 Probenentnahme

In den Betrieben erfolgte eine zweimalige Milchprobenentnahme ausschließlich für dieses Projekt. Bei dieser wurden die Viertelanfangsgemelke als Einzelprobe zu einer Melkzeit genommen. Zu untersuchen waren alle laktierenden Kühe mit Ausnahme derjenigen, die sich innerhalb der ersten fünf Tage post partum befanden sowie der klinisch erkrankten. Die Probenentnahme erfolgte durch das Melkpersonal der Betriebe. Für diese fand im Vorfeld eine Unterweisung durch die Tierärzte des TGD Jena statt, die die Empfehlungen der DVG-Leitlinie (DVG, 2009) zum Schwerpunkt besaß. In einigen kleinen Herden übernahmen die Tierärzte die Probenentnahme selbst. Die Milch wurde nach dem Vormelken sowie der Zitzenreinigung in sterile Probenröhrchen gefüllt, die Borsäure als Konservierungsmittel beinhalten. Diese stellte der TGD Jena zur Verfügung. Nach der Öffnung der Röhrchen erfolgte unmittelbar die Probenentnahme. Die erste Untersuchung wurde vom 12.09.2009 bis 27.09.2010 in den Betrieben durchgeführt, die zweite zwischen 08.03.2010 und

13.12.2010. In Anhang 3 befindet sich eine Übersicht über die Probenanzahl der beiden Untersuchungen in den einzelnen Betrieben.

Der Probentransport erfolgte mit den Einsendelisten sowie den Untersuchungsanträgen durch einen Kurier an das Milchlabor des TGD. Innerhalb von 24 Stunden war die Probenübermittlung in das Labor abgeschlossen und die Proben wurden bis zur Untersuchung in der 4-6°C temperierte Kühlzelle gelagert.

3.4.2 Probenuntersuchung und Probenauswertung

Die Untersuchung fand anschließend in Zusammenarbeit mit der Laborleiterin nach den aktuellen Leitlinien der DVG (DVG, 2009) statt.

Zu Beginn wurden die Milchproben zur Anzüchtung der Keime auf Äskulin-Blutagar (ESC SB, OXOID, Wesel) gebracht, der als Routinenährboden diente. Der Agar, dessen Zusammensetzung in Anhang 4 beschrieben ist, besaß mittig *S. aureus* als Amme für den Nachweis von *Streptococcus agalactiae*. Dieser Erreger zeigt das CAMP-Phänomen, das sich als eine schüsselförmige Hämolyseverstärkung um die aufgetragene Amme darstellt. Des Weiteren zeigte sich der Abbau des fluoreszierenden Äskulin durch Äskulin-abbauende Streptokokken in einer Braunfärbung der Kolonien, was eine Abgrenzung zu Staphylokokken zulässt. Auf jede Platte wurden vier Proben aufgebracht, indem nach Durchmischen der Milchproben mithilfe eines sterilen Glasröhrchens 0,01-0,02 ml mäanderförmig auf dem Agar ausgestrichen wurden. Damit konnten alle Viertelgemelke einer Kuh auf einer Agarplatte angezüchtet werden. Für die Bebrütung der Platten, die im Anschluss an das Ausstreichen erfolgte, verbrachte man die Proben für 24 bis 48 Stunden in einen 37°C warmen Brutschrank.

Um Keime nachweisen zu können, die bei einem direkten Ausstrich kein Wachstum zeigten, wurde die noch an den Glasröhrchen anhaftende Milch im Anschluss des ersten Ausstrichs in ein Reagenzglas mit einer 1 ml enthaltenden Glukose-Nährlösung (Glukose-Bouillon, OXOID, Wesel) gebracht. Diese stand als Fertignährboden bereit. Die Bouillon stellt eine gute unspezifische Methode zur Anreicherung von Mastitiserregern dar. Dafür verbrachte man die Proben ebenfalls für 24 bis 48 Stunden in eine aerobe, 37°C warme Umgebung und strich sie danach auf Äskulin-Blutagar (ESC SB, OXOID, Wesel) aus. Im Anschluss an die Bebrütung wurde die Makromorphologie der Keime beurteilt. Diese bezog die Größe der Kolonien, die Farbe, ihre Form und Oberflächenbeschaffenheit ein. Es konnte somit zwischen bak-

teriologisch positiven und negativen Proben unterschieden werden. Des Weiteren fand eine Differenzierung zwischen den unterschiedlichen Hämolyseformen statt. Zur sicheren Einordnung der Keime erfolgten weitere Schnelltests. Dabei wurden grampositive von gramnegativen Kokken mittels Gramfärbung oder KOH-Test voneinander differenziert. Die Durchführung der Gramfärbung erfolgte mit dem Gram-Color-Färbeset der Firma Merck. Dafür wurde die fixierte Probe eine Minute mittels Kristallviolett angefärbt, nachfolgend mit Leitungswasser abgespült und drei Minuten mit Lugolscher Lösung stabilisiert, bevor sie mit Entfärbelösung behandelt wurde. Anschließend erfolgte eine einminütige Behandlung der Probe mit Safraninlösung, die als Gegenfärbung für die gramnegativen Bakterien diente. Zwischen den einzelnen Arbeitsschritten wurde das Präparat jeweils mit Leitungswasser gespült und am Ende der Anfärbung getrocknet. Bei nachfolgendem Mikroskopieren zeigten sich grampositive Bakterien blauviolett und gramnegative rosa bis rot.

Der KOH-Test stellte einen weiteren Test zur Unterscheidung zwischen grampositiven und -negativen Keimen dar. Hierbei wurde ein Tropfen Kalilauge mit der Kolonie, die man mittels Öse in die Kalilauge gibt, verrieben. Nach etwa 20 Sekunden entstand eine Schleimbildung bei grampositiven Organismen. Diese erkannte man daran, dass beim Abheben der Öse aus dem verriebenen Gemisch schleimige Fäden sichtbar wurden. Bei gramnegativen Proben blieb der Zustand wasserähnlich und es entstanden keine Schleimfäden beim Abheben der Öse. In der weiteren diagnostischen Untersuchung schloss sich der Katalasetest an. Dabei wurde mittels Öse ein Teil der zu untersuchenden Kolonie entnommen und mit einem Tropfen Wasserstoffperoxid versetzt. Es kam durch die vorhandene Katalase der Staphylokokken zu einer Freisetzung von Sauerstoff, welches sich in einem Aufschäumen zeigte.

Bei der Phasenkontrastmikroskopie wurden die Kolonien mit einem Tropfen Natriumchlorid verrieben und anschließend unter dem Mikroskop hinsichtlich ihrer Morphologie untersucht.

Der Staphaurex Plus Latexagglutinationsschnelltest (Remel, Lenexa) wies das Vorhandensein von gebundener Koagulase bei KPS nach und stellte ein wesentliches Kriterium zur Abgrenzung von den KNS dar. Am Ende dieses Tests wurden die Befunde *S. aureus*-positiv und KNS-positiv erteilt. Es wurde mit einer Öse ein Teil einer Kultur von der Agarplatte genommen und mit Staphaurex-Lösung vermischt. Handelte es sich um einen Vertreter der KPS, entstand innerhalb von 30 Sekunden eine

Verklumpung. Um eine Eigenverklumpung der Bakterien auszuschließen, fand eine Negativkontrolle mit einer Kontrolllösung, die nicht mit *S. aureus* reagiert, statt.

3.5 Erhebung der Leistungsdaten

Die Ergebnisse der Milchleistungsprüfung (MLP) stellen die Grundlage für den Vergleich der auf Staphylokokken positiv getesteten mit negativen Tieren dar. Diese MLP-Daten werden in Thüringen vom Thüringer Verband für Leistungs- und Qualitätsprüfung in der Landwirtschaft e. V. (TVL e. V.) monatlich erhoben und dem Vereinigten Informationssystem w. V. (VIT w. V.) gemeldet. Über eine Freigabe können Dritte die Daten beziehen. Solch eine Freigabe besitzt der TGD Jena für die Betriebe, die in die Untersuchung einbezogen sind. Die MLP-Daten bilden eine Grundlage für die Beurteilung der Milchqualität und Tiergesundheit.

Ihre Managementdaten pflegten 22 Betriebe in das System Herde-W (DSP-Agrosoft, Ketzin) ein. Alle weiteren Betriebe arbeiteten mit kleineren Programmen wie beispielsweise Superkuh (Agrocom, Gütersloh). Bei diesen zwölf weiteren Betrieben wurden die Daten über das VIT w. V. bezogen und in die Herdedatenbank eingefügt.

3.6 Grundsätzliches Vorgehen

Die Milchleistungsdaten von *S. aureus*- bzw. KNS-infizierten Tieren wurden denen negativ getesteter Tiere gegenübergestellt. Diese Daten beinhalten die Milchmenge, den Fett-, Eiweiß- und Laktosegehalt (in %) sowie die Zellzahl.

3.7 Definitionen

Prävalenz:

Die Prävalenz gibt den prozentualen Anteil positiver Nachweise an.

Positiver Nachweis:

Als positiv gelten Tiere, bei denen auf einem oder mehreren Vierteln ein Keimnachweis von *S. aureus* oder KNS gelang.

Laktationsklassen:

Für die Einteilung in Laktationsklassen wurden die Kühe der ersten Laktation in die erste Klasse, die der zweiten Laktation in die zweite und die der dritten Laktation in

die dritte Klasse eingeordnet. Für alle Tiere mit mehr als drei Laktationen existiert eine vierte Klasse.

Melktagesklassen:

Es wurden sieben Melktagesklassen eingeführt, um das Vorkommen der Staphylokokken im Eutersekret innerhalb einer Laktation korrekt bewerten zu können. Diese beginnen ab dem fünften Melktag. In die erste Klasse zählen Kühe bis zum 50. Tag des Melkens. Die weiteren Klassen werden in 50er Schritten bis zum 300. Melktag aufgeführt um möglichst genaue Ergebnisse zu erzielen. Die letzte Klasse ab dem 301. Melktag wird jedoch auf nahezu 100 Tage Dauer bis zum 400. Tag erweitert, damit die Gruppengröße in allen Klassen nahezu äquivalent ist.

Leistungsdaten der Betriebe (Anhang 1):

Lebensjahre: Sie sind der Zeitraum von der Geburt bis zum Abgang.

Lebensleistung: Diese setzt sich aus den kumulativen Milch-, Fett- und Eiweißkilogramm bis zum Abgang zusammen.

Lebenseffektivität: Sie stellt den Wert des Quotienten aus Lebensleistung und Lebenstagen dar.

Nutzungsdauer: Sie definiert den Zeitraum von der ersten Kalbung bis zum Abgang. Die Trockenstehzeit wird in die Nutzungsdauer eingerechnet. Sie ergibt sich aus den Nutzungstagen.

Nutzungseffektivität: Diese stellt den Wert des Quotienten aus der Lebensleistung und der Nutzungsdauer dar.

Melktage: Melktage sind die Tage, die eine Kuh pro Laktation gemolken wird. Die Trockenstehzeit fließt nicht mit ein.

Milchmenge: Die Ergebnisse aus der MLP liefern die Tagesmilchmenge mit den Milch-inhaltsstoffen. Es wurde die mittlere Tagesmilchmenge zwischen dem Testtag vor und dem Testtag nach der Probennahme ausgewertet. Die Milchmenge wird in Kilogramm pro Tag angegeben, die Inhaltsstoffe Laktose, Fett und Eiweiß in Prozent.

Merkmale zur Klassifizierung innerhalb der Faktorenanalyse:

Sauberkeit der Laufflächen:

- vorwiegend trocken: keine bis geringfügige Ansammlungen von Kot und Urin
- mäßig: geringfügige Ansammlungen von Kot, Urin und/oder nasser Einstreu
- schlecht: deutliche Ansammlungen von Kot, Urin und/oder nasser Einstreu

Rutschfestigkeit der Laufflächen:

- gut: Spaltenböden mit genügend Profil, vereinzelte rutschige Ansammlungen
- mittel: Profil teilweise flach und abgelaufen mit einigen rutschigen Ansammlungen
- schlecht: Profil sehr flach, verbreitete rutschige Ansammlungen

Sauberkeit der Liegeflächen:

- sehr sauber: nahezu kein Kot im Liegebereich, Einstreu bzw. Matten sauber und gut gereinigt
- normal: geringfügige Verunreinigungen mit Kot und/oder Urin
- dreckig: deutliche Verunreinigungen mit Kot und/oder Urin

Sauberkeit der Euter vor der Reinigung:

- kaum verschmutzt: geringfügige Kotverschmutzung, wenig Einstreumaterial am Euter
- mäßig: mäßige Verschmutzungen mit Kot und/oder Einstreu
- stark verschmutzt: deutliche Verschmutzungen mit Kot und/oder Einstreu

Nutzung der Euterdusche bei Verschmutzung der Euter:

- regelmäßig: alle verschmutzten Euter werden mit der Euterdusche gesäubert
- gelegentlich: inkonsequente Reinigung der verschmutzten Euter
- nie: keine Nassreinigung

Bewertung der Durchführung der Euterreinigung:

- gut: alle sichtbaren Verschmutzungen wurden entfernt und die Euter wurden nach der Naßreinigung gut getrocknet

- befriedigend: nach der Reinigung sind noch leichte Verschmutzungen oder geringfügige Schmutzwasserreste am Euter verblieben
- schlecht: nach der Reinigung sind Verschmutzungen oder deutliche Schmutzwasserreste am Euter verblieben

3.8 Datenanalyse

Die zugrundeliegenden Daten wurden mithilfe einer Datenabfrage aus dem Dokumentationsprogramm Herde-W (DSP-Agrosoft, Ketzin) ausgelesen. Die statistische Auswertung erfolgte mit dem SAS Programmpaket (Statistical Analysis System, Version 9.2). Auf der Basis einer Binominalverteilung der Infektionsmerkmale (0 = nicht infiziert und 1 = infiziert) wurde mittels der Prozedur Glimmix eine Varianzanalyse durchgeführt. In diesem Modell wurden der Betrieb, die Laktationsklasse sowie die Melktagesklasse zum Zeitpunkt der Probennahme als fixe Einflussfaktoren berücksichtigt. Weiterhin fand bei der Auswertung der einzelnen Euterviertel dieser Effekt ebenfalls seine Beachtung im Modell. Um bei der Auswertung der Hygienebefragung die mittleren Prävalenzen zu ermitteln, wurden die erhobenen Daten in sinnvolle Klassen zusammengefasst und darauffolgend als fixer Effekt gelistet. Weiterhin erfolgte eine Einordnung des Betriebs als ein solcher innerhalb der Klassen. Die mehrfaktorielle Varianzanalyse bezüglich der Milchleistungen positiver und negativer Kühe wurde mittels der GLM-Prozedur durchgeführt. Eine Erzeugung der Normalverteilung erfolgte bei der Zellzahl durch logarithmieren. Als fixe Einflussfaktoren im Modell wurde der Betrieb, die Melktagesklasse, die Laktationsklasse sowie die Einteilung in bakteriologisch negative und positiv auf *S. aureus* beziehungsweise KNS getestete Tiere einbezogen. Zusätzlich wurde die Interaktion zwischen Betrieb und Testergebnis in die Auswertung aufgenommen. Die abhängigen Variablen waren die Milchmenge, der Fett-, Eiweiß- und Laktosegehalt in der Milch sowie die Zellzahl, die in der Auswertung als logarithmierter Parameter vorlag. Diese metrischen Variablen der Milchleistungsdaten standen vor und nach dem Probennahmetermin für die Auswertung zur Verfügung. Es wurde aus ihnen der Durchschnitt gebildet und dieser analysiert. Der Einfluss der fixen Einflussfaktoren wurde mittels F-Test geprüft. Die entsprechenden F-Werte und die dazugehörigen Signifikanzen sind in den Ergebnistabellen aufgeführt.

Ein Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ lag der Auswertung zugrunde. Ab einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurde ein Unterschied als schwach signifikant

bezeichnet, $p < 0,01$ wurde als signifikant und $p < 0,001$ als hoch signifikant bezeichnet.

Die Darstellung der Fehlerbalkendiagramme erfolgte mittels des Computerprogramms Sigma Plot (Systat Software GmbH, Version 8.0).

4 Ergebnisse

4.1 Prävalenzen von *Staphylococcus aureus* in Viertelgemelksproben

4.1.1 Prävalenzen in den untersuchten Milchproben

In der ersten Untersuchung wurden 40.773 Milchproben entnommen. In der zweiten Untersuchung waren es 40.794. Ein Nachweis von *S. aureus* lag bei 1923 Proben vor, was eine Prävalenz von 2,36 % aller Proben darstellt. Bei Berücksichtigung der bakteriologisch positiven Proben existierte ein Vorkommen von *S. aureus* mit 15,91 % (Abbildung 1).

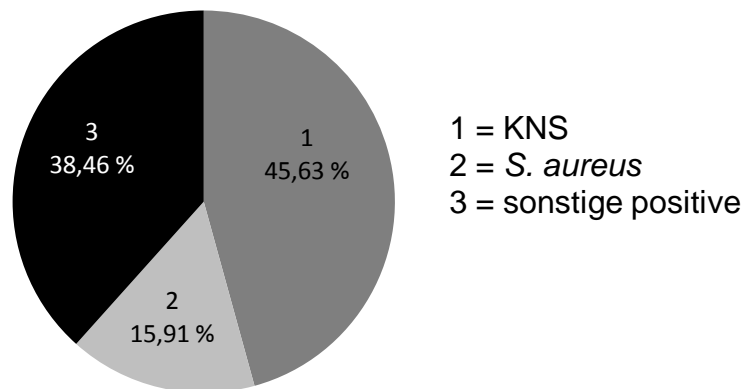


Abb. 1: Verteilung des Keimnachweises aller positiv auf Mastitiserreger untersuchten Milchproben

4.1.2 Prävalenzen in den einzelnen Betrieben

In allen 34 Beständen wurden *S. aureus*-infizierte Euter gefunden. Die Einzeltierprävalenzen lagen während der einzelnen Untersuchungszeiträume zwischen 0,21 und 20,11 %, der Mittelwert bei 3,14 %. Zwischen den Prävalenzen aller Bestände herrschte ein hoch signifikanter Unterschied mit $p < 0,001$ (Abbildung 2).

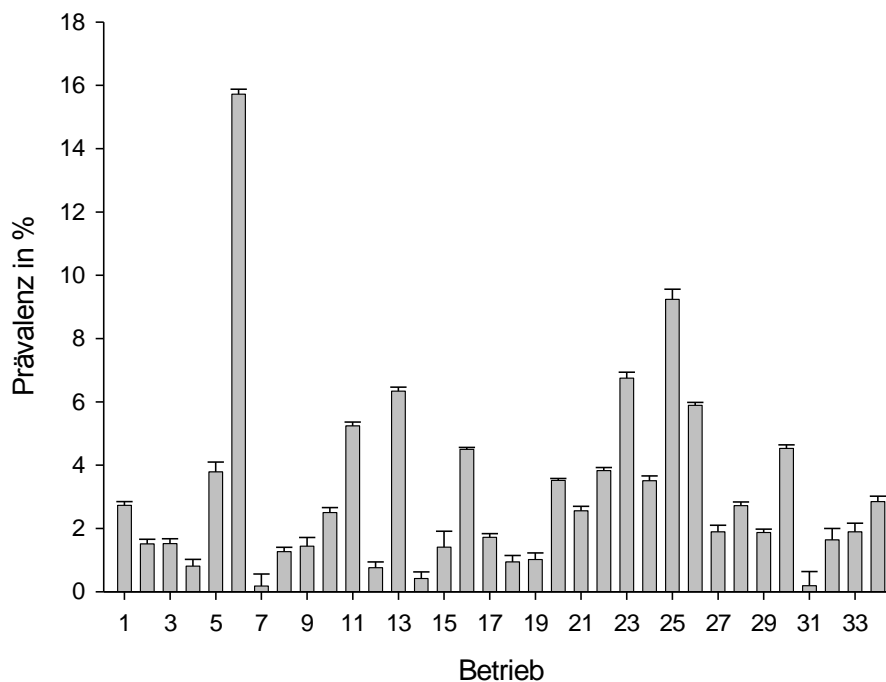


Abb. 2: Prävalenzen und Standardfehler von *S. aureus*-positiven Tieren der beiden Untersuchungsreihen aller Betriebe

4.1.3 Beziehung der Untersuchungstermine

Zwischen den beiden Untersuchungsterminen ergaben sich hoch signifikante Unterschiede ($p < 0,001$). Die Prävalenz von *S. aureus*-infizierten Kühen in der Milch betrug in der ersten Untersuchung 2,32 %. In der zweiten Untersuchung lag sie bei 1,93 %. Auch innerhalb eines Betriebes waren zwischen den beiden Untersuchungszeitpunkten hoch signifikante Unterschiede ermittelbar ($p < 0,001$). Eine Darstellung der *S. aureus*-Prävalenzen in erster und zweiter Untersuchung der einzelnen Betriebe ist in Anhang 5 dargestellt.

4.1.4 Jahreszeitliche Einteilung der Untersuchungstermine

Alle Untersuchungstermine wurden in die Kategorien Sommer und Winter eingeteilt. Der Zeitraum Sommer, als Spanne zwischen dem 01.04. und 30.09. festgelegt, beinhaltet 30 Untersuchungstermine. Dem Zeitraum Winter, der folglich zwischen dem 01.10. und 31.03. liegt, konnten 38 Untersuchungstermine zugeordnet werden. In Tabelle 8 sind die Prävalenzen von *S. aureus*-Nachweisen in Abhängigkeit von der

Jahreszeit dargestellt. Mit hoch signifikantem Unterschied wurde im Sommer eine größere Nachweishäufigkeit von *S. aureus* als im Winter ermittelt ($p < 0,001$).

Tab. 8: Prävalenzen von *S. aureus*-infizierten Kühen in Abhängigkeit von der Jahreszeit der Probennahme

	Prävalenz in %	Anzahl untersuchte Kühe	Signifikanz
Sommer	2,97	12527	< 0,001
Winter	2,09		

4.1.5 Prävalenzen auf Viertelebene

Zwischen den infizierten Vierteln gab es bei *S. aureus*-Euterinfektionen keine signifikanten Unterschiede in der Häufigkeit des Vorkommens ($p > 0,05$). Das Viertel hinten rechts war am häufigsten befallen. Vorne links existierte die geringste Befallsrate (Tabelle 9). Beim Vergleich zwischen rechter und linker Euterhälfte wurden in einigen Herden Prädispositionen für eine Seite gefunden (Anhang 6).

Tab. 9: Nachweishäufigkeit von *S. aureus* in Milchproben in Abhängigkeit von der Lokalisation des Euterviertels

Euterviertel	Nachweishäufigkeit in %	Anzahl untersuchte Kühe
Hinten links	2,16	13690
Hinten rechts	2,22	
Vorne links	1,98	
Vorne rechts	2,10	

4.1.6 Melktagesklassen und Laktationsverlauf

Zum Vergleich des Vorkommens innerhalb der Laktation, wurden *S. aureus*-infizierte Kühe in sieben Melktagesklassen eingeteilt. Insgesamt konnten 12597 Tiere berücksichtigt werden. Die Präsenz bewegte sich in diesen Klassen zwischen 173 und 259 Viertelnachweisen (Tabelle 10).

Tab. 10: Verteilung und Prävalenzen *S. aureus*-infizierter Kühe in den Melktagesklassen

Melktagesklasse	Anzahl infizierte Kühe	Prävalenz in %
1 (5. - 50. Tag)	179	2,29
2 (51. - 100. Tag)	217	2,32
3 (101. - 150. Tag)	240	2,70
4 (151. - 200. Tag)	259	3,24
5 (201. - 250. Tag)	256	3,42
6 (251. - 300. Tag)	168	2,59
7 (301. - 400. Tag)	173	3,08

Die Prävalenz von *S. aureus*-infizierten Kühen in den ersten beiden Melktagesklassen lag bei 2,29 % - 2,32 % und war damit in Bezug auf den weiteren Laktationsverlauf am geringsten. Sie stieg ab der dritten Klasse und erreichte ihren Spitzenwert bei Kühen der fünften Klasse. Daraus resultierte ein Anstieg um 26,67 % von der ersten zur fünften Klasse. Im darauffolgenden Zeitraum sank die Befallsrate wieder auf 2,59 %, um während der letzten Tage der Laktation noch einmal leicht anzusteigen. Ein erhöhter *S. aureus*-Nachweis in der Mitte sowie gegen Ende der Laktation wurde damit ermittelt. Die Unterschiede zwischen dem Vorkommen in den einzelnen Klassen, dargestellt in Abbildung 3, erwiesen sich hoch signifikant ($p < 0,001$).

Um diese signifikanten Unterschiede genauer darzustellen, wurde eine Analyse der *S. aureus*-Nachweise auf Wochenebene durchgeführt. Dabei zeigte sich ein Anstieg der Infektionsrate bis in die achte Woche der Laktation. Der Keimnachweis erhöhte sich ab der dritten Laktationswoche, die zugleich den Beginn der Hochlaktationsperiode darstellt. Zum Ende der Hochlaktation, im Zeitraum der zwölften bis 14. Woche, sanken die Nachweise kurzzeitig, um danach wieder auf ein höheres Niveau anzusteigen. Die meisten Nachweise traten im Zeitraum der 25. bis 29. Woche auf. In der 29. Woche wurde weiterhin eine Infektionsspitze sichtbar (Abbildung 4).

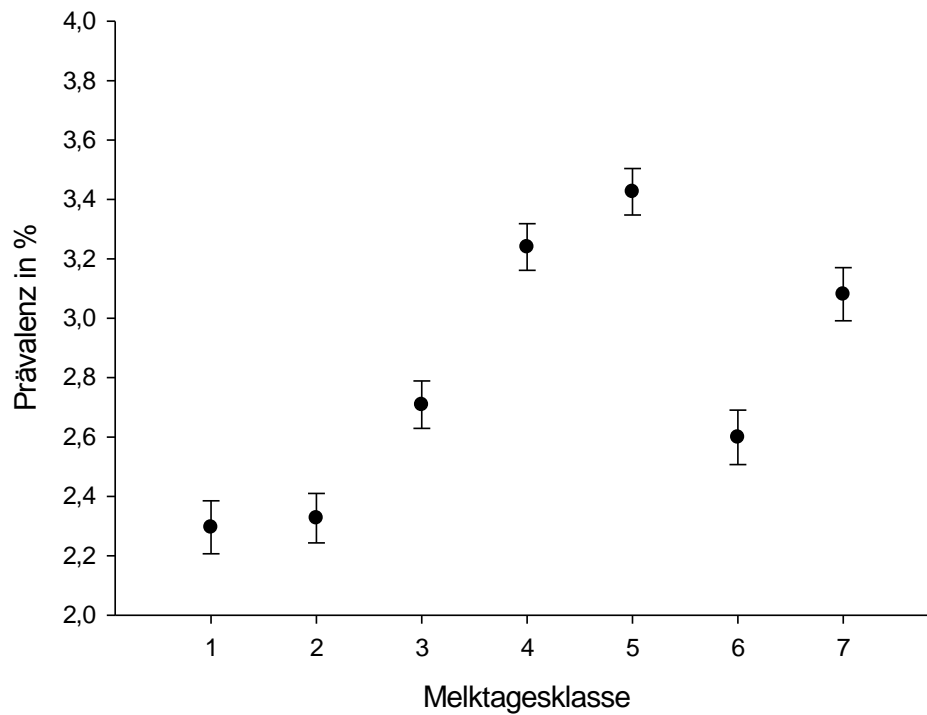


Abb. 3: Prävalenzen und deren Standardfehler von Kühen mit *S. aureus*-Nachweisen für die gebildeten Melktagesklassen

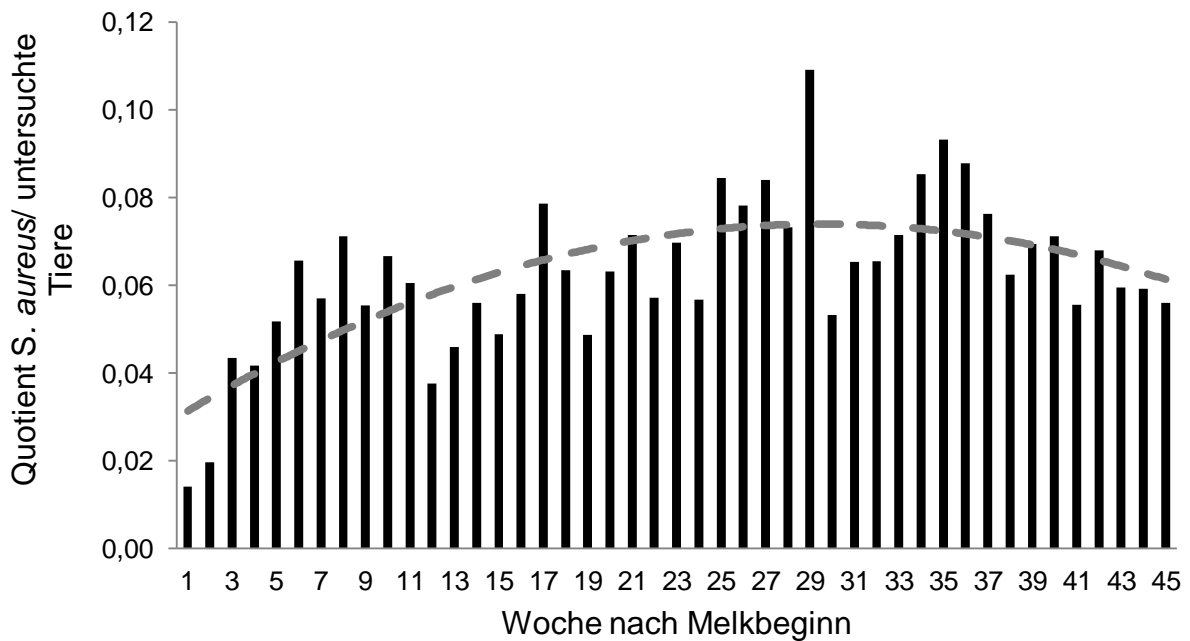


Abb. 4: Darstellung des Quotienten der Anzahl *S. aureus*-infizierter Tiere zur Anzahl untersuchter Tiere in Abhängigkeit des Laktationsverlaufes sowie deren Trendlinie

4.1.7 Laktationsklassen

Es wurden vier Laktationsklassen gebildet, in die die Ergebnisse von 12597 Tieren der Milchprobenuntersuchung einfließen. Die Euterviertel der Kühe, für die in den Datensystemen keine Laktationsnummern verfügbar waren, sowie jener Tiere aus Beständen mit höchstens einem positiven Nachweis von *S. aureus* pro Untersuchung, wurden in der Auswertung der Laktationsklassen nicht berücksichtigt. Die Verteilung in den einzelnen Laktationsklassen ist in Tabelle 11 dargestellt.

Tab. 11: Verteilung und Prävalenzen *S. aureus*-infizierter Kühe in den vier Laktationsklassen

Laktationsklasse	Anzahl infizierter Kühe	Prävalenz in %
1 (1. Laktation)	491	2,21
2 (2. Laktation)	448	2,67
3 (3. Laktation)	283	2,78
4 (> 3 Laktationen)	280	3,61

Bei der Berechnung wurden unter Berücksichtigung der Einflussfaktoren Betrieb, Termin und Euterviertel die Prävalenzen von *S. aureus* in den einzelnen Klassen ermittelt. Dabei waren die wenigsten *S. aureus*-Nachweise mit 2,21 % in Klasse eins. Zwischen den Tieren der zweiten und dritten Laktation erhöhte sich die Prävalenz von *S. aureus* nur geringfügig. Das Maximum stellte sich bei Tieren mit mehr als drei Laktationen ein. Damit ist das Vorkommen der *S. aureus*-Infektionen bei Tieren der vierten Klasse um 63,35 % höher als bei Kühen mit mehr als drei Laktationen. Der Unterschied im Vorkommen von *S. aureus* in den einzelnen Laktationsklassen war mit $p < 0,001$ hoch signifikant (Abbildung 5).

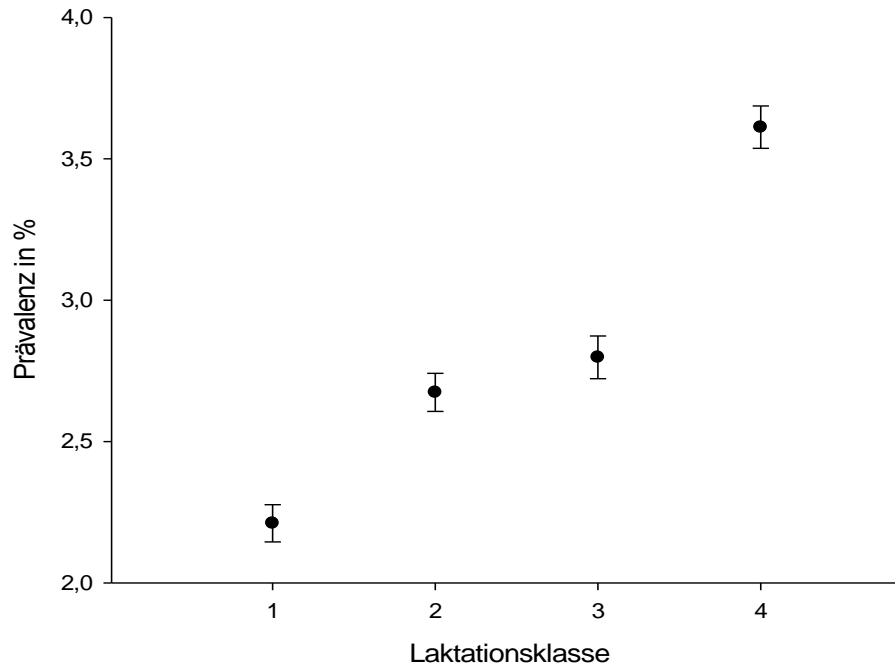


Abb. 5: Prävalenzen und deren Standardfehler von Kühen mit *S. aureus*-Infektion für die gebildeten Laktationsklassen eins bis vier

4.2 Prävalenzen von Koagulase-negativen Staphylokokken in Viertelgemelksproben

4.2.1 Prävalenzen in den untersuchten Milchproben

In 5542 Proben wurden KNS nachgewiesen, was einen Anteil von 6,70 % unter allen untersuchten Proben ausmachte. Bei alleiniger Betrachtung der bakteriologisch positiven Proben machten die KNS-positiven Proben mit 45,63 % nahezu die Hälfte aller bakteriellen Nachweise aus.

4.2.2 Prävalenzen in den einzelnen Betrieben

In einem Bestand wurden keine KNS in der Milch nachgewiesen. In den anderen Herden lag eine Einzeltierprävalenz bis 18,26 % vor. Der Mittelwert betrug 6,64 %. Die betrieblichen Unterschiede sind in Abbildung 6 dargestellt. Es bestand ein hoch signifikanter Unterschied zwischen den Prävalenzen der Bestände ($p < 0,001$).

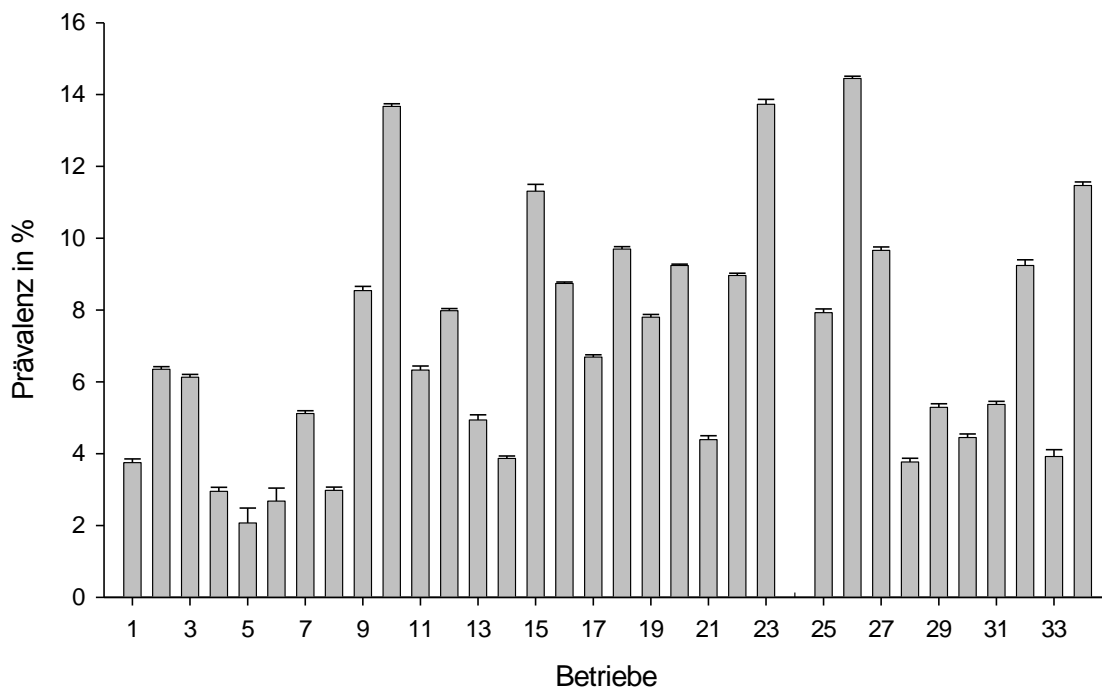


Abb. 6: Prävalenzen und Standardfehler von KNS-positiven Tieren der beiden Untersuchungsreihen aller Betriebe

4.2.3 Beziehung der Untersuchungstermine

Zwischen den beiden Untersuchungsterminen lagen mit $p < 0,001$ hoch signifikante Unterschiede vor. Weiterhin ergab sich ein Rückgang der Prävalenz von 8,24 % in der ersten Untersuchung auf 4,61 % in der zweiten Untersuchung.

Desweiteren existierten innerhalb eines Betriebes zwischen den beiden Untersuchungen hoch signifikante Unterschiede ($p < 0,001$). Diese Unterschiede in der Prävalenz sind in Anhang 7 aufgelistet.

4.2.4 Jahreszeitliche Einteilung der Untersuchungstermine

Die Nachweishäufigkeit von KNS aus dem Milchsekret zeigte einen hoch signifikanten Unterschied zwischen den Jahreszeiten auf ($p < 0,001$). Die Prävalenz der infizierten Kühe war im Winter auf einem höheren Niveau als in den Sommermonaten (Tabelle 12).

Tab. 12: Prävalenzen von KNS-infizierten Kühen in Abhängigkeit von der Jahreszeit der Probennahme

	Prävalenz in %	Anzahl untersuchte Kühe	Signifikanz
Sommer	5,16	12599	< 0,001
Winter	7,40		

4.2.5 Nachweishäufigkeit auf Viertelebene

Es lagen zwischen den infizierten Vierteln schwach signifikante Unterschiede in der Häufigkeit des Vorkommens vor ($p = 0,031$). Dabei besaß das Viertel vorne rechts mit 5,85 % die niedrigste Befallshäufigkeit. Hinten rechts ergab sich mit 6,46 % der häufigste Keimnachweis von KNS (Abbildung 7).

Es wurde eine gleiche prozentuale Verteilung der Infektionen der rechten und linken Euterhälften festgestellt. Jedoch gab es in einigen Betrieben Prädispositionen für eine Körperseite (Anhang 8).

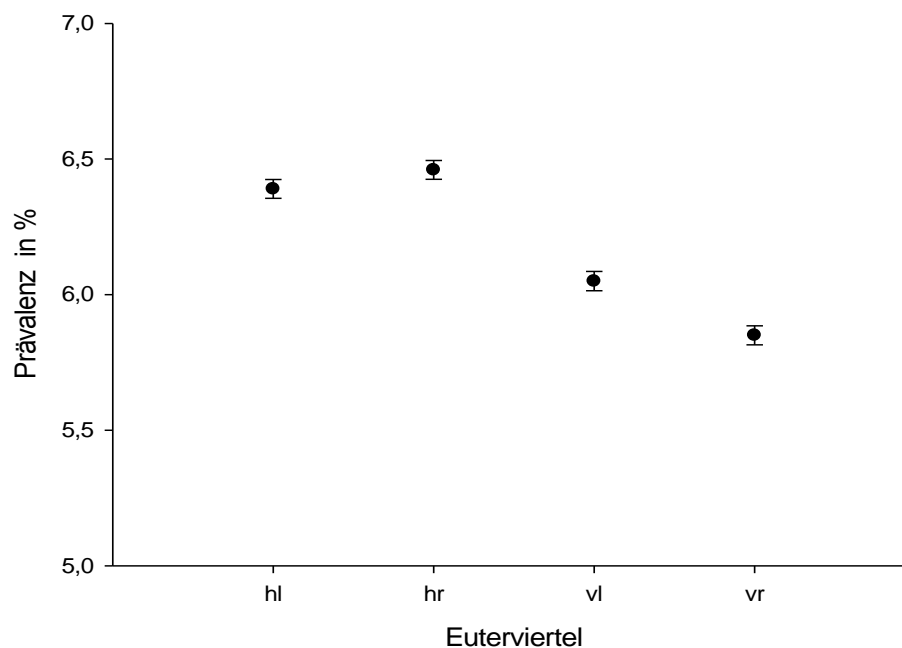


Abb. 7: Nachweishäufigkeiten und deren Standardfehler von KNS-Euterinfektionen in den einzelnen Eutervierteln

(hl: hinten links, hr: hinten rechts, vl: vorne links, vr: vorne rechts)

4.2.6 Melktagesklassen

Die Prävalenzen von KNS-infizierten Tieren im Laktationsverlauf schwankten bei den in die Untersuchung eingegangenen 12330 Kühen zwischen 4,92 % und 5,80 %. Weiterhin existierte der Trend, dass es vom 251. Tag bis zum Ende der Laktation zu einem Absinken der Nachweisrate kommt. Diese Unterschiede stellten sich jedoch nicht signifikant dar ($p > 0,05$). Tabelle 13 listet die einzelnen Prävalenzen in den Melktagesklassen auf.

Tab. 13: Verteilung und Prävalenzen KNS-infizierter Kühe in den Melktagesklassen

Melktagesklasse	Anzahl infizierte Kühe	Prävalenz in %
1 (5. - 50. Tag)	612	5,73
2 (51. - 100. Tag)	696	5,16
3 (101. - 150. Tag)	699	5,64
4 (151. - 200. Tag)	623	5,34
5 (201. - 250. Tag)	636	5,80
6 (251. - 300. Tag)	471	4,92
7 (301. - 400. Tag)	452	4,94

4.2.7 Laktationsklassen

Es gingen in die Berechnung der einzelnen Laktationsklassen die Befunde von 12330 Tieren ein. Die Verteilung der KNS-positiven Tiere in den vier Laktationsklassen zeigt Tabelle 14.

Tab. 14: Verteilung und Prävalenzen KNS-infizierter Kühe in den vier Laktationsklassen

Laktationsklasse	Anzahl infizierte Kühe	Prävalenz in %
1 (1. Laktation)	1894	7,96
2 (2. Laktation)	905	4,77
3 (3. Laktation)	599	4,91
4 (> 3 Laktationen)	427	4,35

Die Prävalenzen von KNS wurden so berechnet, dass die Variablen Betrieb, Termin und Euterviertel, die einen signifikanten Einfluss auf das Vorkommen dieser Staphylokokken aufwiesen, Beachtung fanden. Bei Kühen der ersten Laktation lag eine Prävalenz von 7,96 % vor, die um mehr als 62,12 % die Werte der anderen Laktationen übertraf. In der zweiten und dritten Laktation blieb die Häufigkeit des Nachweises auf einem 5 %-Niveau, wonach ab der dritten Laktation noch ein weiterer Rückgang zu verzeichnen war. Diese Prävalenzunterschiede erweisen sich mit $p < 0,001$ als hoch signifikant (Abbildung 8).

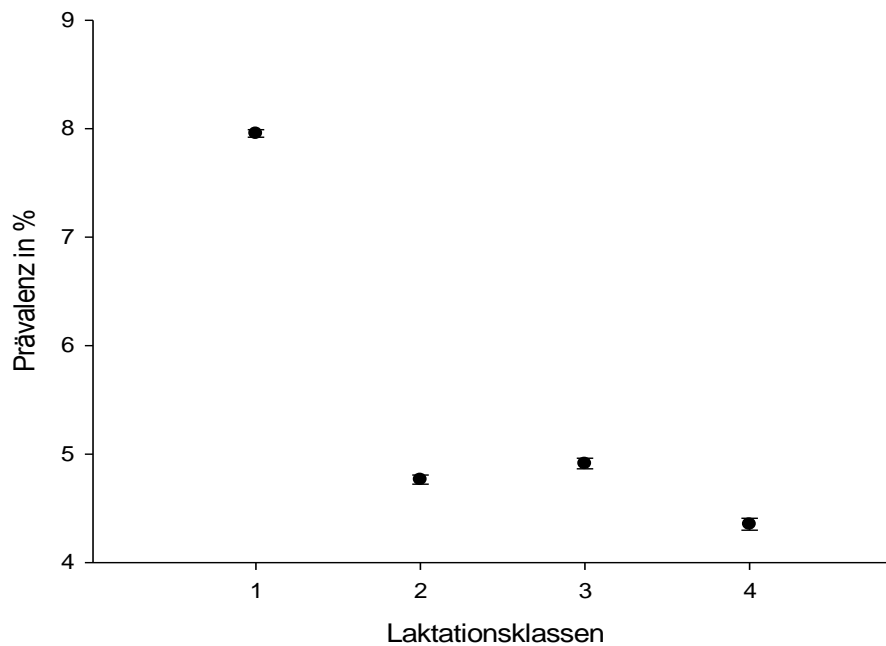


Abb. 8: Prävalenzen und deren Standardfehler von Kühen mit KNS-Infektion in den gebildeten vier Laktationsklassen

4.3 Milchleistungsergebnisse von Kühen mit Nachweis von *Staphylococcus aureus*

4.3.1 Milchmenge

Die Analyse der Milchmenge lieferte in den in die Untersuchung eingegangenen 23 Betrieben einen Mittelwert von 28,48 kg mit einem Standardfehler von 0,267. Die durchschnittliche Milchmenge der negativen Tiere betrug 28,64 kg mit einem Standardfehler von 0,083. Somit wiesen die positiven Kühe lediglich 0,16 kg weniger Milch auf.

Der Milchmengenunterschied war sowohl im Vergleich von negativen mit positiven Kühen als auch auf Betriebsebene nicht signifikant ($p > 0,05$).

Die Milchmengen der einzelnen Bestände bewegten sich bei gesunden Tieren zwischen 23,72 kg und 32,33 kg, bei Tieren mit *S. aureus*-Nachweis zwischen 20,98 kg und 33,81 kg. Die Maximalwerte traten bei den negativen und positiven Kühen in demselben Bestand auf. Auf Betriebsebene wurde deutlich, dass die durchschnittliche Milchmenge bei *S. aureus*-positiven Kühen in 13 der 23 ausgewerteten Bestände niedriger und in zehn höher lagen als bei negativ getesteten Herdenmitgliedern.

Die Abbildung 9 stellt dar, dass die Milchmengen beider Untersuchungsgruppen in dem Großteil der Bestände nur geringgradigen Schwankungen unterliegen.

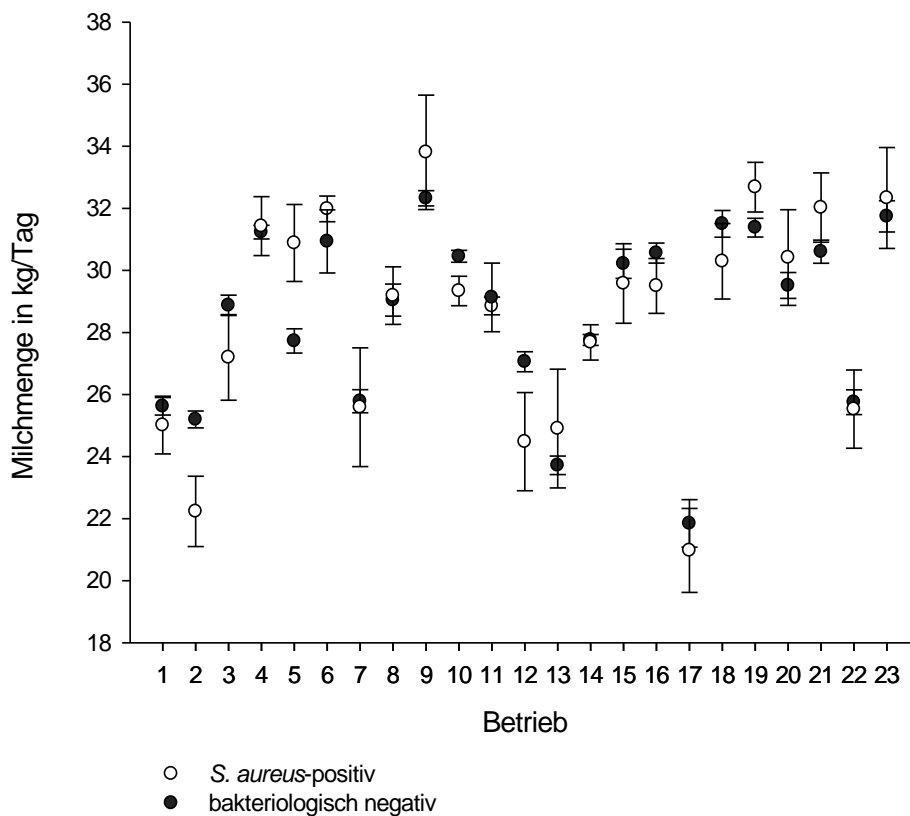


Abb. 9: Darstellung des Mittelwertes und Standardfehlers der Milchmenge von Kühen mit *S. aureus*-Nachweis und bakteriologisch negativen Kühen in den einzelnen Betrieben

4.3.2 Fettgehalt

Die Untersuchung auf den Fettgehalt der Milch lieferte bei positiven Tieren einen Mittelwert von 4,05 % mit einem Standardfehler von 0,029. Bei negativen Tieren lag dieser bei 4,09 % mit einem Standardfehler von 0,089. Bakteriologisch negative Milchkühe besaßen einen geringgradig höheren Fettgehalt in der Milch als die infizierten Kühe. Der Unterschied im Fettgehalt der Milch zwischen negativen und positiven Tieren war zufallsbedingt ($p > 0,05$). Auch auf Betriebsebene stellte sich dieser Unterschied als nicht signifikant dar ($p > 0,05$) (Abbildung 10).

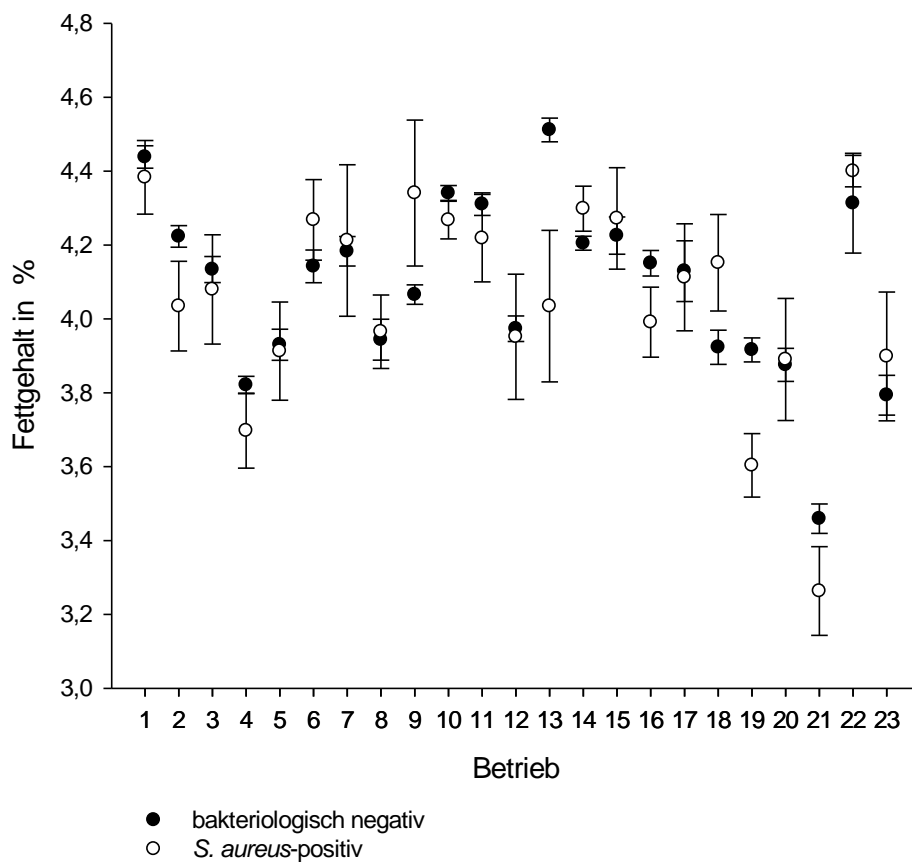


Abb. 10: Darstellung des Mittelwertes und Standardfehlers des Fettgehaltes in der Milch von Kühen mit *S. aureus*-Nachweis und bakteriologisch negativen Kühen in den einzelnen Betrieben

4.3.3 Eiweißgehalt

Die Untersuchung auf den Eiweißgehalt lieferte bei infizierten Tieren einen Mittelwert von 3,49 % mit einem Standardfehler von 0,010. Der Gehalt in der Milch bei Kühen ohne Keimnachweis betrug 3,48 % mit einem Standardfehler von 0,003.

Es ergab sich zwischen beiden Tierklassen kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$). Auch innerhalb der Bestände waren die Abweichungen mit $p > 0,05$ nicht signifikant. Der Eiweißgehalt schwankte bei negativen Tieren zwischen 3,32 % und 3,66 %, bei positiven zwischen 3,26 % und 3,77 % (Abbildung 11).

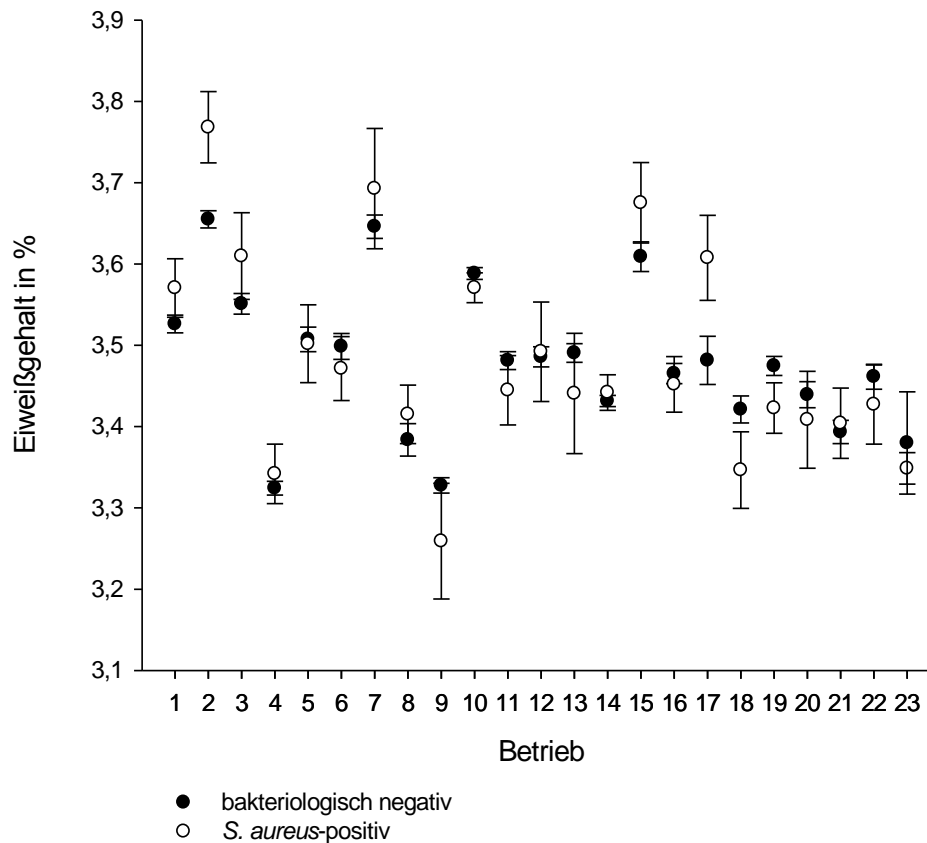


Abb. 11: Darstellung des Mittelwertes und Standardfehlers des Eiweißgehaltes in der Milch von Kühen mit *S. aureus*-Nachweis und bakteriologisch negativen Kühen in den einzelnen Betrieben

4.3.4 Laktosegehalt

Bei positiven Tieren betrug der Mittelwert der Laktosegehalt in der Milch 4,70 % mit einem Standardfehler von 0,007, bei bakteriologisch negativen Kühen lag dieser Gehalt bei 4,72 %. Der Standardfehler ist 0,002. Bakteriologisch negative Milchkühe besitzen somit einen höheren Laktosegehalt. Es bestand ein signifikanter Unterschied zwischen der Höhe des Laktosegehaltes in der Milch positiver und negativer Tiere ($p = 0,021$). Bei der Betrachtung auf Betriebsebene konnte dieser Unterschied nicht beobachtet werden ($p = 0,202$) (Tabelle 15).

Tab. 15: Ergebnisse der Varianzanalyse zu Einflussfaktoren auf den Laktosegehalt in der Milch von *S. aureus*-infizierten Kühen

Einflussfaktor	F-Wert	p
<i>S.aureus</i> -Infektion	5,29	0,021
<i>S.aureus</i> -Infektion auf Betriebsebene	1,24	0,202
Betrieb	8,60	< 0,001
Melktagesklasse	324,56	< 0,001
Laktationsklasse	817,81	< 0,001

Wie in Abbildung 12 dargestellt, lag der Gehalt an Laktose in der Milch positiver Kühe in 14 der 23 Bestände auf niedrigerem Niveau als die negativer Tiere. Die Schwankungsbreite des Laktosegehaltes in der Milch bei Tieren mit Infektion betrug 4,59 % bis 4,82 %, bei bakteriologisch negativ getesteten Kühen waren diese nahezu identisch mit 4,62 % bis 4,79 %.

In zwei Drittel der Bestände, die einen höheren Laktosegehalt bei infizierten Kühen aufwiesen, betrug die Differenz zu negativen Tieren weniger als 0,02 %. Unter den 14 Beständen, die eine geringere Leistung durch infizierte Tiere zu verzeichnen hatten, stellten sich dagegen größere Abweichungen dar.

Der geringste Laktosegehalt war unabhängig vom Infektionsstatus in demselben Bestand. Der Maximalgehalt von 4,79 % trat gleich in drei Milchviehherden auf. Unter diesen befand sich auch der Bestand, der den höchsten Laktosegehalt bei Kühen mit *S. aureus*-Nachweis aufweisen konnte.

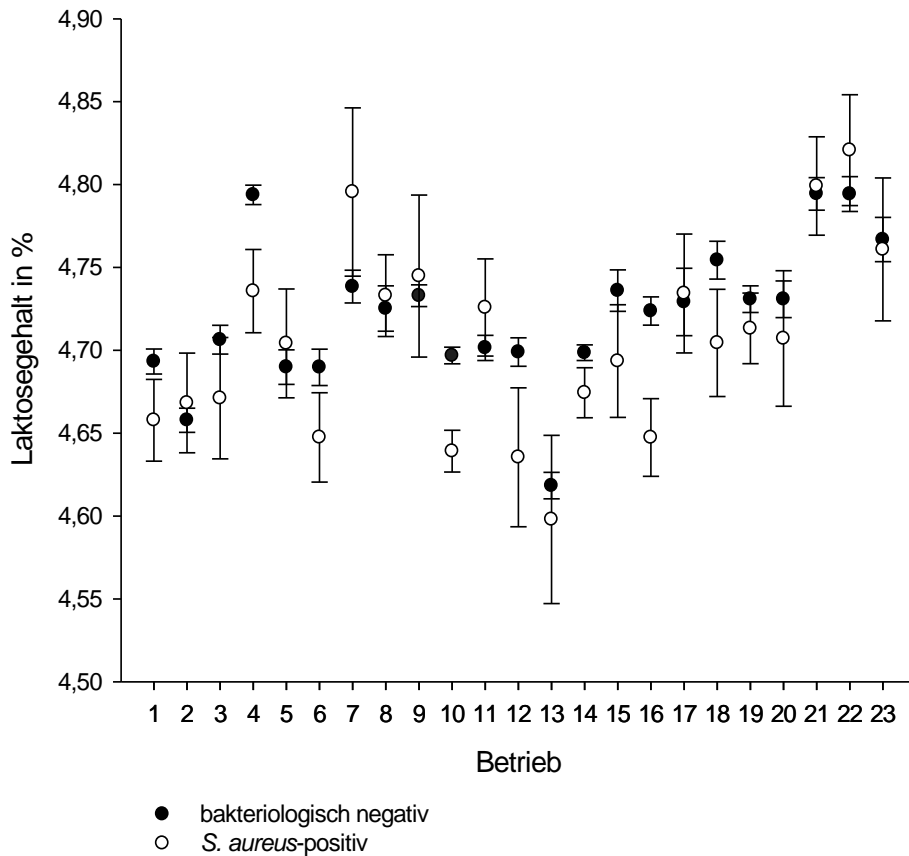


Abb. 12: Darstellung des Mittelwertes und Standardfehlers des Laktosegehaltes in der Milch von Kühen mit *S. aureus*-Nachweis und bakteriologisch negativen Kühen in den einzelnen Betrieben

4.3.5 Zellgehalt der Milch

Bei positiven Tieren betrug der Mittelwert der logarithmierten Zellzahl (lg ZZ) 5,34 mit einem Standardfehler von 0,040. Bakteriologisch negative Tiere besaßen eine lg ZZ von 4,72 mit einem Standardfehler von 0,012. Betrachtet man den Wert als Zellgehalt/ml beträgt dieser bei Tieren mit *S. aureus*-Infektion 218.524 Zellen/ml und bei Kühen ohne Erregernachweis im Milchsekret 52.613 Zellen/ml. Der Zellgehalt infizierter Tiere war um das 4,15fache höher als bei den negativ getesteten Milchkühen. In Tabelle 16 ist ersichtlich, dass der Unterschied in der Zellzahl sowohl bei alleiniger Betrachtung positiver und negativer Kühe als auch auf Betriebsebene hoch signifikant war ($p < 0,001$).

Tab. 16: Ergebnisse der Varianzanalyse zu Einflussfaktoren auf die lg ZZ in der Milch von *S. aureus*-infizierten Kühen

Einflussfaktor	F-Wert	P
<i>S.aureus</i> -Infektion	220,03	< 0,001
<i>S.aureus</i> -Infektion auf Betriebsebene	5,94	< 0,001
Betrieb	9,35	< 0,001
Melktagesklasse	89,63	< 0,001
Laktationsklasse	343,14	< 0,001

Die lg ZZ lag bei negativen Tieren im Bereich von 4,42 und 5,23, bei positiven zwischen 4,51 und 5,96. In lediglich einem Betrieb ist die Zellzahl negativer Tiere höher als die positiver Herdenmitglieder (Abbildung 13).

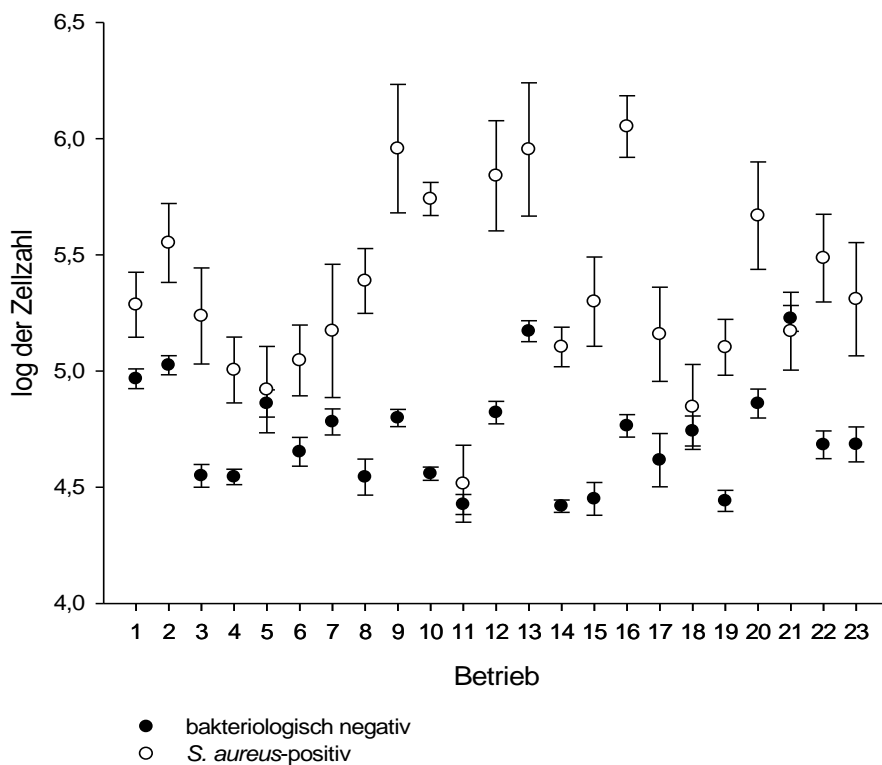


Abb. 13: Darstellung des Mittelwertes und Standardfehlers der lg ZZ in der Milch von Kühen mit *S. aureus*-Nachweis und bakteriologisch negativen Kühen in den einzelnen Betrieben

4.4 Milchleistungsergebnisse von Kühen mit Nachweis von Koagulase-negativen Staphylokokken

4.4.1 Milchmenge

Der Mittelwert der Milchmenge von Kühen mit KNS-Infektion betrug 28,86 kg mit einem Standardfehler von 0,165. Die durchschnittliche Milchmenge der negativen Tiere war 28,57 kg mit einem Standardfehler von 0,081. Einen hohen signifikanten Einfluss auf die Milchmenge besaßen die Einflussfaktoren Betrieb, Melktages- sowie Laktationsklasse. Der Milchmengenunterschied war bei alleiniger Betrachtung der negativen sowie positiven Tiere mit $p > 0,05$ nicht signifikant. Bei Untersuchung der Milchmenge innerhalb der Betriebe wurde eine schwache Signifikanz mit $p = 0,019$ deutlich (Tabelle 17).

Tab. 17: Ergebnisse der Varianzanalyse zu Einflussfaktoren auf die Milchmengenleistung von KNS-infizierten Kühen

Einflussfaktor	F-Wert	p
KNS-Infektion	2,61	0,106
KNS-Infektion auf Betriebsebene	1,65	0,019
Betrieb	69,77	< 0,001
Melktagesklasse	1432,19	< 0,001
Laktationsklasse	230,11	< 0,001

Die Milchmenge der Bestände, die in die Auswertung aufgenommen wurden, bewegte sich bei Tieren ohne Erregernachweis in der Rohmilch zwischen 22,59 kg und 38,07 kg, die Leistung von Tieren mit KNS-Nachweis lag zwischen 22,48 kg und 39,50 kg. Sowohl die geringste als auch die höchste Milchmenge positiver wie negativer Kühe wurde in jeweils einem Bestand gefunden. Zwischen den Betrieben wurde deutlich, dass die Milchmenge auf ähnlichem Niveau war. Milchmengenunterschiede von über einem Kilogramm wurden in acht von elf Beständen analysiert, bei denen die Leistung infizierter Kühe höher als die der negativen Tiere war (Abbildung 14).

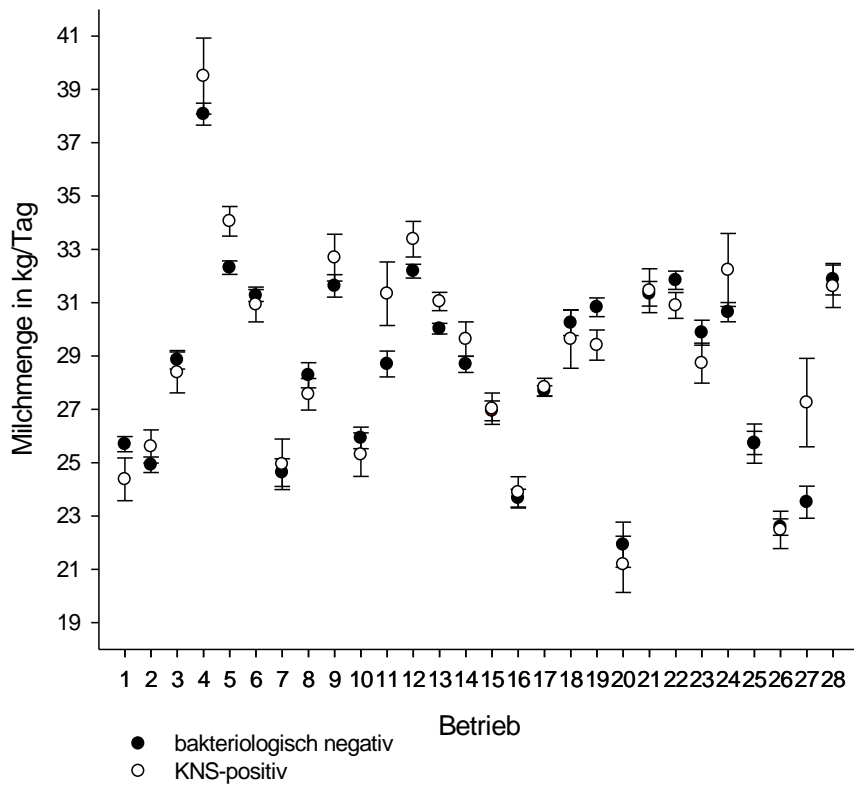


Abb. 14: Darstellung des Mittelwertes und Standardfehlers der Milchmenge von Kühen mit KNS-Nachweis und bakteriologisch negativen Kühen in den einzelnen Betrieben

4.4.2 Fettgehalt

Bei positiven Tieren lag ein Mittelwert von 4,11 % mit einem Standardfehler von 0,018 vor, bei bakteriologisch negativen Milchkühen war dieser bei 4,08 %. Der Standardfehler betrug 0,009. Die Höhe des Fettgehaltes ist bei alleiniger Betrachtung der infizierten und nicht infizierten Kühe mit $p > 0,05$ nicht signifikant. Bei Untersuchung des Gehaltes negativer und positiver Tiere innerhalb der einzelnen Bestände wurde deutlich, dass positive Kühe signifikant mehr Fett lieferten ($p < 0,001$) (Tabelle 18).

Tab. 18: Ergebnisse der Varianzanalyse zu Einflussfaktoren auf den Fettgehalt in der Milch KNS-infizierter Kühe

Einflussfaktor	F-Wert	p
KNS-Infektion	3,32	0,069
KNS-Infektion auf Betriebsebene	2,39	< 0,001
Betrieb	38,56	< 0,001
Melktagesklasse	214,94	< 0,001
Laktationsklasse	34,43	< 0,001

In Abbildung 15 wird ersichtlich, dass in 16 von 28 Beständen der Fettgehalt in der Milch KNS-infizierter Kühe höher war als bei negativ getesteten Kühen der Herden. Zwischen den Betrieben lagen große Schwankungen im Fettgehalt vor. Der Gehalt befand sich bei nicht infizierten Tieren im Bereich von 3,44 % und 4,70 %, bei KNS-Nachweis im Milchsekret zwischen 3,45 % und 4,50 %. Dabei traten sowohl die Minimal- als auch Maximalwerte nicht in dem gleichen Bestand auf.

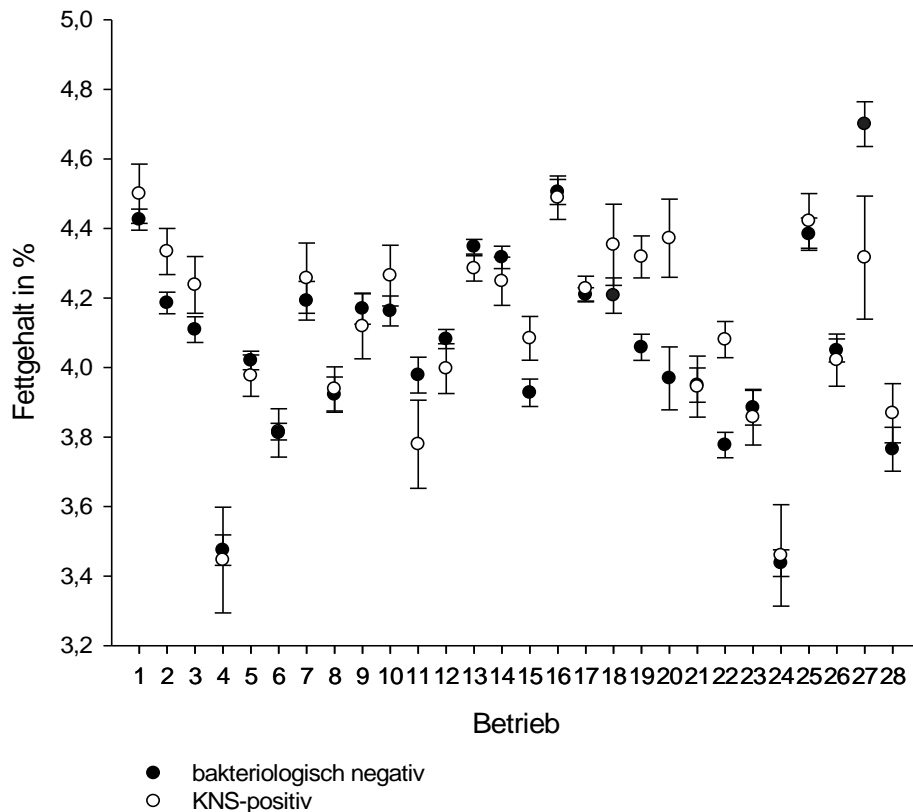


Abb. 15: Darstellung des Mittelwertes und Standardfehlers des Fettgehaltes in der Milch von Kühen mit KNS-Nachweis und bakteriologisch negativen Kühen in den einzelnen Betrieben

4.4.3 Eiweißgehalt

Ein Mittelwert von 3,47 % mit einem Standardfehler von 0,006 konnte bei infizierten Tieren ermittelt werden. Der Gehalt in der Milch negativer Milchkühe betrug 3,47 % mit einem Standardfehler von 0,003.

Tabelle 19 zeigt auf, dass kein signifikanter Unterschied zwischen dem Eiweißgehalt positiver und negativer Tiere in ihrer Gesamtheit bestand ($p > 0,05$). Bei dem Vergleich des Eiweißgehaltes infizierter und negativer Tiere auf Betriebsebene wurde jedoch ein Unterschied mit hoher Signifikanz ($p < 0,001$) festgestellt.

Tab. 19: Ergebnisse der Varianzanalyse zu Einflussfaktoren auf den Eiweißgehalt in der Milch KNS-infizierter Kühe

Einflussfaktor	F-Wert	p
KNS-Infektion	0,00	0,976
KNS-Infektion auf Betriebsebene	3,20	< 0,001
Betrieb	55,46	< 0,001
Melktagesklasse	1436,78	< 0,001
Laktationsklasse	15,76	< 0,001

In 50 % der Bestände lag der Eiweißgehalt der Milch KNS-infizierter Tiere über dem der negativ befundeten Kühe. Der Proteingehalt war bei negativen Tieren zwischen 3,26 % und 3,69 %, bei KNS-positiven zwischen 3,24 % und 3,64 %. Sowohl Minimal- als auch Maximalwerte im Eiweißgehalt traten in jeweils dem gleichen Bestand auf (Abbildung 16).

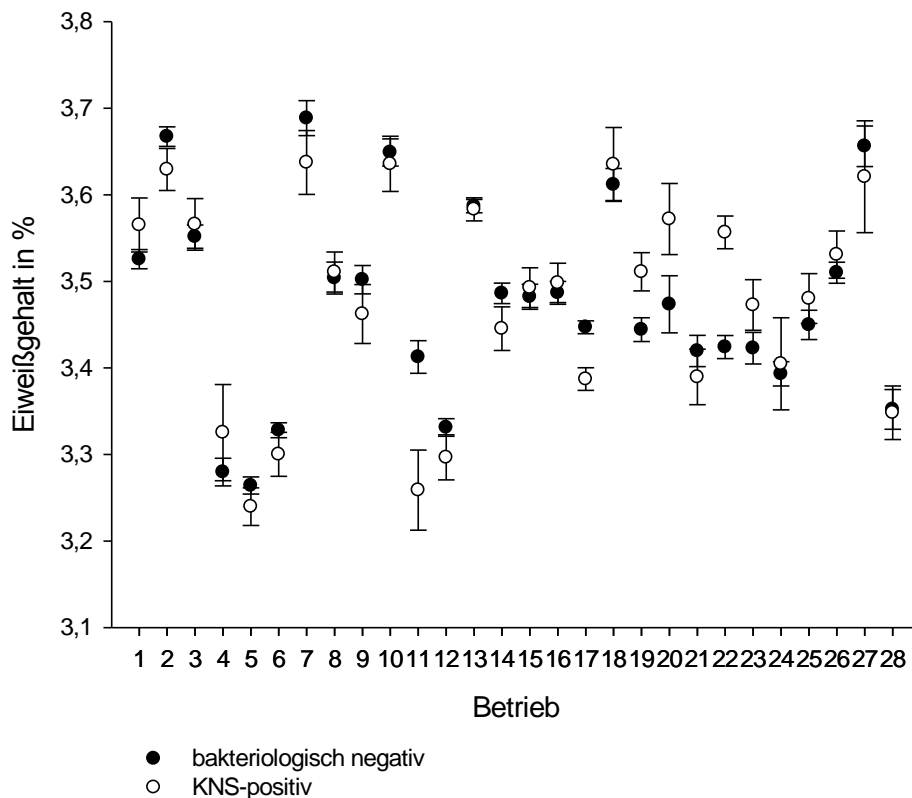


Abb. 16: Darstellung des Mittelwertes und Standardfehlers des Eiweißgehaltes in der Milch von Kühen mit KNS-Nachweis und bakteriologisch negativen Kühen in den einzelnen Betrieben

4.4.4 Laktosegehalt

Der Mittelwert der positiven Tiere betrug 4,72 % mit einem Standardfehler von 0,004. Die Milch von Kühen ohne Erregernachweis hatte einen Gehalt von 4,72 %. Der Standardfehler betrug 0,002. Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen der Höhe des Laktosegehaltes in der Milch positiver und negativer Tiere ($p > 0,05$). Auch zwischen den Betrieben konnten keine Unterschiede im Laktosegehalt zwischen infizierten und negativen Kühen beobachtet werden ($p > 0,05$).

In 13 Beständen war der Gehalt in der Milch positiver Kühe höher als der negativer Tiere. Die Schwankungen lagen bei KNS-Infektion zwischen 4,63 % und 4,82 %. Im Vergleich dazu bewegten sich die Prozente bei negativen Kühen zwischen 4,61 % und 4,80 % (Abbildung 17).

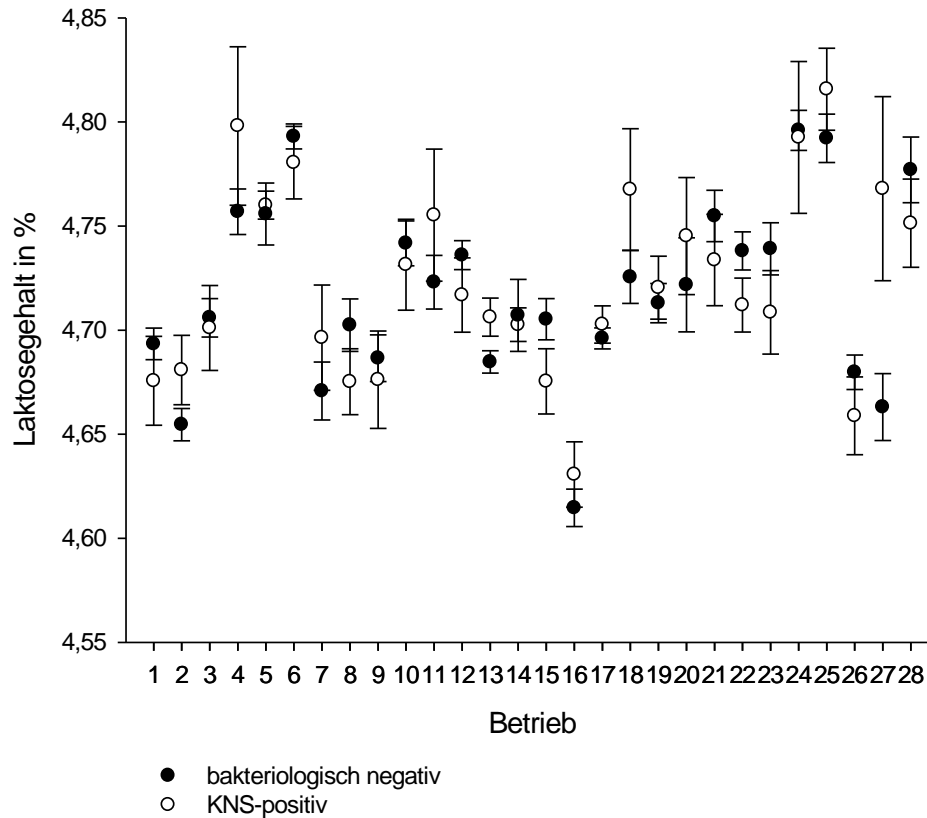


Abb. 17: Darstellung des Mittelwerts und Standardfehlers des Laktosegehaltes in der Milch von Kühen mit KNS-Nachweis und bakteriologisch negativen Kühen in den einzelnen Betrieben

4.4.5 Zellgehalt der Milch

Bei positiven Tieren betrug der Mittelwert der Ig ZZ 4,95 mit einem Standardfehler von 0,026. Bakteriologisch negative Tiere besaßen eine Ig ZZ von 4,71 mit einem Standardfehler von 0,013. Bei Betrachtung des Wertes als Zellzahl pro ml war dieser bei positiven Tieren 89.412 und bei Negativen 51.701.

Die Ig ZZ unterschied sich zwischen positiven und negativen Tieren mit hoher Signifikanz ($p < 0,001$). Infizierte Tiere besaßen signifikant mehr Zellen pro ml Milch. Auf Betriebsebene wurde jedoch nur eine schwache Signifikanz ($p = 0,049$) nachgewiesen (Tabelle 20).

Tab. 20: Ergebnisse der Varianzanalyse zu Einflussfaktoren auf die Ig ZZ in der Milch KNS-infizierter Kühe

Einflussfaktor	F-Wert	p
KNS-Infektion	71,76	< 0,001
KNS-Infektion auf Betriebsebene	1,49	0,049
Betrieb	14,28	< 0,001
Melktagesklasse	98,19	< 0,001
Laktationsklasse	437,63	< 0,001

Abbildung 18 zeigt die Schwankungen im Zellzahlgehalt. Diese lag bei negativen Tieren im Bereich von 4,40 bis 5,21, bei positiven zwischen 4,46 und 5,43. In lediglich drei Betrieben war der durchschnittliche Zellgehalt bakteriologisch negativer Tiere höher als der KNS-positiver Milchkühe.

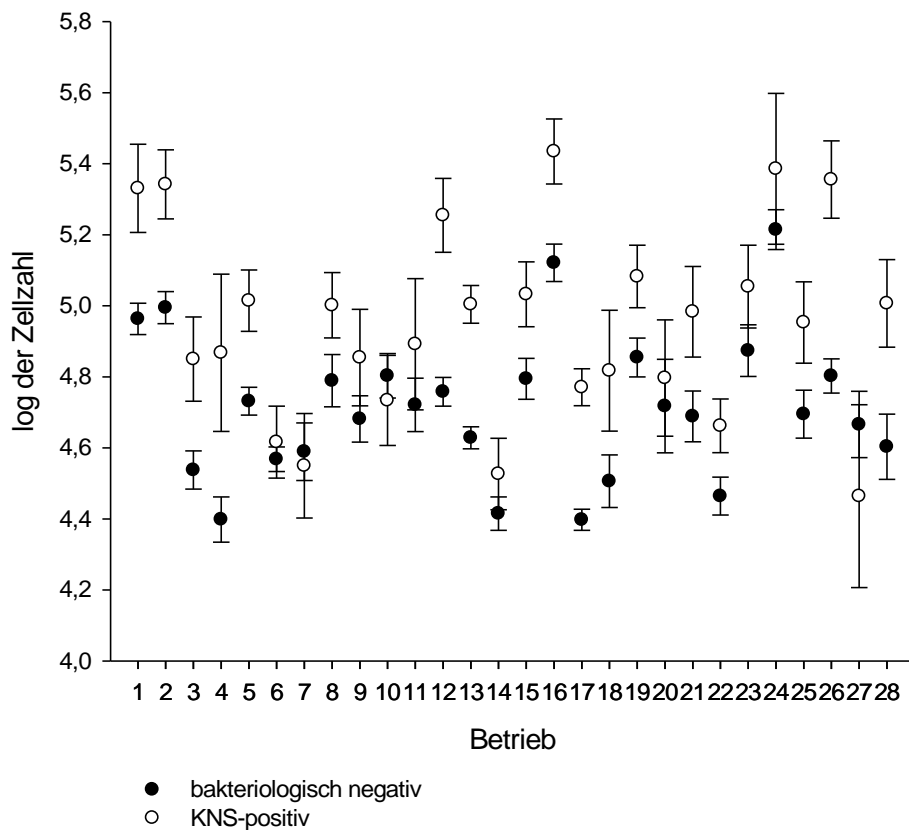


Abb. 18: Darstellung des Mittelwerts und Standardfehlers der Ig ZZ in der Milch von Kühen mit KNS-Nachweis und bakteriologisch negativen Kühen in den einzelnen Betrieben

4.5 Faktorenanalyse staphylokokkenbedingter Euterinfektionen

4.5.1 Haltung

Die Anzahl der Kühe je Bestand stellte einen relevanten Faktor dar, der einen hoch signifikanten Unterschied im Vorkommen von Euterinfektionen mit *S. aureus* ausmachte ($p < 0,001$). Die höchste Prävalenz *S. aureus*-infizierter Kühe lag mit 11,18 % in kleinen Beständen mit weniger als 300 Rindern (mit einem Alter über 24 Monaten) vor, die 17 der 34 untersuchten Herden ausmachten. In Beständen mit bis zu 600 Milchkühen sank die Prävalenz gegenüber den kleinen Herden um nahezu die Hälfte auf 6,61 %. Das geringste Vorkommen von *S. aureus* mit 4,62 % bestand in den sechs großen Betrieben (> 600 Tiere älter als 24 Monate). Bei Betrachtung des KNS-Vorkommens lag in der Bestandsgröße kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$) vor. Der Zeitpunkt der Eingliederung der Gruppe der trächtigen Färsen zu pluriparen Kühen spielte eine entscheidende Rolle im Rahmen des Mastitismanagements. Bei der Eingruppierung der Färsen in den letzten Wochen der Trächtigkeit war die Nachweisrate der *S. aureus*-Infektionen mit 11,91 % am höchsten. Sie betrug lediglich 8,19 %, wenn Färsen und Kühe erst kurz vor der Geburt zusammengestellt wurden. Bei der Haltung einer abgegrenzten Jungkuhgruppe traten die wenigsten Erregernachweise auf. Der Zeitpunkt stellte mit $p < 0,001$ einen gesicherten Managementfaktor dar. Ein gleich hohes Signifikanzniveau von $p < 0,001$ bestand auch für die Differenzen bei Euterinfektionen mit KNS. Das Vorkommen der nachgewiesenen Keime lag mit dem Zusammenbringen beider Tiergruppen sowohl in den letzten Trächtigungswochen als auch zum Zeitpunkt der Geburt bei über 20 %. Eine deutliche Reduzierung der KNS-Nachweise wurde wie bei *S. aureus*-Infektionen mit einer gesondert gehaltenen Jungkuhgruppe erzielt (Tabelle 21).

Tab. 21: Unterschiede von den Faktoren Bestandsgröße und Zusammenbringen der Tiergruppen in der Prävalenz von *S. aureus*- und KNS-infizierten Kühen

Faktor	Erreger	Klassifizierung	Prävalenz in %	p
Bestandsgröße	<i>S. aureus</i>	< 300 Kühe	11,18	< 0,001
		300-600 Kühe	6,61	
		> 600 Kühe	4,62	
	KNS	< 300 Kühe	21,22	> 0,05
		300-600 Kühe	19,94	
		> 600 Kühe	19,01	
Zeitpunkt der Eingliederung von Färsen zu pluriparen Kühen	<i>S. aureus</i>	in den letzten Trächtigtigkeitswochen	11,91	< 0,001
		zum Geburtszeitraum	8,19	
		extra Jungkuhgruppe	6,89	
	KNS	in den letzten Trächtigtigkeitswochen	21,11	< 0,001
		zum Geburtszeitraum	22,16	
		extra Jungkuhgruppe	14,42	

Eine Untersuchung der Laufflächen der Stall- und Treibgänge erfolgte nach Art, Sauberkeit und Rutschfestigkeit. Zwischen Tieren, die auf unterschiedlichen Arten des Bodens gehalten wurden, gab es sowohl bei Trockenstehern als auch in der Leistungsherde keinen signifikanten Unterschied in der Häufigkeit des Nachweises von *S. aureus* ($p > 0,05$). Auch bei Infektionen mit KNS konnten zwischen Betonspalten- und planbefestigten Böden keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden ($p > 0,05$).

Eine nur mäßige Sauberkeit der Laufflächen führte zu einer Steigerung des Nachweises von *S. aureus*. Diese mit einer gewissen Feuchte belastete Fläche lag in nahezu der Hälfte der Bestände in der Gruppe der Trockensteher und bei Kühen im Abkalbestall vor. In der Leistungsherde traten sogar bei 62 % der Bestände nur mäßig saubere Laufgänge auf. Dies ergab in allen Tiergruppen einen signifikanten Unterschied bei der Sauberkeit der Flächen mit $p < 0,001$. Bei KNS-Infektionen stellte

die Sauberkeit der Laufflächen dagegen keinen Faktor dar, der einen signifikanten Unterschied auf den Keimnachweis aufzeigte ($p > 0,05$).

Die Rutschfestigkeit der Laufflächen variierte innerhalb der Ställe zwischen den Tiergruppen, wobei die Gänge bezüglich ihrer Oberflächenbeschaffenheit sowie dem Vorhandensein von Feuchtigkeit und Mist große Differenzen aufwiesen. Im Abkalbestall existierte dabei der beste Zustand der Flächen. Mehr als zwei Drittel der Betriebe wurden als gut und nur ein Betrieb als schlecht bewertet. Demgegenüber gab es in der Leistungsherde in nur einem Drittel der Bestände griffige Laufgänge und in acht Herden erschienen sie sehr glatt. Bei *S. aureus* stieg die Prävalenz mit einer abnehmenden Rutschfestigkeit der Fläche in allen Tiergruppen. Die Differenz war mit $p < 0,001$ in der Trockensteher- und der Leistungsgruppe hoch signifikant. Für die Hochleistungstiere, bei denen auch ein schlechter Zustand der Laufflächen in die Untersuchung aufgenommen wurde, bestand zwischen mittleren und schlechten Gängen kein deutlicher Unterschied. Bei letztgenannten Zustandsformen lag ein Erregernachweis von über 9,00 % im Gegensatz zu 5,62 % bei guten Oberflächen vor. Der KNS-Nachweis verhält sich bei Tieren zum Zeitpunkt des Trockenstellens gleich der Verteilung der *S. aureus*-Infektionen. Es existierte ein schwacher Unterschied ($p = 0,043$) in der Höhe der Prävalenz. Die Nachweise von KNS bei Tieren im Abkalbebereich lagen jedoch auf Flächen mit mittlerer Rutschfestigkeit am höchsten ($p = 0,007$). Innerhalb der Leistungsherde bestand kein Unterschied zwischen der Rutschfestigkeit und dem KNS-Vorkommen ($p > 0,05$) (Tabelle 15).

In den Betrieben waren als Liegeflächen bei abkalbenden Rindern nahezu ausschließlich Tiefstreuhaltungen zu finden. In der Leistungsgruppe besaßen 30 Bestände Liegeboxen. Trockenstehende Kühe befanden sich in 24 Betrieben auf Tiefstreu und in acht Haltungen in Liegeboxen. Bei diesen zeigte die Art der Liegefläche sowohl bei Kühen mit *S. aureus*-Nachweis ($p = 0,005$) als auch bei KNS-Infektion ($p < 0,001$) einen relevanten Einfluss auf die Nachweishäufigkeit. In den Liegeboxen erfolgte dabei der größte Keimnachweis.

Die Sauberkeit der Liegeflächen wurde im Großteil der Bestände mit normal bewertet. Jeweils acht Betriebe hielten ihre Kühe auf sehr sauberen Liegeplätzen. Die Prävalenz der *S. aureus*-Infektionen der Trockensteher war auf diesen signifikant höher ($p = 0,007$) als auf normalen Flächen. Bei Tieren um die Geburt bestand jedoch das größte Vorkommen mit 10,73 % auf normal gesäuberten Liegeflächen. Auf sehr sauberen Arealen lag lediglich ein Nachweis von 6,68 % vor. Der Unterschied war hoch

signifikant ($p < 0,001$). Die Unterschiede in der Nachweishäufigkeit von KNS-Infektionen besaßen keine Signifikanz ($p > 0,05$).

Für das Stallklima wurde kein signifikanter Unterschied in der Nachweisrate von *S. aureus* als auch KNS ermittelt ($p > 0,05$) (Tabelle 22).

Tab. 22: Unterschiede von Haltungsfaktoren bei Trockenstehern, Tieren im Abkalbestall und der Leistungsherde in der Prävalenz von *S. aureus*- und KNS-infizierten Kühen

Haltungsfaktor	Erreger	Klassifizierung	Trockensteher		Abkalbestall		Leistungsherde	
			Prävalenz in %	p	Prävalenz in %	p	Prävalenz in %	p
Art der Laufflächen	<i>S. aureus</i>	Betonspaltenboden	7,57	> 0,05	---	---	8,43	> 0,05
		planbefestigt	7,88		---		7,78	
	KNS	Betonspaltenboden	19,73	> 0,05	---	---	19,17	> 0,05
		planbefestigt	20,15		---		20,25	
Sauberkeit der Laufflächen	<i>S. aureus</i>	vorwiegend trocken	7,04	< 0,001	6,81	< 0,001	4,83	< 0,001
		mäßig	9,44		10,21		10,73	
	KNS	vorwiegend trocken	19,82	> 0,05	20,58	> 0,05	19,89	> 0,05
		mäßig	21,05		20,02		20,97	
Rutschfestigkeit der Laufflächen	<i>S. aureus</i>	gut	6,33	< 0,001	7,37	0,015	5,62	< 0,001
		mittel	9,76		9,17		9,37	
	KNS	schlecht	---		---		9,04	
		gut	20,81	0,043	22,88	0,007	21,81	> 0,05
	KNS	mittel	23,02		20,04		22,64	
		schlecht	---		---		---	

---: Frage nicht auswertbar wegen Uniformität der Klassifizierung

Haltungsfaktor	Erreger	Klassifizierung	Trockensteher		Abkalbestall		Leistungsherde	
			Prävalenz in %	p	Prävalenz in %	p	Prävalenz in %	P
Art der Liegeflächen	<i>S. aureus</i>	Tiefstreu	6,82	0,005	---	---	---	---
		Liegebox	8,67		---			
	KNS	Tiefstreu	19,49	< 0,001	---	---	---	---
		Liegebox	25,49		---			
Sauberkeit der Liegeflächen	<i>S. aureus</i>	sehr sauber	9,34	0,007	6,68	< 0,001	---	---
		normal	7,11		10,73			
	KNS	sehr sauber	19,94	> 0,05	19,63	> 0,05	---	---
		normal	20,34		20,59			
Stallklima	<i>S. aureus</i>	Warmstall	8,03	> 0,05	8,03	> 0,05	8,38	> 0,05
		Kaltstall	7,49		7,49		7,56	
		Außenklimastall	---		---		---	
	KNS	Warmstall	20,24	> 0,05	20,24	> 0,05	20,37	> 0,05
		Kaltstall	22,07		22,07		20,10	
		Außenklimastall	---		---		---	

---: Frage nicht auswertbar wegen Uniformität der Klassifizierung

4.5.2 Melktechnik und Melkhygiene

Im Bereich der Melktechnik wurde der Einfluss der Melkanlagensysteme, der Melkzeugzwischendesinfektion sowie der Euterreinigung auf die Nachweishäufigkeit in der Leistungsherde und dem Abkalbestall untersucht.

Die Leistungsherden wurden im Fischgrätenmelkstand, Auto-Tandem oder im Karussell gemolken. Für die Art der Melkanlage wurde ein hoch signifikanter Prävalenzunterschied bei *S. aureus*-Infektionen ermittelt ($p < 0,001$). Der mit 5,47 % geringste Anteil an Euterinfektionen kam bei diesen Erregern in Fischgrätenmelkständen vor, mit dem 20 der untersuchten Betriebe arbeiteten. Eine deutlich höhere Nachweishäufigkeit von über 20 % trat in den sechs Herden mit Tandemnutzung auf. Demgegenüber existierten für KNS in diesem Melksystem die niedrigsten Prävalenzen. Das größte Vorkommen mit 22,37 % bestand bei Verwendung von Karussellmelkständen. Diese Unterschiede erwiesen sich als signifikant ($p = 0,002$).

Im Abkalbestall nutzten 19 Bestände den Melkstand der Leistungsherde und in zwölf Herden wurde über eine Rohrmelkanlage gemolken. Einen separaten Melkstand für den Abkalbebereich verwendeten lediglich drei Betriebe. Der Nachweis von *S. aureus*-Infektionen bei Rohrmelkanlagennutzung war mit 9,07 % höher als beim Melken im Melkstand der Anlage mit 7,32 % ($p = 0,008$). Bei KNS-Nachweisen bestand zwischen den verschiedenen Melkanlagen kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$).

Die Melkzeugzwischendesinfektion wurde in den Betrieben in Form von technischen Einrichtungen, Eimern beziehungsweise Schleppwannen oder mittels Handsprühverfahren realisiert. Dabei lagen die meisten *S. aureus*-Nachweise sowohl in der Leistungsherde als auch im Abkalbestall bei einer Desinfektion mittels Eintauchen des Melkzeugs in Eimer oder der Verwendung von Schleppwannen vor. Das geringste Vorkommen wurde bei einer Nutzung von technischen Desinfektionseinrichtungen ermittelt. Dieser Unterschied war für *S. aureus* hoch signifikant ($p < 0,001$). Zwischen den drei Verfahren der Melkzeugzwischendesinfektion wurde für KNS-Infektionen kein Unterschied ermittelt ($p > 0,05$).

Bei der Euterreinigung wurden in 15 Betrieben Einwegtücher mit Desinfektionsmitteln verwendet. In den anderen Herden erfolgte die Reinigung vorrangig mittels Mehrweglappen. Mit der Nutzung von desinfizierten Einwegtüchern lag eine geringere Nachweisrate der *S. aureus*-Infektionen mit 10,13 % in der Leistungsherde und 6,77 % im

Abkalbestall vor, als mit einer Reinigung durch Mehrweglappen. Für letztere waren Prävalenzen von 11,30 % bei Hochleistungstieren und 9,10 % bei Frischabkalbern nachweisbar ($p < 0,001$). KNS-Nachweise standen in der Leistungsherde dagegen in keinem erkennbaren Zusammenhang mit der Art der Euterreinigung ($p > 0,05$). Im Abkalbebereich bestand dagegen mit 22,64 % ein höheres KNS-Vorkommen durch die Nutzung von Einwegtüchern im Vergleich zu Mehrwegtüchern (19,15 %). Dieser Unterschied bei frischabkalbenden Kühen war hoch signifikant ($p < 0,001$).

Desinfektionsmittel verwendeten in der Leistungsherde 23 und im Abkalbestall 22 Betriebe. Eine Euterreinigung ohne zusätzliche Desinfektionsmittel führten elf und in der Gruppe der Frischabkalber zwölf Betriebe durch. Die Prävalenz der *S. aureus*-Infektionen war mit Verzicht dieser Hygienemaßnahme höher und erreichte 14,15 % in der Leistungsherde. Durch die Verwendung von Mehrweglappen mit Desinfektionsmitteln betrug diese nur 7,39 %, was eine Reduktion der Nachweisrate um fast 50 % gegenüber dem Verzicht auf Desinfektionsmittel darstellte. Die Prävalenz der euterpathogenen Keime im Abkalbestall lag insgesamt auf einem geringeren Niveau und die Verteilung in der Klassifizierung war entsprechend der Leistungsgruppe. Sie war hoch signifikant different ($p < 0,001$). Weiterhin ließen sich weniger KNS-Nachweise durch die Verwendung von desinfizierten Mehrweglappen im Gegensatz zu Einweg-Eutertüchern finden, bei denen die Prävalenz in der Leistungsgruppe um über 3 % höher lag. Auch im Abkalbestall waren die KNS-Infektionen bei der Nutzung von desinfizierten Mehrweglappen, wie bei *S. aureus*, am geringsten. Die Nachweisrate, die mit einer Verwendung von Einwegtüchern einherging, war mit 25,07 % signifikant höher ($p < 0,001$) (Tabelle 23).

Tab. 23: Unterschiede von Faktoren der Melktechnik in Leistungsherde und Abkalbestall in der Prävalenz von *S. aureus*- und KNS-infizierten Kühen

Faktor der Melktechnik	Erreger	Klassifizierung	Leistungsherde		Abkalbestall		
			Prävalenz in %	P	Prävalenz in %	P	
Art der Melkanlage in der Leistungsherde	<i>S. aureus</i>	Fischgräte	5,47	< 0,001	---	---	
		Karussell	8,74		---		
		Auto-Tandem	20,94		---		
	KNS	Fischgräte	20,41	0,002	---	---	
		Karussell	22,37		---		
		Auto-Tandem	17,20		---		
Art der Melkanlage im Abkalbestall	<i>S. aureus</i>	Melkstand der Anlage	---	---	7,32	0,008	
		Rohrmelkanlage	---		9,07		
	KNS	Melkstand der Anlage	---	---	20,10	> 0,05	
		Rohrmelkanlage	---		19,70		
	Art der Melkeuzwischen-desinfektion	<i>S. aureus</i>	technisch	5,23	< 0,001	6,50	< 0,001
			Eimer/Schleppwanne	12,31		14,25	
Sprühen			6,39	7,39			
KNS		technisch	19,69	> 0,05	19,97	> 0,05	
		Eimer/Schleppwanne	20,54		21,88		
		Sprühen	20,66		20,96		

Faktor der Melktechnik	Erreger	Klassifizierung	Leistungsherde		Abkalbestall	
			Prävalenz in %	P	Prävalenz in %	P
Art der Euterreinigung	<i>S. aureus</i>	Einweg mit Desinfektionsmittel	10,13	< 0,001	6,77	< 0,001
		Mehrweg	11,30		9,10	
	KNS	Einweg mit Desinfektionsmittel	21,21	> 0,05	22,64	< 0,001
		Mehrweg	20,42		19,15	
Benutzung von Desinfektionsmitteln bei der Euterreinigung	<i>S. aureus</i>	ja mit Einweg	10,13	< 0,001	6,78	< 0,001
		ja mit Mehrweg	7,39		5,86	
		nein	14,15		12,34	
	KNS	ja mit Einweg	23,92	0,041	25,07	< 0,001
		ja mit Mehrweg	20,87		18,87	
		nein	20,36		20,20	

---: Frage nicht auswertbar wegen Uniformität der Klassifizierung

In der Leistungsherde als auch im Abkalbestall nutzten 24 Betriebe Iod zur Zitzen-desinfektion. Die Nachweise von *S. aureus* im Milchsekret war mit der Verwendung von Iod mit 11,69 % höher als bei Inanspruchnahme DVG-gelisteter Mittel, bei denen eine Prävalenz von 8,26 % vorlag ($p = 0,002$). KNS-Infektionen wurden ebenso mit einer Iodierung der Zitzen häufiger festgestellt ($p = 0,023$).

Eine Pflegekomponente verwendeten 32 der 34 Betriebe in ihrer Zitzendesinfizienz. Die Textur dieser war bei nahezu 70 % der Bestände dickflüssig. Eine signifikant höhere Prävalenz trat bei *S. aureus*-Euterinfektionen durch die Verwendung dickflüssiger Mittel nur im Abkalbestall auf ($p = 0,033$). Für die KNS-Nachweise wurde sowohl in der Leistungsherde ($p = 0,007$) als auch im Abkalbebereich ($p = 0,001$) ein wesentlich größeres Infektionsrisiko mit der Verwendung von dickflüssigen Desinfektionsmitteln ermittelt.

Kühe in der Hochleistung wiesen in lediglich zwölf Herden nur gering verschmutzte Euter auf. In 21 Herden war die Sauberkeit als mäßig zu bezeichnen. Eine bessere Hygiene herrschte im Abkalbebereich, da dort die Kühe in der Hälfte der Betriebe kaum verschmutzte Euter aufwiesen. Eine steigende Verschmutzung ging sowohl bei Kühen in der Hochleistung als auch bei Frischabkalbern mit einer zunehmenden *S. aureus*-Infektionsrate einher ($p < 0,001$). Der Hygienezustand vor der Reinigung besaß für KNS keinen Einfluss auf die Nachweishäufigkeit ($p > 0,05$).

Ein weiterer auf das *S. aureus*-Vorkommen zu analysierender Hygieneparameter war die Wahrnehmung der Euterdusche bei Euterverschmutzungen. Diese wurde in 23 Betrieben regelmäßig und in elf nur gelegentlich genutzt. Die regelmäßige Anwendung der Waschmöglichkeiten ging mit einer geringeren Nachweisrate von *S. aureus* im Milchsekret einher. Bei inkonsequenter Reinigung der Euter traten in allen untersuchten Tiergruppen hohe Prävalenzen von 11,91 % auf. Das Management der Reinigung zeigte damit einen entscheidenden Gesichtspunkt in der Gesunderhaltung der Tiere und der Reduktion von *S. aureus*-Euterinfektionen auf ($p < 0,001$). In der Untersuchung der KNS-Vorkommen lag kein signifikanter Unterschied zwischen regelmäßiger und gelegentlicher Verwendung von Euterduschen vor ($p > 0,05$).

Die Durchführung der Euterreinigung durch die Melker der Betriebe wurde mit gut oder befriedigend bewertet. Eine gute Durchführung ging mit einer niedrigen *S. aureus*-Nachweisrate bei Leistungstieren und Frischabkalbern einher. Betriebe, deren Melkpersonal die Euter lediglich befriedigend reinigten, besaßen ein höheres Vorkommen subklinischer Euterinfektionen mit 10,10 % in der Leistungsherde und

13,95 % im Abkalbestall ($p < 0,001$). Die gute Verrichtung der Euterreinigung war daher ein entscheidender Hygienefaktor für Euterinfektionen mit *S. aureus*. Auf KNS-Nachweise besaß die Qualität der Euterreinigung in diesem Bereich keinen Einfluss ($p > 0,05$).

Als weiterer Managementfaktor der Melkhygiene wurden die Handwaschmöglichkeiten für Melker in die Auswertung einbezogen. In der Hälfte der in die Untersuchung aufgenommenen Betriebe lag eine ausschließliche Nutzung von Wasser vor. Im Melkstand der Leistungsherde besaßen zudem zwölf Betriebe Wasser und Seife als Reinigungsmittel. Die restlichen Bestände stellten zusätzlich Desinfektionsmittel bereit. Im Abkalbestall verwendeten lediglich drei Betriebe Wasser, Seife und zusätzliche Desinfektionsmittel. Die geringste Nachweisrate von *S. aureus* in der Leistungsherde mit 5,13 % trat in Betrieben mit einer ausschließlichen Nutzung von Wasser als Waschmöglichkeit auf. Im Abkalbestall wurde mit einer Prävalenz um 5 % der gleiche Anteil wie bei Hochleistungstieren ermittelt. Ein deutlicher Anstieg der Nachweise lag im Abkalbebereich mit einer Verwendung von Wasser und Seife (11,11 %) sowie einer zusätzlichen Bereitstellung von Desinfektionsmitteln (10,10 %) vor ($p < 0,001$). Die wenigsten KNS-Euterinfektionen traten in Herden auf, die Wasser und Seife als Handwaschmöglichkeit verwendeten. Mit alleiniger Nutzung von Wasser war die Prävalenz mit 23,39 % in der Leistungsherde und mit 23,40 % im Abkalbestall am höchsten. Die zusätzliche Möglichkeit der Händedesinfektion beim Melken der Hochleistungstiere ging mit einer Nachweisrate von 22,61 % einher. Der Faktor der Handwaschmöglichkeit führte sowohl in der Leistungsherde ($p = 0,001$) als auch im Abkalbestall ($p < 0,001$) zu einem signifikanten Unterschied der KNS-Nachweise (Tabelle 24).

Eine ausschließliche, teilweise oder keine Handschuhverwendung der Melker führte weder bei *S. aureus* noch KNS zu einem signifikanten Unterschied in der Nachweisfrequenz ($p > 0,05$).

Tab. 24: Unterschiede von Faktoren der Melkhygiene in Leistungsherde und Abkalbestall in der Prävalenz von *S. aureus*- und KNS-infizierten Kühen

Faktor der Melkhygiene	Erreger	Klassifizierung	Leistungsherde		Abkalbestall	
			Prävalenz in %	p	Prävalenz in %	p
Wirkstoffgruppe Zitrendesinfizienz	<i>S. aureus</i>	lod	11,69	0,002	11,69	0,002
		anderes DVG-geprüftes Desinfektionsmittel	8,26		8,26	
	KNS	lod	23,08	0,023	23,08	0,023
		anderes DVG-geprüftes Desinfektionsmittel	20,78		20,78	
Pflegekompone nt Zitrendesinfizienz, Textur	<i>S. aureus</i>	ja, wässrige Textur	7,74	> 0,05	7,11	0,033
		ja, dickflüssige Textur	8,20		8,42	
	KNS	ja, wässrige Textur	19,29	0,007	17,92	< 0,001
		ja, dickflüssige Textur	21,70		22,24	
Sauberkeit der Euter vor der Reinigung	<i>S. aureus</i>	kaum verschmutzt	5,41	< 0,001	6,85	< 0,001
		mäßig	6,70		9,31	
	KNS	kaum verschmutzt	20,08	> 0,05	19,79	> 0,05
		mäßig	20,70		21,30	

Faktor der Melkhygiene	Erreger	Klassifizierung	Leistungsherde		Abkalbestall	
			Prävalenz in %	p	Prävalenz in %	p
Wahrnehmung der Euterdusche bei Verschmutzung	<i>S. aureus</i>	regelmäßig	6,60	< 0,001	6,60	< 0,001
		gelegentlich	11,91		11,91	
	KNS	regelmäßig	20,68	> 0,05	20,68	> 0,05
		gelegentlich	21,41		21,41	
Bewertung der Durchführung der Euterreinigung	<i>S. aureus</i>	gut	7,21	< 0,001	8,80	< 0,001
		befriedigend	10,10		13,95	
	KNS	gut	20,21	> 0,05	20,71	> 0,05
		befriedigend	19,32		19,45	
Welche Handwaschmöglichkeiten für Melker existieren	<i>S. aureus</i>	Wasser	5,13	< 0,001	5,11	< 0,001
		Wasser und Seife	11,11		10,09	
		Wasser, Seife und Desinfektionsmittel	10,10		---	
	KNS	Wasser	23,39	0,001	23,40	< 0,001
		Wasser und Seife	19,54		19,94	
		Wasser, Seife und Desinfektionsmittel	22,61		---	

4.5.3 Mastitismanagement

Ein relevanter Faktor mit Einfluss auf die Eutergesundheit war der Zeitpunkt, an dem krankhaft verändertes Milchsekret als dieses angesehen wird. Die Meinungen der Melker, ab wann eine Sekretveränderung krankhaft ist, variierten zwischen einer leichten Abweichung vom Milchcharakter, als „Deckweiß“ bezeichnet, und dem Auftreten einzelner Flocken in der Milch. Eine geringere Prävalenz mit 6,12 % bei *S. aureus* und 21,04 % bei KNS trat auf, wenn die Melker einen Deckweißcharakter als erste Abweichung von einem normalen Sekret bezeichneten. Assoziierten sie erst Flocken als krankhafte Veränderung, lagen höhere *S. aureus*- sowie KNS-Prävalenzen vor. Die Ansicht, dass Flocken das erste Anzeichen eines veränderten Milchsekrets sind, führte damit zu einem steigenden Keimnachweis und zeigte für *S. aureus* mit $p < 0,001$ eine hohe und KNS mit $p = 0,010$ schwache Signifikanz auf. Der Zeitpunkt der bakteriologischen Untersuchung bei klinischen Fällen erfolgte in zwölf Beständen bei festgestellter Veränderung sofort, in zehn Beständen erst bei Vorliegen von Rezidiven und in wiederum zwölf Herden wurde selbst bei klinisch kranken Tieren keine bakteriologische Untersuchung durchgeführt. Die wenigsten positiven Befunde klinischer *S. aureus*-Mastitiden lieferte eine sofortige Untersuchung, bei der eine Prävalenz von 6,50 % vorlag. Wurde die bakteriologische Untersuchung erst bei rezidivierend kranken Tieren durchgeführt, war die Nachweisrate mit 7,34 % höher. Die meisten Infektionen wurden mit dem Unterlassen der Untersuchung auf Mastitiserreger ermittelt. Bei den KNS-Infektionen wurde eine hohe Nachweisrate in Beständen mit der Durchführung einer sofortigen bakteriologischen Untersuchung (22,16 %) sowie bei der Untersuchung von wiederkehrenden Fällen (21,36 %) ermittelt. Dagegen lag der Nachweis bei völligem Verzicht dieser Maßnahme mit 17,43 % niedriger. Dieses Ergebnis zeigte mit $p < 0,001$ einen hohen signifikanten Unterschied in der Prävalenz auf.

Bei der Behandlung von Kühen mit Zellzahlerhöhung gaben die meisten Bestände an, dass Tiere mit einer hohen Zellzahl nicht behandelt wurden. In zwölf Herden wurde bei > 300.000 Zellen/ml und in sechs Herden bei $> 1.000.000$ Zellen/ml therapiert. Mit 6,10 % lagen die wenigsten *S. aureus*-Nachweise bei einer Behandlung von Kühen mit über einer Million Zellen pro ml Milch vor. Die Infektionshäufigkeit war bei keiner Behandlung mit 7,32 % nur geringfügig über diesem Wert. Ein starker Prävalenzanstieg auf 10,16 % wurde demgegenüber in Herden beobachtet, die bei

Vorliegen von mehr als 300.000 Zellen/ml behandelt wurden. Bei den KNS-Nachweisen konnten geringe Prävalenzen um 21 % bei einem Auslassen der bakteriologischen Untersuchung sowie bei der Durchführung dieser Untersuchung bei über 300.000 Zellen/ml Milch ermittelt werden. Begannen die Bestände die Zellzahlerhöhung erst nach Überschreiten der Millionengrenze zu therapieren, stieg der Nachweis von KNS im Milchsekret auf 27,48 %. Die Differenzen in den Prävalenzen waren hoch signifikant ($p < 0,001$).

Die verschiedenen Arten der Behandlung nicht offensichtlich kranker Euterviertel führte zu keinem signifikanten Unterschied in der Prävalenz von *S. aureus* und KNS ($p > 0,05$) (Tabelle 25).

Tab. 25: Unterschiede von Faktoren des Mastitismanagements bei laktierenden Kühen in der Prävalenz von *S. aureus*- und KNS-infizierten Kühen

Faktor des Mastitismanagements	Erreger	Klassifizierung	Laktierende Kühe	
			Prävalenz in %	p
Beginn des Einschätzens einer krankhaften Veränderung	<i>S. aureus</i>	Deckweiß	6,12	< 0,001
		einzelne Flocken	9,62	
	KNS	Deckweiß	21,04	0,010
		einzelne Flocken	23,66	
Zeitpunkt einer bakteriologischen Untersuchung bei klinischen Fällen	<i>S. aureus</i>	sofort	6,50	< 0,001
		bei Rezidiv	7,34	
		gar nicht	10,40	
	KNS	sofort	22,16	< 0,001
		bei Rezidiv	21,36	
		gar nicht	17,43	
Behandlungszeitpunkt der Kühe mit Zellzahlerhöhung	<i>S. aureus</i>	gar nicht	7,32	< 0,001
		> 300.000	10,16	
		> 1.000.000	6,10	
	KNS	gar nicht	20,53	< 0,001
		> 300.000	21,08	
		> 1.000.000	27,48	
Behandlung nicht offensichtlich kranker Viertel	<i>S. aureus</i>	nein	9,02	> 0,05
		bei positivem bakteriologischen Befund	8,67	
		generell alle Viertel	---	
	KNS	nein	19,65	> 0,05
		bei positivem bakteriologischen Befund	20,47	
		generell alle Viertel	---	

Die niedrigste Prävalenz von *S. aureus*-Infektionen mit 6,10 % lag vor, wenn keine bakteriologische Untersuchung vor dem Beginn des Trockenstellens eingeleitet wurde. In Beständen, in denen eine Untersuchung bei allen trockenzustellenden Kühen stattfand, betrug die Nachweisrate 8,30 %. Ein Wert von 19,64 % ging mit einer Milchkontrolle einher, die lediglich von Tieren mit erhöhter Zellzahl oder Sekretveränderungen stammte. Der höchste KNS-Nachweis mit 23,53 % konnte dagegen bei der Einleitung einer bakteriologischen Untersuchung von allen trockenzustellenden Tieren ermittelt werden. Fand keine Kontrolle auf Anwesenheit von euterpathogenen Erregern statt oder wurde diese erst bei erhöhter Zellzahl und Veränderung des Milchsekrets durchgeführt, waren die Prävalenzen geringer. Die Differenzen der einzelnen Prävalenzen innerhalb dieses Managementfaktors zeigten bei Euterinfektionen mit *S. aureus* und KNS signifikante Unterschiede auf ($p < 0,001$).

Die Durchführung des Trockenstellens erfolgte in 26 Herden abrupt und in acht Betrieben ausschleichend. Die geringste *S. aureus*- und KNS-Nachweisrate lag bei einem abrupten Trockenstellen vor. Das ausschleichende Verfahren führte gegenüber beiden Mastitiserregern zu einer höheren Prävalenz. Dieser Unterschied war hoch signifikant ($p < 0,001$).

Auf einen Zitzenverschluss verzichteten die Hälfte der Betriebe. Fand eine Anwendung dieses Verfahrens statt, wurde vorrangig der äußere Verschluss gewählt. Eine Verwendung des inneren Zitzenverschlusses wurde abgefragt, jedoch verwendeten diesen zum Untersuchungszeitpunkt nur wenige Betriebe, sodass dieser für die Prävalenzberechnung nicht berücksichtigt werden konnte. Die beiden untersuchten Mastitiserreger kamen im Euter ohne Zitzenverschluss am häufigsten vor ($p < 0,001$). Dabei sank der Nachweis von *S. aureus* bei Verwendung eines Zitzenverschlusses von 9,57 % um ca. ein Drittel auf 6,39 %, bei KNS von 21,94 % auf 19,85 % ($p < 0,001$) (Tabelle 26).

Tab. 26: Unterschiede von Faktoren des Mastitismanagements bei Trockenstehern in der Prävalenz von *S. aureus*- und KNS-infizierten Kühen

Faktor des Mastitismanagements	Erreger	Klassifizierung	Trockensteher	
			Prävalenz in %	p
Durchführung einer bakteriologischen Untersuchung vor dem Trockenstellen	<i>S. aureus</i>	nein	6,10	< 0,001
		bei allen trocken-zustellenden Tieren	8,30	
		Zellzahlerhöhung und Sekretveränderung	19,64	
	KNS	nein	20,50	< 0,001
		bei allen trocken-zustellenden Tieren	23,53	
		Zellzahlerhöhung und Sekretveränderung	20,76	
Art der Durchführung des Trockenstellens	<i>S. aureus</i>	abrupt	7,06	< 0,001
		ausschleichend	11,48	
	KNS	abrupt	19,61	< 0,001
		ausschleichend	23,81	
Anwendung des Zitzenverschlusses	<i>S. aureus</i>	nein	9,57	< 0,001
		äußerer Zitzenverschluss	6,39	
	KNS	nein	21,94	< 0,001
		äußerer Zitzenverschluss	19,85	

5 Diskussion

5.1 Diskussion der Fragestellung

Hauptabgangsursache der in Thüringen im Zeitraum von 2008 - 2012 gemerzten Kühe waren mit einem durchschnittlichen Anteil von 17,3 % Eutergesundheitsstörungen (TVL & LTR, 2013). Eine stabile Eutergesundheit lässt sich auf hohem Niveau kaum kontinuierlich absichern, da Erreger zu diversen Zeitpunkten in das Euter gelangen und Infektionen hervorrufen können. Ein Tierumfeld ohne Mikroorganismen ist nicht realisierbar, so dass eine Verbesserung der Umwelt- und Melkbedingungen von großer Bedeutung ist, um den Keimdruck zu senken. Dies sind Voraussetzungen für eine Prophylaxe von Euterinfektionen. Daher war es das Ziel der vorliegenden Studie, ausgehend von einer Analyse in Thüringer Milchviehherden, Prävalenzen von Euterinfektionen mit Staphylokokken in einem breiten Spektrum von Betrieben aufzuzeigen. Zugleich wurden Hygienefaktoren untersucht, die einen Einfluss auf die Prävalenz von *S. aureus*- oder KNS-infizierten Tieren innerhalb dieser Herden besitzen können. Weiterhin sollte die Keimpräsenz der Staphylokokken im Verlauf einer Laktation und deren jahreszeitabhängiges Vorkommen untersucht werden, um einen Einblick in die Infektionsdynamik zu erhalten.

Da nach CHA et al. (2011) Mastitiden generell eine erhebliche finanzielle Belastung der Betriebe durch Faktoren wie Milchverlust, herabgesetzte Fertilität und steigende Behandlungskosten verursachen, bestand ein weiteres Ziel dieser Arbeit darin, die milchwirtschaftlichen Aspekte einer Euterinfektion durch Staphylokokken zu untersuchen. Dafür wurden die Milchleistungsdaten von *S. aureus*- sowie KNS-infizierten Tieren denen von bakteriologisch negativ getesteten Milchkühen gegenübergestellt. Die 81.567 Viertelgemelksproben wurden in den Herden als Bestandskontrolle aller Kühe entnommen, wodurch alle subklinischen Infektionen erfasst werden konnten. Dies stellt eine wesentliche Abgrenzung zu der Dissertation von KÜMPEL (2013) dar, bei der es sich teils um Routineproben von trockenzustellenden Kühen oder Frischabkalbern oder um Kühe mit Mastitiden oder Zellzahlerhöhungen handelte. Weitere Unterschiede zu KÜMPEL (2013) sind: eine Untersuchung von 14.157 Kühen statt 3.160, eine zweimalige Entnahme aller Viertelgemelke, die Beantwortung der Fragebögen ausschließlich durch Tierärzte sowie eine Prävalenzberechnung ohne eigens festgelegte Definition eines niedrig und hoch prävalenten Betriebes. Wei-

terhin wurde durch die vorliegende Studie nicht nur *S. aureus* sondern auch KNS untersucht.

5.2 Diskussion der Methode

In die Untersuchung gingen alle Kühe der Bestände bis auf die klinisch erkrankten ein, da bei diesen das Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung durch eine begonnene oder gar erfolgte Behandlung mit Antibiotika verfälscht worden wär. Der Berechnung der Nachweishäufigkeit von *S. aureus* und KNS lag die Entnahme von Viertelgemelksproben zugrunde, durch die der Infektionsstatus der Kühe genau ermittelt werden konnte und daher einer bakteriologischen Untersuchung von Tankmilch vorzuziehen ist. Für die jahreszeitliche Einteilung in der Untersuchung der Prävalenzen wurden zwei Kategorien festgelegt, wobei der Zeitraum vom 01.04. bis 30.09. als Sommer- und der 01.10. bis 31.03. als Winterhalbjahr galt. Ähnliche Untergliederungen liegen in der Literatur vor. So beschrieben HAND et al. (2012) die Monate Mai bis September als warme und Oktober bis April als kalte Jahreszeit. GHAVI HOSSEIN-ZADEH et al. (2011) teilten den in vorliegender Untersuchung beschriebenen Zeitraum Sommer zusätzlich in Frühling (April bis Juni) und Sommer (Juli bis September) auf. Weiter nahmen sie die Saison Herbst (Oktober bis Dezember) und Winter (Januar bis März) in ihre Studie auf. Aufgrund der Verteilung der Probennahmetermine in der vorliegenden Untersuchung konnte die Auswertung jedoch nur auf die Halbjahre Sommer und Winter beschränkt werden.

Zur Untersuchung der Melktagesklassen erfolgte eine Einteilung vom fünften bis 300. Tag der Laktation in 50er Tagesschritten. Dabei fand eine Orientierung an der MLP-Einteilung statt, die die Laktationen in Klassen mit einer Dauer von 100 Tagen strukturiert. Aufgrund des großen Datenmaterials dieser Studie ist die Bildung von Klassen mit kürzeren Zeiträumen gerechtfertigt. Das Ergebnis wird dadurch detaillierter. Da sich jedoch nur wenig untersuchte Kühe mit mehr als 300 Tagen in der Laktation befanden, erfolgte für diese die Bildung einer separaten Klasse mit einer Spanne von 100 Tagen.

Die Einteilung der Laktationsklassen fand anhand der Anzahl der Laktationen der Milchkühe statt. Aufgrund einer geringen Tierzahl mit mehr als drei Laktationen im Untersuchungszeitraum, umfasst diese vierte Klasse alle Ergebnisse von Kühen mit höherer Laktationszahl. Somit ergeben sich vier Gruppen mit annähernd gleicher Größe und eine damit verbundene gute statistische Vergleichbarkeit.

Die Milchleistungsergebnisse beruhen auf den MLP-Daten. Dabei wurden die Daten sowohl vor als auch nach der ersten und zweiten Probennahme ausgewertet, um auszuschließen, dass eine Verfälschung der Leistungsdaten durch eine nachfolgende Behandlung krank identifizierter Tiere vorlag. Durch die Teilnahme der Betriebe an der MLP stammen alle Ergebnisse aus demselben unabhängigen Untersuchungslabor. In vielen anderen Studien mit kleineren Datensätzen erfolgte die Auswertung der Milchproben mit dem jeweiligen zur Verfügung stehenden Instrumentarium im eigenen Labor (COULON et al., 2002; PARK et al., 2007; THORBERG et al., 2009). Dagegen bietet die langjährig durchgeführte und zertifizierte Analytik der Milchleistungsparameter im Labor des Thüringer Verbandes für Leistungs- und Qualitätsprüfungen in der Tierzucht e.V. (TVL e. V.) eine sichere Datengrundlage.

Alle zu untersuchenden Haltungs- und Hygienefaktoren wurden mittels Fragebögen erfasst, die die Anlagenleiter nach Betriebsrundgang im Gespräch mit den verantwortlichen Tierärzten des TGD Jena beantworteten. Diese Methode wurde gewählt, weil die Fachtierärzte für Rinder einen detaillierten Kenntnisstand zu Fragen der Melkhygiene und des Managements von Milchviehherden besitzen und dadurch die Situation in den jeweiligen Beständen sicher beurteilen können. Haltungs- und Managementparameter mittels Fragebögen zu bewerten, stellt eine geläufige Praxis dar. Dabei nutzten PEELER et al. (2000) postalische Umfragen, bei denen jedoch eine Kontrolle der gegebenen Antworten auf sachliche Richtigkeit nicht gegeben ist. Für eine persönliche Befragung entschieden sich BARKEMA et al. (1998), BARNOUIN et al. (2004) sowie DUFOUR et al. (2012). Sie trainierten zwar die Interviewer, diese waren jedoch nicht durchweg Tierärzte mit langjähriger Berufserfahrung und einem betriebsbezogenem Kenntnisstand. Ein dem hier vorliegenden ähnlich aufgebauten Fragebogen verwendete KÜMPEL (2013), um Faktoren für niedrig und hoch prävalente Betriebe mit durch *S. aureus* verursachter Mastitis zu finden. Dabei wurden Betriebe, die weniger als 4 % *S. aureus*-Euterinfektionen aufwiesen, als niedrig prävalent bezeichnet und mit hoch prävalenten Beständen verglichen, bei denen ein Vorkommen von mehr als 10 % vorlag. Die der Arbeit von KÜMPEL (2013) zugrunde liegenden Milchproben stammen von ausgewählten Kühen innerhalb der Betriebe. Die Auswahl trafen die Anlagenverantwortlichen oder die Melker. Durch die in der vorliegenden Untersuchung durchgeführte komplette Bestandskontrolle, bei der alle Melker auf eine richtige Probennahme besonders hingewiesen wurden, konnten dagegen subklinische wie auch chronische Infektionen erfasst werden. Durch die

zweimalige Probennahme konnten zudem die Kühe, die während der ersten Entnahme trockengestellt waren oder sich in Behandlung befanden, erfasst und untersucht werden. Durch die große Probenzahl wird bei der Gegenüberstellung aller *S. aureus*- sowie KNS-infizierten Tiere mit allen negativen Tieren der Bestände eine bessere Vergleichbarkeit der Leistungen erwartet, als bei einer geringeren Auswahl von entsprechenden Vergleichstieren oder einer Einteilung der Herden in niedrig und hoch prävalent (KÜMPEL, 2013).

5.3 Diskussion der Ergebnisse

5.3.1 Prävalenzuntersuchungen

Für die Prävalenzuntersuchungen gingen 81.567 Viertelgemelksproben in die Auswertung ein. Es konnten sowohl Differenzen auf Betriebs- als auch auf Euterviertelebene ermittelt werden. Die meisten Nachweise in der Milch lagen dabei für das rechte hintere Euterviertel vor. Dieses Ergebnis weist bei KNS-Euterinfektionen eine statistische Signifikanz auf, für *S. aureus* wird lediglich ein Trend deutlich. Signifikante Unterschiede in der Prävalenz traten auch bei den von REYHER et al. (2013) untersuchten KNS-Mastitiden mit dem geringsten Vorkommen im linken vorderen Viertel auf. Übereinstimmend zu der vorliegenden Untersuchung konnten die Autoren für *S. aureus*-Infektionen ebenfalls einen Trend zu einer Häufung in den rechten Vierteln aufzeigen. Weiterhin stellten ZADOKS et al. (2001) für *S. aureus* eine Häufung in der rechten Euterhälfte fest. Diese Seitenunterschiede können auf melktechnische Ursachen zurückgeführt werden, die beispielsweise durch eine schwere Erreichbarkeit einer Euterhälfte im Melkstand auftreten. Eine geringe Zugänglichkeit kann dabei sowohl eine eingeschränkte Beurteilung des Sekrets bedingen als auch die Durchführung der Desinfektion behindern und mit einer Erregerübertragung beim Melken einhergehen. Desweiteren besitzt das Liegeverhalten der Tiere einen Einfluss auf ein gehäuftes Vorkommen in einzelnen Vierteln (ZADOKS et al., 2001), was jedoch in der vorliegenden Untersuchung nicht beobachtet wurde. Die höheren Nachweisraten von KNS und *S. aureus* in den hinteren Vierteln, die von BARKEMA et al. (1997) sowie PARKER et al. (2007) bestätigt wurden, können vielmehr durch einen geringeren Abstand der hinteren Euterhälfte zum Boden auftreten. Dieser bedingt ein höheres Risiko von Trittverletzungen und Verschmutzungen.

In den Monaten April bis September wurden mehr *S. aureus*-Infektionen als von Oktober bis März nachgewiesen. Eine steigende Infektionsrate für den identischen Zeitraum ermittelten auch FOX et al. (1995) in den USA sowie ØSTERÅS et al. (2006) in Norwegen. Eine andere skandinavische Studie von WAAGE et al. (1999) untersuchte die saisonalen Schwankungen in zweimonatigen Perioden. Dabei gelang der größte Keimnachweis im späten Herbst bis frühen Winter. Ein Anstieg der Infektionen im Sommer kann durch die Kleine Weidestechfliege (*Haematobia irritans*) bedingt sein, die vor allem bei einer Weidehaltung als Infektionsüberträger in den Vordergrund tritt (OWENS et al., 1998). Durch eine vorrangig bestehende Stallhaltung der hier untersuchten Betriebe ist diese Ursache jedoch von untergeordneter Bedeutung. Im Sommer entsteht bei den Kühen durch die hohen Temperaturen Hitzestress. Dieser kann zu einer Immunsuppression und einer geringeren Abwehrleistung gegenüber den Erregern führen und eine höhere Prävalenz bedingen (OLDE RIEKERINK et al., 2007).

Die vorliegenden Untersuchungen weisen dagegen eine signifikant höhere Prävalenz von KNS-Infektionen mit 7,40 % im Winter nach. Übereinstimmend dazu liegt das Ergebnis der Studien von WAAGE et al. (1999) und OLDE RIEKERINK et al. (2007) vor. Die Häufigkeit der Nachweise bei WAAGE et al. (1999) schwankten jedoch beträchtlich und lassen keinen Infektionsschwerpunkt erkennen. In der Untersuchung von ØSTERÅS et al. (2006), bei der die Kühe von Mai bis September auf der Weide gehalten wurden, existierte die höchste Nachweisrate von Tieren mit KNS-Infektionen mit 8,40 % im April und Mai. Bei diesem Ergebnis kann wiederum ein Einfluss der Kleinen Weidestechfliege vorliegen. Sowohl in der eigenen Untersuchung als auch in der von WAAGE et al. (1999) wurden die meisten KNS-Vorkommen in der Milch in dem Zeitraum mit den geringsten *S. aureus*-Nachweisen gefunden. Dies kann auf einen möglichen protektiven Effekt der KNS gegenüber Infektionen mit *S. aureus* zurückzuführen sein, der in der Produktion von Bakteriziden, beispielsweise von Aureocin A70, besteht (DE VliegHER et al., 2004b; DOS SANTOS NASCIMENTO et al., 2005).

Es konnte ein gesicherter Anstieg der *S. aureus*-Nachweise in der Milch bis zum 250. Melktag beobachtet werden. Die Infektionsspitze in der 29. Woche entsteht durch eine Erhöhung der *S. aureus*-Infektionen innerhalb des Laktationszeitraumes, der durch eine lange Persistenz dieser Erreger verstärkt wird (BRAMLEY & DODD, 1984). Der in der vorliegenden Untersuchung nachgewiesene Anstieg der *S. aureus*-

Infektionen mit steigender Laktationsanzahl wird in mehreren Studien bestätigt (ZADOKS et al., 2001; OLDE RIEKERINK et al., 2007). KALMUS et al. (2006) zeigten in ihrer Untersuchung klinischer Mastitiden in elf Herden Estlands ein Vorkommen der Erreger von 1,5 % für Färsen und 7,3 % für pluripare Kühe auf. Bei der Betrachtung der Euterinfektionen der 34 Thüringer Herden wurde eine etwas geringere Prävalenzerhöhung bei multiparen Milchkühen auf 3,5 % festgestellt. Die beschriebene hohe Persistenz von *S. aureus*-Infektionen des Euters, die auch über die Trockenstehperiode hinaus andauern kann, lässt die Infektionen mit den Laktationen ansteigen. Die aufgrund der Erregerpersistenz entstehende Kumulation ist ein für das Betriebsmanagement wichtiger zu berücksichtigender Faktor. Bei den vorliegenden KNS-Nachweisen lag für Kühe in erster Laktation mit 8,33 % dagegen eine signifikant höhere Nachweisrate als für Pluripare vor. TAPONEN et al. (2007), die vorrangig subklinische Infektionen untersuchten, erfassten in ihrer Untersuchung einen Rückgang der Inzidenz von 25 % in der ersten auf 15,9 % in den folgenden Laktationen. Auch bei der Untersuchung klinischer Mastitiden konnte ein Abfall der Infektionsrate von Färsen (7,3 %) zu pluriparen Kühen (3,5 %) ermittelt werden, der sich bei DE HAAS et al. (2002) in Übereinstimmung zur vorliegenden Untersuchung als signifikant erwies. *S. aureus* wird vor allem mit dem Milchsekret übertragen. Dieser Weg ist bei Färsen im Zeitraum kurz vor der Geburt, in der schon Infektionen möglich sind, nicht gegeben. Es ist daher anzunehmen, dass die Umwelt bei der Entstehung der Färsenmastitiden einen entscheidenden Einflussfaktor darstellt. Durch das Vorkommen von KNS als opportunistische Keime am bovinen Euter und in der Umwelt, sind sie vor allem bei erstkalbenden Kühen von großer Bedeutung. Bei dieser Tiergruppe kann die Infektion durch eine besondere Empfänglichkeit und nicht durch die speziellen krankmachenden Eigenschaften der Bakterien bedingt sein. Da das Immunsystem von Färsen vor allem im Zeitraum vor und nach der Abkalbung zusätzlichen Belastungen wie Umstallung, Umgruppierung und Futterumstellung ausgesetzt ist, steigt die Anfälligkeit von Infektionen. Zusätzlich sind tierindividuelle Faktoren wie ein ungenügender Schluss der Zitzen, zu kurze oder zu weite Zitzen sowie eine vorzeitige Öffnung des Zitzenkanals prädisponierende Faktoren für ein Eindringen von KNS in das Euter (KRÖMKER, 2007).

Weiterhin bewirken einige KNS-Spezies, im Gegensatz zu *S. aureus*, nur transiente Infektionen, die selten über die Trockenstehperiode bestehen bleiben (THORBERG et al., 2009). In den folgenden Laktationen kann somit ein ähnliches Ausgangsniveau

wie vor der ersten Laktation angenommen werden. KNS als minor pathogens schädigen zudem das Eutergewebe bei transienten Infektionen nicht so stark wie *S. aureus*. Somit ist eine Ausheilung der Milchdrüse in der Trockenstehperiode möglich.

5.3.2 Milchleistungsergebnisse

Die Untersuchung der Milchmenge sowie des Fett- und Eiweißgehaltes von Kühen mit *S. aureus*-Nachweis ergaben nur geringfügige Abweichungen im Vergleich mit negativ getesteten Milchkühen. Dabei synthetisierten infizierte Tiere lediglich 0,16 kg/Tag weniger, was sich als zufallsbedingte Abweichung gegenüber der Milchmenge gesunder Kühe erwies. Einen geringen Milchrückgang bei *S. aureus*-Infektion ermittelten auch MYLLYS & RAUTALA (1995) sowie COULON et al. (2002). Bei COULON et al. (2002) wurde ein Euterviertel infiziert und dieses mit einem nicht infizierten derselben Kuh verglichen. Dabei hat sich ein mittlerer Rückgang der Milchproduktion am Tag der Mastitisbefundung sowie am darauffolgenden Tag um 1,6 kg im infizierten Viertel ergeben, der sich in Übereinstimmung mit dem Ergebnis dieser Studie als nicht signifikant erwies. Einen gesicherten Milchrückgang beschrieb dagegen KÜMPEL (2013), die 2030 *S. aureus*-positive Kühe aus hoch prävalenten Beständen und 1131 aus niedrig prävalenten mit negativen Milchkühen derselben Herden verglich. Dabei synthetisierten negative Kühe sowohl in hoch als auch niedrig prävalenten Beständen mehr Milch. Die Daten der vorliegenden Studie beruhen vor allem auf subklinischen *S. aureus*-Infektionen. Das Vorkommen von perakuten bis akuten Erkrankungen ist dagegen bei KÜMPEL (2013) nicht auszuschließen. Die mit einer subklinischen Infektion verbundene geringere Gewebsschädigung des Euterepithels sowie die geringere Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens der Kuh bedingen lediglich einen leichten Milchrückgang.

Die Verringerung des Fettgehaltes sowie die Veränderung im Proteingehalt erwiesen sich ebenfalls als nicht signifikant. Die Fett- und Eiweißsynthese scheint bei dieser Form der Euterinfektion nicht beeinträchtigt zu werden, da anzunehmen ist, dass die Kühe eine normale Futteraufnahme zeigen und somit alle Nährstoffe für die Milchproduktion zur Verfügung stehen. Einen gesicherten Rückgang im Fettgehalt fanden dagegen PARK et al. (2007) im Vergleich der Gruppe Koagulase-positiver Staphylokokken und *S. aureus* mit negativ befundeten Kühen vor. Dieser beträgt 0,41 %. Auch ein geringer Rückgang des Eiweißgehaltes lag in ihrer Untersuchung vor, die

30.019 Rohmilchproben umfasste. COULON et al. (2002) beschrieben dagegen einen gesicherten Proteinanstieg, der jedoch nur bei einer klinischen Infektion auftrat. Damit besitzt die Art der Euterentzündung auch auf diese Leistungsparameter Einfluss. Ein höherer Fett- und Proteingehalt in der Milch kam zudem in hoch prävalenten Beständen bei KÜMPEL (2013) vor. Diese Milchkühe scheinen jedoch nach Ansicht der Autorin leistungsstärker zu sein als Tiere in niedrig prävalenten Herden.

Es zeigte sich in der vorliegenden Untersuchung eine mit einer *S. aureus*-Infektion verbundene Reduktion des Laktosegehaltes um 0,02 % auf 4,70 %. Der geringe Unterschied zwischen infizierten und negativen Tieren konnte jedoch auf Betriebsebene nicht bestätigt werden. Ebenfalls eine Abnahme des Laktosegehaltes beschrieben COULON et al. (2002) sowie PARK et al. (2007). Auch hier entstand durch eine klinische Mastitis ein signifikant stärkerer Rückgang des Milchzuckers als bei subklinischem Krankheitsverlauf. Der Rückgang kann mit einer geringeren Nährstoffaufnahme durch reduzierten Appetit bei klinischer Mastitis in Verbindung stehen (SHUSTER et al., 1991).

Bei *S. aureus*-Eutererkrankungen erreicht der Zellzahlgehalt 218.524 Zellen/ml, die Milch negativer Kühe beinhaltet demgegenüber lediglich 52.613 Zellen/ml. Der Gehalt somatischer Zellen in der Milch ist eine wichtige Kennzahl für die Abwehrreaktion des Euters, da er nahezu ausschließlich durch Infektionen im Euterviertel beeinflusst wird (HARMON, 2001). Diese Immunreaktion ist bei der ermittelten hoch signifikanten Zellzahlerhöhung eindeutig gegeben und stimmt mit den Ergebnissen aus anderen Untersuchungen überein, bei denen der Anstieg des Zellgehaltes zum Teil noch stärker ausfiel und bei Einzeltieren 1.551.000 Zellen/ml erreichte (HARMON, 1994; DJABRI et al., 2002; SUPRÉ et al., 2011). Das Ausmaß der Zellzahlerhöhung wurde nach KÜMPEL (2013) zudem durch das Infektionsgeschehen innerhalb der Herden beeinflusst, da die Differenz im somatischen Zellgehalt zwischen positiven und negativen Kühen in hoch prävalenten Betrieben deutlich höher ausfällt als in Betrieben mit einer *S. aureus*-Nachweisrate von weniger als 4 %. Daher ist anzunehmen, dass weitere Faktoren im Bestand einen Einfluss auf die Reaktion in der Milchdrüse zeigen müssen.

Die Untersuchung der Milch KNS-infizierter Kühe mit einer Milchmenge von 28,86 kg ergibt auf Betriebsebene einen signifikanten Unterschied zu negativen Herdenmitgliedern und liegt 0,29 kg über der Milchmengenleistung der negativen Tiergruppe. Eine gesicherte Milchmengen Zunahme bei Infektion liefern ebenfalls die Untersu-

chungen von SCHUKKEN et al. (2009) mit 0,45 kg und PIEPERS et al. (2010). In die letzte Studie gingen KNS-Mastitiden, die in den ersten acht Tagen nach der Kalbung auftraten, ein. Bei diesen lag ein Leistungsanstieg von 2,9 kg im Zeitraum der ersten 200 Tage der Laktation vor. Keinen Einfluss subklinischer KNS-Infektionen auf die Milchmenge der ersten fünf Monate ermittelten demgegenüber KIRK et al. (1996). Betrachtet man dagegen akute Mastitiden bei Färsen, kann eine Milchmengenabnahme von 3,2 kg gefunden werden, die sich innerhalb der darauffolgenden Woche auf 1 kg verringert. Bei älteren Kühen ergab sich unter gleichen Bedingungen dagegen vielmehr eine höhere Produktion statt eines Leistungsabfalls (GRÖHN et al., 2004). Weiterhin üben die Dauer der Infektion sowie die Spezieszugehörigkeit der Erreger einen Einfluss aus. Transient infizierte Kühe produzieren häufig weniger Milch als persistent infizierte (THORBERG et al., 2009). Bei der Betrachtung der KNS-Spezies können zudem die Unterschiede in der Anpassungsfähigkeit und Virulenz zu Differenzen in der Milchmengenleistung führen. Diesbezüglich beschrieben SIMOJOKI et al. (2009) nur bei *S. chromogenes* einen Verlust von 16,3 %. Der Einfluss des Infektionsverlaufs und der Infektionsdauer der in der eigenen Untersuchung vorliegenden subklinischen Euterinfektionen sowie die nicht erfassten Speziesunterschiede innerhalb der Gruppe der KNS können zu einer höheren Milchmengenleistung im Vergleich zu negativen Kühen geführt haben.

Der Anstieg im Fettgehalt von 4,08 % auf 4,11 % in der Milch infizierter Tiere ist zwischen den Betrieben signifikant. Durch die starken Schwankungen zwischen den einzelnen Betrieben wird dagegen im Vergleich aller positiven und negativen Kühe kein relevanter Unterschied deutlich. Die Differenz im Eiweißgehalt ist gleich dem Fettgehalt innerhalb der Bestände signifikant, jedoch nominell gering. Die hohen F-Werte der Faktoren Laktations- und Melktagesklasse lassen zudem einen starken Einfluss dieser auf den Fett- sowie Eiweißgehalt der Milch sichtbar werden. Demgegenüber besitzt der Nachweis von KNS einen deutlich geringeren Einfluss. Im Laktosegehalt liegen keine gesicherten Unterschiede zwischen den Tiergruppen vor, was mit dem Ergebnis von SANTOS VEIGA et al. (2012) übereinstimmt, die eine vergleichende Untersuchung von KNS-infizierten und negativen Vierteln derselben Kühe durchführten. Bei subklinischen Euterinfektionen konnte von den Autoren ebenfalls keine Abweichung in der Milchzusammensetzung gefunden werden.

Die zugrundeliegende Untersuchung lieferte weiterhin einen signifikanten Zellzahlanstieg von 51.701 Zellen/ml in der Milch negativer Kühe auf 89.412 Zellen/ml in der

Milch KNS-infizierter Kühe. Dieser Anstieg im somatischen Zellgehalt stellt eine Abwehrreaktion der Kühe auf KNS dar, die jedoch im Vergleich zu der *S. aureus*-bedingten Immunantwort geringer ausfällt. Steigende Zellgehalte nach KNS-Infektion lassen sich auch durch andere Studien bestätigen (SCHUKKEN et al., 2009; PARADIS et al., 2010; PIEPERS et al., 2010). PIEPERS et al. (2010) ermittelten mit dieser Untersuchung vergleichbare Zellgehalte. Bei den von ihnen untersuchten 191 Färsen betrug der Zellgehalt in der Milch bakteriologisch negativer Tiere 53.000 Zellen/ml und 84.000 Zellen/ml in der Milch KNS-positiver Kühe. Die infizierten Viertel, die SANTOS VEIGA et al. (2012) in ihre Untersuchung aufnahmen, wiesen mit 242.540 Zellen/ml dagegen deutlich höhere Zellzahlen auf. SAMPIMON et al. (2009a), die die KNS-Infektionen auf dem Spezieslevel untersuchten, fanden bei einem geometrischen Mittel von 109.000 Zellen/ml bei drei KNS-Spezies einen höheren Zellgehalt in der Milch, der in etwa dem einer *S. aureus*-Infektion entspricht. Die Ergebnisse der dargestellten Studien bekräftigen die eigenen Ergebnisse und zeigen mit dem Anstieg der Zellen in der Rohmilch eine durch KNS ausgelöste erhöhte Immunabwehr im Eutergewebe auf.

5.3.3 Faktorenanalyse

Es konnten für zahlreiche Haltungparameter Unterschiede in der Prävalenz von Euterinfektionen mit *S. aureus* und KNS festgestellt werden. So besitzt die Anzahl der gehaltenen Kühe in den Beständen eine maßgebliche Bedeutung bei *S. aureus*-Infektionen, da mit einer Vergrößerung der Herden die Nachweishäufigkeit abnimmt. Auch BRADE et al. (2012) wiesen in großen Beständen bessere Werte für Eutergesundheit und Fruchtbarkeit nach. In den in Thüringen von Jahr zu Jahr abnehmenden kleineren Betrieben liegen die meisten gesundheitlichen Probleme vor, die oft auf eine ungenügende Tierkontrolle zurückzuführen sind. Dieser Sachstand wird durch die Aussage von BRADE et al. (2012), dass viele kleine Bestände ihre Kühe nur bei augenscheinlich schlechtem Allgemeinbefinden untersuchen, bestätigt. Auch KÖSTER et al. (2004), die kleinere Bestände mit durchschnittlich 225 Tieren größeren (durchschnittlich 311 Tiere) gegenüberstellten, konnten eine bessere Tierkontrolle für die größeren Bestände aufzeigen. In diesen wurde dazu der subjektive Faktor „Aufmerksamkeit der Melker“ mit gut beurteilt, der in Verbindung mit geringeren Zellgehalten in der Rohmilch stand. In der Arbeit von KÜMPEL (2013) konnte zudem der Hauptanteil der hoch prävalenten Bestände Herden mit weniger als 300

Tieren zugeteilt werden, was das vorliegende Ergebnis bestätigt. Die Herdenführung mit einer geregelten Tierkontrolle sowie einem gesicherten Hygiene- und Mastitismanagement stellt folglich einen wichtigen Faktor in der Minimierung von *S. aureus*-Infektionen dar.

Als weiterer wichtiger Einflussfaktor konnte der Zeitpunkt der Eingliederung von hochträchtigen Färsen in die Gruppe der trockenstehenden Kühe nachgewiesen werden. Dabei lag eine hohe Nachweisrate von *S. aureus* und KNS vor, wenn die Eingliederung in den letzten Trächtigungswochen oder direkt zum Geburtszeitraum erfolgt und eine niedrige, wenn eine Jungkuhgruppe gebildet wurde. Auch die Ergebnisse von KALMUS et al. (2006) sowie von KÜMPEL (2013) lassen die Problematik einer späten Umstallung der Färsen erkennen. Bei KALMUS (2006) stiegen klinische Eutererkrankungen bei Färsen deutlich an, wenn diese erst am Abkalbetag in den Abkalbestall gebracht werden. Ergänzend dazu wiesen BARKEMA et al. (1999) nach, dass ein Inzidenzanstieg klinischer Mastitiden vor allem in Beständen auftrat, in denen trächtige Färsen und Trockensteher gemeinsam gehalten wurden oder beide Tiergruppen in gemeinsamen Boxen abkalbten. In dieser Studie lag der Schwerpunkt auf einer Beobachtung klinischer Formen und nicht auf dem Nachweis der beteiligten Erreger subklinischer Euterinfektionen. Die Haltung einer separaten Jungkuhgruppe ist sinnvoll, da ein Gruppenwechsel der Tiere durch Etablierung einer neuen Rangordnung Stress und eine damit verbundene reduzierte Abwehrleistung auslöst. Die Empfänglichkeit der Färsen für Infektionen des Euters steigt damit an (KRÖMKER, 2007). Die Untersuchung von HASEGAWA et al. (1997) unterstützt die Empfehlung der Haltung einer extra Gruppe ohne Tierwechsel. Sie konnten nach Integration von Färsen in eine neue Tiergruppe eine sinkende Futteraufnahme sowie eine damit verbundene Reduktion der Milchmenge vorfinden. Weiterhin stellt der Kontakt von Färsen mit infizierten Kühen einen wichtigen Übertragungsweg von *S. aureus* dar. Durch eine spätere Eingliederung der Färsen kann die Prävalenz auf geringerem Niveau gehalten werden (ROBERSON et al., 1998).

Bei der Beurteilung der Haltungsbedingungen erfolgte eine Untersuchung der Trockensteher, der Kühe in der Hochleistung und der Tiere um den Abkalbzeitraum. Mäßig saubere Laufflächen sind gegenüber trockenen Laufgängen in allen Gruppen mit einer hohen *S. aureus*-Infektionsrate verbunden. Dies stimmt mit der Untersuchung von ELBERS et al. (1998) aus den Niederlanden überein, die in 171 Herden den Hygienestatus der Stallbereiche von Trockenstehern auf ihre Sauberkeit prüften.

Dabei fanden sie in Ställen, in denen keine reguläre Entmistung und Desinfektion durchgeführt wurde, mehr klinische *S. aureus*-Mastitiden vor. Verschmutzte Laufgänge sind folglich ein prädisponierender Faktor für subklinische und klinische Euterinfektionen mit diesen Erregern. Über die fäkalen Rückstände auf den Gängen kann *S. aureus* auf einfachem Wege zwischen den Kühen weiterverbreitet werden. Die Frequenz der Reinigung sollte daher mindestens einmal pro Tag betragen, damit Mist und Gülle entfernt werden und keinen Nährboden für die Bakterien bilden können. So erkannten BARNOUIN et al. (2004), dass in Herden mit niedriger Zellzahl eine mehrmals tägliche Reinigung öfter durchgeführt wurde als in Herden mit höheren Zellgehalten in der Milch. Da jedoch kein Keimnachweis erfolgte, ließ sich kein direkter Vergleich mit dieser Studie durchführen.

Keine rutschfesten Laufflächen gingen sowohl bei *S. aureus* als auch KNS mit einer Erhöhung der Nachweisrate einher. Rutschige Gänge und Wartehöfe steigerten ebenso die Inzidenzrate einer klinischen Mastitis in der Studie von BARNOUIN et al. (2005). Laut ihrer Hypothese führten diese glatten Flächen zu Stress und Euter-Verletzungen. Ausgrätschen kann diese Verletzungen des Euters verursachen, was jedoch in weiteren Untersuchungen überprüft werden müsste.

Die Art der Liegeflächen, die aufgrund der Uniformität in der Klassifizierung nur bei Trockenstehern ausgewertet werden konnte, zeigte ein größeres *S. aureus*- als auch KNS-Vorkommen in Liegeboxen als in Ställen mit Tiefstreu auf. Dagegen stehen die Beobachtungen von PEELER et al. (2000) und BARNOUIN et al. (2005), die eine höhere Inzidenzrate klinischer Mastitiden in Ställen mit Stroh als in Liegeboxen aufanden. Da sich im Stroh durch die Nässe Erreger gut vermehren können, wird diesem eine wichtige Rolle in der Verbreitung der Mastitiden zugeordnet (ELBERS et al., 1998). Ein wesentlicher Faktor, der in das Ergebnis der eigenen Beobachtungen einfließt, stellt die Verteilung der Betriebe in den Antwortmöglichkeiten dar. Hierbei wird deutlich, dass Liegeboxen vor allem in kleinen Betrieben mit hoher Staphylokokkenprävalenz genutzt wurden. Dies kann die Ursache des höheren Erregervorkommens im Vergleich zu einer Haltung auf Tiefstreu sein. Bei der Untersuchung der Liegeboxen wurde keine Beurteilung der Größe und baulichen Beschaffenheit durchgeführt. Die Länge der Liegeboxen besitzt jedoch laut DUFOUR et al. (2012) einen entscheidenden Einfluss auf die Prävalenz von *S. aureus*-Mastitiden. Durch eine zu kurze Liegebox, die häufig in kleineren sowie alten und noch nicht umgebauten Ställen aufzufinden ist, besteht die Möglichkeit einer steigenden Infekti-

onsrate. Weiterhin wurde die Sauberkeit dieser Liegeflächen in der vorliegenden Untersuchung erfasst. Es bestand bei den Trockenstehern auf sehr sauberen Flächen eine höhere Prävalenz als auf Liegeflächen eines normalen Zustandes. In der Leistungsherde zeigte sich dieses Geschehen gegenläufig. Dies kann verschiedene Ursachen haben. Einerseits ist die Einstreufrequenz entscheidend. Es können mehr klinische *S. aureus*-Mastitiden nachgewiesen werden, wenn weniger als ein Mal pro Woche eingestreut wird. Zusätzlich bewirkt eine Einstreuhöhe unter zwei Zentimeter eine Prävalenzerhöhung (ELBERS et al., 1998; DUFOUR et al., 2012). Andererseits führt eine zu hohe Reinigungsfrequenz der Ställe durch Hautirritationen nach häufigem Kontakt mit Desinfektionsmitteln zu einer hohen Rate klinischer Euterinfektionen mit *S. aureus* (SCHUKKEN et al., 1990; SCHUKKEN et al., 1991). Die weiterführende Untersuchung der Qualität und Reinigungsfrequenz der Liegeflächen würde einen Faktor darstellen, der Aufschluss über die Ursache der Prävalenzverteilung in Art und Sauberkeit der Liegeareale bewirken kann. PADUCH et al. (2013) konnten in ihrer Untersuchung keine signifikanten Differenzen in der Besiedlung des Zitzenkanals mit *S. aureus* bei der Verwendung von unterschiedlicher Einstreu finden. Sie schlussfolgerten daraus, dass eine Verbreitung über die infizierte Milch bei diesen Erregern eine wichtige Rolle spielt. Bei KNS-Infektionen wurde für die Sauberkeit der Liege- und Laufflächen kein Unterschied festgestellt. Da die KNS über das Milchsekret übertragen werden können, scheint der Melkakt bei diesen Staphylokokken eine größere Rolle zu spielen als die Hygiene im Stall (BARKEMA et al., 1999).

In der Untersuchung der Melktechnik und -hygiene wurde in Betrieben mit Nutzung eines Tandemmelkstandes die höchste Prävalenz von *S. aureus* im Milchsekret mit 20,94 % ermittelt. Auf dieses Ergebnis scheint jedoch die Bestandsgröße und das damit verbundene Management großen Einfluss zu haben, da fast ausschließlich die hoch prävalenten Betriebe mit weniger als 300 Tieren über einen Tandemmelkstand verfügen. Die meisten KNS-Nachweise lagen dagegen im Karussell-Melkstand vor. Bei der Arbeit in diesem Melkstand ist den Melkern durch die Rotation eine hohe Arbeitsgeschwindigkeit vorgegeben, die mitunter zu einer schlechteren Vor- und Nachbereitung der Euter führen kann (WORSTORFF, 1986). Dadurch kann mehr Schmutz am Euter verbleiben und die KNS, die sich in der Einstreu und Stallumgebung befinden, infizieren das Euter schneller. Weiterhin resultiert aus dem Einsatz einer Rohrmelkanlage im Abkalbestall eine Erhöhung der *S. aureus*-Prävalenz ge-

genüber der Nutzung des Melkstandes der Anlage. FADLELMOULA et al. (2007) wiesen bei Rohrmelkanlagen ein signifikant höheres Risiko für die Entwicklung neuer Mastitiden nach als bei Nutzung eines Karussells. Dabei untersuchten sie lediglich den Einfluss der Gruppen kontagiöser und umweltassoziierter Keime. Da Rohrmelkanlagen einen zusätzlichen Arbeitsaufwand in der Reinigung und Desinfektion mit sich bringen, besteht bei diesen ein größeres Risiko einer verbleibenden Verschmutzung sowie einer Biofilmbildung und bakteriellen Besiedlung im Leitungssystem.

Die Art der Melkzeugzwischendesinfektion stellte lediglich für *S. aureus* einen zu berücksichtigenden Faktor dar. Die höchste Prävalenz von 12,31 % wurde bei der Nutzung von Eimern und Schleppwannen festgestellt. Der Faktor Bestandsgröße besaß nachgewiesenermaßen Einfluss auf das Ergebnis, da Eimer vorwiegend in den kleinsten Beständen eingesetzt wurden. Die technische Desinfektion steht dagegen mit der geringsten *S. aureus*-Prävalenz in Verbindung, da gegenüber des manuellen Sprühens weniger Fehler durch Melker gemacht werden können. Ein weiterer Unterschied bei *S. aureus*-Euterinfektionen wurde bei der Euterreinigung mittels Mehrweglappen ermittelt. Obwohl mit diesen der Schmutz besser entfernt werden kann, als mit den nicht sehr strapazierfähigen Einwegtüchern, besteht dennoch bei mehrmaliger Verwendung eines nicht desinfizierten Lappens die Gefahr der Übertragung kontagiöser Keime wie *S. aureus*. Dagegen ist die KNS-Prävalenz bei Mehrwegnutzung niedriger. Durch die strapazierfähigen Lappen können die Euter gut gesäubert und somit die KNS vor dem Melken besser entfernt werden. Diese Reinigung ist wichtig, da sie als opportunistische Keime sowohl auf der Euterhaut als auch im Zitzenkanal vorkommen (DE VLIEGHER, 2003; TAPONEN et al., 2008). Verzichten die Betriebe dementsprechend auf die Managementmaßnahme der Desinfektion, steigt der Nachweis von *S. aureus*. Diese Reaktion ist auf die Kontagiösität des Erregers zurückzuführen und spielt daher bei *S. aureus* eine größere Rolle als bei KNS. Eine Verwendung von Mehrweglappen mit Desinfektionsmitteln ist somit bei allen Staphylokokken eine gute Prophylaxemaßnahme, weil mit Hilfe der Lappen nicht nur der Schmutz optimal entfernt werden kann, sondern zusätzlich die Abtötung der Erreger durch das Desinfizienz stattfindet. Daher sollten die Betriebe nicht auf eine Desinfektion bei Mehrwegreinigung verzichten. Weiterhin wurde ein signifikanter Prävalenzunterschied in der Nachweishöhe bei der verwendeten Wirkstoffgruppe der Zitzendesinfizienz nachgewiesen. Bei der Verwendung von Iod ist im Gegensatz zu Chlorhexidin zu beachten, dass eine variable Dosisabhängigkeit besteht (AZIZOGLU

et al., 2013). In der Untersuchung von WHIST et al. (2006) konnte das Zitzendippen mit einer ausreichend hohen Konzentration von Iod klinische Mastitiden reduzieren. Eine zu niedrige Konzentration von Iod im Dipp- oder Sprühmedium kann zu einer geringeren Keimreduktion und einem damit verbundenen Anstieg von Staphylokokkenmastitiden führen. Die Konzentration des verwendeten Iods wurde in der vorliegenden Untersuchung nicht erfasst und muss in weiteren Studien genauer untersucht werden. Die betreuenden Tierärzte raten in Herden mit einer hohen Keimbelastung zu einer Verwendung von dickflüssigen Lösungen. Von dünnflüssigen wird abgeraten, da sie mittels Sprühverfahren auf die Zitzenoberfläche gebracht werden und diese Art der Anwendung mit einer höheren Ungenauigkeit und unvollständigen Benetzung einhergeht. Dieser Grund kann die Ursache sein, dass alle Bestände mit hoher Prävalenz von Staphylokokkeninfektionen eine dickflüssige Textur bevorzugen und damit weniger *S. aureus*- sowie KNS-Infektionen bei der Verwendung von dünnflüssigen Lösungen vorliegen.

Die Sauberkeit der Euter vor der Reinigung beeinflusst die *S. aureus*-Prävalenz maßgeblich, da Verschmutzungen zu einem signifikanten Anstieg der Keimnachweise führen. Diverse Studien zeigten bei einer geringen Verschmutzung der Euter weniger klinische oder subklinische Mastitiden auf. Jedoch wurden bei diesen keine Erregerdifferenzierungen durchgeführt (GIOVANNI & ZECCONI, 2002; COMPTON et al., 2007; DE PINHO MANZI, 2012). Lediglich SCHREINER & RUEGG (2003) beschrieben für die Gruppe der kontagiösen Keime *S. aureus* und *Streptococcus agalactiae* eine Erhöhung der Prävalenz subklinischer Euterinfektionen mit 2,8 % bei sauberen Eutern auf 7,4 % bei sehr dreckigen. Für *minor pathogens*, zu denen die KNS gehören, wurde übereinstimmend zur vorliegenden Untersuchung kein Unterschied zwischen dem Grad der Sauberkeit festgestellt. Die Sauberkeit der Euter besitzt analog zur Sauberkeit der Liege- und Laufflächen einen größeren Einfluss auf *S. aureus*-Infektionen als auf KNS. Zusätzlich trägt die Hygiene im Melkstand mit regelmäßiger Wahrnehmung der Waschmöglichkeiten sowie einer guten Durchführung der Euterreinigung zur Verringerung von *S. aureus*-Infektionen bei. Die bei der Betrachtung der verwendeten Handwaschmöglichkeiten für Melker höhere Nachweisrate von *S. aureus* mit zusätzlicher Nutzung von Seife sowie Seife und Desinfektionsmitteln können als Reaktion der Bestände auf den bestehenden Keimdruck angesehen werden. Da bekannt ist, dass klinische Mastitiden mit *S. aureus* hohen wirtschaftlichen Schaden verursachen können, versuchen die Betriebe mit einer zusätz-

lichen Reinigung gegen dieses Problem vorzugehen. Dies reicht bei unsauberer Bedingungen im Stall sowie damit verbundenem mangelhaftem Kuhkomfort allein nicht zur Senkung der Infektionen aus. Bei den KNS-Nachweisen wurde dagegen in einem Großteil der hoch prävalenten Bestände nur Wasser verwendet, wodurch die meisten Infektionen bei dieser Art der Handwaschmöglichkeit vorlagen. Der Grund dafür könnte die Kenntnis der Betriebe über das Erregerspektrum in der Milchviehherde sein. Liegen wenig hochgradige Mastitiden vor und werden wenig Bakterien in der bakteriologischen Untersuchung identifiziert, wird auf zusätzliche Desinfektionsmaßnahmen verzichtet.

Das Mastitismanagement besitzt auf das Vorkommen der untersuchten Staphylokokkenspezies einen gleichmäßig starken Einfluss. Der geringste Nachweis ging mit der Auffassung einher, dass eine krankhafte Veränderung in der Milch durch Vorliegen einer Sekretveränderung ohne Flocken besteht. Durch ein rechtzeitiges Erkennen einer Mastitis kann diese erfolgsversprechender therapiert und damit die Heilungsrate verbessert werden (DVG, 2002). Der Zeitpunkt einer bakteriologischen Untersuchung von klinischen Mastitiden stellt einen relevanten Unterschied für die Nachweishäufigkeit dar. Durch eine sofortige Durchführung dieser Untersuchung kann die Infektionsrate mit *S. aureus* deutlich gesenkt werden. Eine bakteriologische Untersuchung besitzt bei Euterinfektionen mit KNS dagegen einen geringeren Einfluss, da ein Verzicht des Keimnachweises nicht mit einer Erhöhung der Prävalenz einhergeht. Möglicherweise erfolgt bei einem Nachweis von KNS keine Therapie, da diese Erreger von vielen Landwirten als relativ ungefährlich angesehen werden.

Die meisten *S. aureus*-Nachweise wurden in Herden, die eine Therapie von Kühen mit über 300.000 Zellen/ml in der Rohmilch vornahm, gefunden. Über 70 % der Betriebe, die dieses Therapieschema anwandten, lagen über dem arithmetischen Mittelwert der *S. aureus*-Prävalenzen von 3,14 %. Es ist anzunehmen, dass in diesen Herden die Behandlung als Reaktion auf das Zellzahlproblem bei 300.000 Zellen/ml begonnen wird, um die festgelegte Grenze von 400.000 Zellen/ml in der Anlieferungsmilch laut EU-Verordnung 853/2004 nicht zu überschreiten. Auch in der Untersuchung von KÜMPEL (2013) begannen 47,4 % der hoch prävalenten Bestände ihre Tiere bei einem Nachweis von mehr als 300.000 Zellen/ml zu behandeln. Bei den KNS-Infektionen ist dagegen zu erkennen, dass durch eine frühzeitige Behandlung von Kühen mit einem Milchzellgehalt von über 300.000 Zellen/ml eine geringere Prävalenz vorliegt, als bei späterer Behandlung von Kühen mit über einer Million Zellen.

Bei einer frühzeitigen Behandlung kann die Erregerprävalenz gesenkt und die Entwicklung von chronischen und teilweise schwer behandelbaren Infektionen reduziert werden. Die Durchführung einer bakteriologischen Untersuchung vor dem Trockenstellen wurde in über 80 % der Betriebe, deren *S. aureus*-Prävalenz unter der des arithmetischen Mittelwerts der untersuchten Betriebe liegt, nicht durchgeführt. Das Wissen über ein geringes Vorkommen von *S. aureus* kann ein Grund dafür sein. Daher ist das Auslassen einer bakteriologischen Untersuchung in gut geführten Herden häufig. Das diese Untersuchung jedoch eine sinnvolle Managementmaßnahme darstellt, zeigt die sehr hohe Nachweisrate von 19,64 % auf, die in Herden hoher Prävalenz bei alleiniger Untersuchung von Kühen mit Zellzahlerhöhung und Sekretveränderung auftritt. Die Kontrolle aller Tiere führt dagegen mit 8,30 % positiven Milchkühen zu einer geringeren Prävalenz. Die meisten KNS-Nachweise treten bei einer bakteriologischen Untersuchung aller Tiere auf. Dies kann mit dem Verzicht einer Therapie in Verbindung stehen, da die Notwendigkeit der Behandlung von KNS noch kontrovers diskutiert wird (HOEDEMAKER, 2012).

Ein weiterer relevanter Faktor im Mastitismanagement ist das abrupte Trockenstellen, bei dem signifikant weniger Staphylokokkennachweise ermittelt wurden als bei einem ausschleichenden Verfahren. Durch die abrupte Verfahrensweise können weniger Erreger in die Milchdrüse einwandern als bei ausschleichendem, weshalb ein zügiges Trockenstellen empfohlen wird (WINTER & ZEHLE, 2009). Mit einem schnellen Versiegen der Milchproduktion kann demzufolge die Prävalenz von KNS und *S. aureus* gesenkt werden.

Mit der Anwendung eines äußeren Zitzenverschlusses kann ebenfalls die Prävalenz von Staphylokokken im Euter minimiert werden, da sowohl für *S. aureus* als auch KNS mit einer Verwendung von Zitzenverschlüssen weniger Erregernachweise vorliegen als bei Verzicht auf diese. Der Zitzenverschluss stellt eine wichtige Barriere vor Infektionen dar, wenn er richtig temperiert auf die saubere und trockene Zitze aufgebracht und seine Anwendung mehrmalig wiederholt wird (LIM et al., 2007). Weiterhin spielt das gesamte Hygienemanagement in der Herde eine große Rolle, da durch den äußeren Zitzenversiegler keine Erreger abgetötet, sondern das Euter nur vor Neuinfektionen geschützt wird. So konnten WHIST et al. (2007) in ihrer Feldstudie mit 178 Herden in Norwegen keinen signifikanten Unterschied in der *S. aureus*-Prävalenz zwischen Iod-gedippten Kühen und Kühen mit Zitzenverschluss finden.

Bei Beachtung aller Einflussfaktoren stellt der äußere Versiegler dabei eine sinnvolle Maßnahme in der Senkung der Häufigkeit von Staphylokokkeninfektionen dar.

5.4 Schlussfolgerung

Es lassen sich durch die vorliegende Untersuchung folgende Erkenntnisse ableiten:

Die Zunahme der *S. aureus*-Nachweise im Laktationsverlauf bis zum 250. Tag zeigt, dass Euterinfektionen mit *S. aureus* die Kühe aller Laktationsstadien betreffen.

Zudem macht die Erhöhung der Erregerprävalenz mit steigender Laktationszahl eine verstärkte Kontrolle pluriparer Tiere auf *S. aureus*-Infektionen empfehlenswert. Dagegen steigt bei erstabkalbenden Kühen das Risiko einer KNS-Infektion.

Auf die Milchmenge und Milchzusammensetzung besitzen subklinische Euterinfektionen mit *S. aureus* und KNS lediglich einen geringen Einfluss. Durch die signifikante Erhöhung der Zellzahl in der Rohmilch wird jedoch eine mit dem Nachweis von Staphylokokken einhergehende erhöhte Abwehr deutlich, die bei *S. aureus*-Infektionen eine stärkere Ausprägung zeigt als bei KNS-Infektionen. Da diese Zellzahlerhöhung als Gütemerkmal die Rohmilchqualität negativ beeinflusst, sollten auch Kühe mit KNS-Nachweis in Maßnahmen zur Senkung der Tankmilchzellzahl einbezogen werden.

Zahlreiche Unterschiede in den Bereichen Haltung, Melktechnik und Melkhygiene sowie im Umgang mit Mastitiden konnten in Herden in Abhängigkeit zur Nachweishäufigkeit der Erreger dargestellt werden. Im Einzelnen lassen sich folgende Empfehlungen ableiten:

- Jungkühe sollten in einer gesonderten Jungkuhgruppe gehalten werden.
- Saubere Liege- und Laufflächen sind zu gewährleisten sowie rutschige Stallgänge zu vermeiden.
- Die Verwendung einer Rohmelkanale im Abkalbestall steht in Verbindung mit einem vermehrten Auftreten von *S. aureus*-Euterinfektionen, weshalb dem Hygienemanagement dieser Anlagen eine hohe Bedeutung zukommen sollte.
- Zur Eindämmung der *S. aureus*-Infektion ist die Verwendung technischer Einrichtungen zur Melkzeugzwischeninfektion empfehlenswert. Eimer gehen mit einem erhöhten Infektionsrisiko einher.

- Desinfizierte Mehrweglappen stellen aus Sicht der Prophylaxe von Staphylokokkeninfektionen die beste Möglichkeit zur Euterreinigung dar und sind Einweg-Eutertüchern überlegen.
- Auf saubere Euter und eine gute Euterreinigung vor dem Melken sollte als wichtige Maßnahme in der Prophylaxe von *S. aureus*-Euterinfektionen geachtet werden.
- Ein schnelles Erkennen von Sekretveränderungen der Milch mit Berücksichtigung auch geringer Abweichungen vom Milchcharakter sowie einer sofortigen bakteriologischen Untersuchung bei klinischen Eutererkrankungen steht in Verbindung mit einer geringeren Häufigkeit von Staphylokokkeninfektionen der Milchdrüse.
- Eine höhere Prävalenz von *S. aureus* liegt in Herden vor, wenn nur Kühe mit Zellzahlerhöhung und Sekretveränderung in die bakteriologischen Untersuchungen einbezogen werden.
- Ein abruptes Trockenstellen ist dem ausschleichendem vorzuziehen.
- Die Verwendung von Zitzenverschlüssen kann Euterinfektionen mit Staphylokokken vorbeugen.

6 Zusammenfassung

Ziele dieser Studie waren es, Unterschiede in der Prävalenz von Euterinfektionen mit *Staphylococcus (S.). aureus* und Koagulase-negativen Staphylokokken (KNS) aufzuzeigen und die Auswirkungen einer Infektion mit diesen Erregern auf die Milchleistung und -qualität darzustellen. Zudem sollte die Bedeutung der Faktoren Jahreszeit und Laktationsstand auf die Prävalenz von Staphylokokkeninfektionen geprüft werden.

In die Studie wurden 34 Thüringer Milchviehherden einbezogen, in denen eine zweimalige Milchprobennahme bei allen laktierenden Kühen im Abstand von fünf bis neun Monaten erfolgte. In die bakteriologische Untersuchung gingen 81.567 Viertelgemelksproben von 14.157 Kühen ein. Weiterhin erfolgte durch die betreuenden Tierärzte im Betrieb eine Datenerhebung mittels Fragebogen, der Informationen über die Tierhaltung, die Melktechnik und Melkhygiene sowie das Mastitismanagement erhebt. Grundlage für die Auswertung der Leistungsparameter waren die Daten der Milchleistungsprüfung.

Folgende relevante Ergebnisse wurden erzielt:

- Einen signifikanten Einfluss auf die Nachweisrate beider Keime übten die Bestände sowie die Jahreszeiten aus. Es wurden mehr *S. aureus*-Infektionen im Sommer und mehr KNS-Nachweise im Winter ermittelt ($p < 0,001$).
- Die Untersuchung der Erregerprävalenz auf Viertelebene lieferte für KNS ein höheres Vorkommen auf dem rechten hinteren Euterviertel ($p = 0,031$).
- Die Nachweise von *S. aureus* nahmen im Laktationsverlauf bis zum 250. Tag ($p < 0,001$) und mit der Laktationszahl ($p < 0,001$) zu.
- KNS waren häufiger bei primiparen Kühen im Milchsekret nachzuweisen ($p < 0,001$).
- Euterinfektionen mit *S. aureus* verursachten einen Anstieg der Zellzahl in der Milch auf 218.524 Zellen/ml ($p < 0,001$).
- Bei Kühen mit KNS-Nachweis stieg die Zellzahl auf 89.412 Zellen/ml ($p < 0,001$).
- In Herden mit weniger als 300 Tieren wurden die meisten Nachweise von *S. aureus* ermittelt ($p < 0,001$).
- Das Zusammenbringen von Färsen und Kühen vor und zur Abkalbung geht mit den höchsten *S. aureus*- und KNS-Prävalenzen einher ($p < 0,001$).

- Auf mäßig sauberen Laufflächen wurden mehr *S. aureus*-Nachweise festgestellt als auf vorwiegend trockenen Flächen ($p < 0,001$).
- Rutschige Laufflächen standen mit einem hohen Nachweis von *S. aureus* bei Trockenstehern und in der Leistungsherde ($p < 0,001$) sowie bei Kühen im Abkalbestall ($p = 0,015$) in Verbindung.
- Die höchste Prävalenz wurde für *S. aureus* im Auto-Tandem-Melkstand ($p < 0,001$) und für KNS im Karussell-Melkstand ermittelt ($p = 0,002$).
- Für Frischabkalber wurde eine *S. aureus*-Prävalenz von 9,07 % bei einer Verwendung von Rohrmelkanlagen und 7,32 % bei der Nutzung des Melkstandes der Anlage ermittelt ($p = 0,008$).
- Die Verwendung einer technischen Melkzeugzwischen-Desinfektion stand im Vergleich zu einer Desinfektion mittels Eimer und Schleppwanne und der Sprühdesinfektion in Verbindung mit dem geringsten Vorkommen von *S. aureus* ($p < 0,001$).
- In Herden mit einer Euterreinigung durch Mehrweglappen und Desinfektionsmittel lagen für *S. aureus* und für KNS bei Frischabkalbern die geringsten Prävalenzen vor ($p < 0,001$).
- Eine höhere Nachweisrate von Staphylokokken ergab die Desinfektion mit Iod im Vergleich zu anderen DVG-geprüften Desinfektionsmitteln (*S. aureus* $p = 0,002$; KNS $p = 0,023$).
- Für ein dickflüssiges Zitzendesinfizienz wurde in der Leistungsherde ein höheres Vorkommen von KNS ($p = 0,007$) und im Abkalbestall für *S. aureus* ($p = 0,033$) als auch für KNS ($p < 0,001$) ermittelt.
- In Herden mit kaum verschmutzten Eutern, einer regelmäßigen Verwendung der Euterdusche sowie einer gut durchgeführten Euterreinigung zeigt sich das geringste Vorkommen von *S. aureus* ($p < 0,001$).
- Bei einem frühzeitigen Feststellen von Sekretveränderungen wurde die geringste Nachweisrate von *S. aureus* ($p < 0,001$) und KNS ($p = 0,010$) vorgefunden.
- Die geringste *S. aureus*-Infektionsrate wurde bei einer sofortigen bakteriologischen Untersuchung klinischer Mastitisfälle ermittelt ($p < 0,001$).
- Bei abrupten Trockenstellen zeigt sich im Vergleich zu einem ausschleichenden ein geringerer Nachweis von Staphylokokken in den Herden ($p < 0,001$).
- Die Prävalenzen von *S. aureus* und KNS waren bei einem Verzicht auf Zitzenverschlüsse höher als bei Verwendung dieser ($p < 0,001$).

Schlussfolgernd sollten die genannten Faktoren in den Bereichen der Haltung, Melktechnik und –hygiene sowie im Mastitismanagement Berücksichtigung in Milchviehherden finden.

Summary

The goal of this study is at first to identify differences in the prevalence of intramammary infections with *Staphylococcus (S.) aureus* and Coagulase negative staphylococci (CNS) and secondly, to highlight the effects of such an infection on milk production and quality. It furthermore aimed to identifying the relevance of factors such as season and stage of lactation for prevalence of intramammary infections with staphylococci.

In this study, all lactating cows of 34 Thuringian dairy farms were monitored. The milk samples were carried out on each farm twice with an interval of five to nine months. In total, 81,567 quarter milk samples of 14,157 cows were made. The dairy workers involved were also given a questionnaire with the veterinarian to provide all information on husbandry, milking, milk hygiene and mastitis management. The calculation of the milk parameters were based on the dairy herd improvement test data.

The relevant results are as follows:

- The farms and the season had a significant impact on the verifiable presence of both bacteria species in milk samples. In summer, more *S. aureus*-infections were found, whereas in winter CNS were more common ($p < 0.001$)
- The investigation into mastitis prevalence at quarter level provided firm results for CNS. The highest prevalence was found on the quarter rear right ($p = 0.031$).
- There was an increase in the number of *S. aureus*-infections up to the 250th milking day and over the numbers of lactation ($p < 0.001$).
- CNS were found more often amongst primiparous cows ($p < 0.001$).
- Intramammary infections with *S. aureus* rose up the somatic cell count significantly to 218,524 cells/ml ($p < 0.001$).
- Cows with CNS-infections showed an increasing somatic cell count to 89,412 cells/ml ($p < 0.001$).
- In small herds with less than 300 cows most infections with *S. aureus* were found ($p < 0.001$).
- When heifers and cows getting together before and in time of calving the highest prevalences of *S. aureus* and CNS were present ($p < 0.001$).
- There were more detections of *S. aureus* on areas with poor cleanliness than on dry areas ($p < 0.001$).
- The highest prevalences in the groups of dry cows, the lactating herd ($p < 0.001$) as well as cows in gestation ($p = 0.015$) were on slippery walking areas.

- Most *S. aureus*-infections were detected in auto-tandems ($p < 0.001$) and most CNS-infections in rotary parlours ($p = 0.002$).
- The *S. aureus*-prevalence of cows in the beginning of lactation was 9.07 % by using piped milking machine and 7.32 % by using the parlour of the other cows in the herd ($p = 0.008$).
- The use of technical components for disinfecting milking equipment showed lower *S. aureus*-prevalences than disinfection with drag tubs or spraying ($p < 0.001$).
- The lowest prevalences of *S. aureus* and CNS in the milk of cows in the beginning of lactation were found in herds where udder get cleaned with reuseable towels and disinfectants ($p < 0.001$).
- Most detections of staphylococci were made when the teats were disinfect with iodine than with other disinfectants proofed by DVG (*S. aureus* $p = 0.002$; CNS $p = 0.023$).
- For cows in lactation most CNS ($p = 0.007$) and for cows in gestation most *S. aureus* ($p = 0.003$) and CNS ($p < 0.001$) were found in the milk by using viscous teat disinfectants.
- For *S. aureus*-infections there was a clear evidence of clean udders in time of milking, regular use of washing options for the udder and good udder cleaning ($p < 0.001$).
- Very fast recognition of a malign alteration keeps in touch with small prevalences of *S. aureus* ($p < 0.001$) and CNS ($p = 0.010$).
- The lowest prevalences of *S. aureus* were found by prompt bacteriological investigation of clinical mastitis cases ($p < 0.001$).
- An abrupt drying off cow management showed lower detections of staphylococci in the herds than a slow drying off regime ($p < 0.001$).
- Prevalences of *S. aureus* and CNS were higher when no teat sealers were used ($p < 0.001$).

In conclusion, the numerous factors of husbandry, milking, milk hygiene and mastitis management should get more consideration in herd management.

7 Literaturverzeichnis

Aarestrup, F. M.; Jensen, N. E. (1997): Prevalence and duration of intramammary infection in Danish heifers during the peripartum period. *J Dairy Sci* 80(2): 307-312.

Agger, I.; Willeberg, P. (1986): Epidemiology of teat lesions in a dairy herd. II. Associations with subclinical mastitis. *Nord Vet Med.* 38(4): 220-232.

Almeida, R. A.; Matthews, K. R.; Cifrian, E.; Guidry, A. J.; Oliver, S. P. (1996): Staphylococcus aureus invasion of bovine mammary epithelial cells. *J Dairy Sci.* 79(6): 1021-1026.

Anacker, Dr. G. (2009): Analyse der Abgangsursachen von Jungkühen in Thüringen, Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft. Themenblatt- Nr.:43.31.520: 10-15.

Anderson, K. L.; Lyman, R.; Moury, K.; Ray, D.; Watson, D. W.; Correa, M. T. (2012): Molecular epidemiology of Staphylococcus aureus mastitis in dairy heifers. *J Dairy Sci.* 95(9): 4921-4930.

Azizoglu, R. O.; Lyman, R.; Anderson, K. L. (2013): Bovine Staphylococcus aureus: dose response to iodine and chlorhexidine and effect of iodine challenge on antibiotic susceptibility. *J Dairy Sci.* 96(2): 993-999.

Baddour, L. M.; Tayidi, M. M.; Walker, E.; Mc Devitt, D.; Foster, T. J. (1994): Virulence of coagulase-deficient mutants of Staphylococcus aureus in experimental endocarditis. *J Med Microbiol.* 41(4): 259-263.

Balaban, N.; Rasooly, A. (2000): Staphylococcal enterotoxins, *Int J Food Microbiol.* 61(1): 1-10.

Bannerman, D. D.; Paape, M. J.; Lee, J. W.; Zhao, X.; Hope, J. C.; Rainard, P. (2004): Escherichia coli and Staphylococcus aureus elicit differential innate immune responses following intramammary infection. *Clin Diagn Lab Immunol.* 11(3): 463-472.

Barkema, H. W.; Schukken, Y. H.; Lam, T. J.; Galligan, D. T.; Beiboer, M. L.; Brand, A. (1997): Estimation of interdependence among quarters of the bovine udder with subclinical mastitis and implications for analysis. *J Dairy Sci.* 80(8): 1592-1599.

Barkema, H. W.; Schukken, Y. H.; Lam, T. J.; Beiboer, M. L.; Benedictus, G.; Brand, A. (1998): Management practices associated with low, medium, and high somatic cell counts in bulk milk. *J Dairy Sci.* 81(7): 1917-1927.

Barkema, H. W.; Schukken, Y. H.; Lam, T. J.; Beiboer, M. L.; Benedictus, G.; Brand, A. (1999): Management practices associated with the incidence rate of clinical mastitis. *J Dairy Sci.* 82(8): 1643-1654.

Barkema, H. W.; Green, M. J.; Bradley, A. J.; Zadoks, R. N. (2009): The role of contagious disease in udder health. *J Dairy Sci.* 92(10): 4717-4729.

- Barnouin, J.; Chassagne, M.; Bazin, S.; Boichard, D. (2004):** Management practices from questionnaire surveys in herds with very low somatic cell score through a national mastitis program in France. *J Dairy Sci.* 87(11): 3989–3999.
- Barnouin, J.; Bord, S.; Bazin, S.; Chassagne, M. (2005):** Dairy management practices associated with incidence rate of clinical mastitis in low somatic cell score herds in France. *J Dairy Sci.* 88(10): 3700-3709.
- Baselga, R.; Albizu, I.; Amonera, B. S. (1994):** Staphylococcus aureus capsule and slime as virulence factors in ruminants. A review. *Vet Microbiol.* 39(3-4): 195-204.
- Benites, N. R.; Guerra, J. L.; Melville, P. A.; da Costa, E. O. (2002):** Aetiology and Histopathology of Bovine Mastitis of Espontaneous Occurrence. *J of Vet Med.* 49(8): 366–370.
- Bhakdi, S.; Trantum-Jensen, J. (1991):** Alpha-toxin of Staphylococcus aureus. *Microbiol Rev.* 55(4): 733–751.
- Bhutto, A. L.; Murray, R. D.; Woldehiwet, Z. (2010):** Udder shape and teat-end lesions as potential risk factors for high somatic cell counts and intramammary infections in dairy cows. *Vet J.* 183(1): 63-67.
- Bigger, J. W.; Boland, C. R.; O'Meara, A. R. (1927):** Variant colonies of Staphylococcus aureus. *J Pathol Bacteriol.* 30(2): 261- 269.
- Blobel, H.; Schliesser, T. (1994):** Staphylokokken-Infektionen und Enterotoxine. In: *Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren II*, 1. Blobel, H.; Schliesser, T. (Hrsg.): Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Boerlin, P.; Kuhnert, P.; Hüssy, D.; Schaellibaum, M. (2003):** Methods for identification of Staphylococcus aureus isolates in cases of bovine mastitis. *J Clin Microbiol.* 41(2): 767-771.
- Borm, A. A.; Fox, L. K.; Leslie, K. E.; Hogan, J. S.; Andrews, S. M.; Moyes, K. M.; Oliver, S. P.; Schukken, Y. H.; Hancock, D. D.; Gaskins, C. T.; Owens, W. E.; Norman, C. (2006):** Effects of prepartum intramammary antibiotic therapy on udder health, milk production, and reproductive performance in dairy heifers. *J Dairy Sci.* 89(6): 2090–2098.
- Boynukara, B.; Gulhan, T.; Gurturk, K.; Alisarli, M.; Ogun, E. (2007):** Evolution of slime production by coagulase- negative staphylococci and enterotoxigenic characteristics of Staphylococcus aureus strains isolated from various human clinical specimens. *J Med Microbiol.* 56(10): 1296-1300.
- Brade, W. (2012):** Intensive Tierhaltung und Tiergerechtheit - eine fachliche Diskussion am Beispiel der Milchrinderhaltung, *Prakt Tierarzt* 93(1): 50-58.
- Bradley, A. J. (2002):** Bovine mastitis: an evolving disease. *Vet J.* 164(2): 116-128.

- Bradley, A. J.; Leach, K. A.; Breen, J. E.; Green, L. E.; Green, M. E. (2007):** Survey of the incidence and aetiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. *Vet Rec.* 160(8): 253–257.
- Bramley, A. J.; Dodd, F. H. (1984):** Reviews of the progress in dairy science: mastitis control-progress and prospects. *J Dairy Res.* 51(3): 481-512.
- Brown, M. R.; Foster, J. H.; Clamp, J. R. (1969):** Composition of *Pseudomonas aeruginosa* slime. *Biochem J.* 112(4): 521-525.
- Brückler, J.; Schaeg, W.; Blobel, H. (1974):** Untersuchungen am „Clumping Factor“ von *Staphylococcus aureus*. *Zentralbl Bakteriolog Orig A.* 227(1-4): 228-230.
- Brun, Y.; Bes, M.; Boeufgras, J. M.; Monget, D.; Fleurette, J.; Auckenthaler, R.; Devriese, L. A.; Kocur, M.; Marples, R. R.; Piemont, Y.; Poutrel, B.; Schumacher-Perdreau, F. (1990):** International collaborative evaluation of the ATB 32 Staph gallery for identification of the staphylococcus species. *Zentralbl Bakteriolog.* 273(3): 319-326.
- Capurro, A.; Concha, C.; Nilsson, L.; Östensson, K. (1999):** Identification of coagulase-positive staphylococci isolated from bovine milk. *Acta vet scand* 40(4): 315-321.
- Capurro, A.; Artursson, K.; Waller, K. P.; Bengtsson, B.; Ericsson-Unnerstad, H.; Aspan, A. (2009):** Comparison of a commercialized phenotyping system, antimicrobial susceptibility testing, and *tuf* gene sequence-based genotyping for species-level identification of coagulase-negative staphylococci isolated from cases of bovine mastitis. *Vet Microbiol.* 134(3-4): 327-333.
- Cha, E.; Bar, D.; Hertl, J. A.; Tauer, L. W.; Bennett, G.; González, R. N.; Schukken, Y. H.; Welcome F. L.; Gröhn, Y. T. (2011):** The cost and management of different types of clinical mastitis in dairy cows estimated by dynamic programming. *J Dairy Sci.* 94(9): 4476-4487.
- Chaffer, M.; Leitner, G.; Winkler, M.; Glickman, A.; Krifucks, O.; Ezra, E.; Saran, A. (1999):** Coagulase-negative staphylococci and mammary gland infections in cows. *Zentralbl Veterinärmed B.* 46(0): 707–712.
- Cheng, A. G.; McAdow, M.; Kim, H. K.; Bae, T.; Missiakas, D. M. (2010):** Contribution of coagulases towards *Staphylococcus aureus* disease and protective immunity. *PLoS Pathog.* 6(8) e1001036.
- Compton, C. W.; Heuer, C.; Parker, K.; McDougall, S. (2007):** Epidemiology of mastitis in pasture-grazed peripartum dairy heifers and its effects on productivity. *J Dairy Sci.* 90(9): 4157-4170.
- Coulon, J. B.; Gasqui, P.; Barnouin, J.; Ollier, A.; Pradel, P.; Pomiès, D. (2002):** Effect of mastitis and related-germ on milk yield and composition during naturally-occurring udder infections in dairy cows. *Anim Res.* 51(3): 383–393.

Craven, N.; Anderson, J. C. (1984): Phagocytosis of *Staphylococcus aureus* by bovine mammary gland macrophages and intracellular protection from antibiotic action. *J Dairy Res.* 51(4): 513-523.

Daniel, R. C.; Barnum, D. A.; Leslie, K. E. (1986): Observations on intramammary infections in first calf heifers in early lactation. *Can Vet J.* 27(3): 112-115.

De Haas, Y.; Barkema, H. W.; Veerkamp, R. F. (2002): The effect of pathogen-specific clinical mastitis on the lactation curve for somatic cell count. *J Dairy Sci.* 85(5): 1314-1323.

De Vliegheer, S.; Laevens, H.; Devriese, L. A.; Opsomer, G.; Leroy, J. L. M.; Barkema, H. W.; De Kruif, A. (2003): Parturition teat apex colonization with *Staphylococcus chromogenes* in dairy heifers is associated with low somatic cell count in early lactation. *Vet Microbiol.* 92(3): 245–252.

De Vliegheer, S.; Barkema, H. W.; Stryhn, H.; Opsomer, G.; De Kruif, A. (2004a): Impact of early lactation somatic cell count in heifers on somatic cell counts over the first lactation. *J Dairy Sci.* 87(11): 3672–3682.

De Vliegheer, S.; Opsomer, G.; Vanrolleghem, A.; Devriese, L. A.; Sampimon, O. C.; Sol, J.; Barkema, H. W.; Haesebrouck, F.; De Kruif, A. (2004b): In vitro growth inhibition of major mastitis pathogens by *Staphylococcus chromogenes* originating from teat apices of dairy heifers. *Vet Microbiol.* 101(3): 215-221.

De Vliegheer, S.; Barkema, H. W.; Opsomer, G.; De Kruif, A.; Duchateau, L. (2005): Association between somatic cell count in early lactation and culling of dairy heifers using cox frailty models. *J Dairy Sci.* 88(2): 560–568.

Devriese, L. A.; Hájek, V. (1980): Identification of pathogenic staphylococci isolated from animals and foods derived from animals. *J Appl Bacteriol.* 49(1): 1-11.

Devriese, L. A.; Laevens, H.; Haesebrouck, F.; Homme, J. (1994): A simple identification scheme for coagulase negative staphylococci from bovine mastitis. *Res Vet Sci.* 57(2): 240-244.

Devriese, L. A.; Vancanneyt, M.; Baele, M.; Vanechoutte, M.; De Graef, E.; Snauwaert, C.; Cleenwerck, I.; Dawyndt, P.; Swings, J.; Decostere, A.; Haesebrouck, F. (2005): *Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase-positive species from animals. *Int J Syst Evol Microbiol.* 55(4): 1569-1573.

De Pinho Manzi, M.; Nóbrega, D. B.; Faccioli, P. Y.; Troncarelli, M. Z.; Menozzi, B. D.; Langoni, H. (2012): Relationship between teat-end condition, udder cleanliness and bovine subclinical mastitis. *Res Vet Sci.* 93(1): 430-434.

Dinges, M. M.; Orwin, P. M.; Schlievert, P. M. (2000): Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev.* 13(1): 16-34.

Djabri, B.; Bareille, N.; Beaudeau, F.; Seegers, H. (2002): Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. *Vet Res.* 33(4): 335-357.

Dos Santos Nascimento, J.; Fagundes, P. C.; De Paiva Brito, M. A.; Dos Santos, K. R.; Do Carmo de Freire Bastos, M. (2005): Production of bacteriocins by coagulase-negative staphylococci involved in bovine mastitis. *Vet Microbiol.* 106(1-2): 61-71.

Dufour, S.; Dohoo, I. R.; Barkema, H. W.; Descôteaux, L.; Devries, T. J.; Reyher, K. K.; Roy, J. P.; Scholl, D. T. (2012): Manageable risk factors associated with the lactational incidence, elimination, and prevalence of *Staphylococcus aureus* intramammary infections in dairy cows. *J Dairy Sci.* 95(3): 1283-1300.

DVG [Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft] (2002): Leitlinien zur Bekämpfung der Mastitis des Rindes als Bestandsproblem. Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V., 4. Aufl., Gießen.

DVG [Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft] (2009): Leitlinien zur Entnahme von Milchproben unter antiseptischen Bedingungen und Isolierung und Identifizierung von Mastitiserregern. Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V., 2. Aufl., Gießen.

Dziewanowska, K.; Patti, J. M.; Deobald, C. F.; Bayles, K. W.; Trumble, W. R.; Bohach, G. A. (1999): Fibronectin binding protein and host cell tyrosine kinase are required for internalization of *Staphylococcus aureus* by epithelial cells. *Infect Immun.* 67(9): 4673-4678.

Edwards, S. J.; Rippon, J. E. (1957): The characters and distribution of certain staphylococci pathogenic for the bovine udder. *J Comp Pathol.* 67(2): 111-125.

Edwards, S. J.; Smith, G. S. (1970): An experiment to test the value of hygienic measures in the control of staphylococcal infection of the dairy cow. *Br Vet J.* 126(2): 106-112.

Elbers, A. R.; Miltenburg, J. D.; De Lange, D.; Crauwels, A. P.; Barkema, H. W.; Schukken, Y. H. (1998): Risk factors for clinical mastitis in a random sample of dairy herds from the southern part of the Netherlands. *J Dairy Sci.* 81(2): 420-426.

Espersen, F.; Clemmensen, I. (1982): Isolation of a fibronectin-binding protein from *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun.* 37(2): 526-531.

Fadlelmoula, A.; Fahr, R. D.; Anacker, K. G.; Swalve, H. H. (2007): The management practices associated with prevalence and risk factors of mastitis in large scale dairy farms in Thuringia, Germany. *Aust J Basic & Appl Sci.* 1(4): 751-755.

Foster, T. (2002): *Staphylococcus aureus*. In: *Molecular Medical Microbiology*. Sussmann, M. (Hrsg.): Academic Press, San Diego, 839-888.

Fox, L. K.; Gay, J. M. (1993): Contagious mastitis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 9(3): 475-487.

Fox, L. K. (2009): Prevalence, incidence and risk factors of heifer mastitis. *Vet Microbiol.* 134(1-2): 82-88.

Fox, L. K.; Chester, S. T.; Hallberg, J. W.; Nickerson, S. C.; Pankey, J. W.; Weaver, L. D. (1995): Survey of intramammary infections in dairy heifers at breeding age and first parturition. *J Dairy Sci.* 78(7): 1619-1628.

Freer, J. H.; Birbeck, T. H. (1982): Possible conformation of delta-lysin, a membrane-damaging peptide of *Staphylococcus aureus*. *J Theor Biol.* 94(3): 535–540.

Frost, A. J.; Wanasinghe, D. D.; Woolcock, J. B. (1977): Some factors affecting selective adherence of microorganisms in the bovine mammary gland. *Infect Immun.* 15(1): 245-253.

Gentilini, E.; Denamiel, G.; Betancor, A.; Rebuelto, M.; Rodriguez Fermepin, M.; De Torres, R. A. (2002): Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis in Argentina. *J. Dairy Sci.* 85(8): 1913-1917.

Ghavi Hossein-Zadeh, N.; Ardalan, M. (2011): Cow-specific risk factors for retained placenta, metritis and clinical mastitis in Holstein cows. *Vet Res Commun.* 35(6): 345-354.

Gillespie, B. E.; Owens, W. E.; Nickerson, S. C.; Oliver, S. P. (1999): Deoxyribonucleic acid fingerprinting of *Staphylococcus aureus* from heifer mammary secretions and from horn flies. *J Dairy Sci.* 82(7): 1581-1585.

Giovanni, G.; Zecconi, A. (2002): Field study on epidemiology of clinical mastitis in five Italian dairy herds. *Milchwissenschaften.* 57(2): 3-6.

Gröhn, Y. T.; Wilson, D. J.; Gonzalez, R. N.; Hertl, J. A.; Schulte, H.; Bennett, G.; Schukken, Y. H. (2004): Effect of pathogen-specific clinical mastitis on milk yield in dairy cows. *J Dairy Sci.* 87(10): 3358-3374.

Grönlund, U.; Hultén, C.; Eckersall, P. D.; Hogarth, C.; Persson Waller, K. (2003): Haptoglobin and serum amyloid A in milk and serum during acute and chronic experimentally induced *Staphylococcus aureus* mastitis. *J Dairy Res.* 70(4): 379-386.

Gouaux, J. E.; Braha, O.; Hobaugh, M.; Song, L.; Cheley, S.; Shustak, C.; Bayley, H. (1994): Subunit stoichiometry of staphylococcal alpha-hemolysin in crystals and on membranes: a heptameric transmembrane pore. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 91(26): 12828–12831.

Hamann, J.; Reichmuth, J. (1990): Compensatory milk production within the bovine udder: effects of short-term non-milking of single quarters. *J Dairy Res.* 57(1): 17-22.

Hand, K. J.; Godkin, A.; Kelton, D. F. (2012): Milk production and somatic cell counts: a cow-level analysis. *J Dairy Sci.* 95(3): 1358-1362.

Harmon, R. J. (1994): Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts, *J Dairy Sci.* 77(7): 2103-2112.

Harmon, R. J. (2001): Somatic cell counts: A primer. *Proc. National Mastitis Council Annual Meeting:* 3-9.

- Hasegawa, N.; Nishiwaki, A.; Sugawara, K.; Ito, I. (1997):** The effects of social exchange between two groups of lactating primiparous heifers on milk production, dominance order, behavior and adrenocortical response. *Appl Anim Behav Sci.* 51(1): 15-27.
- Hensen, S. M.; Pavčić, M. J.; Lohuis, J. A.; de Hoog, J. A.; Poutrel, B. (2000):** Location of *Staphylococcus aureus* within the experimentally infected bovine udder and the expression of capsular polysaccharide type 5 in situ. *J Dairy Sci.* 83(9): 1966-1975.
- Hibbit, K. G.; Cole, C. B.; Reiter, B. (1969):** Antimicrobial proteins isolated from the teat canal of the cow. *J Gen Microbiol.* 56(3): 365-371.
- Hoedemaker, M.; Korff, B.; Edler, B.; Emmert, M.; Bleckmann, E. (2001):** Dynamics of *Staphylococcus aureus* infections during vaccination with an autogenous bacterinin dairy cattle. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 48(5): 373-383.
- Hoedemaker, M. (2012):** Müssen Koagulase-negative Staphylokokken als Mastitiserreger therapiert werden? DVG-Tagung: Herausforderungen in der Zukunft der Mastitisbekämpfung. *Grub.* (152-157).
- Holderbaum, D.; Hall, G. S.; Ehrhart, L. A. (1986):** Collagen binding to *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun.* 54(2): 359-364.
- Horváth, G.; Mohamed A. I.; Varga, J.; Szemerédi, G.; Quarini, L.(1981):** Effect of subclinical mastitis on milk composition. *Acta Vet Acad Sci Hung.* 1981; 29(3): 271-276.
- Huijps, K.; De Vliegher, S.; Lam, T.; Hogeveen, H. (2009):** Cost estimation of heifer mastitis in early lactation by stochastic modeling. *Vet Microbiol.* 134(1-2): 121–127.
- Jarp, J. (1991):** Classification of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine clinical and subclinical mastitis. *Vet Microbiol.* 27(2): 151-158.
- Kalmus, P.; Viltrop, A.; Aasmäe, B.; Kask, K. (2006):** Occurrence of clinical mastitis in primiparous Estonian dairy cows in different housing conditions. *Acta Vet Scand.* 48(21): 1-6.
- Kamata, S.; Matsunaga, T.; Uchida, K.; Uchida, K. (1990):** Detection of causative bacteria for bovine mastitis and their susceptibility to β -lactam antibacterial agents. *Jpn J Antibiot.* 43(10): 1698-1712.
- Karakawa, W. W.; Sutton, A.; Schneerson, R.; Karpas, A.; Vann, W. F. (1988):** Capsular antibodies induce type-specific phagocytosis of capsulated *Staphylococcus aureus* by human polymorphonuclear leukocytes. *Infect Immun.* 56(5): 1090-1095.
- Kerouanton, A.; Hennekinne, J. A.; Letertre, C.; Petit, L.; Chesneau, O.; Brisabois, A. (2007):** Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France. *Int J Food Microbiol.* 115(3): 369-375.

King, J. O. (1969): The effects of different bacterial infections causing mastitis on the yield and quality of cow's milk. *Br Vet J.* 125(2): 57-62.

Kirchhofer, M.; Tavel, L. v.; Strabel, D.; Fournier, C.; Steiner, A.; Graber, H. U.; Kaufmann, T. (2007): Bestandsproblem: Eutergesundheit. Retrospektive Studie der vom Schweizerischen Rindergesundheitsdienst (RGD) von 1999 bis 2004 analysierten Betriebe. *Dtsch Tierärztl Wschr.* 114(9): 338- 344.

Kirk, J. H.; Wright, J. C.; Berry, S. L.; Reynolds, J. P.; Maas, J. P.; Ahmadi, A. (1996): Relationship of milk culture status at calving with somatic cell counts and milk production of dairy heifers during early lactation on a Californian dairy. *Prev Vet Med.* 28(3): 187–198.

Klein, D.; Flöck, M.; Khol, J. L.; Franz, S.; Stüger, H. P.; Baumgartner, W. (2005): Ultrasonographic measurement of the bovine teat: breed differences, and the significance of the measurements for udder health. *J Dairy Res.* 72(3): 296-302.

Kloos, W. E. (1980): Natural populations of the genus *Staphylococcus*. *Ann Rev Microbiol.* 34(1): 559-592.

Kloos, W. E.; Schleifer, K. H. (1986): Genus IV *Staphylococcus* Rosenbach 1884, In: *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Vol. 2., Sneath, P. H. A.; Mair, N. S.; Sharpe, M. E.; Holt, J. G. (Hrsg.): Williams and Wilkins, Baltimore: 1013-1035.

Kloos, W. E.; George, C. G. (1991): Identification of staphylococcus species and subspecies with the Micros Scan Pos ID and Rapid Pos ID panel systems. *J Clin Microbiol.* 29(4): 738-744.

Koivula, M.; Pitkälä, A.; Pyörälä, S.; Mäntysaari, E. A. (2007): Distribution of bacteria and seasonal and regional effects in a new database for mastitis pathogens in Finland. *Acta Agricult Scand. Sect A Anim Sci.* 57(2): 89-96.

Kossaibati, M. A.; Esslemont, R. J. (1997): The costs of production diseases in dairy herds in England. *Vet J.* 154(4): 41-51.

Köster, G. (2004): Einflüsse auf die Eutergesundheit und Verbreitung von Mastitiserregern sowie deren Resistenzlage in Brandenburger Milchviehbetrieben. [Dissertation med.vet.] Berlin, Freie Universität, Berlin.

Kuroishi, T.; Komine, K.; Kai, K.; Itagaki, M.; Kobayashi, J.; Ohta, M.; Kamata, S.; Kumagai, K. (2003): Concentrations and specific antibodies to staphylococcal enterotoxin-C and toxic shock syndrome toxin-1 in bovine mammary gland secretions, and inflammatory response to the intramammary inoculation of these toxins. *J Vet Med Sci.* 65(8): 899-906.

Krömker, V. (2007): Färsenmastitiden als Bestandsproblem. In: *Kurzes Lehrbuch Milchkunde und Milchhygiene*, Krömker, V. (Hrsg.): Parey Stuttgart, 72-73.

Krömker, V. (2010): Gesunde Euter - Gesunde Milch. Eutergesundheit - Maßnahmen zur Mastitisbekämpfung. Intervet Deutschland GmbH.

- Kümpel, M. (2013):** Untersuchung zur Auswirkung und Bedeutung von Risikofaktoren für *Staphylococcus aureus*-Infektionen des Euters in Thüringer Milchviehherden. [Dissertation med.vet.] Gießen, Justus-Liebig-Universität, Gießen.
- Lam, T. J.; Pengov, A.; Schukken, A.; Smit, Y. H.; Brand, A. (1995):** The differentiation of *Staphylococcus aureus* from other Micrococcaceae isolated from bovine mammary glands. *J Appl Bacteriol.* 79(1): 69-72.
- Langlois, B. E.; Harmon, R. J.; Akers, K. (1984):** Identification of *Staphylococcus* species of bovine origin with the DMS Staph-Trac system. *J Clin Microbiol.* 20(2): 227-230.
- Lim, G. H.; Leslie, K. E.; Kelton, D. F.; Duffield, T. F.; Timms, L. L.; Dingwell, R. T. (2007):** Adherence and efficacy of an external teat sealant to prevent new intramammary infections in the dry period. *J Dairy Sci.* 90(3): 1289-1300.
- Lindahl, M.; Holmberg, O.; Jonsson, P. (1990):** Adhesive proteins of haemagglutinating *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. *J Gen Microbiol.* 136(5): 935-939.
- Luthje, P.; Schwarz, S. (2006):** Antimicrobial resistance of coagulase-negative staphylococci from bovine subclinical mastitis with particular reference to macrolide-lincosamide resistance phenotypes and genotypes. *J Antimicrob Chemother.* 57(5): 966-969.
- Mamo, W.; Rozgonyi, F.; Brown, A.; Hjertén, S.; Wadström, T. (1987):** Cell surface hydrophobicity and charge of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci from bovine mastitis. *J Appl Bacteriol.* 62(3): 241-249.
- Mamo, W.; Fröman, G.; Wadström, T. (1988):** Interaction of subepithelial connective tissue components with *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci from bovine mastitis. *Vet Microbiol.* 18(5): 163-176.
- Marquardt, R. R.; Forster, T. L.; Spencer, G. R.; Stabenfeldt, G. H. (1966):** A-esterase activities of milk from cows with experimentally induced mastitis. *J of Dairy Sci.* 49(6): 631-635.
- Matos, J. S.; White, D. G.; Harmon, R. J.; Langlois, B. E. (1991):** Isolation of *Staphylococcus aureus* from sites other than the lactating mammary gland. *J Dairy Sci.* 74(5): 1544-1549.
- Matthews, K. R.; Oliver, S. P.; King, S. H. (1990):** Comparison of Vitek gram-positive identification system with API Staph-Trac system for species identification of staphylococci of bovine origin. *J Clin Microbiol.* 28(7): 1649-1651.
- Matthews, K. R.; Harmon, R. J.; Langlois, B. E. (1992):** Prevalence of *Staphylococcus* species during the periparturient period in primiparous and multiparous cows. *J Dairy Sci.* 75(7): 1835-1839.
- Mc Diarmid, A. (1947):** The carriage of *Staphylococcus aureus* in the milk and on the teats of normal cows. *Vet Rec.* 59(2): 11.

- Myllys, V. (1995):** Staphylococci in heifer mastitis before and after parturition. *J Dairy Res.* 62(1): 51-60.
- Myllys, V.; Rautala, H. (1995):** Characterization of clinical mastitis in primiparous heifers. *J Dairy Sci.* 78(3): 538-545.
- Neave, F. K.; Dodd, F. H.; Kingwill, R. G.; Westgarth, D. R. (1969):** Control of mastitis in the dairy herd by hygiene and management. *J Dairy Sci.* 52(5): 696-707.
- Nickerson, S. C.; Owens, W. E.; Boddie, R. L. (1995):** Mastitis in dairy heifers: initial studies on prevalence and control. *J Dairy Sci.* 78(7): 1607–1618.
- Ogston, A. (1883):** Micrococcus poisoning. *J Anat Physiol.* 17(1): 24-58.
- Ohshima, Y.; Schumacher-Perdreau, F.; Peters, G.; Quie, P. G.; Pulverer, G. (1990):** Antiphagocytic effect of the capsule of *Staphylococcus simulans*. *Infect Immun.* 58(5): 1350-1354.
- Olde Riekerink, R. G.; Barkema, H. W.; Kelton, D. F.; Scholl, D. T. (2007):** Incidence rate of clinical mastitis on Canadian dairy farms. *J Dairy Sci.* 91(4): 1366-1377.
- Østerås, O.; Sølverød, L.; Reksen, O. (2006):** Milk culture results in a large Norwegian survey - effects of season, parity, days in milk, resistance, and clustering. *J Dairy Sci.* 89(3): 1010–1023.
- Owens, W. E.; Oliver, S. P.; Gillespie, B. E.; Ray, C. H.; Nickerson, S. C. (1998):** Role of horn flies (*Haematobia irritans*) in *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in dairy heifers. *Am J Vet Res.* 59(9): 1122-1124.
- Paduch, J. H.; Mohr, E.; Krömker, V. (2013):** The association between bedding material and the bacterial counts of *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis* and coliform bacteria on teat skin and in teat canals in lactating dairy cattle. *J Dairy Res.* 80(2): 159-164.
- Paradis, M.-È.; Bouchard, É.; Scholl, D. T.; Miglior, F.; Roy, J. P. (2010):** Effect of nonclinical *Staphylococcus aureus* or coagulase-negative staphylococci intramammary infection during the first month of lactation on somatic cell count and milk yield in heifers. *J Dairy Sci.* 93(7): 2989-2997.
- Park, Y. K.; Koo, H. C.; Kim, S. H.; Hwang, S. Y.; Jung, W. K.; Kim, J. M.; Shin, S.; Kim, R. T.; Park, Y. H. (2007):** The analysis of milk components and pathogenic bacteria isolated from bovine raw milk in Korea. *J Dairy Sci.* 90(12): 5405-5414.
- Park, J. Y.; Fox, L. K.; Seo, K. S.; Mc Guire, M. A.; Park, Y. H.; Rurangirwa, F. R.; Sicho, W. M.; Bohach, G. A. (2011):** Detection of classical and newly described staphylococcal superantigen genes in coagulase-negative staphylococci isolated from bovine intramammary infections. *Vet Microbiol.* 147(1-2): 149-154.

Parker, K. I.; Compton, C.; Anniss, F. M.; Weir, A.; Heuer, C.; Mc Dougall, S. (2007): Subclinical and clinical mastitis in heifers following the use of a teat sealant precalving. *J Dairy Sci.* 90(1): 207-218.

Peeler, E. J.; Green, M. J.; Fitzpatrick, J. L.; Morgan, K. L.; Green, L. E. (2000): Risk factors associated with clinical mastitis in low somatic cell count British dairy herds. *J Dairy Sci.* 83(11): 2464-2472.

Peters, G. (1992): Isolation and identification of Micrococcaceae, especially the genus *Staphylococcus*. *Zentralbl Bakteriologie.* 276(4): 556-565.

Peters, G.; Pulverer, G. (1994): Die Familie der Micrococcaceae. In: *Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie.* Brandis, H.; Eggers, H. J.; Köhler, W.; Pulverer, G. (Hrsg.): Gustav Fischer Verlag, Jena, 350-360.

Philpot, W. N. (1979): Control of mastitis by hygiene and therapy. *J Dairy Sci.* 62(1): 168-176.

Piepers, S.; De Meulemeester, L.; De Kruif, A.; Opsomer, G.; Barkema, H. W.; De Vliegheer, S. (2007): Prevalence and distribution of mastitis pathogens in subclinically infected dairy cows in Flanders, Belgium. *J Dairy Res.* 74(4): 478-483.

Piepers, S.; De Vliegheer, S.; De Kruif, A.; Opsomer, G.; Barkema, H. W. (2009): Impact of intramammary infections in dairy heifers on future udder health, milk production, and culling. *Vet Microbiol.* 134(1-2): 113-120.

Piepers, S.; Opsomer, G.; Barkema, H. W.; de Kruif, A.; De Vliegheer, S. (2010): Heifers infected with coagulase-negative staphylococci in early lactation have fewer cases of clinical mastitis and higher milk production in their first lactation than noninfected heifers. *J Dairy Sci.* 93(5): 2014-2024.

Piepers, S.; Schukken, Y. H.; Passchyn, P.; De Vliegheer, S. (2013): The effect of intramammary infection with coagulase-negative staphylococci in early lactating heifers on milk yield throughout first lactation revisited. *J Dairy Sci.* 96(8): 5095-5105.

Piessens, V.; Van Coillie, E.; Verbist, B.; Supré, K.; Braem, G.; Van Nuffel, A.; De Vuyst, L.; Heyndrickx, M.; De Vliegheer, S. (2011): Distribution of coagulase-negative *Staphylococcus* species from milk and environment of dairy cows differs between herds. *J Dairy Sci.* 94(6): 2933-2944.

Poutrel, B. (1984): Udder infection of goats by coagulase-negative staphylococci. *Vet Microbiol.* 9(2): 131-137.

Poutrel, B.; Mendolia, C.; Sutra, L.; Fournier, J. M. (1990): Reactivity of coagulase-negative staphylococci isolated from cow and goat milk with monoclonal antibodies to *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharide types 5 and 8. *J Clin Microbiol.* 28(2): 358-360.

Prasad, L. B.; Newbould, F. H. (1968): Arylesterase activity of milk from normal and experimentally infected bovine mammary glands. *Can Vet J.* 9(10): 230-236.

Prévost, G.; Cribier, B.; Couppié, P.; Petiau, P.; Supersac, G.; Finck-Barbançon, V.; Monteil, H.; Piemont, Y. (1995): Panton-Valentine leucocidin and gamma-hemolysin from *Staphylococcus aureus* ATCC 49775 are encoded by distinct genetic loci and have different biological activities. *Infect Immun.* 63(4): 121-129.

Proctor, R. A.; Christman, G.; Mosher, D. F. (1984): Fibronectin-induced agglutination of *Staphylococcus aureus* correlates with invasiveness. *J Lab Clin Med.*104(4): 455-469.

Pulverer, G. (1986): Taxonomy of *Staphylococcus aureus*. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A.* 262(4): 425-437.

Quirk, T.; Fox, L. K.; Hancock, D. D.; Capper, J.; Wenz, J.; Park, J. (2012): Intramammary infections and teat canal colonization with coagulase-negative staphylococci after postmilking teat disinfection: Species-specific responses. *J Dairy Sci.* 95(4): 1906-1912.

Rainard, P.; Poutrel, B. (1988): Effect of naturally occurring intramammary infections by minor pathogens on new infections by major pathogens in cattle. *Am J Vet Res.* 49(3): 327-329.

Rainard, P.; Ducelliez, M.; Poutrel, B. (1990): The contribution of mammary infections by coagulase-negative staphylococci to the herd bulk milk somatic cell count. *Vet Res Commun.* 14(3): 193–198.

Rajala-Schultz, P.; Smith, K. L.; Hogan, J. S.; Love, B. C. (2006): Antimicrobial susceptibility of mastitis pathogens from first lactation and older cows. *Vet Microbiol.* 102(1-2): 33–42.

Rather, P. N.; Davis, A. P.; Wilkinson, B. J. (1986): Slime production by bovine milk *Staphylococcus aureus* and identification of coagulase-negative staphylococcal isolates. *J Clin Microbiol.* 23(5): 858-862.

Reksen, O.; Sølverød, L.; Branscum, A. J.; Osterås, O. (2006): Relationships between milk culture results and treatment for clinical mastitis or culling in Norwegian dairy cattle. *J Dairy Sci.* 89(8): 2928–2937.

Reksen, O.; Sølverød, L.; Osterås, O. (2007): Relationships between milk culture results and milk yield in Norwegian dairy cattle. *J Dairy Sci.* 90(10): 4670–4678.

Reyher, K. K.; Dohoo, I. R.; Muckle, C. A. (2013): Evaluation of clustering of new intramammary infections in the bovine udder, including the impact of previous infections, herd prevalence, and somatic cell count on their development. *J Dairy Sci.* 96(1): 219-233.

Roberson, J. R.; Fox, L. K.; Hancock, D. D.; Besser, T. E. (1992): Evaluation of methods for differentiation of coagulase-positive staphylococci, *J Clin Microbiol* 30(12): 3217-3219.

Roberson, J. R.; Fox, L. K.; Hancock, D. D.; Gay, J. M.; Besser, T. E. (1994): Ecology of *Staphylococcus aureus* isolated from various sites on dairy farms. *J Dairy Sci.* 77(11): 3354–3364.

Roberson, J. R.; Fox, L. K.; Hancock, D. D.; Gay, J. M.; Besser, T. E. (1998): Sources of intramammary infections from *Staphylococcus aureus* in dairy heifers at first parturition. *J Dairy Sci.* 81(3): 687–693.

Röder, R. (1985): Beziehung zwischen Zellgehalt und bakteriologischem Befund von Viertelgemelksproben beim Deutschen Fleckvieh, [Dissertation med.vet.] München, Ludwig-Maximilians-Universität, München.

Rozgonyi, F.; Seltmann, G. (1985): Pathogenicity and virulence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: slime layer production. *Acta Microbiol Hung.* 32(2): 155-165.

Rupp, R.; Boichard, D. (1999): Genetic Parameters for clinical mastitis, somatic cell score, production, udder type traits, and milking ease in first lactation Holsteins. *J Dairy Sci.* 82(10): 2198-2204.

Rydén, C.; Rubin, K.; Speziale, P.; Höök, M.; Lindberg, M.; Wadström T. (1983): Fibronectin receptors from *Staphylococcus aureus*. *J Biol Chem.* 258(5): 3396-3401.

Sampimon, O.C.; Barkema, H. W.; Berends, I. M.; Sol, J.; Lam, T. J. (2009a): Prevalence and herd-level risk factors for intramammary infection with coagulase-negative staphylococci in Dutch dairy herds. *Vet Microbiol.* 134(1-2): 37-44.

Sampimon, O. C.; Zadoks, R. N.; De Vliegher, S.; Supré, K.; Haesebrouck, F.; Barkema, H. W.; Sol, J.; Lam, T. J. (2009b): Performance of API Staph ID 32 and Staph-Zym for identification of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine milk samples. *Vet Microbiol.* 136(3-4): 300-305.

Sandholm, M.; Kaartinen, L.; Hyvönen, P.; Veijalainen, K.; Kuosa, P. L. (1989): Flotation of mastitis pathogens with cream from subclinically infected quarters. Prospects for developing a cream-raising test for detecting mastitis caused by major mastitis pathogens. *Zentralbl Veterinarmed B.* 36(1): 27-34.

Santos Veiga, M.; Tomazi, T.; Barreiro Regina, J.; Gonçalves Leonel, J.; Arcari André, M. (2012): Milk yield and composition of mammary quarters infected by coagulase-negative staphylococci. *Proc. 27th World Buiatrics Congress*, P: 466, 145.

Sau, S.; Bhasin, N.; Wann, E. R.; Lee, J. C.; Foster, T. J.; Lee, C. Y. (1997): The *Staphylococcus aureus* allelic genetic loci for serotype 5 and 8 capsule expression contain the type-specific genes flanked by common genes. *Microbiol.* 143(7): 2395-2405.

Schallenberger, Prof. Dr. E. (2002): Eutergesundheit und Milchflusskurven, Praxisstudie zur Milchqualität und zum Milchentzug in Schleswig-Holstein, 3. Jahrestagung, Dresden- Pillnitz. 17./18.09.2002.

- Schleifer, K. H.; Kloos, W. E. (1976):** Separation of staphylococci from micrococci. In: Staphylococci and staphylococcal diseases. Jeljaszewicz, J. (Hrsg.): Gustav Fischer Verlag, Jena 3-9.
- Schreiner, D.A.; Ruegg, P. L. (2003):** Relationship between udder and leg hygiene scores and subclinical mastitis. *J Dairy Sci.* 86(11): 3460-3465.
- Schrick, F.N.; Hockett, M. E.; Saxton, A. M.; Lewis, M. J.; Dowlen, H. H.; Oliver, S.P. (2001):** Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *J Dairy Sci.* 84(6): 1407-1412.
- Schukken, Y. H.; Grommers, F. J.; Van de Geer, D.; Erb, H. N.; Brand, A. (1990):** Risk factors for clinical mastitis in herds with a low bulk milk somatic cell count. 1. Data and risk factors for all cases. *J Dairy Sci.* 73(12): 3463-3471.
- Schukken, Y. H.; Grommers, F. J.; Van de Geer, D.; Erb, H. N.; Brand, A. (1991):** Risk factors for clinical mastitis in herds with a low bulk milk somatic cell count. 2. Risk factors for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Dairy Sci.* 74(3): 826-832.
- Schukken, Y. H.; González, R. N.; Tikofsky, L. L.; Schulte, H. F.; Santisteban, C. G.; Welcome, F. L.; Bennett, G. J.; Zurakowski, M. J.; Zadoks, R. N. (2009):** CNS mastitis: nothing to worry about? *Vet Microbiol.* 134(1-2): 9-14.
- Seffner, W.; Bergmann, A. (1994):** Staphylokokken-Infektionen. In: Euter- und Gesäugekrankheiten. Wendt, K.; Bostedt, H.; Mielke, H.; Fuchs, H.- W. (Hrsg.): Gustav Fischer Verlag, Jena, 349-359.
- Serieys, F. (1985):** Individual cow somatic cell counts- Interpretation for the diagnosis of intramammary infections. *Kieler milchwirtschaftliche Forschungsberichte.* 37(3): 298-302.
- Shuster, D. E.; Harmon, R. J.; Jackson, J. A.; Hemken, R. W. (1991):** Endotoxin mastitis in cows milked four times daily. *J Dairy Sci.* 74(5): 1527-1538.
- Simojoki, H.; Orro, T.; Taponen, S.; Pyörälä, S. (2009):** Host response in bovine mastitis experimentally induced with *Staphylococcus chromogenes*. *Vet Microbiol.* 134(1-2): 95-99.
- Simojoki, H.; Hyvönen, P.; Plumed Ferrer, C.; Taponen, S.; Pyörälä, S. (2012):** Is the biofilm formation and slime production ability of coagulase negative staphylococci associated with the persistence and severity of intramammary infections?. *Vet Microbiol.* 158(3-4): 344-352.
- Srinivasan, V.; Sawant, A. A.; Gillespie, B. E.; Headrick, S. J.; Ceasaris, L.; Oliver, S. P. (2006):** Prevalence of enterotoxin and toxic shock syndrome toxin genes in *Staphylococcus aureus* isolated from milk of cows with mastitis. *Foodborne Pathog Dis.* 3(3): 274-283.
- Stabenfeldt, G. H.; Spencer, G. R. (1966):** The lesions in bovine udders shedding nonhemolytic coagulase-negative staphylococci. *Pathol Vet.* 3(1): 27-39.

Stephan, R.; Annemüller, C.; Hassan, A. A.; Lämmler, C. (2001): Characterization of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis in north-east Switzerland. *Vet Microbiol.* 78(4): 373-382.

Supré, K.; De Vlieghe, S.; Sampimon, O. C.; Zadoks, R. N.; Vanechoutte, M.; Baele, M.; De Graef, E.; Piepers, S.; Haesebrouck, F. (2009): Technical note: Use of transfer RNA-intergenic spacer PCR combined with capillary electrophoresis to identify coagulase-negative *Staphylococcus* species originating from bovine milk and teat apices. *J. Dairy Sci.* 92(7): 3204-3210.

Supré, K.; Haesebrouck, F.; Zadoks, R. N.; Vanechoutte, M.; Piepers, S.; De Vlieghe, S. (2011): Some coagulase-negative *Staphylococcus* species affect udder health more than others. *J. Dairy Sci.* 94(5): 2329–2340.

Suriyasathaporn, W.; Schukken, Y. H.; Nielen, M.; Brand, A. (2000): Low somatic cell count: a risk factor for subsequent clinical mastitis in a dairy herd. *J Dairy Sci.* 83(6):1248-1255.

Sutra L.; Poutrel B. (1994): Virulence factors involved in the pathogenesis of bovine intramammary infections due to *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol.* 40(2): 79-89.

Taponen, S.; Simojoki, H.; Haveri, M.; Larsen, H. D.; Pyörälä, S. (2006): Clinical characteristics and persistence of bovine mastitis caused by different species of coagulase-negative staphylococci identified with API or AFLP. *Vet Microbiol.* 115(1-3): 199-207.

Taponen, S.; Koort, J.; Björkroth, J.; Saloniemi, H.; Pyörälä, S. (2007): Bovine intramammary infections caused by coagulase-negative staphylococci may persist throughout lactation according to amplified fragment length polymorphism-based analysis. *J Dairy Sci.* 90(7): 3301-3307.

Taponen, S.; Björkroth, J.; Pyörälä, S. (2008): Coagulase-negative staphylococci isolated from bovine extramammary sites and intramammary infections in a single dairy herd. *J Dairy Res.* 75(4): 422-429.

Tenhagen, B. A.; Koster, G.; Wallmann, J.; Heuwieser, W. (2006): Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *J Dairy Sci.* 89(7): 2542–2551.

Tenhagen, B.; Hansen, I.; Reinecke, A.; Heuwieser, W. (2009): Prevalence of pathogens in milk samples of dairy cows with clinical mastitis and in heifers at first parturition. *J. Dairy Res.* 76(2): 179-187.

Tesfaye, G. Y.; Regassa, F. G.; Kelay, B. (2010): Milk yield and associated economic losses in quarters with subclinical mastitis due to *Staphylococcus aureus* in Ethiopian crossbred dairy cows. *Trop Anim Health Prod.* 42(5): 925-931.

Thorberg, B. M.; Brändström, B. (2000): Evaluation of two commercial systems and a new identification scheme based on solid substrates for identifying coagulase-negative staphylococci from bovine mastitis, *J. Vet. Med. B* 47(9): 683-691.

- Thorberg, B. M.; Kuhn, I.; Aarestrup, F. M.; Brändström, B.; Jonsson, P.; Danielsson-Tham, M. L. (2006):** Pheno- and genotyping of *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk and human skin. *Vet Microbiol.* 115(1-3): 163-172.
- Thorberg, B. M.; Danielsson-Tham, M. L.; Emanuelson, U.; Waller, K. P. (2009):** Bovine subclinical mastitis caused by different types of coagulase-negative staphylococci. *J Dairy Sci.* 92(10): 4962-4970.
- Timms, L. L.; Schultz, L. H. (1987):** Dynamics and significance of coagulase-negative staphylococcal intramammary infections. *J Dairy Sci.* 70(12): 2648–2657.
- Trinidad, P.; Nickerson, S. C.; Alley, T. K. (1990a):** Prevalence of intramammary infection and teat canal colonization in unbred and primigravid dairy heifers. *J Dairy Sci.* 73(1): 107–114.
- Trinidad, P.; Nickerson, S. C.; Adkinson, R. W. (1990b):** Histopathology of staphylococcal mastitis in unbred dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 73(3): 639–647.
- Tschischkale, R. (2002):** Eutergesundheit - Kontagiöse Mastitiden. *Nutztierpraxis Aktuell.* Ausgabe 3.
- Thüringer Verband für Leistungs- und Qualitätsprüfungen in der Tierzucht e.V. (TVL e. V.) & Landesverband Thüringer Rinderzüchter eG (LTR eG) (2013):** Bericht über Arbeit und Ergebnisse. Prüfungsjahr 2012. 52-53.
- Ünal, N.; Askar, Ş.; Macun, H. C.; Sakarya, F.; Altun, B.; Yildirim, M. (2012):** Panton–Valentine leukocidin and some exotoxins of *Staphylococcus aureus* and antimicrobial susceptibility profiles of staphylococci isolated from milks of small ruminants. *Trop Anim Health Prod.* 44(3): 573-579.
- Valentin-Weigand, P. (2011):** Taxonomie, In: *Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre.* Selbitz, H. J.; Truyen, U.; Valentin-Weigand, P. (Hrsg.): Enke-Verlag, Stuttgart, 85-88.
- Waage, S.; Sviland, S.; Odegaard, S. A.(1998):** Identification of risk factors for clinical mastitis in dairy heifers, *J Dairy Sci.* 81(5): 1275-1284.
- Waage, S.; Mørk, T.; Røros, A.; Aasland, D.; Hunshamar, A.; Odegaard, S. A. (1999):** Bacteria associated with clinical mastitis in dairy heifers. *Dairy Sci.* 82(4): 712-709.
- Wallace, R. L.; Queen, W. G.; Hoblet, K. H.; Hogan, J. S. (1998):** Evaluation of an acriflavine disk assay for differentiating *Staphylococcus aureus* from other staphylococci isolated from bovine milk. *J Am Vet Med Assoc.* 213(3): 394-398.
- Ward, P. D.; Adlam, C.; McCartney, A. C.; Arbuthnott, J. P.; Thorley, C. M. (1979):** A histopathological study of the effects of highly purified staphylococcal alpha and beta toxins on the lactating mammary glands and skin of the rabbit. *J Comp Pathol.* 89(2): 169-177.

Watts, J. L.; Pankey, J. W.; Nickerson, S. C. (1984): Evaluation of the Staph-Ident and STAPHase systems for identification of staphylococci from bovine intramammary infections. *J Clin Microbiol.* 20(3): 448-452.

Watts, J. L.; Nickerson, S. C. (1986): A comparison of the Staph-Ident and Staph-Trac systems to conventional methods in the identification of staphylococci isolated from bovine udders. *Vet Microbiol.* 12(2): 179-187.

Watts, J. L.; Owens, W. E.; Nickerson, S. C. (1986a): Evaluation of the Minitek Gram-Positive Set for identification of staphylococci isolated from the bovine mammary gland. *J Clin Microbiol.* 23(5): 873-875.

Watts, J. L.; Owens, W. E.; Nickerson, S. C. (1986b): Identification of staphylococci from bovine udders: evaluation of the API 20 GP system. *Can J Microbiol.* 32(4): 359-361.

Webster, J. A.; Bannerman, T. L.; Hubner, R. J.; Ballard, D. N.; Cole, E. M.; Bruce, J. L.; Fiedler, F.; Schubert, K.; Kloos, W. E. (1994): Identification of the *Staphylococcus sciuri* species group with EcoRI fragments containing rRNA sequences and description of *Staphylococcus vitulus* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol.* 44(3): 454-460.

White, D.G.; Harmon, R. J.; Matos, J. E.; Langlois, B. E. (1989): Isolation and identification of coagulase-negative *Staphylococcus* species from bovine body sites and streak canals of nulliparous heifers. *J Dairy Sci.* 72(7): 1886–1892.

Whist, A. C.; Østerås, O.; Sølverød, L. (2006): Clinical mastitis in Norwegian herds after a combined selective dry-cow therapy and teat-dipping trial. *J Dairy Sci.* 89(12): 4649-4659.

Whist, A. C.; Østerås, O.; Sølverød, L. (2007): *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus dysgalactiae* in Norwegian herds after introduction of selective dry cow therapy and teat dipping. *J Dairy Res.* 74(1): 1-8.

Whist, A.C.; Osterås, O.; Sølverød, L. (2009): Association between isolation of *Staphylococcus aureus* one week after calving and milk yield, somatic cell count, clinical mastitis, and culling through the remaining lactation. *J Dairy Res.* 76(1): 24–35.

Wilson, D. J.; Sears, P. M.; Gonzalez, R. N.; Smith, B. S.; Schulte, H. F. 3rd; Bennett, G. J.; Das, H.H.; Johnson, C. K. (1996): Efficacy of florfenicol for treatment of clinical and subclinical bovine mastitis. *Am J Vet Res.* 57(4): 526-528.

Winter, P.; Zehle, H. H. (2009): Durchführung des Trockenstellens. In: *Praktischer Leitfaden Mastitis*, Winter, P. (Hrsg.): Parey Stuttgart, 173-174.

Worstorff, H. (1986): Teilautomatisierte Melkeinheiten. KTBL-Arbeitsblatt, Nr. 0223. Verlag: E.F. Beckmann KG, Lehrte.

Yazdankhah, S. P.; Olsen, E. (1998): Simple and direct detection of *Staphylococcus aureus* in milk by a tube coagulase test. *Lett Appl Microbiol.* 27(5): 311.

Zadoks, R. N.; Allore, H. G.; Barkema, H. W.; Sampimon, O. C.; Wellenberg, G. J.; Gröhn, Y. T.; Schukken, Y. H. (2001): Cow and quarter level risk factors for *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* mastitis. *J Dairy Sci.* 84(12): 2649-2663.

Zadoks, R. N.; Allore, H. G.; Hagenaars, T. J.; Barkema, H. W.; Schukken, Y. H. (2002): A mathematical model of *Staphylococcus aureus* control in dairy herds. *Epidemiol Infect.* 129(2): 397–416.

Zadoks, R. N.; Watts, J. L. (2009): Species identification of coagulase-negative staphylococci: genotyping is superior to phenotyping. *Vet Microbiol.* 134(1-2): 20-28.

Zoche-Golob,V.; Spilke, J. (2013): Herdenspezifische Schätzung der Milchleistungsminderung durch wiederholte klinische Mastitis. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr.* 126(7-8): 269–276.

8 Anhang

Anhang 1: Leistungsdaten der untersuchten Bestände

Betrieb	Lebens- jahre	Nutzungs- dauer	Lebens- leistung	Lebens- effektivität	Nutzungs- effektivität	Ø Milch- menge	ZZ
1	4,4	2,2	23028	13,7	25,2	34,96	242
2	4,3	2,2	18767	11,5	22,2	24,33	250
3	4,9	2,7	22901	12,6	22,3	30,36	268
4	7,5	4,8	38940	13,4	20,6	20,85	257
5	4,4	2,3	23841	14,3	26,9	32,7	151
6	4,5	2,2	21405	12,5	25,1	30,2	242
7	4,7	2,7	23068	13,1	22,5	31,84	183
8	5	2,9	31364	16,9	28,2	31,86	321
9	5,1	2,9	25003	13,4	23,8	31,9	253
10	5,2	2,9	28139	14,7	26,4	30,35	366
11	5	2,7	32132	17,2	31,4	35,8	208
12	5,1	3	22922	12	20,7	27,04	430
13	4,6	2,5	25688	14,8	26,6	28,43	263
14	4,2	2,1	20984	12,9	24,3	32,23	229
15	5,5	2,7	18539	9,2	19,1	21,21	186
16	4,8	2,6	24104	13,7	25,2	26,8	85
17	5,2	2,9	26099	14,1	25,6	30,1	220
18	4,8	2,5	22169	12,4	24	27,99	260
19	4,9	2,8	25096	13,3	22,6	27,56	422
20	4,8	2,5	20396	11,2	21,1	26,45	302
21	5,4	3	25051	12,4	22,1	25,58	303
22	5,3	3,1	32720	15,8	25,6	28,85	152
23	5,1	3	19440	11,4	20,3	24,91	361
24	4,8	2,7	24752	13,9	24,5	30,09	230
25	5,2	2,8	25405	12,6	22,3	22,5	365
26	4,4	2	17528	10,6	22,6	28	226
27	4,7	2,5	22730	13,2	25,1	31,86	172
28	6,1	3,7	25833	11,6	19,4	19,17	159
29	4,9	2,6	18035	9,7	17,9	26,58	616
30	5,1	3	34245	18,1	30,4	30,15	287
31	4,7	2,3	19621	10,7	20,5	22,61	125
32	5,1	2,7	22137	11,5	21,2	22,22	129
33	5,7	3,5	30864	12,8	19,4	20,23	343
34	6,7	4,5	42446	17,3	26	33,14	102

ZZ: Zellgehalt in 100.000/ml

Anhang 2: Fragebögen

1.Haltung

Frage	Klassifizierung	Kühe im Bestand
Wieviel Kühe werden im Bestand gehalten?	< 300 Kühe	
	300-600 Kühe	
	> 600 Kühe	
Wann werden Färsen zu pluriparen Kühen eingruppiert?	In den letzten Trächtigkeitswochen	
	zum Geburtszeitraum	
	extra Jungkuhgruppe	

Frage	Klassifizierung	Trockensteher	Abkalbestall	Leistungsherde
Welche Art der Laufflächen liegt vor?	Gummispaltenboden			
	Betonspaltenboden			
	planbefestigt			
Wie ist die Sauberkeit der Laufflächen?	Vorwiegend trocken			
	mäßig			
	nass			
Wie ist die Rutschfestigkeit der Laufflächen?	Gut			
	mittel			
	schlecht			
Welche Art der Liegeflächen liegt vor?	Tiefstreu			
	Liegebox			
	Anbindehaltung			
Wie ist die Sauberkeit der Liegeflächen?	Sehr sauber			
	normal			
	stark verschmutzt			
Welches Stallklima herrscht im Bestand?	Warmstall			
	Kaltstall			
	Außenklimastall			
Wie werden die Laufflächen beräumt?	Schieber			
	mobil			
	gar nicht			
Sind Lüfter im Einsatz?	nie			
	zeitweise			
	ständig			

2. Melktechnik und –hygiene

Frage	Klassifizierung	Leistungsherde	Abkalbestall
Welche Melkanlage wird genutzt? (Leistungsherde)	Fischgräte		---
	Karussell		---
	Auto-Tandem		---
Welche Melkanlage wird genutzt? (Abkalbestall)	Melkstand der Anlage	---	
	Rohrmelkanlage	---	
	eigener Melkstand	---	
Welche Melkzeugzwischen-desinfektion findet statt?	technisch		
	Eimer/Schleppwanne		
	Sprühen		
Welche Art der Euterreinigung findet statt?	Einweg mit Desinfektionsmittel		
	Einweg ohne Desinfektionsmittel		
	Mehrweg		
Werden Desinfektionsmitteln bei der Euterreinigung benutzt?	ja mit Einweg		
	ja mit Mehrweg		
	nein		
Welche Wirkstoffgruppe hat das Zitzendesinfizienz?	Iod		
	anderes DVG-geprüftes Desinfektionsmittel		
	anderes ungeprüftes Desinfektionsmittel		
Ist eine Pflegekomponente im Zitzendesinfizienz enthalten? Welche Textur besitzt sie?	ja, wässrige Textur		
	ja, dickflüssige Textur		
	nein		
Wie ist die Sauberkeit der Euter vor der Reinigung	kaum verschmutzt		
	mäßig		
	stark verschmutzt		
Wird eine Euterdusche bei Verschmutzungen wahrgenommen?	regelmäßig		
	gelegentlich		
	nie		
Wie ist die Durchführung der Euterreinigung zu bewerten?	gut		
	befriedigend		
	schlecht		
Welche Handwaschmöglichkeiten existieren für Melker?	Wasser		
	Wasser und Seife		
	Wasser, Seife und Desinfektionsmittel		

Anhang

Verwenden die Melker Handschuhe beim Melken?	ja		
	gelegentlich		
	nein		
Wie ist die Sauberkeit der Melker?	saubere Kleidung		
	Kleidung mäßig beschmutzt		
	Kleidung stark verschmutzt		

3. Mastitismanagement

Frage	Klassifizierung	Laktierende Kühe
Ab wann wird das Sekret als krankhaft Verändert eingeschätzt?	Deckweiß	
	einzelne Flocken	
	große Flocken und Fibrinfetzen	
Wann wird eine bakteriologische Untersuchung bei klinischen Fällen durchgeführt?	sofort	
	bei Rezidiv	
	gar nicht	
Ab wann werden Kühe mit Zellzahlerhöhung behandelt?	gar nicht	
	> 300.000	
	> 1.000.000	
Werden nicht offensichtlich kranke Viertel behandelt?	nein	
	bei positivem bakteriologischen Befund	
	generell alle Viertel	

Frage	Klassifizierung	Trockensteher
Wird eine bakteriologische Untersuchung vor dem Trockenstellen durchgeführt?	nein	
	bei allen trockenstellenden Tieren	
	Zellzahlerhöhung und Sekretveränderung	
Wie wird das Trockenstellen durchgeführt?	abrupt	
	ausschleichend	
	gar nicht	
Wird ein Zitzenverschluss angewendet?	nein	
	äußerer Zitzenverschluss	
	innerer Zitzenverschluss	
Welche Tiere werden unter Antibiotikaschutz trocken gestellt?	keine	
	selektiv	
	alle	

Anhang 3: Übersicht über die Anzahl der in die erste und zweite Untersuchung aufgenommenen Viertelgemelke sowie Tiere je Betrieb

Be- stand	1. Untersuchung		2. Untersuchung	
	untersuchte Viertelgemelke	untersuchte Tiere	untersuchte Viertelgemelke	untersuchte Tiere
1	650	164	731	185
2	1321	341	1455	373
3	804	205	809	205
4	239	61	219	56
5	657	167	654	165
6	3349	850	3490	888
7	2137	541	2242	570
8	2900	732	2968	750
9	603	153	673	169
10	1322	339	1342	345
11	1366	347	1378	352
12	1377	358	1111	287
13	1433	366	1490	383
14	593	153	715	183
15	145	37	150	38
16	1479	378	1423	361
17	1603	413	1754	450
18	4782	1229	3693	943
19	1281	328	1322	338
20	1548	403	2443	626
21	1568	404	1434	369
22	555	141	518	132
23	522	136	467	123
24	2274	577	2278	579
25	431	111	476	122
26	685	179	662	175
27	738	188	764	192
28	174	45	132	34
29	1395	358	1240	320
30	2046	515	1890	481
31	220	55	279	70
32	378	97	373	97
33	59	15	65	17
34	139	35	154	39

Anhang 4: Zusammensetzung der Nährböden und Anreicherungsmedien**1. Äskulin-Blutagar (OXOID, Wesel, Deutschland)**

Fertigplatte (Füllgewicht 17g ± 5%, pH: 7,2 ± 0,2)

Komponente	g/l	ml
Fleischextrakt Lab-Lemco	1,0	
Hefeextrakt	2,0	
Peptone	5,0	
Natriumchlorid	7,5	
Äskulin	1,0	
Agar	16,0	
Defibriniertes Schafblut		70,0

2. Glucose-Bouillon (OXOID, Wesel, Deutschland)

Trockennährboden zur Lösung in Aqua dest. (23g/l, pH: 7,2 ± 0,2)

Komponente	g/l
Fleischextrakt Lab-Lemco	3,0
Tryptose	10,0
Glucose	5,0
Natriumchlorid	5,0

Anhang 5: Prävalenz und Standardfehler *S. aureus*-infizierter Kühe in erster und zweiter Untersuchung

Betrieb	Prävalenz in %	Standardfehler	Prävalenz in %	Standardfehler
	1. Untersuchung		2. Untersuchung	
1	3,46	0,152	2,07	0,185
2	0,77	0,29	2,31	0,176
3	1,15	0,244	1,92	0,1944
4	0,80	0,303	0,81	0,303
5	2,86	0,508	4,63	0,387
6	2,01	0,192	10,01	0,293
7	0,3	0,162	0,05	0,145
8	1,26	0,190	1,28	0,187
9	1,36	0,383	1,54	0,383
10	2,27	0,24	2,72	0,216
11	9,59	0,134	1,24	0,336
12	0,84	0,279	0,70	0,244
13	8,94	0,148	3,5	0,24
14	0,21	0,409	0,62	0,237
15	0,71	0,215	2,13	0,287
16	3,72	0,092	5,24	0,076
17	0,28	0,409	3,10	0,123
18	1,12	0,269	0,77	0,318
19	1,26	0,237	0,59	0,41
20	4,5	0,068	2,18	0,113
21	1,5	0,225	4,45	0,178
22	4,24	0,131	3,43	0,143
23	9,23	0,224	4,07	0,341
24	6,84	0,315	0,18	0,109
25	6,77	0,518	11,63	0,402
26	13,08	0,152	4,30	0,119
27	1,5	0,336	2,23	0,261
28	2,17	0,188	3,28	0,153
29	11,71	0,573	4,83	0,482
30	1,53	0,136	1,93	0,170
31	0,29	0,130	0,08	0,101
32	1,39	0,582	1,84	0,452
33	1,61	0,412	2,17	0,358
34	3,5	0,228	2,28	0,261

Anhang 6: Prozentuale Verteilung der *S. aureus*-Nachweise auf linken und rechten Eutervierteln

Bestand	<i>S. aureus</i> -Nachweise linke Euterviertel	<i>S. aureus</i> -Nachweise rechte Euterviertel
	in %	
1	58,57	41,43
2	45,33	54,67
3	45,00	55,00
4	58,06	41,94
5	43,48	56,52
6	47,32	52,68
7	45,95	54,05
8	41,67	58,33
9	33,33	66,67
10	51,39	48,61
11	40,91	59,09
12	33,33	66,67
13	50,00	50,00
14	33,75	66,25
15	25,00	75,00
16	47,73	52,27
17	53,97	46,03
18	48,36	51,64
19	37,50	62,50
20	50,00	50,00
21	55,56	44,44
22	51,47	48,53
23	58,82	41,18
24	59,65	40,35
25	50,00	50,00
26	44,00	56,00
27	49,21	50,79
28	55,32	44,68
29	100,00	0,00
30	85,71	14,29
31	62,50	37,50
32	7,14	92,86
33	63,64	36,36
34	54,55	45,45

Anhang 7: Prävalenz und Standardfehler KNS-infizierter Kühe in erster und zweiter Untersuchung

Betrieb	Prävalenz in %	Standardfehler	Prävalenz in %	Standardfehler
	1. Untersuchung		2. Untersuchung	
1	2,15	0,191	5,18	0,119
2	8,57	0,091	3,92	0,136
3	8,09	0,095	4,05	0,135
4	4,02	0,138	1,85	0,202
5	2,16	0,584	1,99	0,583
6	4,14	0,189	0,77	0,101
7	4,01	0,113	6,33	0,096
8	4,58	0,101	1,41	0,178
9	14,57	0,130	2,81	0,294
10	13,49	0,104	13,84	0,108
11	0,31	0,708	11,70	0,116
12	10,19	0,084	6,56	0,082
13	7,50	0,161	2,14	0,305
14	4,00	0,095	3,73	0,098
15	14,77	0,237	7,80	0,314
16	7,38	0,066	10,02	0,056
17	8,07	0,080	5,34	0,095
18	14,86	0,080	4,75	0,130
19	9,26	0,091	5,86	0,133
20	13,61	0,041	3,27	0,093
21	5,26	0,123	2,69	0,227
22	14,19	0,076	3,90	0,134
23	9,65	0,219	18,08	0,175
24	10,02	0,130	5,81	0,167
25	0,00	0,000	0,00	0,000
26	14,62	0,120	4,07	0,096
27	13,65	0,119	6,09	0,161
28	6,35	0,112	11,93	0,252
29	7,57	0,100	2,12	0,137
30	13,79	0,128	2,57	0,156
31	4,68	0,127	6,14	0,119
32	7,87	0,253	10,33	0,200
33	5,38	0,230	2,44	0,337
34	12,78	0,125	10,35	0,128

Anhang 8: Prozentuale Verteilung der KNS-Nachweise auf linken und rechten Eutervierteln

Bestand	KNS-Nachweise linke Euterviertel	KNS-Nachweise rechte Euterviertel
	in %	
1	56,32	43,68
2	45,10	54,90
3	42,11	57,89
4	47,62	52,38
5	46,15	53,85
6	52,52	47,48
7	50,69	49,31
8	49,78	50,22
9	53,28	46,72
10	52,48	47,52
11	50,00	50,00
12	50,53	49,47
13	51,53	48,47
14	43,26	56,74
15	50,00	50,00
16	43,18	56,82
17	50,16	49,84
18	48,93	51,07
19	49,19	50,81
20	53,77	46,23
21	53,19	46,81
22	58,49	41,51
23	46,43	53,57
24	50,00	50,00
25	57,14	42,86
26	54,10	45,90
27	46,25	53,75
28	50,00	50,00
29	53,57	46,43
30	53,03	46,97
31	60,00	40,00
32	41,38	58,62
33	0,00	0,00
34	83,33	16,67

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Axel Wehrend für die wissenschaftliche Unterstützung, die schnell durchgeführten Korrekturen sowie für die konstruktive Kritik bei der Erstellung dieser Arbeit.

Ganz herzlich möchte ich zudem Herrn Prof. Dr. Horst R. Brandt danken, der mich bei der Auswertung der Daten tatkräftig unterstützt hat und immer ein guter Ansprechpartner bei Problemen war. Vielen Dank für die Zeit und die Ausdauer, mit der Sie meine Arbeit unterstützt haben!

Weiterhin möchte ich mich bei Herrn Dr. Karsten Donat ganz besonders bedanken, der mir dieses Projekt überlassen hat und durch dessen Förderung und Unterstützung diese Arbeit möglich wurde. Die wertvollen fachlichen Anregungen haben alles sehr bereichert.

Bei der Thüringer Tierseuchenkasse, die dieses Projekt finanziell ermöglicht hat und bei den Tierärzten des Rindergesundheitsdienstes Thüringen: Frau Dr. Katja Hruschka, Frau Stefanie Söllner-Donat, Herrn Wolfram Siebert und Herrn Dr. Andreas Ahrens, bedanke ich mich ganz herzlich. Vielen Dank für die Unterstützung bei der Datenerhebung und die Hilfe bei fachlichen Problemen. Auch möchte ich allen Beteiligten im Milchlabor für die Unterstützung bei der Probenbearbeitung und –auswertung danken.

Mein größter Dank gebührt meiner Familie, besonders meinen Eltern. Sie standen mir während meiner gesamten Lebenszeit tatkräftig zur Seite und unterstützten mich bei allen Entscheidungen. Ohne sie wäre dieser Weg kaum möglich gewesen. Ich bedanke mich für die aufmunternden Worte, den fachlichen Rat und das viele Daumen drücken!

Erklärung

Ich erkläre:

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündliche Auskünfte beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Juliane Heinze



édition scientifique

VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-6112-8



9 783835 196112 8