

Eutergesundheitsmonitoring als präventive Maßnahme zur Verbesserung der Eutergesundheit bei Milchziegen

Monitoring of udder health as preventive tool for the improvement of udder health in dairy goats

FKZ: 08OE178

Projektnehmer:

Thünen-Institut
Institut für Ökologischen Landbau
Trenthorst 32, 23847 Westerau
Tel.: +49 4539 8880-311
Fax: +49 4539 8880-120
E-Mail: karen.aulrich@thuenen.de
Internet: www.thuenen.de/de/ol

Autoren:

Aulrich, Karen; Barth, Kerstin; Knappstein, Karin

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft.

Die inhaltliche Verantwortung für den vorliegenden Abschlussbericht inkl. aller erarbeiteten Ergebnisse und der daraus abgeleiteten Schlussfolgerungen liegt beim Autor / der Autorin / dem Autorenteam. Bis zum formellen Abschluss des Projektes in der Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft können sich noch Änderungen ergeben.

Schlussbericht

Zuwendungsempfänger: Johann Heinrich von Thünen-Institut,
Bundesforschungsinstitut für Ländliche Räume, Wald und Fischerei
Thünen-Institut für Ökologischen Landbau
Trenthorst 32
23847 Westerau

Forschungsvorhaben: **Eutergesundheitsmonitoring als präventive Maßnahme zur
Verbesserung der Eutergesundheit bei Milchziegen**

Förderkennzeichen: **2808OE178**

Laufzeit: 01.11.2009 – 28.02.2013

Berichterstatter: Dr. Karen Aulrich
Email: karen.aulrich@ti.bund.de

Kooperationspartner: Dr. Kerstin Barth
Thünen-Institut für Ökologischen Landbau
Email: kerstin.barth@ti.bund.de

Dr. Karin Knappstein
Max Rubner-Institut (MRI)
Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel,
Institut für Sicherheit und Qualität bei Milch und Fisch
Hermann-Weigmann-Str. 1, D - 24103 Kiel
Tel.04307 82 86 30
Email: karin.knappstein@mri.bund.de

Inhaltsverzeichnis

1	Einführung	3
1.1	Gegenstand des Vorhabens	3
1.2	Ziele und Aufgabenstellung des Projekts, Bezug des Vorhabens	3
1.3	Bezug des Vorhabens zur Bekanntmachung 08/08/51	4
1.4	Planung und Ablauf des Projektes	4
2	Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde	7
3	Material und Methoden	9
3.1	Tiere	9
3.1.1	Versuchsbetrieb	9
3.1.2	Praxisbetriebe	9
3.2	Probenahme und Lagerung	9
3.3	Elektrische Leitfähigkeit	10
3.4	California-Mastitis-Tests	10
3.5	Zellgehalt	11
3.6	Bakteriologische Untersuchung	11
3.7	Milchinhaltsstoffe	11
3.8	Laktoferrin	12
3.9	Laktatdehydrogenase (LDH)	12
3.10	β -Glucuronidase	12
3.11	N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase (NAGase)	12
3.12	Identifizierung koagulase-negativer Staphylokokken (KNS) und Streptokokken	12
3.13	Euterbonituren	14
3.14	Brunstbeobachtung	14
3.15	Statistische Auswertungen	14
4	Ergebnisse	15
4.1	Untersuchungen auf dem Versuchsbetrieb	15
4.1.1	Infektionsstatus der Herde	15
4.1.2	Einfluss des Infektionsstatus auf die untersuchten Indikatoren	16
4.1.3	Einflussfaktoren auf die untersuchten Indikatoren	18
4.1.4	Weitere Einflussfaktoren auf die untersuchten Indikatoren	23
4.1.4.1	Brunst	23
4.1.4.2	Melkbarkeit	24
4.1.4.3	Zitzenkondition	25
4.1.5	Erregerdifferenzierung mittels PCR	25
4.1.6	Grenzwertfindung	26
4.2	Praxisbetriebe	28
4.2.1	Infektionsstatus der Praxisbetriebe	28
4.2.2	Indikatoren auf den Praxisbetrieben	29
4.2.3	Prüfung der Indikatoren auf den Praxisbetrieben	29
5	Diskussion der Ergebnisse	31
6	Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse	33
7	Gegenüberstellung der geplanten mit den tatsächlich erreichten Zielen	34
8	Zusammenfassung	35
9	Literaturverzeichnis	36
10	Bisherige Veröffentlichungen im Projekt	39

1 Einführung

1.1 Gegenstand des Vorhabens

Gegenstand des Vorhabens war die Ermittlung geeigneter Indikatoren für die Früherkennung subklinischer Mastitiden mit dem Ziel der Verbesserung der Eutergesundheit bei Milchziegen. Diese Indikatoren sollten dann auf einem Praxisbetrieb geprüft werden, um mögliche Handlungsempfehlungen für ein verbessertes Eutergesundheitsmanagement für die Praxis daraus abzuleiten.

1.2 Ziele und Aufgabenstellung des Projekts, Bezug des Vorhabens

Ziel des Projektes ist die Verbesserung der Eutergesundheit bei Milchziegen durch Ermittlung geeigneter Indikatoren für die Früherkennung subklinischer Mastitiden, da die bei Milchkühen üblicherweise verwendeten Indikator (Zellzahl, Leitfähigkeit) für die Routineüberwachung nicht oder nur bedingt geeignet sind.

Milchziegen stellen mit ca. 9% aller gehaltenen Ziegen die größte Tiergruppe dar, die entsprechend der Normen des Ökolandbaus gehalten werden (Hesse, 2002). Da die subklinische Mastitis bei Milchziegen eine ähnlich große Rolle spielt wie bei Milchkühen und zu Ertragsverlusten sowie zur Beeinträchtigung der Produktqualität und Verarbeitungsfähigkeit der Rohmilch führt, sollte der Prävention dieser Erkrankungen besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden. Um die Wirksamkeit präventiver Maßnahmen im Bereich von Haltung, Melkhygiene und Herdenmanagement auf die Eutergesundheit zu beurteilen, ist eine sichere Diagnostik erforderlich.

Da die Standarddiagnostik (bei Milchkühen), die auf Zellzahl und bakteriologischem Befund beruht, bei Ziegen aufgrund mangelnder Eignung des Indikators Zellzahl nicht ohne Berücksichtigung sie beeinflussender Faktoren (z.B. Laktationsstadium, Brunst) angewendet werden kann, sollten im Projektverlauf verschiedene physiologische Indikatoren einzeln oder in Kombination auf ihre Eignung geprüft werden.

Wenn geeignete Indikatoren gefunden wurden, sollten diese auf ihre Praxistauglichkeit hin untersucht werden. Weiterhin sollte geprüft werden, ob daraus Handlungsempfehlungen abgeleitet werden können, die zur Verbesserung der Eutergesundheit bei Milchziegen beitragen können.

Die Klärung folgender Fragen wurde als wissenschaftliches Arbeitsziel definiert:

1. Ist es möglich, die Zellzahl, die als wenig geeignet zur Eutergesundheitsüberwachung bei Ziegen einzuschätzen ist, durch einen oder durch Kombination mehrerer zu prüfender Indikatoren abzulösen?
2. Sind diese Indikatoren praxisnah einsetzbar und können somit zur Prävention von Eutererkrankungen beitragen?
3. Um diese Ziele zu erreichen, sollte eine umfassende Prüfung der bei der Abwehr eindringender Bakterien ablaufenden bekannten physiologischen Vorgänge sowohl durch Analyse der dadurch freigesetzten Substanzen als auch der durch Anpassungsreaktionen auftretenden Gehaltsveränderungen einzelner Inhaltsstoffe vorgenommen werden. Da bestimmte Indikatoren sowohl von der Laktationsnummer als auch vom Laktationsstadium abhängig sind, wurden die Untersuchungen an einer ausreichend großen

Stichprobe (n=63) im Versuchsbetrieb des Thünen-Instituts für Ökologischen Landbau über den gesamten Laktationsverlauf erhoben und in zwei Praxisbetrieben überprüft.

Im Einzelnen sollte geprüft werden,

- welche Veränderungen bei Laktoferrin (LF), N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAGase), Laktatdehydrogenase (LDH), β -Glucuronidase, den Milchhaltsstoffen (Fett, Protein, Laktose) im Laktationsverlauf in Abhängigkeit vom Eutergesundheitsstatus unter Berücksichtigung der Laktationsnummer auftreten,
- wie sich die Zellzahl im Laktationsverlauf in Abhängigkeit vom Eutergesundheitsstatus unter Berücksichtigung der Laktationsnummer verändert,
- ob für die Beurteilung der Eutergesundheit absolute Grenzwerte für verschiedene Indikatoren gesetzt werden können und
- ob am Einzeltier anhand von Zeitreihen und Hälfteindifferenzen eine bessere Beurteilung erfolgen kann.

Voraussetzung zur Einschätzung des Eutergesundheitsstatus war neben der zytobakteriologischen Untersuchung (BU) die Differenzierung der spezifischen Erreger mittels PCR-Verfahren. Weiterhin sollte geklärt werden, welchen Einfluss die spezifischen Erreger auf die Gehaltsveränderungen der einzelnen Indikatoren haben.

1.3 Bezug des Vorhabens zur Bekanntmachung 08/08/51

Das Vorhaben leistet einen Beitrag zum thematischen Förderschwerpunkt für den Bereich Tiergesundheit beim Wiederkäuer mit dem Ziel der „Entwicklung präventiver Maßnahmen zur Steigerung der Gesundheit beim kleinen Wiederkäuer“ -thematischer Förderschwerpunkt 1.3.2 der Bekanntmachung Nr. 08/08/51 vom 30.06.2008.

1.4 Planung und Ablauf des Projektes

Die wissenschaftlichen Arbeitsziele des Vorhabens sollten durch Kombination von Untersuchungen auf einem Versuchsbetrieb und auf Praxisbetrieben erreicht werden.

Aus der Milchziegenherde des Versuchsbetriebs des Thünen-Instituts für Ökologischen Landbau wurden 63 Ziegen (geplant: 60) der Rasse Bunte Deutsche Edelziege in die Untersuchungen einbezogen. Unter definierten Bedingungen sollten und wurden die im Folgenden beschriebenen Indikatoren über den Verlauf einer Laktation, beginnend mit der Ablammung 2010, im wöchentlichen Abstand erhoben:

- Leitfähigkeit und California-Mastitis-Test (CMT) im Vorgemelk,
- Zellgehalt (SZZ) und bakteriologische Untersuchung (BU) im Hälfteanfangsgemelk,
- Spezifischer Erregernachweis mittels PCR-Verfahren im Hälfteanfangsgemelk,
- Laktoferrin, LDH, β -Glucuronidase, NAGase im Hälfteanfangsgemelk,
- Milchhaltsstoffe ((Fett, Protein, Laktose) im Hälfteanfangsgemelk.

Als Referenz für die Einstufung der Eutergesundheit dienten bakteriologische Untersuchungen im wöchentlichen Abstand. Bei wiederholtem Erregernachweis und -identifizierung in mindestens zwei von drei aufeinander folgenden Untersuchungen, entsprechend der Definition der DVG (2000), wurde von einer subklinischen Mastitis ausgegangen. Diese Einstufung

nach DVG bildete die Grundlage zur Bewertung der Güte der geprüften Indikatoren zur Einschätzung des Eutergesundheitsstatus. Die Zellzahl wurde ebenso als zu prüfender Indikator einbezogen.

In monatlichem Abstand wurden, so wie geplant, die Euter und die Zitzenspitzenkondition bonitiert und Milchflusskurven aufgezeichnet, um eventuelle Auswirkungen von subklinischen Eutererkrankungen auf die Hälftenentwicklung und die Melkbarkeit zu ermitteln.

Die erhobenen Daten wurden in einem statistischen Modell zusammengefasst und geprüft.

Unter Einbeziehung des Laktationsstadiums, der Laktationsnummer und unter Berücksichtigung der Saisonalität der Reproduktion (Erkennung erfolgte über visuelle Brunstbeobachtung) wurden Grenzwertvorschläge zur Beurteilung der Eutergesundheit erarbeitet. Diese wurden im Weiteren darauf geprüft, ob sie als Grundlage zur Entwicklung geeigneter Managementkonzepte für die Verbesserung der Eutergesundheit dienen können.

Auf zwei Praxisbetrieben wurde, wie geplant, die Validierung der auf dem Versuchsbetrieb erhaltenen Ergebnisse vorgenommen. Um Einflüsse, die z.B. aus dem Laktationsstadium resultieren, einzubeziehen war eine Beprobungsserie zu Beginn der Laktation und eine zweite zum Ende der Laktation geplant. Auf dem 1. Praxisbetrieb wurden zum Ende der Laktation 2010 über einen Zeitraum von drei Wochen in wöchentlichem Abstand Beprobungen an 76 Milchziegen durchgeführt. Der 2. Praxisbetrieb wurde zu Beginn der Laktation 2011 beprobt. Von 56 Milchziegen wurden auch hier über einen Zeitraum von 3 Wochen einmal wöchentlich Milchproben gewonnen. Erhoben wurden exakt die gleichen Indikatoren wie oben beschrieben für die Versuchsbetriebsbeprobung, lediglich auf die Erhebung von Milchflusskurven musste aus Gründen der Praktikabilität in den Praxisbetrieben verzichtet werden.

Der Beprobungszeitraum über drei Wochen resultiert aus den Vorgaben der DVG (2002), nach denen zur Einstufung der Eutergesundheit drei wöchentlich aufeinander folgende Untersuchungen erforderlich sind.

Die Tabellen 1 und 2 geben eine Übersicht über die geplanten und tatsächlich gewonnenen Proben und die erhobenen Indikatoren auf dem Versuchsbetrieb (Tab. 1) und den Praxisbetrieben (Tab. 2).

Die elektrische Leitfähigkeit und der CMT wurden direkt während der jeweiligen Probennahme im Versuchsbetrieb bzw. auf den Praxisbetrieben erhoben. Proben des Hälftenanfangsgemelkes wurden zur Bestimmung des Zellgehaltes und der Milchhaltsstoffe an das Labor des LKV Schleswig-Holstein überbracht.

Die zyto-bakteriologischen Untersuchungen wurden am Max-Rubner-Institut (MRI), Institut für Sicherheit und Qualität bei Milch und Fisch in Kiel vorgenommen. Bakteriologisch positive Proben wurden hier in Bouillon angezüchtet und dem Thünen-Institut für Ökologischen Landbau (vTI, OL) zur Verfügung gestellt.

Wie geplant erfolgte im molekularbiologischen Labor (OL) die Identifizierung koagulase-negativer Staphylokokken (KNS) und Streptokokken mittels verschiedener PCR-Verfahren.

Tab. 1: Gegenüberstellung der geplanten und realisierten Probenumfänge und analysierten Indikatoren auf dem Versuchsbetrieb OEL

Indikatoren	Probenumfang -geplant	Probenumfang - realisiert
CMT, elektrische Leitfähigkeit (Vorgemelk)	4800 (60 Ziegen x 2 Hälften x 40d)	4788 (63 Ziegen x 2 Hälften x 38 Tage)
Zellgehalt (Hälftenanfangsgemelk)	4800 (60 Ziegen x 2 Hälften x 40 d)	4788 (63 Ziegen x 2 Hälften x 38 Tage)
Mastitiserreger (Hälftenanfangsgemelk)	1440 (60 Ziegen x 2 Hälften x 40 d x 30% Inzidenz)	1732 (63 Ziegen x 2 Hälften x 38 Tage x tatsächliche Inzidenz (tierindividuell))
aus Hälftenanfangsgemelk: LDH/- Laktoferrin/ β-Glucuronidase/ NAGase/ Milchinhaltstoffe (Fett, Protein, Laktose)	4800 (60 Ziegen x 2 Hälften x 40 d)/Indikator	4788 (63 Ziegen x 2 Hälften x 38 Tage)/Indikator

Tab. 2: Gegenüberstellung der geplanten und realisierten Probenumfänge und analysierten Indikatoren auf den Praxisbetrieben

Indikatoren	Probenumfang - geplant	Probenumfang - realisiert
CMT, elektrische Leitfähigkeit (Vorgemelk)	720 (1 Betrieb x 60 Ziegen x 2 Hälften x 6 d (2 x 3 d, je 3 zu Ende und Beginn der Laktation))	Gesamt: 792 Betrieb1: 76 Ziegen x 2 Hälften x 3 d (Laktationsende) = 456 Betrieb2: 56 Ziegen x 2 Hälften x 3 d (Laktationsbeginn) = 336
Zellgehalt (Hälftenanfangsgemelk)	720 (1 Betrieb x 60 Ziegen x 2 Hälften x 6 d (2 x 3 d, je 3 zu Ende und Beginn der Laktation))	Gesamt: 792 Betrieb1: 76 Ziegen x 2 Hälften x 3 d (Ende der Laktation) = 456 Betrieb2: 56 Ziegen x 2 Hälften x 3 d (Beginn der Laktation) = 336
Mastitiserreger (Hälftenanfangsgemelk)	216 (1 Betrieb x 60 Ziegen x 2 Hälften x 6 d (2 x 3 d, je 3 zu Ende und Beginn der Laktation) x 30 % Inzidenz)	Gesamt: 196
aus Hälftenanfangsgemelk: LDH/ Laktoferrin/ β-Glucuronidase/ NAGase/ Milchinhaltstoffe (Fett, Protein, Laktose)	720 (1 Betrieb x 60 Ziegen x 2 Hälften x 6 d (2 x 3 d, je 3 zu Ende und zu Beginn der Laktation))	Gesamt: 792 Betrieb1: 76 Ziegen x 2 Hälften x 3 d (Ende der Laktation) = 456 Betrieb2: 56 Ziegen x 2 Hälften x 3 d (Beginn der Laktation) = 336

Die quantitative Bestimmung des Laktoferrins erfolgte nicht wie geplant an der Universität Bonn sondern im Labor OL. Für die LDH-Bestimmungen war die spektrophotometrische Messung („trochemische Methode“) unter Verwendung des Analysators DT 60 II (Ortho-Clinical Diagnostics, Fa. Johnson & Johnson, Neckargemund) vorgesehen. Nachdem sich in Vorversuchen herausgestellt hat, dass die Empfindlichkeit dieser Methode nicht ausreichend ist, wurde eine Kooperation mit der Universität Aarhus eingegangen, die bereits eine fluoreszenzspektroskopische Methode zur LDH Bestimmung etabliert hatten (Larsen, 2005).

Gemeinsam mit der Universität Aarhus wurde an einer Methode zur Bestimmung von β -Glucuronidase gearbeitet (Larsen & Aulrich, 2012), die nach erfolgreicher Validierung zur Analyse aller Proben an der Universität Aarhus eingesetzt wurde.

2 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Euterinfektionen spielen bei Ziegen eine ähnlich große Rolle wie bei Milchkühen, wobei subklinische Mastitiden, hervorgerufen durch koagulase-negative Staphylokokken (CNS), die häufigste Ursache darstellen (Contreras et al., 2003, 2007; Leitner et al., 2008). Die Prävalenz durch CNS hervorgerufener subklinischer Mastitis variiert in den Beständen von 25-93 % (Bergonier et al., 2003).

Im Gegensatz zu Milchkühen ist die Einschätzung der Eutergesundheit bei Ziegen allerdings problematisch. Während man bei gesunden Eutervierteln von Kühen von einer Zellzahl bis maximal 100.000 pro ml ausgeht, schwanken die Angaben zur Ziegenmilch von 200.000 Zellen/ml bis zu einer Million Zellen/ml (Raynal-Ljutovac et al., 2007). Auch fehlt zur Beurteilung der Verkehrsfähigkeit der Rohmilch ein Zellzahlgrenzwert (VO EG Nr. 853/2004) im Gegensatz zum Grenzwert für den Keimgehalt von 1,5 Mio KbE/ml. Eine allgemeingültige Definition eines Zellzahl-Schwellenwertes zur Unterscheidung zwischen gesunden und an Mastitis erkrankten Euterhälften gibt es bisher nicht.

Dies beruht vor allem auf der z. T. physiologisch bedingten großen Variabilität dieses Kriteriums (Dulin et al., 1983), was auch kürzlich noch einmal hervorgehoben wurde (Paape et al., 2007). So haben andere, infektionsunabhängige Faktoren, wie das Laktationsstadium (Luengo et al. 2004), die Laktationsnummer (u.a. Dulin et al., 1983; Paape et al., 2007) und die Brunst (McDougall & Voermans, 2002; Moroni et al., 2007; Barth & Aulrich, 2007) großen Einfluss auf die Zellzahl. Diese kann auch in gesunden Euterhälften zum Ende der Laktation, abhängig von der Laktationsnummer, Werte bis zu 1,1 Mio/ml annehmen. Auswertungen aus den USA (Paape et al., 2007) zeigen in der 1. Laktation durchschnittliche Zellzahlen von 200.000/ml zu Beginn der Laktation, die zum Ende auf 500.000/ml steigen. In der 5. Laktation betragen sie zu Beginn der Laktation im Durchschnitt 250.000/ml und steigen auf 1,1 Mio/ml zum Ende der Laktation an. Der Zellzahlanstieg zum Ende der Laktation wird sowohl für nichtinfizierte als auch für infizierte Euterhälften beschrieben (Moroni et al., 2005), was auch in eigenen Untersuchungen bestätigt wurde (Knappstein et al., 2005; Aulrich & Barth, 2008).

Ungeachtet dieser Besonderheiten bei der Ziege gelten in einigen Ländern (z. B. USA, Frankreich) bereits Grenzwerte für die Zellgehalte von Liefermilch (Pirisi et al., 2007). Die gewählten Schwellenwerte liegen dabei zwischen 750.000 bis 1 Mio Zellen je ml Milch. Diese Grenzen können insbesondere gegen Ende der Laktation leicht überschritten werden, ohne dass die Inzidenz subklinischer Mastitis in diesem Zeitraum erhöht ist.

Zusammenfassend kann konstatiert werden, dass die Zellzahl als Kriterium zur Einschätzung der Eutergesundheit nicht geeignet ist (Paape et al., 2007). Da subklinische Mastitiden, hervorgerufen durch koagulase-negative Staphylokokken, den häufigsten Erkrankungskomplex bei Milchziegen darstellen, der auch zu verminderter Milchleistung und Beeinträchtigung der Verarbeitungseigenschaften der Milch führt (Leitner et al., 2004a), scheint es sowohl aus Gründen der Aufrechterhaltung der Tiergesundheit, des vorbeugenden Verbraucherschutzes als auch der Sicherung der Einkommen ziegenhaltender Betriebe dringend geboten, Kriterien zu etablieren, die geeignet sind, die Eutergesundheit relativ einfach und sicher zu überwachen.

Die bakteriologische Diagnose ist zeitaufwendig und teuer und somit als Kriterium zum Monitoring in Praxisbetrieben nur bedingt geeignet.

Aus Untersuchungen an Milchkühen ist bekannt, dass sowohl die Bestimmung des Enzyms Laktatdehydrogenase (LDH) als auch des antimikrobiellen Proteins Laktoferrin als Indikator zur Erfassung des Eutergesundheitsstatus herangezogen werden kann. Laktoferrin, bakterios-tatisch wirkend, wird unter anderem von polymorphkernigen Granulozyten nach Entzündung der Milchdrüse sezerniert. Für Milchkühe liegen umfangreiche Untersuchungen vor (u.a. Chaneton et al., 2008; Hagiwara et al., 2003). Eine Studie an Milchziegen aus Taiwan (Chen et al., 2004) zeigt einen Anstieg der Laktoferrinkonzentration in mit Mastitis infizierten Herden im Vergleich zu gesunden Herden wobei keine Aussage zum Erreger getroffen wird und die Beprobung auf Tankmilchebene vorgenommen wurde. Als Einstufungskriterium galt hier die Reaktion im Methylenblaureaktionstest, dies ist übliche Praxis in Taiwan zur Qualitätsprüfung von Ziegenmilch. In einer weiteren Studie der Universität Bonn (Hiss et al., 2008) wurden 19 Ziegen über eine gesamte Laktation beprobt und die Laktoferrinkonzentrationen bestimmt, um Abhängigkeiten vom Laktationsstadium und der Laktationsnummer abzuklären. Eine bakteriologische Untersuchung wurde nicht vorgenommen, so dass keine Aussagen zum Infektionsstatus und eines möglichen Einflusses auf die Laktoferrinkonzentration gemacht werden konnten.

LDH wird im Rahmen der Immunantwort und bei Veränderungen der Zellmembran freigesetzt (Chagunda et al., 2005). Nach Schädigung der Blut-Milch-Barriere durch eine massive Irritation von Mastitiserregern kann ein Übertritt von LDH aus dem Blut in die Milch erfolgen, der bei Milchkühen für die Diagnose subklinischer Mastitiden gemessen werden kann (Hiss et al., 2007). Für Milchziegen liegen wenige Daten vor. Ying et al. (2002) untersuchten Einzeltiere und Tankmilchproben über kurze Zeiträume und schlossen daraus, dass LDH kein geeigneter Indikator zur Beurteilung des Eutergesundheitsstatus ist. Eine Prüfung auf Einzeltierbasis unter Einbeziehung von Infektionsstatus, Laktationsnummer und – stadium wurde nicht vorgenommen.

Im Rahmen der Abwehr wird β -Glucuronidase als lysosomales Enzym freigesetzt. Oliszewski et al. (2002) untersuchten den Zusammenhang zwischen Zellgehalten, β -Glucuronidase-Aktivitäten und Ergebnissen des California-Mastitis-Testes. Eine bakteriologische Untersuchung, die als Standardmethode zur Einschätzung des Eutergesundheitsstatus in Deutschland (DVG, 2000) anerkannt ist, wurde nicht durchgeführt.

Das Enzym N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase (NAGase) ist wie β -Glucuronidase ein lysosomales Enzym. Erhöhte Aktivitäten werden bei Milchkühen im Zusammenhang mit der Abwehr von Euterinfektionen nachgewiesen (u.a. Chagunda et al., 2005). Arbeiten von Maisi & Riipinen (1988) als auch von Vihan (1989) weisen NAGase als geeignet für die Diagnose subklinischer Mastitiden aus. Leitner et al. (2004b) prüften diesen Indikator an jeweils 50

Ziegen in 10 Herden und stellten einen signifikanten Einfluss des Infektionsstatus auf die NAGase Aktivität fest. Eine Korrelation von Zellzahl und NAGase Aktivität war dagegen nicht gegeben.

Aus den bisher für Milchziegen publizierten Daten lässt sich kein einheitliches Fazit für die Anwendung eines Indikators zur Einschätzung des Eutergesundheitsstatus ziehen. Die Datenbasis ist nicht ausreichend, um Empfehlungen für die Anwendung in der Praxis geben zu können, was die verschiedenen Vorgehensweisen in den einzelnen Ländern belegen.

3 Material und Methoden

3.1 Tiere

3.1.1 Versuchsbetrieb

Aus der Ziegenherde des Versuchsbetriebes am Thünen-Institut für Ökologischen Landbau (vTI) standen 63 Ziegen (Rasse: Bunte Deutsche Edelziege) für die Untersuchungen über eine gesamte Laktation (Februar bis Ende Oktober 2010) zur Verfügung. Die Ziegen befanden sich in der 1 bis 8 Laktation.

Alle Ziegen wurden als gesund, ohne klinische Anzeichen einer Infektion oder Veränderung der Milchbeschaffenheit, eingestuft.

Für den Zeitraum der Lammung wurden die Muttertiere in Einzelboxen separiert. Um Einflüsse der Lämmer auf die zu untersuchenden Milchproben zu verhindern, wurden diese nach 5 Tagen von den Müttern getrennt. Die gesamte Ziegenherde wurde zweimal täglich in einem Side by Side Melkstand der Firma GEA Farm Technologien (Bönen, Deutschland) gemolken.

3.1.2 Praxisbetriebe

Über einen Zeitraum von jeweils drei Wochen wurden Untersuchungen auf zwei Praxisbetrieben durchgeführt.

Betrieb 1 (Schleswig-Holstein): Es wurden 76 Tiere zufällig ausgewählt und in drei aufeinander folgenden Wochen (9., 16., 23.11.2010) beprobt.

Betrieb 2 (Schleswig-Holstein): Hier wurden von 56 Tieren in drei aufeinander folgenden Wochen (19., 26.4., 3.5.2011) Milchproben gewonnen.

Die Herden bestanden zu unterschiedlichen Teilen sowohl aus Vertretern der Rasse Bunte sowie Weiße Deutsche Edelziege. Alle ausgewählten Tiere galten als klinisch gesund und wurden für den Zeitraum der Probenahme von den Lämmern separiert. Beide Ziegenherden wurden zweimal täglich in einem Side by Side Melkstand gemolken.

3.2 Probenahme und Lagerung

Die Probenahme auf dem Versuchsbetrieb erfolgte wöchentlich über einen Zeitraum von 38 Wochen unmittelbar vor dem routinemäßigen morgendlichen Melken an einem festen Tag pro Woche.

Die 1. Probe nach der Lammung wurde innerhalb der ersten 6 Tage gewonnen.

Die ersten drei Strahlen des Vorgemelkes wurden zur Messung der elektrischen Leitfähigkeit, zwei weitere Strahlen zur Durchführung des California-Mastitis-Tests (Schalmtest) verwendet. Die weitere Probenahme erfolgte nach den „Leitlinien zur Entnahme von Milchproben

unter antiseptischen Bedingungen“ der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG, 2009). Dazu wurden die Euterzitzen mit Rotisol[®] (70% Ethanol) gereinigt und Hälftenangfangsgemelksproben (10ml) in sterile Glasröhrchen (ohne Konservierungsmittel) gemolken. Diese Proben wurden sofort kühl gelagert und nach Beendigung des Melkens ins Labor des Institutes für Sicherheit und Qualität bei Milch und Fisch des Max-Rubner-Instituts transportiert. Hier erfolgte die bakteriologische Untersuchung der bei 6°C gekühlten Proben innerhalb von 30 Stunden nach der Probenahme. Die unmittelbar nach der Lammung entnommenen Proben wurden mit Borsäure (Ly 20, Heeschen et al., 1977) konserviert und bis zur Untersuchung kühl gelagert. Die Dauer zwischen Probenahme und bakteriologischer Untersuchung betrug bei diesen Proben bis zu 7 Tage.

Für die weitere Identifizierung der KNS und Untersuchung der Streptokokken mittels PCR-Verfahren wurden bakteriologisch positive Proben in Herz-Hirn-Bouillon angezüchtet (am MRI) und die Isolate dieser bei -20°C bis zur molekularbiologischen Analyse (vTI, OL) gelagert.

Für die Untersuchung der Milchinhaltstoffe (Fett, Protein, Laktose) und der zu prüfenden Indikatoren LDH, NAGase, Laktoferrin (LF) und β -Glucuronidase wurde eine größere Milchmenge (ca. 50 ml) jeder Euterhälfte in Kunststoffbecher gemolken. Hieraus wurde aliquotiert: ca. 30 ml in eine mit dem Konservierungsstoff Bronopol (2-Brom-2-nitropropan-1.3-diol) vorbereitete Flasche für die Milchinhaltstoffe und je 2 ml für die Bestimmung von LDH, NAGase, LF und β -Glucuronidase.

Die Proben für die Milchinhaltstoffuntersuchungen wurden jeweils am Tag der Probenahme in das Untersuchungslabor des Landeskontrollverbandes Schleswig-Holstein transportiert. Die weiteren Aliquote wurden bis zur Analyse bei -20°C gelagert.

Die Beprobung der Praxisbetriebe und die Lagerung der Proben erfolgte nach demselben Prinzip der wöchentlichen Probenahme auf dem Versuchsbetrieb.

3.3 Elektrische Leitfähigkeit

Die elektrische Leitfähigkeit wurde vor Ort unter Verwendung der ersten drei Strahlen des Vorgemelks und einer automatischen Temperaturkompensation auf 25 °C Standard-Temperatur mit dem Handmessgerät Mastitron[®] LF 3000 gemessen. Die ermittelten Messwerte wurden in mS cm^{-1} angegeben.

3.4 California-Mastitis-Tests

Der California-Mastitis-Test (CMT) wurde wie folgt durchgeführt: aus jeder Euterhälfte wurde eine definierte Milchmenge direkt in eine Testplatte gemolken und mit dem Testreagenz Profilac Reagent N[®] in einem Verhältnis von 1:1,5 versehen. Durch kreisende Bewegungen kommt es zu einer Durchmischung der beiden Flüssigkeiten und einer Freisetzung von DNA aus den Zellen. Anhand der auftretenden Schlieren- oder Gelbildung kann eine Zuordnung zu den Zellzahlklassen vorgenommen werden, wobei hohe Zellzahlen mit einer deutlichen Viskositätsänderung in der Probe korreliert sind. Der Grad der Viskosität wurde dem Niveau 0 (negativ), 1, 2 oder 3 zugeordnet.

3.5 Zellgehalt

Der Zellgehalt wurde fluoreszenzoptisch im Durchflusszytometer nach der Methode ISO 13366-2:2006 mit dem Gerät Fossomatic 5000 (Foss Electric, Hillerød, DK) am Institut für Sicherheit und Qualität bei Milch und Fisch des Max Rubner-Instituts bestimmt.

3.6 Bakteriologische Untersuchung

Die bakteriologischen Untersuchungen wurden in Anlehnung an die Leitlinien der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft durchgeführt (DVG, 2009). Je Probe wurden 0,05 ml auf einer Blutagarplatte (Columbia Agar Basis, plus 5 % defibriniertes Schafblut, Oxoid GmbH, Wesel, DE) ausgespatelt. Nach Inkubation bei 37 °C für 24 und 48 Stunden wurden die Platten ausgewertet und Mastitiserreger auf Blutagar subkultiviert. Die Reinkulturen wurden anhand von Koloniemorphologie, Katalase-Reaktion und Gramfärbung vorläufig identifiziert. Zur Bestätigung wurden folgende Testverfahren angewendet:

Zur Differenzierung von Koagulase-negativen und Koagulase-positiven (*Staphylococcus (Staph.) aureus*) Staphylokokken diente der Koagulase-Test im Röhrchen (BD BBL Koagulase Plasma, Kaninchen mit EDTA, Bennex Limited, Shannon, IE). Streptokokken wurden durch fehlendes Wachstum bei 45 °C von Enterokokken unterschieden. *Streptococcus (Strep.) uberis* wurde auf Grund folgender biochemischer Reaktionen identifiziert: Säureproduktion und Gerinnung von Lackmusmilch, Säuerung von Inulin und Mannit, Hydrolyse von Arginin, Äsculin und Hippurat.

Für *Strep. dysgalactiae* wurde die Serogruppe mittels Latexidentifizierungstest (Oxoid Ltd., Basingstoke, UK) bestimmt. Zur biochemischen Identifizierung wurde das API Strep System (bioMérieux, Marcy l'Étoile, FR) verwendet.

Coryneforme Bakterien wurden durch einen positiven Katalase-Test und mikroskopisch anhand einer typischen keulenförmigen Zellmorphologie und ggf. Lagerung in V-Form identifiziert.

Die Keimgehalte wurden semiquantitativ entsprechend der Koloniezahl in 0,05 ml bestimmt:

- 1 = 1 bis 5 Kolonien
- 2 = 6 bis 20 Kolonien
- 3 = 21 bis 50 Kolonien
- 4 = 51 bis 200 Kolonien
- 5 = >200 Kolonien

Für die Auswertung wurden *Staph. aureus*, *Strep. uberis* und *Strep. dysgalactiae* als Majorpathogene zusammengefasst.

3.7 Milchinhaltstoffe

Die Analyse der Milchinhaltstoffe beruht auf dem Routineverfahren zur Bestimmung des Fett-, Eiweiß- und Laktosegehalts in Milch nach dem infrarotspektroskopischen Verfahren mit dem MilkoScan FT 6000 und wurde beim Landeskontrollverband Schleswig-Holstein e.V. (LKV) in Kiel durchgeführt.

3.8 Laktoferrin

Der Laktoferringehalt wurde mit einem kompetitiven Enzymimmunoassay (EIA) unter Verwendung polyklonaler Schafantikörper durchgeführt, der an der Universität Bonn entwickelt wurde (Hiss et al., 2008). Die Durchführung erfolgte im Labor des Thünen-Instituts für Ökologischen Landbau nachdem die Komponenten des EIA hierher übergeben wurden und der Test in diesem Labor etabliert wurde. Der Laktoferringehalt in den Milchproben wurde in $\mu\text{g ml}^{-1}$ berechnet.

3.9 Laktatdehydrogenase (LDH)

Die Analyse der LDH-Aktivität der Milchproben erfolgte am Department of Animal Science der Universität Aarhus nach der Methode von Larsen (2005). Der Bestimmung liegen die katalytischen Eigenschaften von LDH für die Oxidation von L-Lactat zu Pyruvat in Gegenwart von NAD^+ zugrunde. Das resultierende NADH katalysiert die Umsetzung von Resazurin in das stark fluoreszierende Resorufin, welches fluorometrisch (FLUOstar Galaxy, BMG Lab-technologies, Offenburg) gemessen wird und mit der tatsächlichen Menge an LDH in der Milchprobe korreliert. Die Angabe der LDH-Aktivität erfolgte in U l^{-1} .

3.10 β -Glucuronidase

Die β -Glucuronidaseaktivität der Milchproben wurde in Kooperation mit dem Department of Animal Science der Universität Aarhus mittels einer kinetisch, fluorometrischen Methode (Larsen & Aulrich, 2012) bestimmt. Die Analyse basiert auf der durch β -Glucuronidase katalysierten Umsetzung von 4-Methylumbelliferyl- β -D-glucuronid in das fluoreszierende Produkt 4-Methylumbelliferon. Die Angabe der β -Glucuronidaseaktivität erfolgte in U l^{-1} .

3.11 N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase (NAGase)

Die NAGase-Aktivität wurde mit einer fluoreszenzspektroskopischen Methode, beschrieben bei Nogai et al. (1996) am Institut für Sicherheit und Qualität bei Milch und Fisch des MRI bestimmt.

Die Proben wurden mit 4-Methylumbelliferyl-N-Acetyl-beta-D-Glucosaminid inkubiert, das durch die in den Proben enthaltene NAGase zu dem fluoreszierenden 4-Methylumbelliferon umgewandelt wird. Die Messung der Fluoreszenz erfolgte mit einem Fluorimeter (Microplate Fluorimeter, Model 7630, Cambridge Technologies, Watertown, USA). Durch Vergleich mit Referenzproben, die aus kommerziell erhältlicher UHT-behandelter Ziegenmilch hergestellt wurden, wurde die Aktivität an freigesetztem Methylumbelliferon in $\text{nmol min}^{-1} \text{ml}^{-1}$ berechnet.

3.12 Identifizierung koagulase-negativer Staphylokokken (KNS) und Streptokokken

Die im mikrobiologischen Labor des Instituts für Sicherheit und Qualität bei Milch und Fisch (MRI) isolierten und in Herz-Hirn-Bouillon inkubierten Erreger von KNS und Streptokokken wurden im Weiteren mittels PCR-Verfahren im molekularbiologischen Labor des vTI (OL), Trenthorst auf Speziesebene identifiziert.

Voraussetzung für die Durchführung von PCR-Reaktionen ist das Vorliegen von DNA in ausreichender Menge und Reinheit. Die DNA-Extraktionen erfolgten nach der modifizierten Methode von Tilsala-Timisjärvi et al. (2000), beschrieben in Aulrich und Barth (2008). Nach Lyse der Bakterienzellwände mit Mutanolysin und Lysostaphin und nachfolgender Hydrolyse

von Proteinen durch Proteinase K wurde die DNA mittels des kommerziell erhältlichen „Tissue-Kits“ (Macherey-Nagel, Deutschland) entsprechend der Herstellerangaben weiter gereinigt. Anschließend wurde die Menge und Reinheit der isolierten DNA in einem Nano-Spektrophotometer (NanoDrop ND 2000, Thermo Scientific, USA) im UV-Bereich bei 260 und 280 nm bestimmt.

In allen PCR-Verfahren zur Identifizierung der Staphylokokken (auch koagulase positive) wurden folgende Referenzstämme der DSMZ mitgeführt: *S. aureus subsp. aureus* DSM 20231, *S. capitis subsp. capitis* DSM 20326, *S. caprae* DSM 20608, *S. chromogenes* (*S. hyicus subsp. chrom.*) DSM 20454, *S. cohnii subsp. cohnii* DSM 20260, *S. epidermidis* DSM 20044, *S. haemolyticus* DSM 20263, *S. hominis subsp. hominis* DSM 20328, *S. hyicus* DSM 20459, *S. lugdunensis* DSM 20345, *S. sciuri subsp. sciuri* DSM 20322, *S. simulans* 20316, *S. warneri* DSM 20266, *S. xylosum* DSM 20229, *S. saprophyticus subsp. saprophyticus* DSM 18669, *S. saprophyticus subsp. bovis* DSM 4804.

Zur Identifizierung der *Staphylococcus* Spezies kam anfangs die ITS-PCR (internal transcribed spacer PCR) nach Couto et al. (2001) zum Einsatz, die auf der polymorphen Natur von Spacer-Sequenzen des 16S-23S Genes beruht. Nach ITS-PCR und Auftrennung der PCR-Produkte mit Hilfe der Gelelektrophorese wurden charakteristische Bandenmuster für die einzelnen Spezies erhalten, die jeweils mit den Mustern der Referenzstämme verglichen wurden. Weiterhin wurde zur Differenzierung zwischen *S. xylosum*, *S. cohnii* und *S. saprophyticus*, die mit dieser Methode nicht möglich ist, die PCR-RFLP Analyse (PCR-Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus Analyse) des *dnaJ* Genes (Hitzeschock-protein Hsp 40) angewandt (Hausschild & Stepanovic, 2008). Hier wurde ein 920 Basenpaare großer Abschnitt des *dnaJ*-Genes vervielfältigt, der anschließend jeweils einem Restriktionsverdau mit XapI und Bsp1431 unterworfen wurde. Die erhaltenen Fragmente aus dem Restriktionsverdau ergaben in der Gelelektrophorese charakteristische Bandenmuster für die einzelnen *Staphylococcus* Spezies. Es stellte sich im Verlauf der Untersuchungen heraus, dass die zuletzt genannte Methode für die in diesem Projekt vorliegenden Proben bessere Identifizierungsergebnisse erbrachte als die ursprünglich geplante Methode nach Couto (2001). Daraus folgend wurden dann alle Proben mit dieser Methode untersucht. Zur Absicherung der Ergebnisse und zur Speziesbestimmung in Proben, die auch mit dieser Methode nicht sicher vorzunehmen war, kam die PCR-RFLP Analyse des *gap*-Genes zur Anwendung, die bei Yugueros et al. (2001) beschrieben ist. Hier wurde ein 933 bp großer Abschnitt des *gap*-Genes vervielfältigt, der im Anschluss einem Verdau mit dem Restriktionsenzym AluI unterworfen wurde. Auch hier erfolgte die Zuordnung zu den Spezies entsprechend der charakteristischen Bandenmuster aus der Gelelektrophorese nach Abgleich mit den Bandenmustern der Referenzstämme.

Für die Identifizierung von Streptokokken wurde die PCR-RFLP Analyse ribosomaler DNA des 16S-23S-Genes angewendet, die bei McDonald et al. (2005) beschrieben ist. Nach Vervielfältigung eines ca. 1500 Basenpaare (bp) großen DNA-Abschnittes des 16S-23- Genes wurde dieses durch Zugabe von Restriktionsenzymen (AluI, HaeIII, RsaI) in unterschiedlich große Fragmente gespalten. Die erhaltenen Fragmente wurden in der Gelelektrophorese aufgetrennt. Das damit erhaltene Bandenmuster ist charakteristisch für die einzelnen Streptococcus Spezies, von denen auch Referenzstämme über den gesamten Prozess von der DNA-Extraktion, die PCR-RFLP und die Elektrophorese mitgeführt wurden. Folgende Referenzstämme, die in der Deutschen Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ, Braunschweig) hinterlegt sind, kamen in den Untersuchungen zum Einsatz: *Sc. uberis* DSM-

Nummer 20569, *Sc. parauberis* DSM 6631, *Sc. dysgalactiae subsp dysgalactiae* DSM 20662, *Sc. agalactiae* DSM 2134.

3.13 Euterbonituren

Die 63 Tiere des Versuchsbetriebes wurden im Verlauf der Laktation zu drei festgelegten Zeitpunkten auf die Zitzenform, -kuppenform und chronische bzw. akute Zitzekondition jeder Euterhälfte hin untersucht. Die Einteilung der Zitzenform erfolgte auf Grundlage von Grunert (1990) und unterteilt Zitzen in 7 verschiedene Typen: Normale Form (1), Fleischzitze (2), Kurzzitze (3), Kegelzitze (4), Bleistiftzitze (5), milchbrüchige Zitze (6) und Flaschenzitze (7). Die Zitzenkuppenform lässt sich fünf verschiedenen Typen zuordnen; es wurden die runde Zitze (1), Tellerzitze (2), Trichterzitze (3), Taschenezitze (4) und Spitzzitze (5) unterschieden (Grunert, 1990). Die chronische Zitzenkondition nach Einteilung von Hansen und Wiesner (1993) sowie Mein et al. (2001) bewertet den Grad der Hyperkeratosen am Euter. Die Einteilung erfolgte auf einer Skala von 0 (keine Hyperkeratose, glatt), 1 (kleiner weißer Ring), 2 (großer weißer Ring), 3 (roter Ring) bis 4 (roter, fransiger Ring). Die akute Zitzenkondition lässt sich ebenfalls auf einer Werteskala bemessen, die hier allerdings nicht weiter erläutert wird, da in allen Fällen ein normaler Zustand und demnach kein Grad einer akuten Hyperkeratose festzustellen war.

Weiterhin wurde an jeweils 10 Terminen eine Aufzeichnung der Milchflusskurven mittels LactoCorder® zur Einschätzung der Kurven-Charakteristika über den Laktationsverlauf vorgenommen, die unter anderem eine Bewertung der Stufigkeit, Angaben über das Gesamtgemelk, Dauer der Plateauphase und Blindmelkzeiten zulässt.

3.14 Brunstbeobachtung

Im Brunstzeitraum wurde eine detaillierte Erhebung zum Einfluss der Brunst auf ausgewählte Variablen der Eutergesundheit durchgeführt. Hierzu wurde eine Untergruppe der Herde (jeweils 10 infizierte und 10 gesunde Ziegen) ausgewählt, die Brunst mittels „Bockeffekt“ induziert und durch Beobachtung der Brunstsymptome bei den Ziegen erfasst. Es erfolgte täglich in der Morgenmelkzeit eine Entnahme von Milchproben. Diese wurden auf die Zellzahl und die Enzymaktivität von LDH bzw. β -Glucuronidase untersucht.

3.15 Statistische Auswertungen

Die statistische Auswertung erfolgte größtenteils mittels R 2.15.2 (R Core Team, 2012). Dabei kamen sowohl Methoden der deskriptiven als auch schließenden Statistik zur Anwendung. Für die Datenexploration wurden überwiegend Grafiken verwendet. Mittels „Gemischter Effekte Modelle“ wurden die Wirkungen der Variablen: Laktationsnummer, Laktationswoche, Infektionsstatus und Milchmenge auf die geprüften Indikatoren untersucht (Paket nlme (Pinheiro et al., 2012)). Die wiederholten Messungen am Einzeltier wurden durch die Zufallsvariable „Hälfte innerhalb Ziege“ und die Abhängigkeit der aufeinanderfolgenden Messungen durch die Kovarianzstruktur AR(1) berücksichtigt. Teilbereiche, die bereits Eingang in andere Arbeiten gefunden haben (Stuhr et al., in press, Koterwa, 2012) verwendeten das Programmpaket SPSS für Windows® in verschiedenen Versionen.

4 Ergebnisse

4.1 Untersuchungen auf dem Versuchsbetrieb

4.1.1 Infektionsstatus der Herde

In zwei Dritteln der 4663 bakteriologisch untersuchten Proben wurden keine Erreger nachgewiesen (Tab. 3). Am häufigsten traten koagulase-negative Staphylokokken (KNS) sowie coryneforme Bakterien auf.

Tab. 3: Häufigkeit der Befunde aller bakteriologisch untersuchten Milchproben

Bakteriologischer Befund	Anzahl	%
ohne	3158	67,7
Koagulase-negative Staphylokokken	620	13,3
Coryneforme Bakterien	535	11,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	104	2,2
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	36	0,8
<i>Streptococcus uberis</i>	31	0,7
Kontaminierte Proben	179	3,8
Summe	4663	100,0

Staphylococcus aureus, *Streptococcus dysgalactiae* und *Streptococcus uberis* wurden für die weiteren Betrachtungen und Auswertungen als Majorpathogene zusammengefasst, da die Anzahl positiver Befunde der einzelnen Spezies zu gering war für statistische Auswertungen. Nach der Bewertung der Befunde entsprechend der Empfehlungen der DVG (2009), nach der ein Befund dann als positiv gewertet wird, wenn in 2 von 3 aufeinanderfolgenden Proben der gleiche Erreger nachgewiesen wurde, blieb die Rangfolge KNS/ Coryneforme/ Majorpathogene erhalten. Die KNS und coryneformen Bakterien verteilten sich dabei gegenläufig auf die Position der Euterhälften. Dies war bei den Majorpathogenen nicht der Fall (Tab. 4).

Tab. 4: Häufigkeitsverteilung der Erregerbefunde auf die Position der Euterhälfte

Bakteriologischer Befund	Links		Rechts		Gesamt	
	Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%
ohne	1735	50,1	1730	49,9	3465	74,2
Koagulase-negative Staphylokokken	321	60,7	208	39,3	529	11,3
Coryneforme Bakterien	190	37,4	318	62,6	508	10,9
Majorpathogene	88	53,3	77	46,7	165	3,6

Für die Auswirkung der Infektion auf die Milchzusammensetzung ist auch die Persistenz der Erreger im Euter von Bedeutung. Wurden die Ziegen im Hinblick auf den wiederholten

Nachweis des gleichen Erregers bzw. der Erregergruppe analysiert, so zeigte sich, dass von den 63 untersuchten Ziegen 32 mindestens auf einer Euterhälfte wenigstens 10mal in der gesamten Laktation den gleichen Befund aufwiesen. Somit können über die Hälfte der Tiere als nachhaltig infiziert bezeichnet werden. Majorpathogene wurden dabei bei fünf Ziegen (8%) so oft wiederholt gefunden.

22 Ziegen (35%) wiesen keinerlei bakteriologischen Befund (Einstufung: 2 aus 3 aufeinanderfolgende Proben) aus und wurden deshalb für die Beschreibung des physiologisch eutergesunden Zustandes herangezogen.

4.1.2 Einfluss des Infektionsstatus auf die untersuchten Indikatoren

Die bakteriologische Untersuchung und die darauffolgende Zuordnung zu den vier Infektionsstadien (ohne bakteriologischen Befund (o.b.B.), KNS, Coryneforme, Majorpathogene; Kapitel 4.1.1) war die Grundlage für die in diesem Kapitel dargestellten Ergebnisse.

Die graphische Analyse der Daten über die Gesamtlaktation erbrachte keine Unterschiede zum Einfluss des bakteriologischen Status der Euterhälften auf die Zellzahl und auf die elektrische Leitfähigkeit, dargestellt als Boxplots (Abb. 1).

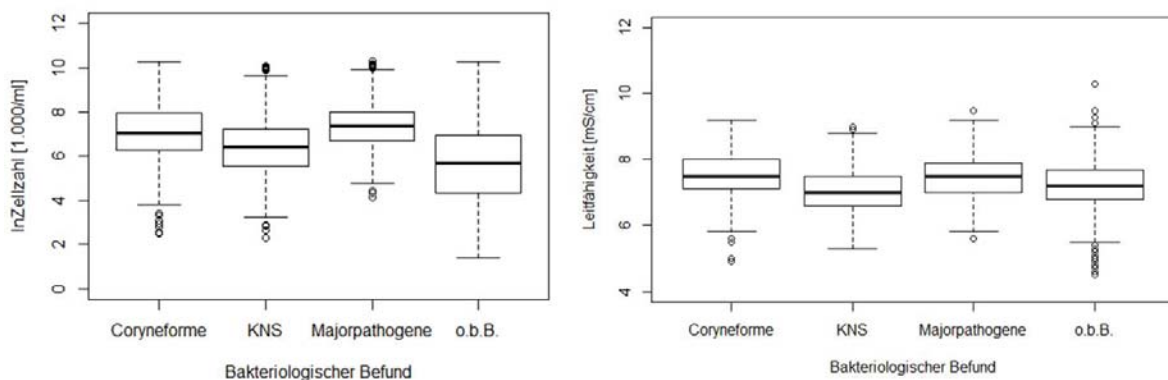


Abb. 1: Boxplots der Indikatoren Zellzahl (logarithmiert) und Leitfähigkeit in Abhängigkeit vom Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung

Die Gehalte der Milch Inhaltsstoffe Fett, Protein und Laktose, aber auch die Milchmenge in eutergesunden Hälften unterschieden sich in der graphischen Analyse über die Gesamtlaktation nicht von den Gehalten in infizierten Euterhälften (Abb. 2).

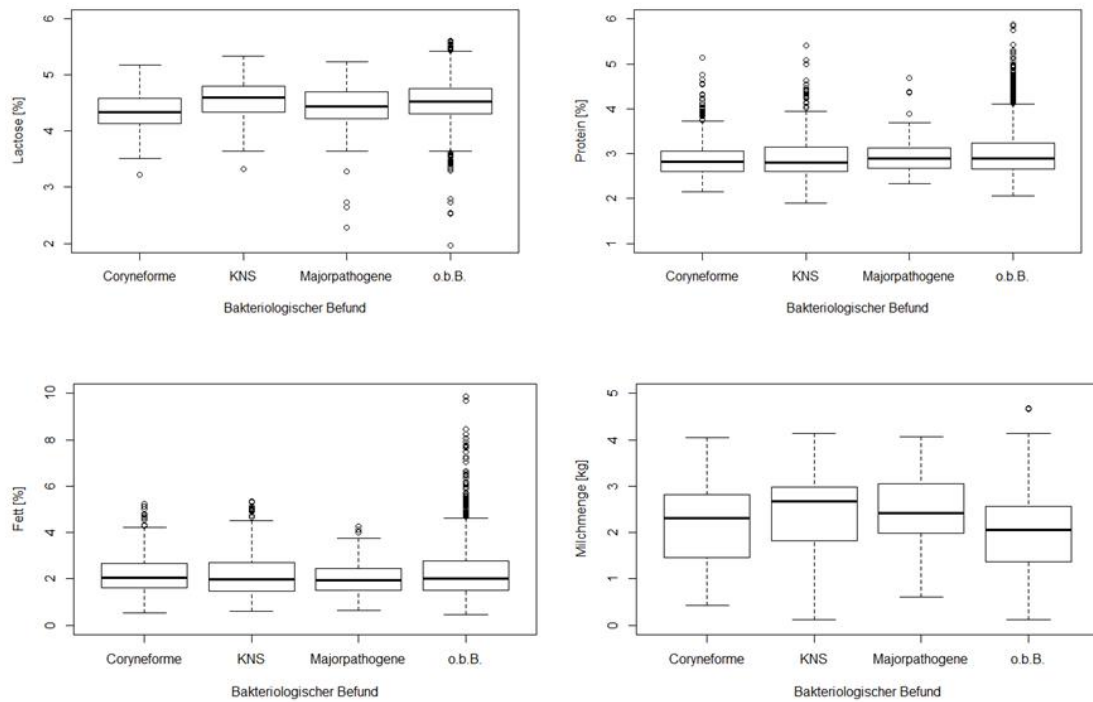


Abb. 2: Boxplots für die Gehalte an Laktose, Protein, Fett und die Milchmenge in Abhängigkeit vom Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung

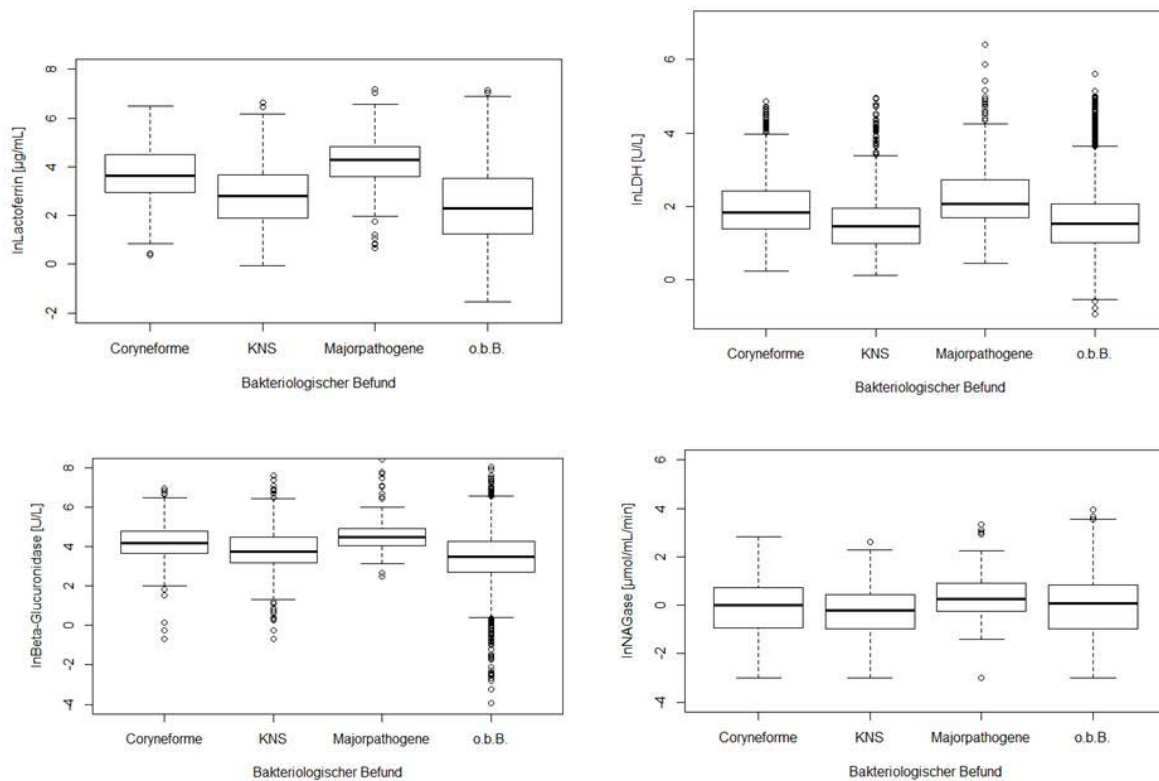


Abb. 3: Boxplots für den Laktoferringehalt und die LDH-, β -Glucuronidase- und NAGase-aktivitäten (logarithmiert) in Abhängigkeit vom Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung

In der graphischen Analyse der Abhängigkeit des Gehalts an Laktoferrin und der Aktivitäten von LDH, β -Glucuronidase und NAGase in der Gesamtlaktation vom bakteriologischen Status werden Tendenzen zu höheren Gehalten bzw. Aktivitäten bei mit Majorpathogenen infizierten Euterhälften sichtbar.

4.1.3 Einflussfaktoren auf die untersuchten Indikatoren

Da eine Einschätzung des Eutergesundheitsstatus nach Auswertung der Daten der Gesamtlaktation mit den untersuchten Indikatoren nicht erfolgreich war, wurden mögliche Einflussfaktoren auf die Indikatoren mit Hilfe der „gemischte Effekte Modelle mit Messwertwiederholung“ geprüft. Einbezogen wurden die Laktationsnummer, das Laktationsstadium (Laktationswoche), die Milchmenge und der jeweilige Infektionsstatus (Tab. 5).

Tab. 5: Statistisch sicherbare Effekte auf die untersuchten Indikatoren (Angabe der in den Modellen ermittelten Signifikanzniveaus p)

Einflussfaktor	Indikator					
	Zellzahl	Elektrische Leitfähigkeit	Laktoferrin	LDH	β -Glucuronidase	NAGase
Laktationsnummer	<0,001	<0,05	<0,001	n.s.	<0,001	n.s.
Laktationswoche	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	n.s.	<0,001
Mittlere Milchmenge	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
negative vs. KNS	<0,001	n.s.	<0,001	<0,05	<0,01	n.s.
negative vs. Coryneforme Bakterien	<0,001	n.s.	<0,001	<0,001	<0,001	n.s.
negative vs. Majorpathogene	<0,001	n.s.	<0,001	<0,001	<0,01	n.s.
negative vs. wechselnde Befunde	<0,001	n.s.	<0,001	<0,01	<0,01	n.s.

Weiterhin wurde geprüft, ob es durch die Einbeziehung der Hälfteendifferenzen in die „gemischte Effekte Modelle“ zu Veränderungen der Effekte der untersuchten Einflussfaktoren auf die Indikatoren kommt (Tab. 6). Veränderungen wurden für den Indikator NAGase statistisch gesichert.

Die Abhängigkeit der Zellzahl (ZZ) vom bakteriologischen Status über den Laktationsverlauf ist in Abbildung 4 dargestellt. Die ZZ in Euterhälften ohne bakteriologischen Befund (negative) war signifikant niedriger ($p < 0,001$) als in infizierten Hälften. Die höchsten ZZ wurden in mit Majorpathogenen infizierten Euterhälften gemessen, gefolgt von mit Corynebakterien und KNS infizierten Hälften. Die ZZ war signifikant von der Laktationswoche und der Laktationsnummer beeinflusst ($p < 0,001$) ebenso wie von der mittleren Milchmenge (Tab. 5,6).

Tab. 6: Statistisch sicherbare Effekte auf die untersuchten Indikatoren (Angabe der in den Modellen ermittelten Signifikanzniveaus p) unter Berücksichtigung der Hälftendifferenzen

Einflussfaktor	Indikator					
	Zellzahl	Elektrische Leitfähigkeit	Laktoferrin	LDH	β-Glucuronidase	NAGase
Laktationsnummer	<0,001	<0,001	<0,001	n.s.	<0,001	n.s.
Laktationswoche	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	n.s.	<0,001
Mittlere Milchmenge	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
negative vs. KNS	<0,001	n.s.	<0,001	<0,05	<0,01	<0,01
negative vs. Coryneforme Bakterien	<0,001	n.s.	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
negative vs. Majorpathogene	<0,001	n.s.	<0,001	<0,001	<0,01	<0,05
negative vs. wechselnde Befunde	<0,001	n.s.	<0,001	<0,05	<0,01	<0,05

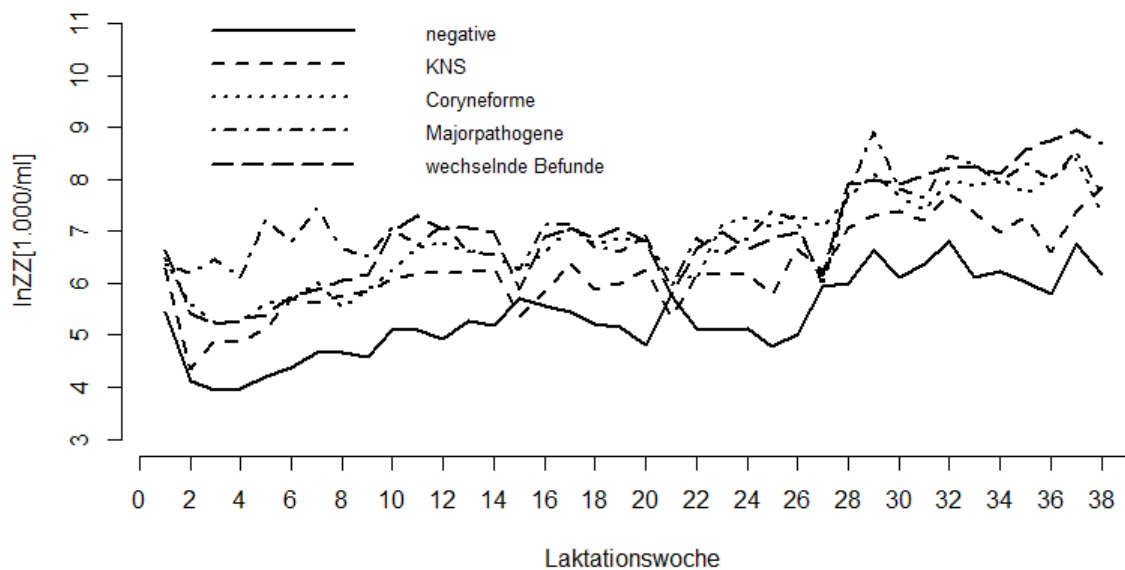


Abb. 4: Mittelwertverläufe für die Zellzahl (logarithmiert) über die Laktation in Abhängigkeit vom bakteriologischen Befund (bewertet für die gesamte Laktation)

Die elektrische Leitfähigkeit (eLF) eutergesunder Hälften unterschied sich nicht signifikant von der infizierter Hälften, unabhängig von der Erregergruppe. Die eLF wurde aber signifikant von der Laktationswoche ($p < 0,001$), der Laktationsnummer ($p < 0,05$) und der mittleren Milchmenge ($p < 0,001$) beeinflusst (Tab. 5,6).

Die Milchhaltsstoffe Fett, Protein und Laktose wurden signifikant von der Laktationswoche beeinflusst. Die Laktationsnummer hatte nur auf die Laktose einen signifikanten ($p < 0,001$)

Einfluss. Der Einfluss der mittleren Milchmenge konnte für alle Milchhaltsstoffe abgesichert werden ($p < 0,001$).

Der Laktorferringehalt (LF) in eutergesunden Hälften war signifikant geringer ($p < 0,001$) als in Hälften, die mit KNS, Coynebakterien und Majorpathogenen infiziert waren, was in Abbildung 5 auch sehr deutlich wird. Der LF wurde sowohl von der Laktationsnummer als auch der –woche und der mittleren Milchmenge signifikant ($p < 0,001$) beeinflusst (Tab. 5,6).

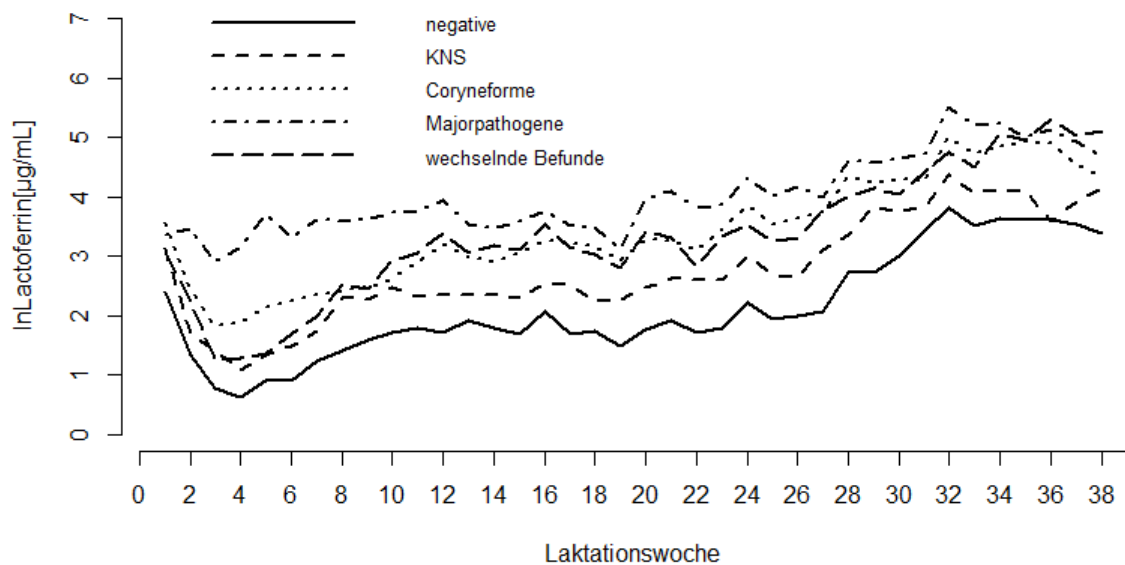


Abb. 5: Mittelwertverläufe für den Gehalt an Laktoferrin (logarithmiert) über die Laktation in Abhängigkeit vom bakteriologischen Befund (bewertet für die gesamte Laktation)

Die LDH-Aktivitäten waren signifikant vom Eutergesundheitsstatus beeinflusst (Abb. 6). Allerdings unterschieden sich mit KNS infizierte Euterhälften deutlich weniger von gesunden Hälften ($p < 0,05$) als mit Corynebakterien und Majorpathogenen infizierte Euterhälften ($p < 0,001$). Ein Einfluss der Laktationsnummer auf die LDH-Aktivitäten konnte nicht festgestellt werden, wohingegen die Laktationswoche und die mittlere Milchmenge einen signifikanten Einfluss ausübten ($p < 0,001$, Tab. 5,6).

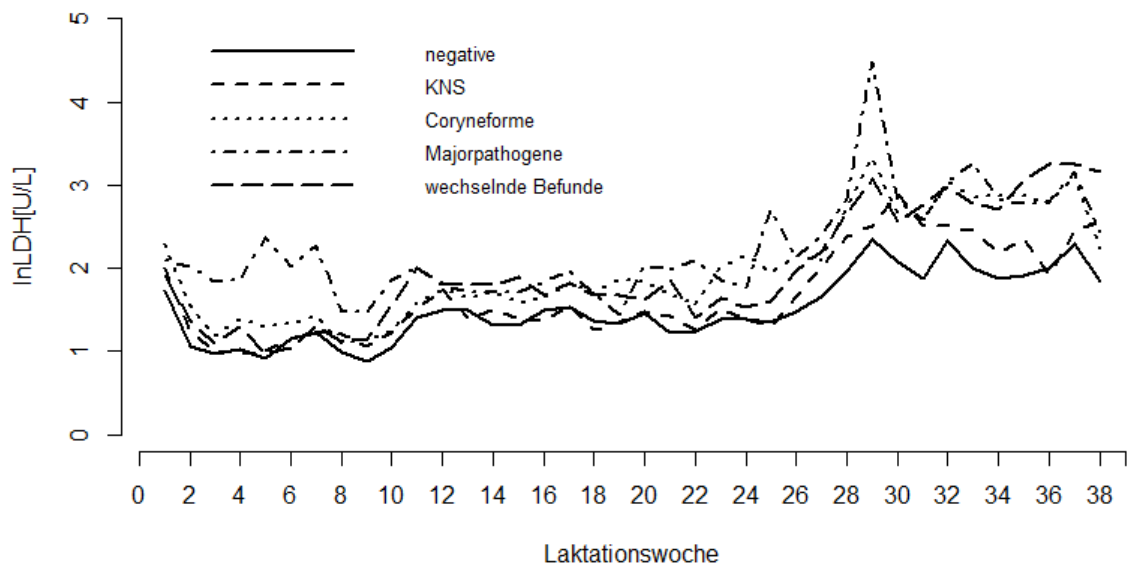


Abb. 6: Mittelwertverläufe für die LDH-Aktivität (logarithmiert) über die Laktation in Abhängigkeit vom bakteriologischen Befund (bewertet für die gesamte Laktation)

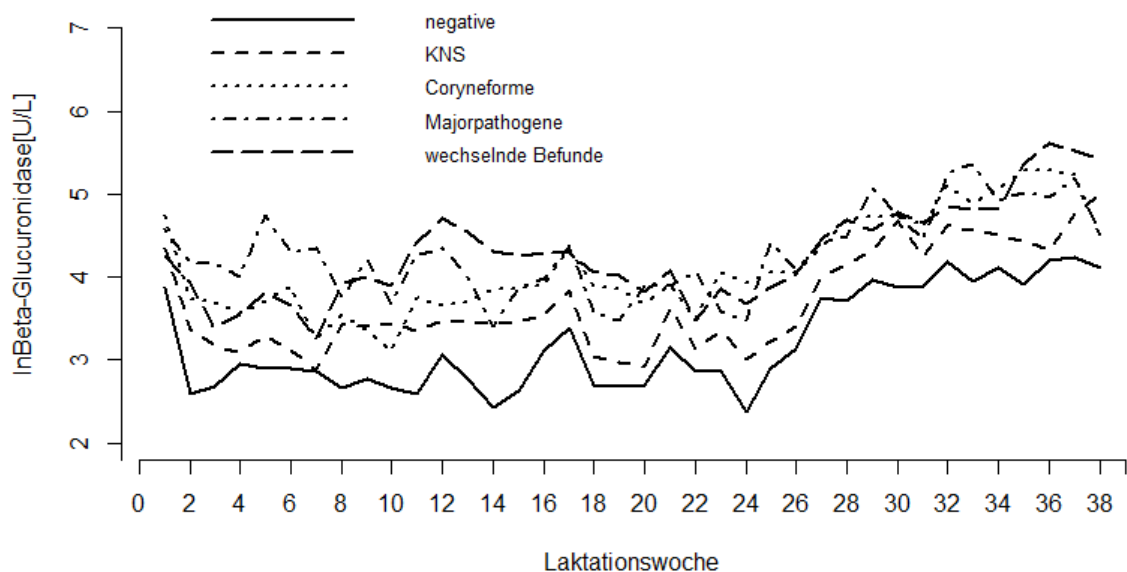


Abb. 7: Mittelwertverläufe für die β -Glucuronidase-Aktivität (logarithmiert) über die Laktation in Abhängigkeit vom bakteriologischen Befund (bewertet für die gesamte Laktation)

Der bakteriologische Status der Euterhälften hatte einen Einfluss auf die Aktivität an β -Glucuronidase. Bakteriologisch negative Hälften wiesen über die gesamte Laktation geringere Aktivitäten auf, wie gut aus Abbildung 7 deutlich wird. Euterhälften mit KNS- und Majorpathogennachweis unterschieden sich auf einem niedrigeren Signifikanzniveau ($p < 0,01$) von gesunden Hälften als mit Coynebakterien infizierte ($p < 0,001$). Eine Abhängigkeit der β -Glucuronidaseaktivitäten von der Laktationswoche konnte nicht nachgewiesen werden, dagegen aber von der Laktationsnummer und der mittleren Milchmenge ($p < 0,001$, Tab. 5,6).

Die NAGase-Aktivität in Euterhälften, die mit KNS oder Corynebakterien infiziert waren, unterschied sich nicht signifikant von Hälften ohne bakteriologischen Befund. Hälften mit

Majorpathogennachweis wiesen tendentiell höhere NAGase-Aktivitäten auf als gesunde Euterhälften ($p=0,033$)(Abb.8). Die NAGase-Aktivität wurde von der Laktationswoche und der mittleren Milchmenge beeinflusst ($p<0,001$), jedoch nicht von der Laktationsnummer (Tab. 5). Unter Einbeziehung der Hälftendifferenzen in die „gemischte Effekte Modelle“ konnten statistisch signifikante Unterschiede in den NAGase-Aktivitäten in Euterhälften ohne bakteriologischen Befund und infizierten Hälften festgestellt werden (Tab. 6).

Die mittleren Milchmengen wurden durch den bakteriologischen Status nicht signifikant beeinflusst.

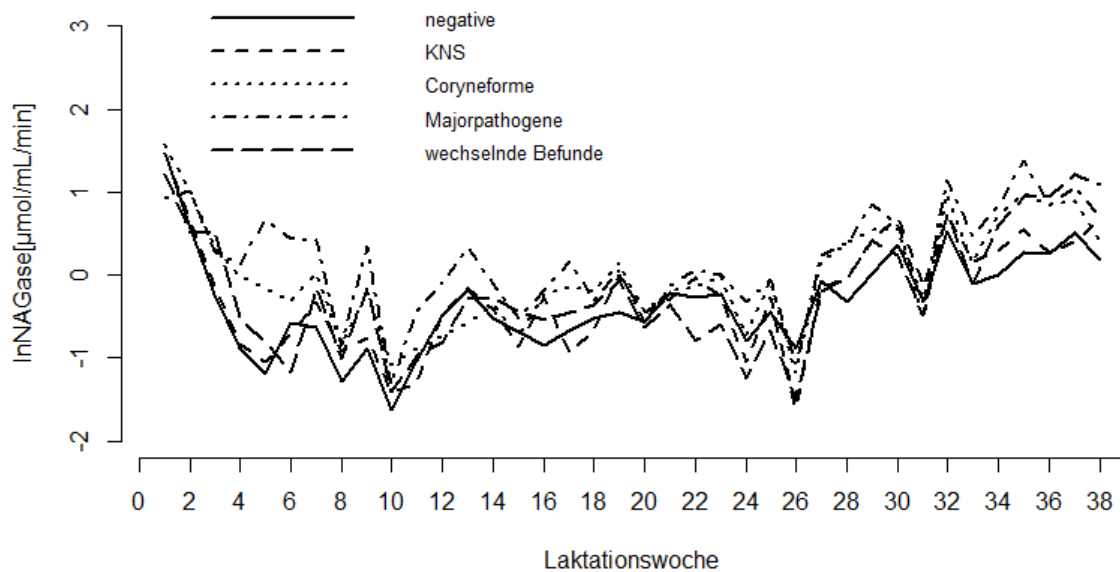


Abb. 8: Mittelwertverläufe für die NAGase-Aktivität (logarithmiert) über die Laktation in Abhängigkeit vom bakteriologischen Befund (bewertet für die gesamte Laktation)

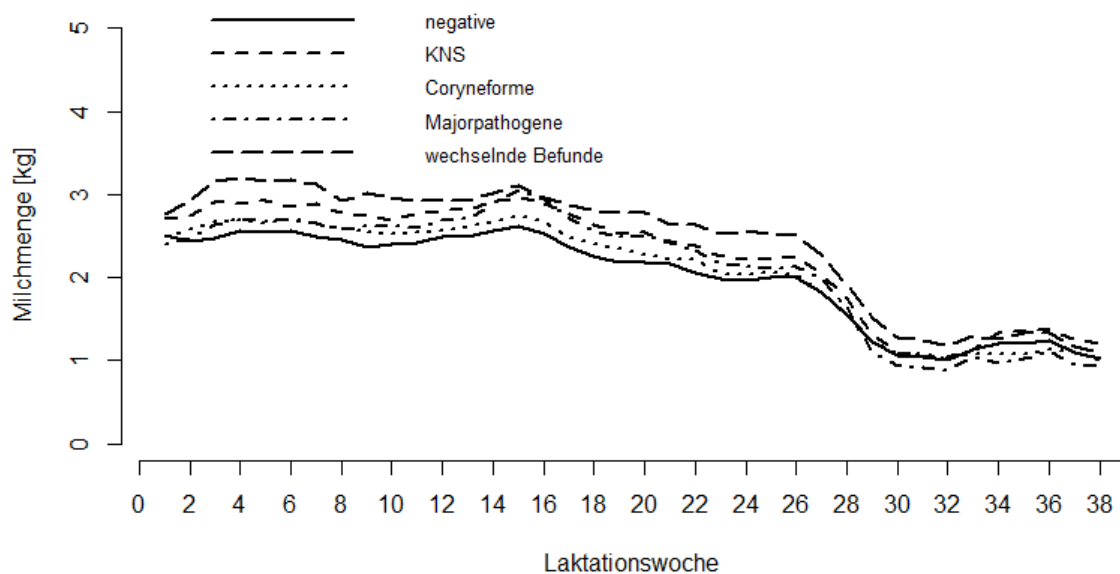


Abb. 9: Mittelwertverläufe für die Milchmenge über die Laktation in Abhängigkeit vom bakteriologischen Befund (bewertet für die gesamte Laktation)

4.1.4 Weitere Einflussfaktoren auf die untersuchten Indikatoren

4.1.4.1 Brunst

Dass die Zellzahl von der Brunst beeinflusst ist, wird aus Abbildung 10 deutlich. Tag „Null“ kennzeichnet die beobachtete Brunst. Zwei Tage vor der Brunst wurde ein drastischer Anstieg der Zellzahl gemessen.

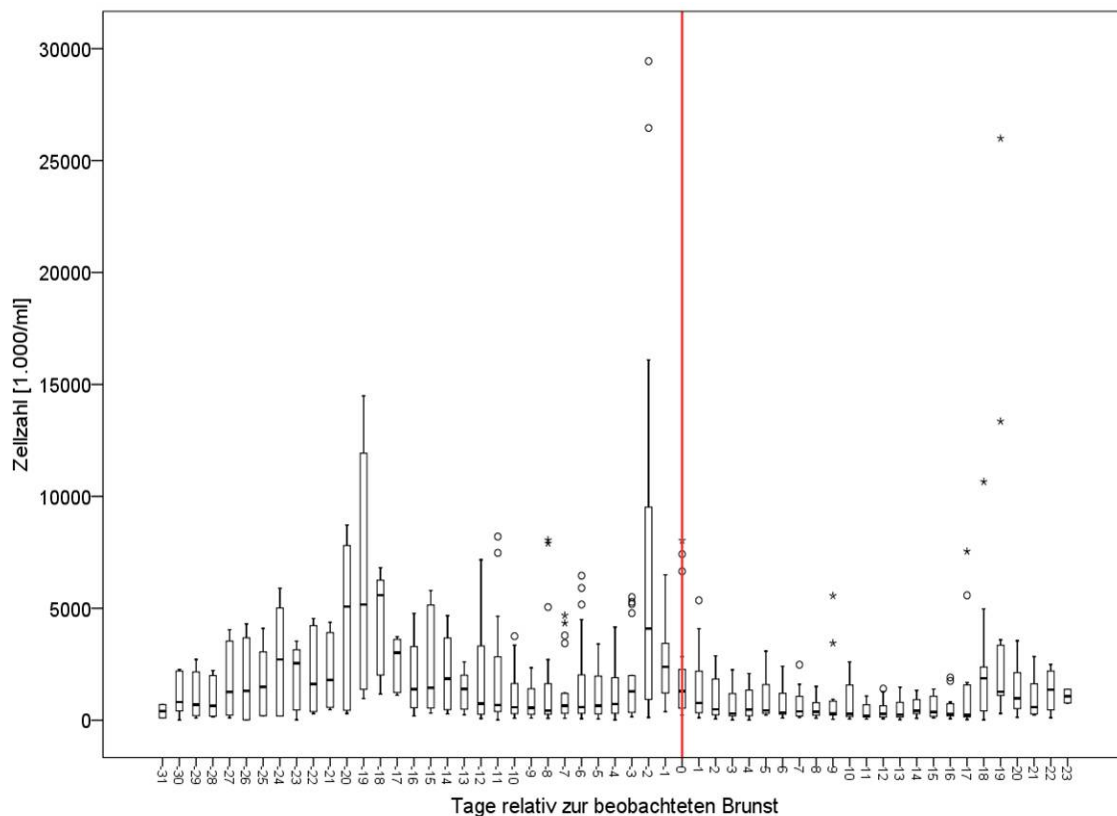


Abb. 10: Zellzahlverlauf im Brunstzyklus

Die Brunst beeinflusst nicht nur die Zellzahl sondern auch die Aktivität der Laktatdehydrogenase und der β -Glucuronidase in der Milch der Ziegen. Dies ergab ein in die Gesamtstudie integrierter Versuch. Am vorletzten und letzten Tag vor der Hochbrunst, die durch deutlich sichtbare Symptome gekennzeichnet war, stiegen neben der Zellzahl auch die Enzymaktivitäten signifikant an. Dies betraf sowohl die eutergesunden als auch die intramammär infizierten Ziegen. Effekte der Erreger (koagulase-negative Staphylokokken bzw. Majorpathogene) auf die Ausprägung dieser Anstiege lassen sich aufgrund der kleinen Stichprobe (jeweils 5 Tiere je Gruppe) nur vermuten (Abb. 11).

Bei allen drei Indikatoren zeigte sich nach Erreichen des Maximums ein unmittelbarer Abfall der gemessenen Werte. Dies deutet auf einen direkten Zusammenhang zur Ovulation hin. Bisher fehlen jedoch Untersuchungen zu dieser Verbindung zwischen Fruchtbarkeitsgeschehen und Milchqualität.

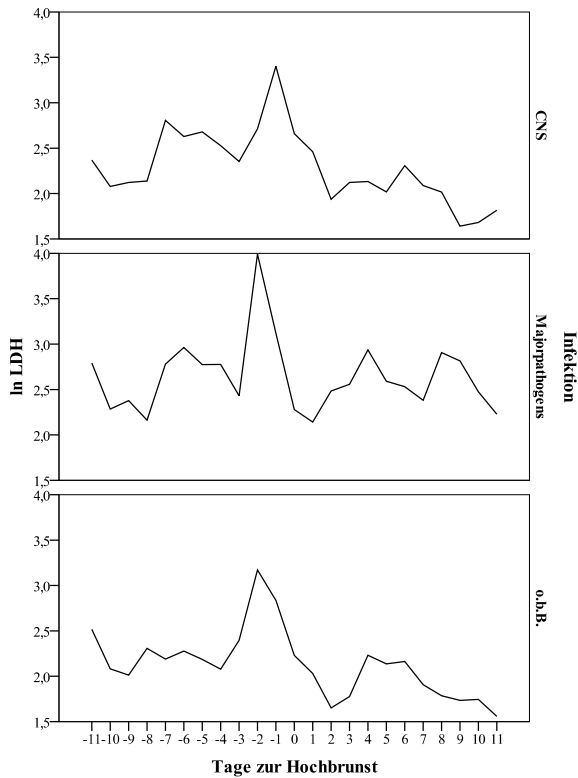


Abb. 11: Änderung der LDH-Aktivität im Brunstverlauf in Abhängigkeit vom Infektionsstatus. Die Hochbrunst ist durch den Tag 0 gekennzeichnet (nach Koterwa, 2012)

4.1.4.2 Melkbarkeit

Zwischen der Melkbarkeit der Tiere und dem Eutergesundheitsstatus ließen sich keine eindeutigen Beziehungen herstellen. Lediglich beim höchsten Milchfluss – ein Indikator für die Leichtmelkigkeit der Tiere – deuten sich leichte Unterschiede in Abhängigkeit vom Infektionsstatus an (Abb. 12).

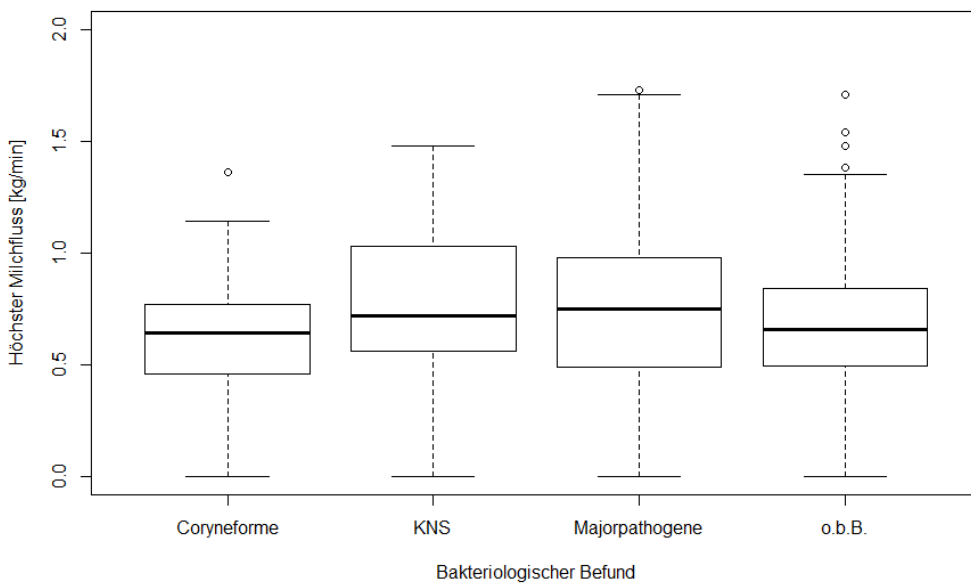


Abb. 12: Boxplot für den höchsten Milchfluss in Abhängigkeit vom Erregernachweis

4.1.4.3 Zitzenkondition

Die Kondition der Zitzen war in einem guten Zustand. Bei 18% der bonitierten Zitzen zeigte sich ein großer z. T. fransiger weißer Ring, der auf eine stärkere Belastung des Zitzengewebes hinwies. Akute Veränderungen wie Ringbildung und Einschnürungen konnten sogar nur in 2% der Fälle beobachtet werden.

Aufgrund der Häufigkeitsverteilung der Infektionsnachweise bezogen auf die Beurteilung der chronischen Zitzenkondition ergab sich kein Hinweis, dass beide in dieser Herde im Zusammenhang stehen.

4.1.5 Erregerdifferenzierung mittels PCR

Insgesamt 790 der in der bakteriologischen Untersuchung positiv getesteten Proben wurden mittels PCR differenziert, wobei bei 28 Proben kein Nachweis möglich war (Tab. 7). *Staphylococcus epidermidis* war der am häufigsten nachgewiesene Erreger (29% aller differenzierten Proben), gefolgt von *Staphylococcus warneri* (21%) und *Staphylococcus aureus* (13%). Co-ryneforme Keime wurden nicht per PCR differenziert.

Tab. 7: Häufigkeitsverteilung der Erreger, die mittels PCR weiter differenziert wurden

PCR-Befund	Befund der „klassischen“ bakteriologischen Untersuchung				Summe
	<i>Str. dysgalactiae</i>	<i>Str. uberis</i>	<i>S. aureus</i>	KNS	
Ohne	4	4	0	20	28
<i>S. epidermidis</i>			1	227	228
<i>S. xylosus</i>				25	25
<i>S. simulans</i>				85	85
<i>S. caprae</i>				75	75
<i>S. sciuri</i>				2	2
<i>S. haemolyticus</i>				5	5
<i>S. warneri</i>				165	165
<i>S. capitis</i>				3	3
<i>S. equorum</i>				9	9
<i>S. cohnii urealyticus</i>				3	3
<i>S. aureus</i>			103		103
<i>Str. dysgalactiae</i>	29	1			30
<i>Str. uberis</i>	3	26			29
Summe	36	31	104	619	790

Bezogen auf die Ziegen zeigte sich, dass bei 17 Ziegen über die gesamte Laktation häufig (≥ 10 Proben) der gleiche Erreger nachgewiesen werden konnte.

Erreger	Auftreten bei ... Tieren
<i>S. aureus</i> :	3
<i>S. epidermidis</i> :	5
<i>S. warneri</i> :	5
<i>S. simulans</i> :	3
<i>S. caprae</i> :	2
<i>Str. dysgalactiae</i> :	1
<i>Str. uberis</i> :	1

Zum Teil traten verschiedene Erreger wiederholt beim gleichen Tier auf.

Aufgrund der geringen Stichprobengröße verbieten sich weitergehende statistische Analysen. Die grafische Darstellung der Indikator-Variablen bezogen auf die wesentlichen nachgewiesenen Staphylokokken, deutet jedoch darauf hin, dass verschiedene Staphylokokken-Spezies auch unterschiedliche Reaktionen beim infizierten Tier hervorrufen (Abb. 13). *Staphylococcus epidermidis* scheint demnach am wenigsten zu Veränderungen zu führen. Hier sind dringend weitere Untersuchungen angeraten.

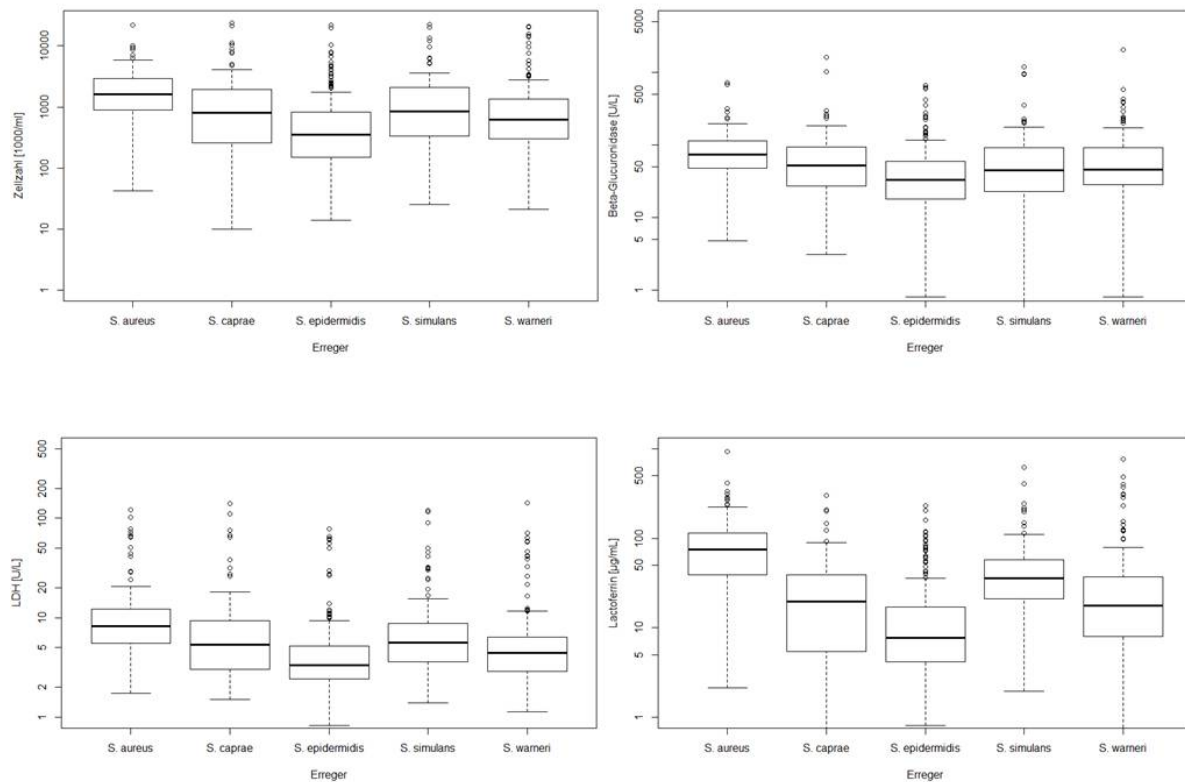


Abb. 13: Boxplots der Indikatorvariablen Zellzahl, β -Glucuronidase, Laktatdehydrogenase (LDH) und Laktoferrin in Abhängigkeit von der mittels PCR ermittelten Staphylokokken-Spezies (Datengrundlage: alle Tiere, bei denen diese Spezies nachgewiesen wurden: *S. aureus* n=9, *S. caprae* n=16, *S. epidermidis* n=23, *S. simulans* n=7; *S. warneri* n=29)

4.1.6 Grenzwertfindung

Bisher fehlen Aussagen zu geeigneten Schwellenwerten für die untersuchten Indikatoren (ausgenommen: Zellzahl) mit deren Hilfe eutergesundheitsgestörte Euterhälften erkannt werden können. Ausgehend von den 22 Ziegen, die während der gesamten Laktation nicht intramammär infiziert waren, wurden deshalb erste Grenzwerte definiert. Hierfür wurden die Perzentile der „gesunden“ Gruppe für die untersuchten Indikatoren ermittelt. Um die großen Schwankungsbreiten der Messwerte, die auch bei den nicht infizierten Tieren auftraten (Abb. 14) zu berücksichtigen, wurde der Grenzwert so festgelegt, dass 90% der gesunden Tiere unter diesem Wert lagen (90%-Perzentil, Tab. 8). Die Auswirkungen des Laktationsstadiums wurden so einbezogen, dass für den Bereich bis zur 10. Laktationswoche und für das Laktationsende getrennte Grenzwerte ermittelt wurden. Da aus den Praxisbetrieben, anhand derer die Prüfung der Grenzwerte anschließend erfolgen sollte, nur die Information über das Laktationsstadium, aber nicht über die Laktationsnummer der untersuchten Tiere zur Verfügung

stand, wurde die Laktationsnummer nicht in die Grenzwertfindung einbezogen. Die gleiche Form der Grenzwertfindung wurde auch bei der Bewertung der Hälftendifferenzen angewandt (Tab. 9).

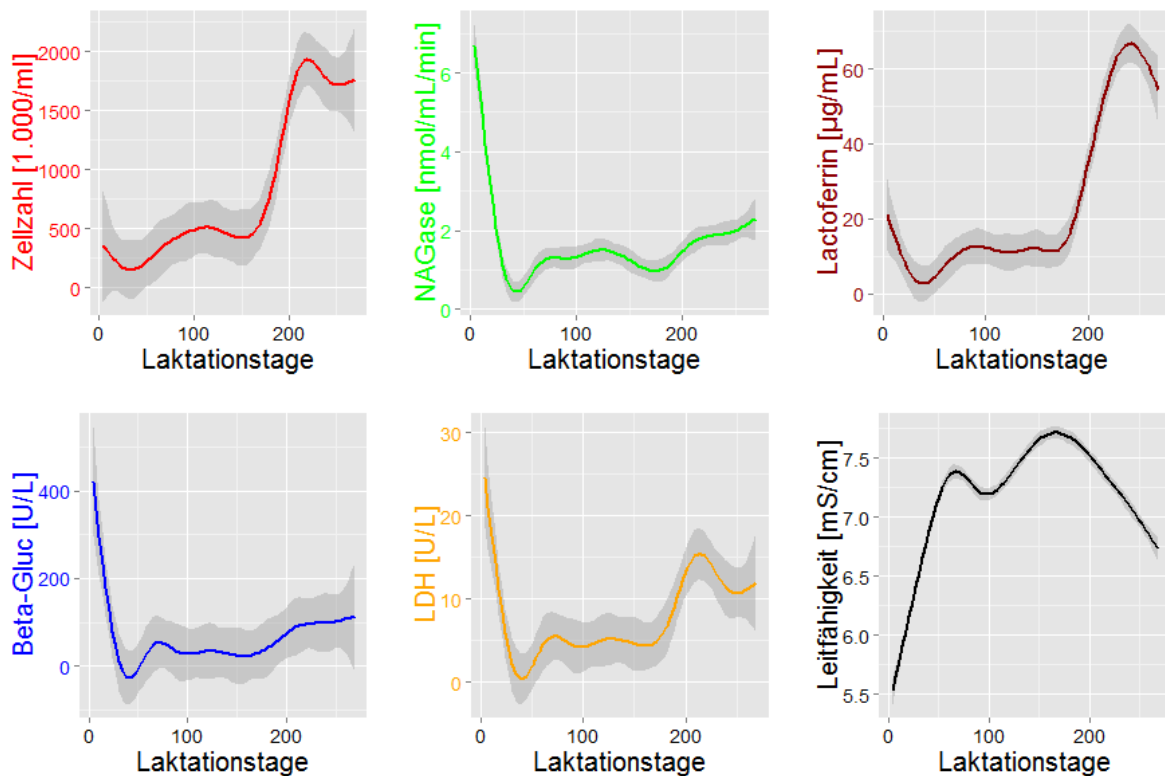


Abb. 14: Mittlerer Messwertverlauf über die Laktation von 22 euthergesunden Milchziegen (Schatten: 95%-Konfidenzintervall)

Die enormen Unterschiede in den Grenzwerten (Tab. 8), die für den Beginn der Laktation und für das Ende der Laktation festgelegt wurden, verdeutlichen die Notwendigkeit dieser differenzierten Betrachtung im Verlauf der Laktation. Im Weiteren wurde geprüft, ob unter Einbeziehung der Hälftendifferenzen andere Grenzwerte für die einzelnen Indikatoren erhalten werden (Tab. 9). Der Vergleich der Daten von Tabelle 8 und 9 zeigt, dass es zu keinen Veränderungen der Grenzwerte durch Betrachtung der Hälftendifferenzen kommt.

Tab. 8: Grenzwerte der Indikatoren (90 % Perzentil euthergesunder Tiere)

Indikator	Grenzwerte (90 % Perzentil) der Indikatoren	
	Laktationsbeginn (2.-10. Woche)	Laktationsende (25.-38. Woche)
Zellzahl [1.000/mL]	361	3.682
NAGase [$\mu\text{mol/mL/min}$]	3,3	3,6
Laktoferrin [$\mu\text{g/mL}$]	13,0	110,8
β -Glucuronidase [U/L]	66,1	166,7
Laktatdehydrogenase [U/L]	6,5	28,2
Leitfähigkeit [mS/cm]	7,7	7,9

Tab. 9: Häuftendifferenzen-Grenzwerte der Indikatoren (90 % Perzentil) eutergesunder Tiere

Indikator	Grenzwerte (90 % Perzentil) der Indikatoren	
	Laktationsbeginn (2.-10. Woche)	Laktationsende (25.-38. Woche)
Zellzahl [1.000/mL]	357	3.678
NAGase [$\mu\text{mol/mL/min}$]	3,2	3,6
Laktoferrin [$\mu\text{g/mL}$]	12,8	110,5
β -Glucuronidase [U/L]	66,1	166,6
Laktatdehydrogenase [U/L]	6,1	27,8
Leitfähigkeit [mS/cm]	3,2	3,4

4.2 Praxisbetriebe

4.2.1 Infektionsstatus der Praxisbetriebe

Hinsichtlich der nachgewiesenen Erreger unterscheiden sich sowohl die Praxisbetriebe untereinander als auch diese Betriebe und der Versuchsbetrieb (Tab. 10). Auch die Differenzierung mittels PCR zeigte Unterschiede auf (Tab. 11). Erstaunlicherweise wurden bei den Praxisbetrieben keine Proben gefunden, welche die im Versuchsbetrieb sehr bedeutsamen Erreger (*S. epidermidis*; *S. warneri*) enthielten. Auch *S. simulans* wurde nur in einem der beiden Praxisbetriebe nachgewiesen und war auf Betrieb 1 die am häufigsten nachgewiesene Staphylokokken-Spezies. Auf Betrieb 2 wurden dagegen am häufigsten Infektionen mit *S. caprae* und *S. aureus* nachgewiesen. Weitere Untersuchungen in einer größeren Zahl Praxisbetriebe könnten abklären, wodurch die unterschiedlichen Erregerspektren bedingt sind.

Tab. 10: Infektionsstatus der untersuchten Euterhälften in den Praxisbetrieben (Resultate basierend auf der 2 aus 3 Regel, DVG 2009)

Bakteriologischer Befund	Betrieb 1		Betrieb 2	
	Anzahl	%	Anzahl	%
o.b.B.	98	82	137	90
Koagulase-negative Staphylokokken	18	15	5	3
Coryneforme Bakterien	1	1	1	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1	4	3
Nicht auswertbar	1	1	5	3
Summe	119		152	

Tab. 11: Häufigkeitsverteilung der mittels PCR nachgewiesenen Staphylokokken-Spezies bezogen auf alle untersuchten Proben

Staphylokokken-Spezies	Betrieb 1	Betrieb 2
<i>S. epidermidis</i>	-	-
<i>S. xylosus</i>	-	3
<i>S. simulans</i>	24	-
<i>S. caprae</i>	23	9
<i>S. sciuri</i>	-	-
<i>S. haemolyticus</i>	-	-
<i>S. warneri</i>	-	-
<i>S. capitis</i>	-	-
<i>S. equorum</i>	3	3
<i>S. cohnii urealyticus</i>	3	-
<i>S. chromogenes</i>	-	3
<i>S. aureus</i>	3	13
Proben gesamt	56	31

4.2.2 Indikatoren auf den Praxisbetrieben

Das Laktationsstadium hat bedeutsame Auswirkungen auf die untersuchten Indikatoren. Dies zeigt sich auch bei der Gegenüberstellung der Ergebnisse aus den beiden Praxisbetrieben, deren Herden sich in unterschiedlichen Laktationsstadien befanden. Bis auf LDH und die elektrische Leitfähigkeit liegen die Werte aller geprüften Variablen bei Betrieb 2 (Spätlaktation) deutlich über den Werten von Betrieb 1. Bemerkenswert ist der geringe Zellgehalt auf Betrieb 2, obwohl die Beprobung hier zum Ende der Laktation stattfand.

4.2.3 Prüfung der Indikatoren auf den Praxisbetrieben

Die Grenzwerte der Indikatoren (Tab. 8), die auf der Festlegung beruhen, dass 90 % aller gesunden Tiere auf dem Versuchsbetrieb erkannt werden, wurden nun an den Daten der Praxisbetriebe geprüft.

Die Bewertung erfolgte anhand der Sensitivität und der Spezifität der einzelnen Indikatoren. Die Sensitivität steht für die Anzahl „echt positiver“ Befunde, d.h. wie viel euterinfizierte Tiere werden mit Hilfe des einzelnen Indikators erkannt.

Die Spezifität ist ein Ausdruck für die Anzahl „echt negativer“ Befunde, steht also dafür, wie viel eutergesunde Tiere mit dem entsprechenden Indikator erkannt werden.

Es wird deutlich, dass keiner der getesteten Indikatoren ausreichend sensitiv ist. Auch die Einbeziehung der Häuftendifferenzen führt nicht zur Verbesserung der Testergebnisse. Als weiteren Faktor zur Einschätzung der Güte der getesteten Indikatoren wurde die Erkennung mit *S. aureus* infizierter Euterhälften einbezogen. Es zeigt sich, dass zu Laktationsbeginn alle mit *S. aureus* infizierten Euter über den Indikator β -Glucuronidase oder den Indikator Zellzahl erkannt werden. Zum Laktationsende konnten 8 der 12 *S. aureus*-positiven Euterhälften mit Hilfe des Indikators β -Glucuronidase erkannt werden.

Tab. 12: Deskriptive Statistik der untersuchten Praxisbetriebe

Variable		Mittelwert	SD	Median	Min	Max
Praxisbetrieb 1						
Laktationstage		48	13	50	14	70
Fett	[%]	1,21	0,83	1,00	0,30	5,88
Protein	[%]	2,72	0,40	2,66	1,88	7,03
Laktose	[%]	4,33	0,32	4,36	2,12	5,26
Leitfähigkeit	[mS/cm]	7,6	0,5	7,7	5,9	9,2
LDH	[U/L]	6,04	11,82	2,33	0,43	106,8
NAGase	[μ mol/mL/min]	0,94	2,09	0,43	0	26,97
β -Glucuronidase	[U/L]	80,04	128,6	38,90	0,30	1323
Laktoferrin	[μ g/mL]	8,99	0,18	3,10	0,18	161,7
Zellzahl	[1.000/mL]	1438	3529	260	16	27920
Praxisbetrieb 2						
Laktationstage		287	8	288	264	302
Fett	[%]	3,77	0,87	3,72	1,99	7,49
Protein	[%]	3,52	0,37	3,50	2,61	4,85
Laktose	[%]	4,37	0,23	4,37	3,78	4,83
Leitfähigkeit	[mS/cm]	6,8	0,5	6,8	5,6	8,4
LDH	[U/L]	4,09	5,24	2,92	0,33	85,5
NAGase	[μ mol/mL/min]	1,28	1,42	0,93	0	14,76
β -Glucuronidase	[U/L]	76,05	77,38	59,40	5,8	1266
Laktoferrin	[μ g/mL]	28,42	28,55	19,36	2,24	254
Zellzahl	[1.000/mL]	728	1537	290	29	19510

Tab. 13: Aussagefähigkeit der Indikator-Grenzwerte (absolut/Hälftendifferenzen) zu Laktationsbeginn

Indikator	Sensitivität [%]	Spezifität [%]	S. aureus [n=3]
Zellzahl	73/55	70/88	3/3
NAGase	10/20	97/98	2/1
Laktoferrin	32/12	86/97	3/0
β -Glucuronidase	48/30	74/93	3/3
Laktatdehydrogenase	43/20	83/96	3/0
Leitfähigkeit	47/0	54/100	1/0

Proben: 273 negative / 54 KNS / 3 Coryneforme / 3 *S. aureus*

Tab. 14: Aussagefähigkeit der Indikator-Grenzwerte (absolut/Hälftendifferenzen) zu Laktationsende

Indikator	Sensitivität [%]	Spezifität [%]	<i>S. aureus</i> [n=12]
Zellzahl	27/23	98/99	7/6
NAGase	10/3	96/96	3/1
Laktoferrin	23/17	97/100	7/5
β -Glucuronidase	40/40	100/100	8/8
Laktatdehydrogenase	7/7	100/100	2/2
Leitfähigkeit	0/0	99/100	0/0

Proben: 402 negative / 15 KNS / 3 Coryneforme / 12 *S. aureus*

5 Diskussion der Ergebnisse

Die Infektionsrate der Ziegenherde des Versuchsbetriebes liegt mit 33,3% auf dem in der Literatur beschriebenen Niveau (Hall & Rycroft, 2007). Die häufigsten nachgewiesenen Erreger gehören zur Gruppe der koagulase-negativen Staphylokokken (13,3 % aller Proben bzw. 40% der infizierten Proben) wie auch in anderen Arbeiten (Contreras et al., 2003, 2007; Leitner et al., 2008) beschrieben. Der hohe Anteil positiver Corynebakterien-Nachweise mit 34,5 % aller Infektionen ist auch in der jüngeren Literatur beispielsweise durch Hall & Rycroft (2007) beschrieben, die 31 % aller Infektionen mit coryneformen Bakterien nachwies. Dieser Erregergruppe wurde in vielen Untersuchungen keine weitere Beachtung geschenkt da sie als „normale“ Besiedler des Euters angesehen wurden. Wir haben uns aufgrund des häufigen Auftretens dieser Erregergruppe entschieden, genauer zu untersuchen, welche Auswirkungen sie denn wirklich auf die untersuchten Indikatoren haben und ob Coryneforme damit nicht doch eine größere Rolle für die Bewertung des Eutergesundheitsstatus erfahren sollten.

Innerhalb der Gruppe der KNS war *S. epidermidis* der am häufigsten nachgewiesene Erreger (29 %), gefolgt von *S. warneri* (21 %). Weitaus weniger häufig wurden *S. simulans* (11 %) und *S. caprae* (9,5 %) nachgewiesen. Die Literaturdaten zeigen differenzierte Befunde, so fanden Koop et al. (2012) *S. epidermidis*, *S. caprae*, *S. simulans* und *S. xylosus* als die am häufigsten vorkommenden Erreger, wobei von den Autoren auch darauf hingewiesen wird, dass die Verteilung in den einzelnen Herden sich sehr unterscheidet. Onni et al. (2012) wiesen ebenso *S. epidermidis* am häufigsten nach (37 %) gefolgt von *S. caprae* (31 %). Wichtig ist an dieser Stelle, darauf hinzuweisen, dass die Befunde in der Literatur nicht immer mit den gleichen Methoden erzielt wurden und darauf gewisse Unterschiede zurückzuführen sind. Differenzen sind durchaus gegeben, wenn zum einen biochemische Test verwendet werden oder molekularbiologische Methoden zur Speziesidentifizierung herangezogen werden und auch hier sollte man kritisch hinterfragen.

Im Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung waren 22 Tiere der Herde über die gesamte Laktation als eutergesund einzustufen. Diese 22 Tiere bildeten die Grundlage für alle weiteren Auswertungen und Tests, sie wurden für die Beschreibung des eutergesunden Zustandes herangezogen. So wurden dann als erstes die Daten aller zu prüfenden Indikatoren der Gesamtlaktation in der graphischen Analyse in Abhängigkeit zu einer der vier Infektionsgruppen (ohne bakteriologischen Befund, KNS, Coryneforme, Majorpathogene) geprüft. Die Abbildungen 1 bis 3 zeigen, dass durch die Analyse der Daten der Gesamtlaktation keiner der geprüften Indikatoren zwischen den bakteriologischen Befunden differenzieren kann. Mögliche Einflussfaktoren, die auch in der Literatur beschrieben sind, auf die untersuchten Indikatoren

wurden in der weiteren Analyse der Daten berücksichtigt. Dies waren die Laktationsnummer (für Zellzahl: Dulin et al., 1983; Paape et al., 2007), das Laktationsstadium (für Indikator Zellzahl: Luengo et al., 2004; Moroni et al., 2005), aber auch die Milchmenge und der Infektionsstatus. In der Literatur liegt bislang keine Arbeit vor, die alle Einflussfaktoren auf die von uns untersuchten Indikatoren untersucht hat. Deshalb sind in den Abbildungen 4 bis 8 die Mittelwertverläufe der untersuchten Indikatoren in Abhängigkeit vom Infektionsstatus graphisch dargestellt. Deutlich wird aus unseren Untersuchungen, dass alle Indikatoren von der Laktationswoche abhängig sind bis auf β -Glucuronidase. Von der Laktationsnummer unbeeinflusst waren LDH und NAGase. Es zeigt sich aber auch, dass NAGase in unseren Untersuchungen als deutlich schlechter zu bewerten ist als in den Arbeiten von Leitner et al. (2004b) beschrieben. Als weiterer Faktor, der z.B. den Indikator Zellzahl beeinflussen kann, wurde die Brunst beschrieben (u.a. Moroni et al., 2007; Barth & Aulrich, 2007). Unsere Untersuchungen zeigen einen deutlichen Einfluss der Brunst auf die Zellgehalte. Der Einfluss der Brunst auf LDH- und β -Glucuronidaseaktivitäten, der an einer kleinen Stichprobe getestet wurde, zeigt sich unbeeinflusst vom Infektionsstatus. Ob sich dies bestätigt, müsste an einer größeren Stichprobe überprüft werden, zumal auch keine Vergleichsdaten aus der Literatur dazu vorliegen.

Die Untersuchungen zur Melkbarkeit erbrachten keine eindeutigen Ergebnisse. Beim höchsten Milchfluss, als ein Indikator für die Leichtmelkigkeit der Tiere, zeichnen sich Tendenzen zu höheren Werten bei mit KNS und Majorpathogen infizierten Hälften ab. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass Bakterien leichter in das Euter eindringen können, wenn der Strickanal geweitet ist. Um belastbare Aussagen zu diesem Fakt zu treffen, müssten größere Stichproben analysiert werden.

Auch die Beurteilung der Zitzenkondition in Abhängigkeit vom Infektionsstatus erbrachte keine signifikanten Zusammenhänge.

Um zu prüfen, ob sich die verschiedenen Spezies der KNS, die in der Herde nachgewiesen wurden, in ihrer Wirkung auf die untersuchten Indikatoren unterschieden, wurden die Indikatoren Zellzahl, β -Glucuronidase, LDH und Laktoferrin in Abhängigkeit der Staphylokokken-Spezies graphisch analysiert. Es deutet sich an, dass die Spezies unterschiedlich starke Reaktionen am Tier hervorrufen, die dazu führen, dass die Zellzahl, die Aktivität der Abwehrenzyme oder der Gehalt der Abwehrproteine ansteigen. So scheint es, dass *S. epidermidis* zu den geringsten Änderungen bei den genannten Indikatoren führt, *S. aureus* als Majorpathogen zu den größten. Leitner et al. (2011) untersuchte den Einfluss einzelner Erreger, allerdings nur auf die Zellzahl, und stellte den größten Einfluss durch *S. aureus* fest, gefolgt von *S. simulans*. In seinen Untersuchungen wurde der geringste Einfluss durch *S. caprae* und *S. epidermidis* festgestellt. Die Reihung *S. aureus* gefolgt von *S. simulans* zeichnet sich auch in unseren Untersuchungen für die weiteren geprüften Indikatoren ab. Hier drängen sich weitere Untersuchungen zur Abklärung dieser Befunde an größeren Stichproben nahezu auf. Anzumerken ist auch dringend, dass keine speziesspezifischen Untersuchungen zur Beeinflussung der Enzymaktivitäten oder der Gehalte an Laktoferrin für Ziegen in der internationalen Literatur vorliegen.

Da bislang Schwellenwerte für die untersuchten Indikatoren, mit Ausnahme der Zellzahl, fehlen, wurden diese auf Grundlage der eutergesunden Ziegen ermittelt und zwar so, dass 90 % der gesunden Tiere unter diesen Schwellenwerten lagen. Diese Schwellenwerte, die unabhängig von der Laktationsnummer gesetzt wurden, wurden anhand der Daten der Praxisbetriebe geprüft. Da die Untersuchungen auf den Praxisbetrieben zu Beginn der Laktation (48. Tag)

und zum Ende der Laktation (288. Tag) stattfanden, wurden die Grenzwerte auch für diese Zeiträume berechnet und ihre Güte anhand der Sensitivität und Spezifität geprüft. Es zeigt sich, dass keiner der geprüften Indikatoren ausreichend sensitiv ist, um infizierte Euterhälften anzuzeigen. Die Spezifität der getesteten Indikatorenzyme ist als sehr gut einzuschätzen, was bei fehlender Sensitivität aber nicht ausreichend ist. Obwohl die Sensitivität der Indikatoren sehr gering ist, scheint der Indikator β -Glucuronidase Potential zur Erkennung von Infektionen mit majorpathogenen Keimen zu haben, auf Betrieb 1 wurden alle *S. aureus* infizierten Euterhälften erkannt und auf Betrieb 2 immerhin 8 von 12. Weitergehende Schlussfolgerungen können hier leider nicht gezogen werden, da die Anzahl infizierter Euterhälften auf beiden Betrieben sehr gering war. Dies muss an dieser Stelle noch einmal herausgestellt werden, da die beiden Betriebe sich in der Eutergesundheit auf einem so hohen Niveau befanden, wie es in der internationalen Literatur bisher nicht beschrieben ist. Auch im Vergleich mit unserem Versuchsbetrieb war die Eutergesundheit beeindruckend gut mit 82 % bakteriologisch negativen Befunden auf Betrieb 1 vs. 90 % auf Betrieb 2. Auch wenn die Anzahl infizierter Euterhälften sehr gering war, so unterschieden sich die Betriebe aber hinsichtlich des Erregerspektrums, auf Betrieb 1 waren KNS vorherrschend, auf Betrieb 2 gab es einige *S. aureus* Fälle, beides wie gesagt auf sehr niedrigem Level. Hier drängt sich eine weitere Frage auf, die auch bei Milchkühen schon mehrfach diskutiert wurde: gibt es einen Verdrängungseffekt von KNS, sind also auf Betrieben, die mehr KNS haben deutlich weniger *S. aureus* positive Tiere zu finden? Und wenn ja, welche sind die positiv wirkenden KNS-Spezies?

Die weiteren Einflussgrößen wie die Laktationsnummer, die mittlere Milchmenge, der Zeitpunkt der Brunst, zumindest für die Untersuchung auf dem Betrieb zum Ende der Laktation von Bedeutung, konnten nicht mitgeteilt und somit nicht einbezogen werden. Auch der Versorgungsstatus der Tiere war nicht bekannt. Unklar ist weiterhin ein möglicher Einfluss der Rasse auf die untersuchten Indikatoren, den es in weiteren Untersuchungen abzuklären gilt.

Abschließend sei noch mal kritisch anzumerken, dass die Grundlage für die Grenzwertfindung und damit für die Bewertung der Indikatoren nur eine Herde mit 63 Ziegen der Rasse Bunte Deutsche Edelziege war. Herdeneffekte konnten somit nicht einbezogen werden. Um Grenzwerte festzulegen, die weitreichende Anwendung finden sollen, müssten die Ausgangsniveaus für alle Indikatoren an einer umfassenden Stichprobe von Betrieben untersucht werden, die Rasseneinflüsse, Versorgungsniveaus und die Milchleistung mit einbezieht. Auf dieser Grundlage könnten praxisrelevante Grenzwerte festgelegt und im Anschluss auf ihre Aussagefähigkeit zur Beurteilung des Eutergesundheitsstatus an einer wiederum ausreichend großen Stichprobe geprüft werden.

6 Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

In der vorliegenden Studie wurden erstmals verschiedene physiologische Indikatoren in Abhängigkeit vom Eutergesundheitsstatus über eine gesamte Laktation auf Einzeltierbasis geprüft. Damit steht ein umfangreicher Datenzusatz zur Verfügung, der publiziert und damit international zur Verfügung gestellt werden muss.

Die Kenntnisse, die über den gesunden Zustand einer Ziegenherde gewonnen wurden, d.h. der Verlauf der geprüften Indikatoren von der Zellzahl über die Milchinhaltsstoffe bis zu den Enzymen (NAGase, LDH, β -Glucuronidase) und des Laktoferrins über den Laktationsverlauf, tragen wesentlich dazu bei, eine differenziertere Einschätzung von Messwerten in Abhängigkeit vom Laktationsstadium vornehmen zu können. Dies sollte in der Beratung und Praxis bedacht und angewendet werden.

Die erstellten Handlungsempfehlungen zur Eutergesundheitsüberwachung können bei konsequenter Anwendung zur Verbesserung der Eutergesundheit auf dem jeweiligen Betrieb beitragen.

7 Gegenüberstellung der geplanten mit den tatsächlich erreichten Zielen

Ziel des Projektes war die Verbesserung der Eutergesundheit bei Milchziegen durch Ermittlung geeigneter Indikatoren für die Früherkennung subklinischer Mastitiden. Es sollte geprüft werden, ob es bessere Indikatoren zur Eutergesundheitsüberwachung gibt als die Zellzahl. Weiterhin sollte geprüft werden, ob mögliche Indikatoren praxisnah einzusetzen sind.

Es sollte eine umfassende Prüfung der bei der Abwehr eindringender Bakterien ablaufenden bekannten physiologischen Vorgänge sowohl durch Analyse der dadurch freigesetzten Substanzen als auch der durch Anpassungsreaktionen auftretenden Gehaltsveränderungen einzelner Inhaltsstoffe vorgenommen werden. Da bestimmte Indikatoren sowohl von der Laktationsnummer als auch vom Laktationsstadium abhängig sind, wurden die Untersuchungen im Versuchsbetrieb des Thünen-Instituts für Ökologischen Landbau an 63 Milchziegen der Rasse Bunte Deutsche Edelziege über den gesamten Laktationsverlauf durchgeführt. Im Einzelnen wurde geprüft,

- welche Veränderungen bei Laktoferrin, N-acetyl- β -D-glucosaminidase, Laktatdehydrogenase, β -Glucuronidase, den Milchinhaltstoffen (Fett, Protein, Laktose) im Laktationsverlauf in Abhängigkeit vom Eutergesundheitsstatus unter Berücksichtigung der Laktationsnummer auftreten,
- wie sich die Zellzahl im Laktationsverlauf in Abhängigkeit vom Eutergesundheitsstatus unter Berücksichtigung der Laktationsnummer verändert.

Diese Untersuchungen sind erfolgreich abgeschlossen und dokumentiert worden. Damit steht eine Datenbasis zur Verfügung, die in diesem Umfang in der internationalen Literatur bisher nicht publiziert wurde. Hier sind auch Ansätze für weiterführende Untersuchungen gegeben, wie z.B. die Klärung der Fragen: welchen Einfluss hat die Rasse auf die untersuchten Indikatoren oder treten Veränderungen in Abhängigkeit von der Leistung der Tiere auf?

Auch die Frage des Einflusses spezifischer Erreger im Euter auf die Veränderungen einzelner Indikatoren sollte geprüft werden, was auch geschehen ist. Leider ist auch hier die Anzahl positiver Befunde der einzelnen Spezies koagulase-negativer Staphylokokken zu gering für gesicherte Aussagen, Tendenzen zeichnen sich aber ab, die durch weiterführende Untersuchungen abgeklärt werden könnten. Coryneformen Bakterien kommt nach unseren Untersuchungen eine größere Bedeutung zu als bisher kommuniziert. Hier gilt es, weitere Klärung vorzunehmen.

Im Projekt sollte weiterhin geklärt werden, ob für die Beurteilung der Eutergesundheit bei Milchziegen absolute Grenzwerte für verschiedene Indikatoren gesetzt werden können und ob am Einzeltier anhand von Zeitreihen und Hälftendifferenzen eine bessere Beurteilung erfolgen kann. Auf Grundlage der Untersuchungen auf dem Versuchsbetrieb Trenthorst wurden Grenzwerte für die Indikatoren festgelegt und in zwei Praxisbetrieben, in einem zu Beginn der Laktation, in dem anderen zum Ende der Laktation, auf ihre Aussagekraft überprüft. Die Aussagefähigkeit der Indikator-Grenzwerte ist nicht zufriedenstellend. Diese Feststellung trifft für alle geprüften Indikatoren zu. Auch die Einbeziehung der Hälftendifferenzen führte nicht zu Verbesserungen in der Aussagefähigkeit der Indikatoren. Damit konnte das Ziel, geeignete

Indikatoren für die Beurteilung des Eutergesundheitsstatus zu finden, nicht erreicht werden. Als wesentliche Ursache dafür ist der Fakt anzusehen, dass die Grenzwertfindung lediglich auf einer Herde beruht. Weiter ist unbedingt in die Bewertung der Ergebnisse einzubeziehen, dass die Praxisbetriebe, die zur Grenzwerttestung untersucht wurden, sich auf einem deutlich höheren Eutergesundheitsniveau befanden als üblich und in der Literatur beschrieben. Dies war im Vorfeld nicht abzusehen.

Auch wenn geeignete Indikatoren zur Beurteilung des Eutergesundheitsstatus aus dieser Studie noch nicht abgeleitet werden können, so wurden Handlungsempfehlungen zur Eutergesundheitsüberwachung auf Milchziegenbetrieben abgeleitet. Bei konsequenter Anwendung dieser Empfehlungen kann der Landwirt entscheidend zur Verbesserung der Eutergesundheit seiner Herde beitragen.

Die Ergebnisse des Projektes zeigen, dass noch viele Fragen offen sind bevor eine endgültige Bewertung bezüglich geeigneter Indikatoren zur Einschätzung des Eutergesundheitsstatus von Milchziegen erfolgen kann.

8 Zusammenfassung

Die subklinische Mastitis spielt bei Milchziegen eine ähnlich große Rolle wie bei Milchkühen. Kriterien zur Einschätzung des Eutergesundheitsstatus bei Milchziegen sind bisher nicht festgelegt.

Da die Standarddiagnostik (bei Milchkühen), die auf Zellzahl und bakteriologischem Befund beruht, bei Ziegen aufgrund mangelnder Eignung des Indikators Zellzahl nicht ohne Berücksichtigung sie beeinflussender Faktoren (z.B. Laktationsstadium, Brunst) angewendet werden kann, sollten im Projektverlauf verschiedene physiologische Indikatoren auf ihre Eignung geprüft werden. Dazu wurde eine Milchziegenherde (63 Tiere) über eine gesamte Laktation wöchentlich beprobt und die Milchproben umfassend analysiert auf: Zellzahl, bakteriologischen Befund, elektrische Leitfähigkeit, Milchinhaltsstoffe (Fett, Protein, Laktose), Laktoferrin, Laktatdehydrogenase, β -Glucuronidase, N-acetyl- β -D-glucosaminidase. Die Einschätzung des Eutergesundheitsstatus erfolgte auf Grundlage der Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung. Die Ergebnisse wurden für alle Inhaltsstoffe über den Laktationsverlauf in Abhängigkeit vom Infektionsstatus dargestellt.

Mit Hilfe der „gemischte Effekte Modelle“ wurde geprüft, welche Einflussfaktoren auf die analysierten Indikatoren wirken. Geprüft wurde der Einfluss des Laktationsstadiums, der Laktationsnummer, der mittleren Milchmenge und des jeweiligen Infektionsstatus. Vom Laktationsstadium unbeeinflusst zeigte sich nur der Indikator β -Glucuronidase. Von der Laktationsnummer unbeeinflusst waren LDH und NAGase.

In der untersuchten Milchziegenherde waren 22 Tiere über die gesamte Laktation nicht intramammär infiziert. Die Analysendaten dieser Tiere bildeten die Grundlage für die Grenzwertdefinition jedes einzelnen Indikators, der jeweils so festgelegt wurde, dass 90 % der gesunden Tiere unter diesem Grenzwert lagen. Da das Laktationsstadium eine große Rolle für die Mehrzahl der Indikatoren spielt, wurden Grenzwerte für den Beginn der Laktation und für das Ende der Laktation definiert, da die Beprobungen auf den Praxisbetrieben zu diesen beiden Zeitpunkten erfolgten. Diese Grenzwerte wurden herangezogen, um zu prüfen, ob die analysierten Indikatoren der Praxisbetriebe geeignet sind, den Eutergesundheitsstatus einzuschätzen. Dies war leider nicht erfolgreich. Ursachen hierfür sind zum einen die ausgesprochen gute Eutergesundheit beider Betriebe, die mit 82 vs. 90% eutergesunder Tiere überdurch-

schnittlich hoch war. Zum anderen wurden die Grenzwerte auf Grundlage von lediglich 22 eutergesunden Ziegen eines Betriebes festgelegt, was eine nicht ausreichende Datenbasis zu sein scheint.

Die Untersuchung zur Differenzierung der Erreger-Spezies ergab, dass in den 3 Milchziegherden ein unterschiedliches Spektrum vorherrschte. Auf dem Versuchsbetrieb waren es die KNS *S. epidermidis* und *S. warneri*, auf dem 1. Praxisbetrieb waren es mit *S. simulans* und *S. caprae* auch KNS, wohingegen auf Betrieb 2 *S. aureus* am häufigsten war. Der Einfluss unterschiedlicher Spezies auf Veränderungen einzelner Indikatoren zur Einschätzung des Eutergesundheitsstatus konnte aufgrund der geringen Stichprobenanzahlen nicht geklärt werden. Weitere Untersuchungen, vor allem auch im Hinblick auf die differenzierte Wirkung einzelner Spezies auf Indikatorgehalte sind erforderlich ebenso wie die Klärung der Ursachen für das Auftreten der verschiedenen Spezies.

9 Literaturverzeichnis

- Aulrich K, Barth K (2008) Intramammary infections caused by coagulase-negative staphylococci and the effect on somatic cell counts in dairy goats. *Landbauforschung – vTI Agriculture and Forestry Research* 1/2 (58): 59-64
- Barth K, Aulrich K (2007) Influence of oestrus on somatic cell count in milk of goats. In: Rubino R & Sepe L (eds) International Symposium “The Quality of Goat Products”. ISBN 978-88-902901-1-4, pp 139-141
- Bergonier D, Berthelot X (2003) New advances in epizootiology and control of ewe mastitis. *Livestock Prod Sci* 79: 1 – 16
- Chagunda MG, Larsen T, Bjerring M, Ingvarsen KL (2005) L-lactate dehydrogenase and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activities in bovine milk as indicators of non-specific mastitis. *J Dairy Res* 73: 431-440
- Chaneton L, Tirante L, Maito J, Chaves J, Bussmann LE (2008) Relationship Between Milk Lactoferrin and Etiological Agent in the Mastitic Bovine Mammary Gland. *J Dairy Sci* 91:1865-1873
- Chen PW, Chen WC, Mao FC (2004) Increase of lactoferrin concentration in mastitic goat milk. *J Vet Med* 66: 345-350
- Contreras A, Luengo C, Sánchez A, Corrales JC (2003) The role of intramammary pathogens in dairy goats. *Livestock Prod Sci* 79: 273 – 283
- Contreras A, Sierra D, Sanchez A, Corrales JC, Marco JC, Paape MJ, Gonzalo C (2007) Mastitis in small ruminants. *Small Ruminant Research* 68: 145-153
- Couto I, Pereira S, Miragaia M, Sanches IS, de Lencastre H (2001) Identification of clinical staphylococcal isolates from humans by internal transcribed spacer PCR. *J Clin Microbiol* 39: 3099-3103
- Dulin AM, Paape JM, Schultze WD, Weinland BT (1983) Effect of Parity, Stage of Lactation, and Intramammary Infection on Concentration of Somatic Cells and Cytoplasmic Particles in Goat Milk. *J Dairy Sci* 66: 2426-2433
- DVG (2009) Leitlinien zur Entnahme von Milchproben unter aseptischen Bedingungen und Leitlinien zur Isolierung und Identifizierung von Mastitiserregern. Sachverständigenausschuss “Subklinische Mastitis”, Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft. 2. Auflage, Gießen, Juni 2009
- DVG (2002) Leitlinien zur Bekämpfung der Mastitis des Rindes als Bestandsproblem. ISBN 3-935747-14-4
- Grunert E (1990) Weiblicher Geschlechtsapparat und Euter. In: Dirksen, G., H.-D. Gründer und M. Stöber (Hrsg): Die klinische Untersuchung des Rindes, Parey Verlag, Berlin, Hamburg, 3. Aufl., 472-514

- Hagiwara S, Kawai K, Anri A, Nagahata H (2003) Lactoferrin concentrations in milk from normal and subclinical mastitic cows. *J Vet Med Sci* 65: 319–323
- Hall SM, Rycroft AN (2007)
- Hauschild T, Stepanovic S (2008) Identification of *Staphylococcus* spp. by PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of *dnaJ* Gene. *J Clin Microbiol* 46: 3875-3879
- Heeschen, W., Reichmuth, J., Tolle; A., Zeidler, H. (1969) Die Konservierung von Milchproben zur bakteriologischen, zytologischen und hemmstoffbiologischen Untersuchung. *Milchwissenschaft* 24: 729-734
- Hesse N (2002) Milchziegenhaltung in Deutschland – historische Betrachtung und Stand der Milchziegenhaltung im Ökologischen Landbau. Diplomarbeit, Universität Kassel
- Hiss S, Mueller U, Neu-Zahren A, Sauerwein H (2007) Haptoglobin and lactate dehydrogenase measurements in milk for the identification of subclinically diseased udder quarters. *Veterinari Medicina* 52: 245-252
- Hiss S, Meyer T, Sauerwein H (2008) Lactoferrin concentrations in goat milk throughout lactation. *Small Ruminant Research* 80: 87-90
- ISO 13366-2:2006: Milch - Zählung somatischer Zellen - Teil 2: Leitfaden zum Betrieb fluoreszenzoptoelektronischer Zählgeräte
- Koop (2012)
- Koterwa, J (2012) Untersuchungen zum Einfluss der Brunst auf Mastitisindikatoren bei Milchziegen. Bachelor-Arbeit, Humboldt-Universität zu Berlin
- Knapstein K, Ubben EH, Suhren G, Barth K (2005) Eutergesundheit und Milchqualität bei Milchschaafen und –ziegen. Jahresbericht der Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel, 40-42
- Larsen, T (2005) Determination of lactate dehydrogenase (LDH) activity in milk by a fluorometric assay. *J Dairy Res* 72: 209-216
- Larsen T, Aulrich K (2012) Optimizing the fluorometric beta-glucuronidase assay in ruminant milk for a more precise determination of mastitis. *J Dairy Res* 79: 7-15
- Leitner (2011)
- Leitner G, Silanikove N, Merin U (2008) Estimate of milk and curd yield loss of sheep and goats with intramammary infection and its relation to somatic cell count. *Small Ruminant Research* 74: 221-225
- Leitner G, Merin U, Silanikove N, (2004a) Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in goats. *J Dairy Sci* 87: 1719-1726
- Leitner G, Merin U, Silanikove N, Ezra E, Chaffer M, Gollop N, Winkler M, Glickman A, Saran A (2004b) Effect of subclinical intramammary infection on somatic cell counts, NAGase activity and gross composition of goats' milk. *J Dairy Res* 71: 311-315
- Luengo C, Sanchez A, Corrales J C, Fernandez C, Contreras A (2004) Influence of intramammary infection and non-infection factors on somatic cell counts in dairy goats. *J Dairy Res* 71: 169-174
- Maisi P, Riipinen I (1988) Use of California Mastitis Test, N-acetyl-beta-glucosaminidase, and anti-trypsin to diagnose caprine subclinical mastitis. *J Dairy Res* 55: 309-314
- McDougall S, Voermans M (2002) Influence of Estrus on Somatic Cell Count in Dairy Goats. *J Dairy Sci* 85: 378–383
- McDonald WL, Fry BN, Deighton MA (2005) Identification of *Streptococcus* spp. causing bovine mastitis by PCR-RFLP of 16S-23S ribosomal DNA. *Vet Microbiol* 111: 241-246

- Mein GA, Neijenhuis F, Morgan WF, Reinemann DJ, Hillerton JE, Baines JR (2001) Evaluation of bovine teat condition in commercial dairy herds: 1. non-infectious factors. *2nd Int. Symposium on Mastitis and Milk Quality, Vancouver, BC, Canada, Proc., S. 347-351*
- Moroni P, Pisoni G, Savoini G, van Lier E, Acuna S, Damian JP, Meikle A (2007) Influence of estrus of dairy goats on somatic cell count, milk traits, and sex steroid receptors in the mammary gland. *J Dairy Sci* 90: 790-797
- Moroni P, Pisoni G, Ruffo G, Boettcher P J (2005) Risk factors for intramammary infections and relationship with somatic-cell counts in Italian dairy goats. *Prev Vet Med* 69: 163-173
- Nogai K, Krömker V, Gyódi P, Hamann, J (1996) Zur fluoreszenzspektroskopischen und photometrischen Bestimmung von N-Acetyl- β -D-glucosaminidase in Milch - Ein Methodenvergleich. Tagungsbericht der 37. Tagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der DVG, Teil II, ISBN 3-930511-35-5, S. 299-306
- Oliszewski R, Nunez de Kairuz MN, Gonzalez de Elias SN, Oliver G (2002) Assessment of beta-glucuronidase levels in goat's milk as an indicator of mastitis: comparison with other mastitis detection methods. *J Food Prot* 65: 864-866
- Oliszewski R, Nunez de Kairuz MN, Gonzalez de Elias SN, Oliver G (2004) β -Glucuronidase method to determine mastitis levels in goat milk. *Methods Mol Biol* 268: 475-479
- Paape MJ, Wiggans GR, Bannerman DD, Thomas DL, Sanders AH, Contreras A, Moroni P, Miller RH (2007) Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. *Small Ruminant Research* 68: 114-125
- Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D and the R Development Core Team (2012) nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-105
- Pirisi A, Lauret A, Dubeuf JP (2007) Basic and incentive payments for goat and sheep milk in relation to quality. *Small Ruminant Research* 68: 167-178
- Raynal-Ljutovac K, Pirisi A, de Crémoux R, Gonzalo C (2007) Somatic cells of goat and sheep milk: Analytical, sanitary, productive and technological aspects. *Small Ruminant Research* 68: 126-144
- R Core Team (2012) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, <http://www.R.project.org>
- Stuhr T, Aulrich K, Barth K, Knappstein K, Larsen T (in press) Influence of udder infection status on milk enzyme activities and somatic cell count throughout early lactation in goats. *Small Ruminant Res.* (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.09.004>
- Tilsala-Timisjarvi A, Forsman P, Alatossava T (2000) Bovine mastitis diagnosis from milk by a polymerase chain reaction-based method. *Milchwissenschaft* 55: 488-492
- Verordnung (EG) 853/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs. Amtsblatt der Europäischen Union L 226/22 vom 25.06.2004
- Vihan VS (1989) Determination of NAGase activity in milk for diagnosis of subclinical caprine mastitis. *Small Ruminant Research* 2: 359-366
- Ying C, Wang HT, Hsu JT (2002) Relationship of somatic cell count, physical, chemical and enzymatic properties to the bacterial standard plate count in dairy goat milk. *Livestock Prod Sci* 74: 63 – 77
- Yugueros J, Temprano A, Sanchez M, Luengo JM, Naharro G (2001) Identification of *Staphylococcus* spp. by PCR-Restriction fragment length polymorphism of gap gene. *J Clin Microbiol* 39: 3693-3695

10 Bisherige Veröffentlichungen im Projekt

- Aulrich, K., Barth, K., Knappstein, K., Larsen, T. (2013) Einfluss von Euterinfektionen auf Enzymaktivitäten in Ziegenmilch in der Früh-laktation. 12. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau. Beitrag archiviert unter <http://orgprints.org/view/projects/int-conf-2013-wita.html>, im Druck
- Koterwa, J (2012) Untersuchungen zum Einfluss der Brunst auf Mastitisindikatoren bei Milchziegen. Bachelor-Arbeit, Humboldt-Universität zu Berlin
- Stuhr T, Aulrich K, Barth K, Knappstein K, Larsen T (in press) Influence of udder infection status on milk enzyme activities and somatic cell count throughout early lactation in goats. *Small Ruminant Res.* (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.09.004>
- Stuhr T, Aulrich K, Barth K, Knappstein K (2012) Prevalence of udder infections and effects on milk somatic cell count during lactation in dairy goats. 2nd IFOAM / ISOFAR International Conference on Organic Animal Husbandry, 'Tackling the Future Challenges of Organic Animal Husbandry' Hamburg, Germany, September 12-14, 2012
- Stuhr T, Aulrich K, Barth K, Knappstein K (2012) Prevalence of udder infections and effects on milk somatic cell count during lactations in dairy goats. *Landbauforsch SH* 362:226-228
- Stuhr T, Aulrich K, Barth K, Knappstein K (2011) Untersuchungen zu Euterinfektionen in der Früh-laktation bei Milchziegen. In: Leithold G, Becker K, Brock C (eds) Beiträge zur 11. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau : Es geht ums Ganze: Forschen im Dialog von Wissenschaft und Praxis : Bd. 2, Tierproduktion und Sozioökonomie. Berlin: Köster, pp 212-215
- Stuhr T, Aulrich K (2010) Intramammary infections in dairy goats: recent knowledge and indicators for detection of subclinical mastitis. *Landbauforsch* 60(4):267-279