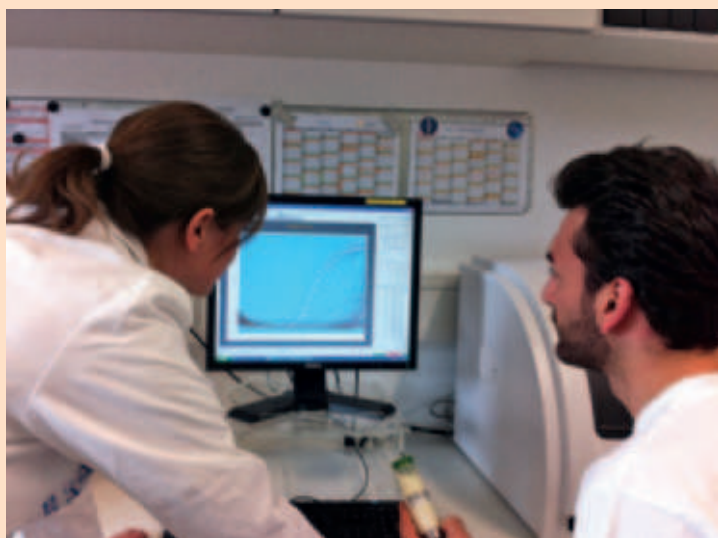


Tankmilch verrät Mastitiskeime

Im Labor des Milchprüfing Baden-Württemberg e.V. spürt man mit einer völlig neuen Methode den Erregern von Euterentzündungen nach. Mittels real-time PCR werden Tankmilchproben auf die Mastitiskeime *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* und *Mycoplasma bovis* untersucht.



Tankmilch wird mit PCR auf drei wichtige Mastitiserreger untersucht.
Foto: MPR BW

Mit der Überwachung der Tankmilch unter Verwendung von real-time PCR wird ein frühzeitiges Erkennen eines Infektionsgeschehens in der Herde ermöglicht. Nicht nur die Schnelligkeit, sondern auch die hohe Nachweisempfindlichkeit und der Nachweis schwer anzüchtbarer Keime wie Mykoplasmen sprechen für die Methode. Darüber hinaus wird bei *S. aureus*-positiven Befunden nachgewiesen, ob es sich um den ansteckenden Typen (Genotyp B) handelt. Ohne logistischen Mehraufwand erhalten Landwirte einen regelmäßigen Status ihrer Herde und Tierärzte können die Ergebnisse zur Bestandsbetreuung nutzen.

Mastitis macht Probleme

Die Mastitis des Rindes ist eine entzündliche Reaktion der Milchdrüse. In ihrem Wesen stellt sie eine Faktorenerkrankung dar, das heißt sie wird zwar durch Infektionserreger hervorgerufen, es sind aber für

die Entwicklung und Ausprägung weitere exogene und/oder endogene gleichzeitig auftretende „Stressoren“ wichtig. In Abhängigkeit von der Heftigkeit der Entzündungsreize, ihrer Dauer und von der Reaktionslage des Organismus kann eine Mastitis unterschiedlich verlaufen. Man unterscheidet zwischen akuter, subakuter und chronischer Mastitis. Aus ökonomischer Sicht verursachen Mastitiden die größten krankheitsbedingten Verluste in Milchviehbetrieben. Durch verringerte Milchproduktion und erhöhte Remontierung entstehen erhebliche Kosten. Mastitiden haben aber auch einen negativen Effekt auf die Rohmilchqualität und auf die Qualität der Milchprodukte.

Euterentzündungen gehen oft einher mit einem erhöhten Zellgehalt (> 100 000 Zellen pro ml Milch). Der Zellgehalt im Gesamtmelk einer Kuh kann daher zur Beurteilung und Überwachung der Eutergesundheit einer Kuh genutzt werden. Bezüglich

der Mastitiserreger muss man zwischen Kuh- und Umwelt-assoziierten Erregern unterscheiden. Kuh-assoziierte Erreger sind solche, die aus euterkranken Milchdrüsenvierteln stammen und vor allem während des Melkens von Kuh zu Kuh verbreitet werden. Hierzu zählen *Staphylococcus aureus* und der sogenannte Gelbe Galt (*Streptococcus agalactiae*). Die Umwelt-assoziierten Erreger stammen aus dem Umfeld der Tiere. Die Verbreitung ist von hygienischen Faktoren abhängig. Zu diesen Erregern zählen zum Beispiel *Streptococcus uberis* oder *E. coli*. Um die Sicherung der Eutergesundheitssituation oder sogar eine Verbesserung der Eutergesundheit zu ermöglichen, spielt ein gutes Eutergesundheitsmanagement eine zentrale Rolle. Hierzu gehört auch ein Monitoring, bei welchem regelmäßig Kennzahlen (wie der Zellgehalt) erhoben und auftretende Störungen der Eutergesundheit dokumentiert werden.

Monitoring hilft vorbeugen

Genau das bietet das „Gesundheitsmonitoring Rind BW“ des Landesverbandes Baden-Württemberg für Leistungsprüfungen in der Tierzucht e.V. (LKV BW). Da das Management maßgeblich an der Prophylaxe und Therapie von Euterentzündungen beteiligt ist, ist es sinnvoll Krankheitserreger frühzeitig zu identifizieren, um so möglichst schnell eingreifen zu können. Weil Kuh-assoziierte Keime ein hohes Risiko darstellen, sollte im Rahmen eines Monitorings die Anwesenheit dieser Keime besonders

beobachtet und aufgezeichnet werden. Teilnehmer des „Gesundheitsmonitoring Rind BW“ (derzeit knapp 600 Betriebe) erhalten jeden Monat Auskunft über die An- bzw. Abwesenheit der beiden Kuh-assoziierten Keime *Staphylococcus aureus* und *Streptococcus agalactiae*, sowie über *Mycoplasma bovis*, ein Keim welcher für hochansteckende klinische Mastitiden verantwortlich ist. Einmal pro Monat wird hierzu Tankmilch vom Milchprüfing Baden-Württemberg e.V. (MPR BW) auf diese drei Erreger mittels real-time PCR untersucht.

Tankmilch als Basis?

Der Zellgehalt der Tankmilch kann aufgrund des Vermischungseffektes in der Herde nur als grober Parameter zur Beurteilung der Eutergesundheit der Herde herangezogen werden. Für das Monitoring der drei oben genannten Keime ist Tankmilch als Probenmaterial aber gut geeignet, da nur Kuh-assoziierte Keime nachgewiesen werden sollen und die real-time PCR als Methode höchst spezifisch und sensitiv ist. Darüber hinaus ist die real-time PCR eine kultivierungs-unabhängige und schnelle Methode, die ein Ergebnis innerhalb eines Tages nach Probeneingang liefert.

Was ist PCR?

Die PCR (engl. für Polymerase-Kettenreaktion) ist eine Methode um Erbsubstanzen (DNA) *in vitro*, das heißt im Reagenzglas zu vervielfältigen. Der Begriff „Kettenreaktion“ beschreibt in diesem Zusammenhang die Tatsache, dass mehrere Zyklen einer Reaktion ablaufen und dabei die Produkte vorheriger Zyklen als Ausgangsstoffe für den jeweils nächsten Zyklus dienen. Somit findet eine exponentielle Vervielfältigung der DNA statt.

Die real-time PCR (auch Echtzeit PCR genannt) ist eine Weiterentwicklung der konventionellen PCR, indem der Reaktion ein Fluoreszenzfarbstoff beigemischt wird.

Bei jedem Zyklus - also „in Echtzeit“ - wird die Fluoreszenz gemessen, woraus man auf die Menge der vervielfältigten DNA schließen kann. Abhängig von der ursprünglichen Anzahl an Kopien wird ein gewisser Schwellenwert des Fluoreszenzsignals früher oder später (oder gar nicht) erreicht. Die real-time PCR liefert somit zusätzlich noch eine semi-quantitative Information. Die DNA wird mittels einer speziell für Milch entwickelten Säulenextraktion extrahiert (Dauer ca. 2,5 Stunden). Der Nachweis der drei Keime erfolgt anschließend gleichzeitig in einem PCR-Lauf (Dauer ca. 1,5 Stunden). Ein Ergebnis liegt somit innerhalb eines Tages nach Probeneingang vor.

Für den Nachweis wird das „Major 3 Kit“ der Firma Finnzymes verwendet. Dieses Kit wurde speziell für den Nachweis Kuh-assoziierten Keime aus Tankmilch entwickelt. Derzeit bietet die Firma Finnzymes fünf verschiedene Kits für den Nachweis Mastitis-relevanter Bakterien an, wobei die Kits, die zwölf oder sogar 16 Bakterien gleichzeitig nachweisen nicht für ein Tankmilch-Screening geeignet sind. Neben der Information, ob *Staphylococcus aureus* anwesend ist, erhalten die Landwirte noch die Zusatzinformation, ob es sich hierbei um den kontagiösen Genotypen B handelt.

Die PCR in der Praxis

Eine interne Methodenprüfung beim MPR BW konnte zeigen, dass die real-time PCR deutlich sensitiver ist als die klassische Mikrobiologie. Die hohe Nachweisempfindlichkeit bringt neben den bereits genannten Vorteilen aber auch Nachteile mit sich. So wird in Fachkreisen oft das Argument gebracht, ob man nicht zu viele „falsch-positive“ Ergebnisse erhält. Damit ist gemeint, dass zwar die Erreger-DNA nachgewiesen wird, aber gar keine Mastitis vorliegt. Oft werden auch die hohen Kosten für die Untersuchung als Nachteil aufgeführt. Bemängelt wird zudem, dass bis dato zu

wenige Studien vorliegen und dass Landwirte mit der Interpretation der Ergebnisse überfordert wären.

Der Ansatz von MPR BW und LKV BW ist deshalb folgendermaßen: In den ersten sechs Monaten werden zunächst nur Daten erhoben, um einen Status quo der Höfe zu erhalten. Das heißt, die Daten werden nach bestimmten Kriterien gesammelt und ausgewertet. Um den Status quo festzulegen, werden die Ergebnisse der real-time PCR mit den Gesundheitsdaten von den Hof-tierärzten und den Kennzahlen abgeglichen. In Zukunft sollen die Ergebnisse dann dem Landwirt und seinem Tierarzt für die Risikobewertung und ggf. auch unterstützend zu Therapie-zwecken dienen.

Beginn des Projektes war im Januar 2012. Die Teilnehmer müssen sich hierzu aktiv beim LKV BW anmelden. Im ersten Jahr ist für die Teilnahme von den Landwirten keine Gebühr zu entrichten und der Landwirt hat auch keinen Mehraufwand, da als Probenmaterial die normalen Güteproben herangezogen werden. Die Ergebnisse werden am Monatsende an den Landwirt und den Tierarzt per Post zugestellt. Landwirte werden immer darauf hingewiesen, dass bei einem positiven Befund der Tierarzt hinzugezogen werden soll, um das weitere Vorgehen zu besprechen. Zudem ist immer zu bedenken, dass im Rahmen des Programms nur der Nachweis auf *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* und *Mycoplasma bovis* erfolgt. Andere Erreger werden nicht nachgewiesen und auch ein Test auf eine Antibiotikaresistenz ist nicht möglich.

Aktuell befindet sich das Projekt noch in der Phase der Datenerhebung. Nach dem ersten Projektjahr wird dann die weitere Vorgehensweise angepasst, dennoch kam schon von einigen Tierärzten und Landwirten die Rückmeldung, dass die Daten gut genutzt werden können und als Werkzeug für das Mastitis-Management sehr dienlich sind.

Franziska Breitenwieser