



Arbeitsgruppe zur Förderung von
Eutergesundheit und Milchhygiene
in den Alpenländern e.V.

tiergesundheitsdienst bayern e.V.



Wissenschaftliche Tagung der AFEMA 2025

Wissenschaft die Wissen schafft – Neues aus den Bereichen Milchqualität und Tiergesundheit und dessen Transfer in die Praxis

Termin: 19.-20. März 2025

Ort: Tiergesundheitsdienst Bayern e.V., Senator-Gerauer-Str. 23, 85586 Poing

Seit 30 Jahren vernetzt die AFEMA Akteur:innen entlang der Wertschöpfungskette Milch in den Alpenländern. Die Wissenschaftliche Tagung der AFEMA leistet einen wertvollen Beitrag zum grenzübergreifenden Austausch neuester Erkenntnisse aus Forschung und Entwicklung.

Wir freuen uns auf einen regen Austausch über Ländergrenzen hinweg und auf spannende Diskussionen zu den vielfältigen Themen rund um Eutergesundheit und Milchqualität. Auch dieses Jahr wird die AFEMA wieder einen Förderpreis an Jungwissenschaftler:innen vergeben.

PROGRAMM

Mittwoch, 19. März 2025

- | | |
|---------------|--|
| 13:30 Uhr | Begrüßung und Eröffnung |
| 13:45 Uhr bis | Austausch der AFEMA Länder über aktuelle Themen der Milchbranche, |
| 17:00 Uhr | inkl. Vorträge zu |
| | <ul style="list-style-type: none">• H5N1 Ausbrüchen in den USA (Sorge)• Blauzunge (Lorenz)• Marktbericht aus Bayern (Seufferlein)• Neues von der EU-Kommission (Schmid) |
| Ab 18:00 Uhr | Gemütliches Beisammensein mit Buffet am TGD Bayern e.V. |

Donnerstag, 20. März 2025

ab 8:30 Uhr	Registrierung
09.00 Uhr	Begrüßung und Eröffnung (Sorge, Horn)
09:05 Uhr	Keynote: PD Dr. Bernd-Alois Tenhagen (BfR): Entwicklung der Antibiotikaresistenzen aus der One-Health Perspektive
09:45 Uhr	Karell. Entwicklung des Vorkommens von MRSA auf bayerischen Milchviehbetrieben zwischen 2013 und 2022
10:00 Uhr	Macias Luaces. Fallbericht: Diphtherietoxin-produzierender <i>Corynebacterium ulcerans</i> isoliert aus einer Kuh mit klinischer Mastitis
10:15 Uhr	Kalverkamp*. Risikofaktoren für Euterinfektionen auf bayerischen Betrieben
10:30 Uhr	Pause
11:05 Uhr	Keynote: PD Dr. Michael Iwersen (VetMed Uni Wien): Krankheiten mittels Sensortechnik und KI rascher erkennen (Seyfried)
11:45 Uhr	Hertle*. Lahmheiten bei Milchkühen- welche Sensordaten eignen sich zur Identifikation lahmer Tiere?
12:00 Uhr	Grunert. Infektionsdynamik und Transmissionsroutenanalyse von <i>Staphylococcus aureus</i> auf Herdenebene
12:15 Uhr	Müller-Langhans. Haplotyp-abhängige Unterschiede in Milchdifferentialzellbild, Milchparametern und Vaginaltemperatur nach intramammärer <i>Staphylococcus aureus</i> Infektion bei Holstein Kühen
12:30 Uhr	Mittagspause
14:00 Uhr	Keynote: Prof. Martin Wagner, (VetMed Uni Wien): Mikrobiom-Forschung für Qualität und Sicherheit von Milchprodukten (Kaser)
14:40 Uhr	Bücher. Die Quantifizierung milchwirtschaftlicher Propionsäurebakterien in Rohmilch: Eine Frage der Geduld?
14:55 Uhr	Peham*. Betriebliche, reinigungstechnische und saisonale Unterschiede des Zitzenhautmikrobioms mit Fokus auf Clostridiaceae
15:10 Uhr	Hüfner. Rohmilchqualität gestern-heute: Eine differenzierte Bewertung der Keimflora
15:25 Uhr	Meyerholz. Unterschiede im bovinen Milchdifferentialzellbild in vivo und post mortem
15:45 Uhr	Verleihung des Nachwuchspreises & Zusammenfassung
16:00 Uhr	Ende / Kaffee / Abreise

* Junge Wissenschaftler

SPONSOREN & AUSSTELLER



ABSTRACTS

Entwicklung der Resistenz von MRSA in bayerischen Milchviehbetrieben zwischen 2013 und 2022

Julia Karell^{1,2*}, Wolfram Petzl², Armin Gangl¹, Reglindis Huber-Schlenstedt¹, Ulrike S. Sorge¹

¹Tiergesundheitsdienst Bayern e.V., Poing, Deutschland; ²Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung, Ludwig-Maximilians Universität München, Deutschland

* karelljulia@yahoo.de

Das Ziel dieser Auswertungen war, die Resistenzsituation bei methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) in bovinen Viertelgemelksproben zu beschreiben, die vom Labor des Eutergesundheitsdienstes (EGD) des Tiergesundheitsdienst Bayern e.V. zwischen 2013 und 2022 bearbeitet wurden.

Die Viertelgemelksproben kamen aus Bestandsuntersuchungen durch EGD Techniker sowie aus Einzeleinsendungen. Für alle Proben waren ein Schalmtest und ggf. klinische Beobachtungen vorhanden. Die Proben wurden entsprechend den jeweils gültigen DVG-Leitlinien kulturell angezüchtet und alle *S. aureus* Isolate auf β -Lactamasebildung getestet. Zudem wurden routinemäßig folgende *S. aureus*-Isolate zur Empfindlichkeitsprüfung weitergeleitet: β -Lactamase-positive Isolate (in Herdenuntersuchungen limitiert auf bis zu drei Isolate pro Herde), Isolate von Vierteln mit subklinischer oder klinischer Mastitis, wenn laut Vorbericht bereits eine antimikrobielle Therapie vorab eingeleitet wurde oder auf ausdrücklichen Wunsch des Kunden. Die Empfindlichkeitstestung wurde mit der Boullion-Mikrodilutionsmethode durchgeführt und nach der Breakpoint-Methode entsprechend der Richtlinien des CLSI ausgewertet. Oxacillin-resistente Isolate wurden als Methicillin-resistent (MRSA) klassifiziert.

Zwischen 2013 und 2022 wurden 1.341 MRSA-Isolate berücksichtigt. Hiervon wurden 910 Isolate weiter auf ihre *in-vitro*-Empfindlichkeit untersucht. Über die Jahre waren fast alle (99%, n = 905) der so getesteten Isolate gegen Penicillin und Cefoperazon resistent. Desweiteren zeigte fast die Hälfte (46%, n = 417) Resistenz gegen Erythromycin, mit einer deutlich gesunkenen Resistenzprävalenz von 92% (n = 78) auf 39% (n= 28) zwischen 2013 und 2022.

Über die Jahre waren fast alle MRSA-Isolate (n=910) resistent gegen Penicillin (99%, n=905) und Cefoperazon (98%, n=894). Mehr als die Hälfte der Isolate wiesen eine Resistenz gegen Cefquinom (65%, n=592) und Cefazolin (53%, n=486) auf. Außerdem war fast die Hälfte (46%, n=417) der MRSA-Isolate resistent gegen Erythromycin, wobei zwischen 2013 und 2022 ein bemerkenswerter Rückgang von 92% (n=78) auf 39% (n=28) zu verzeichnen war. Die Gesamtprävalenz resistenter MRSA-Isolate für Kanamycin-Cefalexin, Pirlimycin, Marbofloxacin und Amoxicillin-Clavulansäure blieb jeweils unter 35%. Im Untersuchungszeitraum wurde kein Trend zur Multiresistenz beobachtet.

Zusammenfassend war der Prozentsatz der antimikrobiellen Resistenz von MRSA (insbesondere gegen β -Lactame) hoch, ging aber leicht zurück. Folglich unterstreicht dieser moderate Trend die Notwendigkeit einer weiteren Überwachung und Bekämpfung von MRSA bei bayerischen Milchkühen, wobei eine erfolgreiche Therapie jedoch unwahrscheinlich bleibt.

Fallbericht: Diphtherietoxin-produzierender *Corynebacterium ulcerans* isoliert aus einer Kuh mit klinischer Mastitis

Laura Macias Luaces¹, Stefano Derramo¹, Andreas Sing², Alexandra Dangel², Katja Bengs², Anja Berger²

¹Tiergesundheitsdienst Bayern e.V., Poing, Deutschland; ²Konsiliarlabor für Diphtherie, WHO Collaborating Centre for Diphtheria, Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL), Oberschleißheim, Deutschland

Im Rahmen einer Bestandsuntersuchung in einem bayerischen Betrieb (Regierungsbezirk Schwaben) mit erhöhten Zellzahlproblemen wurden von allen laktierenden Kühen Viertelgemelksproben (VG-P) entnommen und im Mastitis Labor des Tiergesundheitsdienstes Bayern zytomikrobiologisch untersucht. Bei der Untersuchung vor Ort fiel eine Kuh mit leicht veränderter Milch und stark erhöhtem Zellgehalt auf. Außerdem hatte sie auffällige Wunden an beiden Gliedmaßen. Nach der Untersuchung im Labor der VG-P wurde bei der Kuh *Corynebacterium ulcerans* im Viertel vorne links festgestellt. Dieses Isolat wurde an das Konsiliarlabor für Diphtherie des LGL in Oberschleißheim geschickt und dort als Diphtherietoxin bildender Stamm identifiziert (positiv in der PCR und im Elek-Test). Die molekular diagnostische Feintypisierung des Stammes mittels Ganzgenomsequenzierung und Multi Lokus Sequenz Typisierung (MLST) ergab Sequenztyp ST-331, der schon bei Wunddiphtheriefällen beim Menschen nachgewiesen wurde. Anschließend wurden die Wunden an den Gliedmaßen beprobt, ohne dass Corynebakterien nachgewiesen werden konnten. Die Kuh wurde unter anderem aufgrund dieses Befundes gemerzt.

Im Rahmen eines Beratungsbesuches wurden die Tierbesitzer über die Gefahr des Diphtherieerregers informiert. Darüber hinaus wurde allen Familienmitgliedern empfohlen, sich bei Ärzten oder im Konsiliarlabor für Diphtherie über die Krankheit und ihre Risiken aufklären zu lassen.

Risikofaktoren für Euterinfektionen auf bayerischen Betrieben

Klara Kalverkamp¹, Wolfram Petzl², Ulrike S. Sorge¹

¹Eutergesundheitsdienst und Milchhygiene, Tiergesundheitsdienst Bayern e.V., 85586 Poing, Deutschland; ²Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung, Zentrum für klinische Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München, 85764 Oberschleißheim, Deutschland

Ziel dieser Querschnittsstudie war es, a) die scheinbare Prävalenz von Mastitiserregern zu bestimmen und b) Risikofaktoren für intramammäre Infektionen (IMI) auf Herdenebene zu ermitteln. Die Herdenauswahl erfolgte durch eine geschichtete Zufallsstichprobe basierend auf Herdengröße, Regierungsbezirk und Jahreszeit. Während des Betriebsbesuchs wurden Management- und Melkpraktiken erfragt und ein California Mastitis Test bei allen laktierenden Kühen durchgeführt. Zudem wurden aseptische Viertelgemelksproben (VGM) entnommen und im Labor gemäß den Richtlinien der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft analysiert. Die Risikofaktoren für die Prävalenz ausgewählter Erreger (*Staphylococcus* (S.) *aureus*, *Streptococcus* (Sc.) *uberis*, *Sc. dysgalactiae* und Nicht-Aureus-Staphylokokken (NAS)) innerhalb der Herde wurde mittels negativer binomialer Regression analysiert, während

die Risikofaktoren für die Prävalenz von *Escherichia (E.) coli* und *Sc. agalactiae* mittels logistischer Regression ermittelt wurden.

Insgesamt wurden 305 Herden zwischen Juli 2023 und Juli 2024 besucht und 14.700 Laktierenden beprobt. In 58.080 VGP wurden 4,9 % NAS, 1,8 % *Sc. uberis*, 1,8 % *S. aureus*, 0,2 % *Sc. agalactiae* und 0,1 % *E. coli* nachgewiesen. Mindestens eine Kuh pro Herde war in 92 % der Betriebe mit NAS, in 69 % mit *Sc. uberis*, in 67 % mit *S. aureus* und in 57 % mit *Sc. dysgalactiae* infiziert, bei *E. coli* (17 %) und *Sc. agalactiae* (4 %) waren Infektionen seltener.

Eine erhöhte Prävalenz innerhalb der Herde wurde mit bestimmten Faktoren in Verbindung gebracht: NAS mit automatischen Melksystemen und unruhigen Kühen während des Melkens, *Sc. uberis* mit Braunvieh, Biohaltung und Stroheinstreu, *S. aureus* mit Biohaltung und kleinen Herden, *Sc. dysgalactiae* und *S. aureus* mit fehlender Einstreu oder Gummimatten und *E. coli* mit hörbaren Linerslips und größeren Herden. Eine geringere Prävalenz innerhalb der Herde wurde mit der Verwendung von Zitzendesinfektion nach dem Melken (*Sc. dysgalactiae*) und Dipmitteln auf Chlordioxidbasis für NAS, dem antibiotischen Trockenstellen (*Sc. dysgalactiae*), gewartete Melkanlagen (*Sc. agalactiae*) und regelmäßiger Tränkereinigung (*Sc. agalactiae*) in Verbindung gebracht.

Diese Ergebnisse liefern wertvolle Erkenntnisse über Möglichkeiten zur gezielten Prävention von IMI.

Lahmheiten bei Milchkühen - welche Sensordaten eignen sich zur Identifikation lahmer Tiere?

Sarah Hertle, Isabella Lorenzini, Sophia Sauter, Bernhard Haidn

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Grub, Deutschland

Mit der wachsenden Verbreitung von Sensorsystemen in der Milchviehhaltung steigt auch die Menge erfasster Daten auf landwirtschaftlichen Betrieben. Die gezielte Verknüpfung von Informationen aus Melkrobotern und weiteren tierindividuellen Sensorsystemen bietet großes Potenzial komplexe Krankheitsbilder frühzeitig zu erkennen.

An diesem Punkt setzt die vorliegende Studie im Experimentierfeld „DigiMilch“ an, die sich mit der Kombination von Daten aus verschiedenen Sensorsystemen in Form von Regressionsmodellen zur automatischen Detektion von Lahmheiten bei Milchkühen beschäftigt. Von März 2021 bis Oktober 2022 wurden Daten auf fünf Praxis- und drei Versuchsbetrieben in Bayern erfasst. Die Leistungsdaten stammten von Melkrobotern und vom LKV Bayern, die Verhaltens- und physiologischen Daten wurden mittels Boli, Pedometer, Halsbändern, Waagen, einer BCS-Kamera und Wiegetrögen erhoben und die Klimadaten durch Klimasensoren aufgezeichnet. Die Referenzdaten zur Klauengesundheit wurden anhand sichtbarer Befunde bei der Klauenpflege, einer Schmerzprobe und Lahmheitsgradbeurteilung über Video mithilfe eines dreistufigen Locomotionscores erfasst.

Die Ergebnisse zeigen, dass ein nur aus Leistungs- und Aktivitätsdaten zusammengesetztes Modell nicht ausreicht, um lahme Tiere mit hoher Wahrscheinlichkeit zu identifizieren, sondern weitere Parameter hinzugezogen werden müssen. Ein Regressionsmodell, das Klima, Körpertemperatur, Aktivität, Leistung und Futteraufnahme- oder Liegeverhalten

kombiniert, konnte dagegen ein zufällig ausgewähltes Tier mit einer Genauigkeit von etwa 90% korrekt als lahm oder nicht lahm einstufen.

Infektionsdynamik und Transmissionsroutenanalyse von *Staphylococcus aureus* auf Herdenebene

N. Ramezani¹, I. Loncaric¹, P. Mester², M. Ehling-Schulz¹, J. L. Khol³, T. Grunert¹

¹Mikrobiologie, Department für Biologische Wissenschaften und Pathobiologie;

²Lebensmittelmikrobiologie, Klinisches Department für Nutztiere und Sicherheit von Lebensmittelsystemen; ³Klinisches Zentrum für Wiederkäuer- und Kamelidenmedizin, Lehr- und Forschungsabteilung für Wiederkäuermedizin im Alpenraum der Veterinärmedizinischen Universität, 1210 Wien, Österreich

Staphylococcus aureus zählt in Österreich und weltweit zu den am weitesten verbreiteten Erregern der Rindermastitis. Häufig sind es subklinisch-chronisch, persistierende Mastitiden, die aber oft zu hartnäckigen und schwer zu behandelnden Fällen führen. Dies stellt insbesondere ein Problem für die Almwirtschaft dar, weil hier Milchkühe aus verschiedenen Betrieben gemeinsam gealpt werden und eine erhöhte Gefahr der gegenseitigen Übertragung von *S. aureus* besteht. Ein zentrales Ziel des vom österreichischen Landwirtschaftsministerium geförderten Projekts „SaFE-ALM“ besteht darin, das saisonale Infektionsgeschehen und die Übertragungswege von *S. aureus* auf Herdenebene bei ausgewählten alpinen Melkalmen zu untersuchen.

Alle Kühe mehrerer Herden wurden zu Beginn, in der Mitte und am Ende der alpinen Saison 2024 beprobt (Viertelgemelksproben). Die auf einem Euterviertel isolierten *S. aureus* wurden dann mittels spektroskopisch-metabolischen Fingerprint (FTIR-Spektroskopie) und molekular-genetischer Methoden (spa-Typisierung, MLST) subtypisiert. Zur Analyse der Transmissionsrouten und Infektionsdynamik werden die Daten kombiniert und anonymisiert dargestellt.

Präliminäre Untersuchungen zeigen sowohl persistierende als auch transiente *S. aureus* Subtypen. Zudem legen die Untersuchungen nahe, dass es abhängig vom Subtyp, unterschiedliche Ausbreitungs- und Transmissionsdynamiken gibt. Ein Verständnis der wichtigsten Pathogenitäts- und Ausbreitungsfaktoren von *S. aureus* ist für die Entwicklung neuer Strategien zur Prävention und Kontrolle dieser wirtschaftlich bedeutenden Krankheit von entscheidender Bedeutung. Eine verbesserte zielgerichtete Diagnostik könnte die Entscheidungsfindung durch maßgeschneiderte Beratung und antibiotische Behandlung erleichtern.

Haplotyp-abhängige Unterschiede in Milchdifferentialzellbild, Milchparametern und Vaginaltemperatur nach intramammärer *Staphylococcus aureus* Infektion bei Holstein Kühen

Katharina Müller-Langhans¹, Lisa Oberberger¹, Yury Zablotski¹, Susanne Engelmann^{2,3}, Martina Hoedemaker⁴, Christa Kühn^{5,6,7}, Hans-Joachim Schuberth⁸, Holm Zerbe¹, Wolfram Petzl¹, Marie Margarete Meyerholz-Wohllebe¹

¹Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung, LMU München, ²Institut für Mikrobiologie, TU Braunschweig, ³Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung, Braunschweig, ⁴Klinik für Rinder, TiHo Hannover, ⁵Institut für Genombiologie, FBN Dummerstorf, ⁶Agrar- und umweltwissenschaftliche Fakultät, Universität Rostock, ⁷Friedrich-Loeffler-Institut, Greifswald-Insel Riems, ⁸Institut für Immunologie, TiHo Hannover, Deutschland

Mastitis bei Milchkühen beeinträchtigt das Tierwohl und verursacht hohe wirtschaftliche Verluste. Genetische Selektion kann verwendet werden, um Kühe mit verminderter Mastitisanfälligkeit auszuwählen. Mittels Durchflusszytometrie kann das Milchdifferentialzellbild (DMCC) erfasst werden, um Mastitis früh zu diagnostizieren. Im Rahmen eines *in vivo* Infektionsmodells wurden 24 Kühe auf divergente Rinderchromosom 18 Haplotypen (Q vs. q) selektiert und mit *S. aureus* infiziert. Milchproben wurden alle 12 Stunden (h) entnommen (bis 96h *post infectionem*). Die vaginale Temperatur (VT) wurde alle drei Minuten gemessen. Ziel war es, das DMCC (polymorphonukleäre Neutrophile (PMN), vitale, nicht vitale, lymphoide, große Zellen), die Milchparameter (Fett %, Protein %, Laktose %) und pH sowie VT zwischen Kühen mit vorteilhaftem (Q) und unvorteilhaftem (q) Haplotyp mit gemischten Bayesischen Modellen zu vergleichen.

Die somatische Zellzahl in der Milch der infizierten Viertel war höher im Vergleich zu den nicht infizierten Vierteln (24 h - 96 h, $P < 0,001$). Bezüglich des DMCC zeigten q-Kühe eine höhere Anzahl an PMN, großen Zellen und vitalen Zellen ($P < 0,05$) nach 24 h, sowie eine höhere Anzahl von nicht-vitalen Zellen nach 36 h ($P < 0,001$).

Die VT-Dynamik ($q > Q$ im Intervall 12-24 h, $P < 0,05$; $q < Q$ im Intervall 48-60 h, $P < 0,05$) und die Milchparameter (Protein %, $q < Q$ nach 60 h, $P < 0,05$; Fett %, $q < Q$ nach 84 h, $P < 0,05$) unterschieden sich signifikant zwischen den beiden Haplotypen. Zusammenfassend zeigten Q- und q-Kühe punktuelle Unterschiede im DMCC, den Milchbestandteilen und der VT in einem hochstandardisierten *in vivo* Infektionsmodell mit *S. aureus*. Die Bedeutung dieser Unterschiede im Hinblick auf die Mastitisanfälligkeit muss noch genauer untersucht werden.

Die Quantifizierung milchwirtschaftlicher Propionsäurebakterien in Rohmilch: Eine Frage der Geduld?

Carola Bücher, Johanna Burtscher, Tamara Rudavsky, Ulrike Zitz, Konrad J. Domig

Universität für Bodenkultur Wien, Department für Biotechnologie und Lebensmittelwissenschaften, Institut für Lebensmittelwissenschaften, Muthgasse 18, 1190 Wien, Österreich

Die Herstellung von Rohmilchhartkäsen erfordert eine hohe Rohmilchqualität, und setzt bei bestimmten Käsesorten niedrige Gehalte (≤ 30 KbE/mL Rohmilch) milchwirtschaftlich relevanter Propionsäurebakterien (PSB) voraus. Eine strikte Melkhygiene und die regelmäßige

Kontrolle der PSB-Gehalte in der Rohmilch sind daher unerlässlich. Zur Quantifizierung von PSB stehen molekularbiologische und mikrobiologische Methoden (qPCR, Hefeextrakt-Lactat-Agar (HLA), Lithium-Glycerin-Agar (LGA)) zur Verfügung, die auf ihre Eignung für den Einsatz in der Routineanalytik untersucht wurden. Insgesamt wurden 426 Tankmilchproben analysiert, und der Einfluss betriebsspezifischer Faktoren auf die PSB-Gehalte ermittelt. Es zeigten sich signifikante Unterschiede in den PSB-Gehalten der Rohmilch in Abhängigkeit vom Melksystem und erhebliche Unterschiede in der Methodeneignung. Wegen starkem Wachstum der Begleitmikrobiota erwies sich die Quantifizierung mittels HLA als weniger selektiv als die Quantifizierung mittels LGA oder qPCR. Der PSB Nachweis mittels qPCR, wenngleich spezifisch, zeigte eine unzureichende Sensitivität beim Nachweis niedriger PSB Gehalte. Die Quantifizierung mittels LGA wiederum ist aufgrund des langsamen Wachstums von PSB sehr zeitaufwändig (≥ 7 Tage) und die Begleitmikrobiota wird nicht ausreichend gehemmt. Derzeit birgt die PSB Quantifizierung folglich methodische Herausforderungen insbesondere hinsichtlich Selektivität und Analysendauer. Daher wurde an der Entwicklung eines verbesserten Nachweises in einem halbautomatischen Most Probable Number Verfahren gearbeitet, das bei vergleichbarer Selektivität durch einen reduzierten Materialbedarf und eine deutlich verkürzte Analysenzeit eine interessante Alternative für die Quantifizierung von PSB in Rohmilch bieten soll.

Betriebliche, reinigungstechnische und saisonale Unterschiede des Zitzenhautmikrobioms mit Fokus auf *Clostridiaceae*

Thomas Peham, Johanna Burtscher, Konrad J. Domig

Department für Biotechnologie und Lebensmittelwissenschaften, Institut für Lebensmittelwissenschaften, Universität für Bodenkultur Wien, Muthgasse 18, 1190 Wien, Österreich

Das Vorhandensein von Endosporen-bildenden *Clostridium* spp. und die damit zusammenhängenden Buttersäure-produzierenden Clostridien (BSPC) in der Milch führen zur Qualitätsminderung von Käse. BSPC sind für die sogenannte Spätblähung von Halbhart- und Hartkäse während der Käsereifung verantwortlich und verursachen insbesondere Aroma- und Strukturfehler. Diese Qualitätsfehler führen zu erheblichen wirtschaftlichen Verlusten in der Käseproduktion und zur Verschwendung wertvoller Rohstoffe. Etliche Studien haben gezeigt, dass *Clostridium* spp. in der Stallumgebung präsent sind und während des Melkprozesses in die Milch übertragen werden, wobei eine effektive Zitzenreinigung die Eintragsmenge von BSPC deutlich reduziert.

Im Rahmen dieser Studie wurde das Zitzenhautmikrobiom in österreichischen Milchviehbetrieben untersucht, um Clostridien im Kontext des Gesamtmikrobioms besser zu verstehen und betriebliche, saisonale und reinigungstechnische Effekte zu erkennen. Die Zitzenhautabstriche wurden aus acht Betrieben in drei Saisonen (Winter, Frühling und Sommer) entnommen und mittels Nanopore-Sequenzierung (NGS) untersucht. BSPC wurden zusätzlich spezies-spezifisch mittels quantitativer PCR (qPCR) identifiziert und quantifiziert.

Die Analyse des Zitzenhautmikrobioms zeigt deutliche Unterschiede zwischen den Betrieben, sowie saisonale Schwankungen und Änderungen des Mikrobioms durch die Reinigung auf. *Clostridiaceae* wurden in allen Betrieben unter den fünf dominanten bakteriellen Familien identifiziert. Die spezies-spezifische Untersuchung durch die qPCR konnte einen hohen Anteil

an *C. tyrobutyricum* bestätigen. Zudem konnte die NGS-Analytik eine hohe Diversität des Gesamtmikrobioms zeigen, deren genauere Identifizierung und Quantifizierung mittels qPCR noch untersucht wird.

Rohmilchqualität gestern – heute

Josef Hübner

Labor Dr. Hübner GmbH, Bahnhofstr. 1, 88145 Hergatz, Deutschland

Seit ca. 35 Jahren wird die hygienische Wertigkeit, die mikrobiologische Beschaffenheit mit automatisierten, fluoreszenzoptischen Keimzählverfahren bestimmt. So ist es möglich, relativ rasch die Gesamtkeimbelastung – d.h.- den Gehalt an lebensfähigen und „inaktiven“ Keimzellen zu ermitteln. Nun stellt die Praxis – je nach Milchverarbeitung und Milchprodukt – weitergehende Ansprüche an die mikrobiologische Beschaffenheit. D.h., so ist vielfach nicht der Keimgehalt an sich qualitätsrelevant, sondern die Milchflora im Besonderen.

Am milchwirtschaftlichen Institut Dr. Hübner wurden in den vergangenen 20 Jahren detaillierte Floraanalysen bei Rohmilch durchgeführt – durchwegs im Auftrag von großen Molkereiunternehmen in Zusammenhang mit Qualitätsproblemen. Diese Floraanalysen wurden klassisch (kulturell, Grobdifferenzierung, Maldi ToF Biotyper) und molekularbiologisch (NGS Sequenzierung) in Zusammenarbeit mit einem Partnerlabor durchgeführt. So konzentrierten wir uns zuletzt vor allem auf käseereitechnologisch relevante Problem-/Schadkeime, wie Propionibakterien, obligat heterofermentative Lactobacillen (i.b. *Lb. parabuchneri*) und Leuconostocaceae. Auch diese Keime sind zu 90% ein Anlageproblem, wie Milch-/Wasserreste oder die Belagsbildung bei intensiver Reinigung, wie Heißwasserreinigungssystemen.

So dominierten in der Vergangenheit – vor ~ 50 Jahren – wo die Milchkuhbestände noch kleiner waren und Eimermelksysteme im Gebrauch waren, Darm- und Haut -/Euterkeime (Laktokokken, Lactobacillen, Enterobakterien, Staphylokokken, Microbakterien...) die Rohmilchflora. Genau genommen keine Problemkeime, sofern die Milch täglich verarbeitet wird (wie heute noch in gewerblichen kleinen Käsereien). Die Milcherfassungstrukturen haben sich jedoch gewaltig verändert, was Abholintervalle, Transportwege und Lagerzeiten anbelangt. So war es notwendig, per EU Verordnung festzulegen, dass Milch sofort auf < 8°C bzw. < 6°C zu kühlen ist. So erfolgt rasch eine Verschiebung der Rohmilchflora, kältetolerante Keime, wie vor allem Pseudomonaspezies dominieren (> 90%) so die Keimflora. Es braucht jedoch nicht erwähnt zu werden, dass so die Verarbeitungsfähigkeit der Milch stark beeinträchtigt wird, wie Haltbarkeitsprobleme von UHT Milch bei längerer (>8 Monate) Lagerung bei > 25°C., schlechte Säuerungseigenschaften der Käsereimilch, Mozzarellaqualität, Haltbarkeitsprobleme (Nachgärung, Rissbildung) bei Schnitt- und Hartkäse.

Zuletzt wurden auch Rohmilchen von automatisierten Melksystemen analysiert. Hier sieht es deutlich besser aus, da nach jedem Melkvorgang gereinigt wird und sich so keine „kältetolerante Wasserkeimflora“ in den Melkanlagen aufbauen kann. Hier kann man jedoch häufig pathogene, shigatoxinbildende *E.coli* („STEC“) nachweisen. Man vermutet, dass das Melkzeug häufiger Bodenkontakt hat.

Durch die Rohmilchkühlung wird – vor allem vor dem Hintergrund der langen Abholintervalle – das eigentliche Problem, die Dominanz von kältetoleranten Keimgruppen nicht echt gelöst. Notwendig ist es, dass Melkanlagen in Zukunft – ähnlich wie in der Molkerei – vor dem Melken nochmals einem Kurzspülgang unterzogen werden. Unsere Untersuchungen zeigen, dass die Pseudomonasbelastung der Rohmilch so deutlich gesenkt werden kann.

Unterschiede im bovinen Milchdifferentialzellbild *in vivo* und *post mortem*

M. M. Meyerholz¹, L. Oberberger¹, Y. Zablotzki¹, H. Zerbe¹, H.-J. Schuberth², W. Petzl¹

¹Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung, LMU München, Deutschland;

²Institut für Immunologie, TiHo Hannover, Deutschland

Die somatische Zellzahl (SCC) ist wichtig zur Erkennung von subklinischer und klinischer Mastitis bei Milchkühen. Entsprechend des 3-R-Prinzipes wurde ein hoch-definiertes Explant-Modell entwickelt, um immunologische Mechanismen im Zusammenhang mit intramammären Infektionen zu untersuchen. Geeignete Spenderkühe wurden bisher basierend auf dem SCC aus *in vivo* gewonnenen Milchproben ausgewählt. Um die *In-vivo*-Untersuchungen zu reduzieren, war das Ziel der vorliegenden Studie, Spenderkühe *post mortem* über die Milchzellendifferenzierung mittels Durchflusszytometrie zu identifizieren. Die Analyse des Milchdifferentialzellbildes (DMCC) hat großes Potential die frühe Mastitis-Diagnostik zu verbessern und wird deshalb zunehmend genutzt. Es wurden Milchproben auf Viertelzebene von Kühen *in vivo* (n = 9) und innerhalb von 20 Min nach der Schlachtung *post mortem* (n = 10) entnommen. Die Proben wurden auf SCC, DMCC und mikrobiologisch analysiert. Prozentuale Anteile, absolute Zahlen und Morphologie von Lymphozyten und polymorphkernigen Neutrophilen (PMN) wurden zwischen den beiden Gruppen verglichen. Die Daten wurden mit Shapiro-Wilk Test auf Normalverteilung getestet und mittels T-Test oder Mann-Whitney-U-Test verglichen. Die Proben der Tiere, die nach der Schlachtung entnommen wurden, zeigten eine signifikant höhere Anzahl an PMN in der Milch (P < 0,01) im Vergleich zu den PMN in der Milch von Tieren, die *in vivo* beprobt worden waren. Eine separate Milchprobenanalyse einer dritten Gruppe von euthanasierten Tieren (n = 3) zeigte bis zu 45 Min *post mortem* keine Unterschiede im SCC der Milch. Die vorliegende Studie legt nahe, dass SCC und die DMCC nicht als Indikatoren für die Eutergesundheit bei Milchkühen unmittelbar nach der Schlachtung angewendet werden können.