

Sanierung von *Staphylococcus-aureus*-Genotyp-B-infizierten Milchviehherden

Hans Ulrich Graber

Agroscope, 3003 Bern, Schweiz

Auskünfte: Hans Ulrich Graber, E-Mail: hansulrich.graber@agroscope.admin.ch



In den Alpreigionen sind Milchkühe von *Staphylococcus-aureus*-GTB-bedingten Eutererkrankungen besonders betroffen. (Foto: Gabriela Brändle, Agroscope)

Einleitung

Die Mastitis ist die häufigste Kuherkrankung weltweit und verursacht die höchsten krankheitsbedingte Kosten in der Milchviehproduktion (Ruegg 2003; Seegers *et al.* 2003). Dies gilt auch für die Schweiz, wo jährlich mastitisbedingte Gesamtkosten von rund 130 Millionen Franken pro Jahr entstehen, davon sind 89 Millionen Franken auf ansteckende Eutererkrankungen zurückzuführen (Heiniger *et al.* 2014). In Deutschland sind Mastitiden die häufigsten Ursachen für das Schlachten von

Kühen während der ersten Laktation (Brade und Brade 2007). Ein Grossteil dieser Verluste steht in direktem Zusammenhang mit Viertelinfektionen, die durch *Staphylococcus aureus* (*Staph. aureus*) verursacht werden. In der Schweiz gehört er zu den bedeutendsten Mastitis-erregern mit einer Häufigkeit von 14 % auf Kuzebene und von 57 % auf Herdenebene (Kretzschmar *et al.* 2013; Schaellibaum 1999). Dieser Erreger verursacht normalerweise bei einzelnen bis vielen Kühen innerhalb einer

Herde eine subklinische chronische Mastitis (Sears und McCarthy 2003). Obwohl die klinischen Veränderungen in der Regel mild sind, sind die Heilungsraten mit durchschnittlich 30 % für die Behandlung mit Antibiotika niedrig (Gruet *et al.* 2001; Nickerson 1993). Ausserdem ist auch die Diagnose von *Staph. aureus* durch die herkömmliche bakteriologische Untersuchung von Viertelmilchproben nicht zufriedenstellend, da unter Routinebedingungen durchschnittlich 25 % der Resultate falsch negativ ausfallen (Sears *et al.* 1990; Studer *et al.* 2008), in Einzelfällen bis 79 % (Studer *et al.* 2008). Basierend auf diesen Ergebnissen wird eine genügende diagnostische Sicherheit, dass ein Viertel tatsächlich *Staph. aureus*-frei ist, nur dann erreicht, wenn mindestens drei aufeinanderfolgende Milchproben analysiert werden, die alle negativ sind. Da die dreimalige Beprobung normalerweise zu teuer und zu aufwändig ist, werden die Viertel meist nur einmal beprobt. Diese Tatsache ist jedoch ein wesentlicher Grund dafür, weshalb die Bekämpfung von *Staph. aureus*-bedingten Euterentzündungen bisher oft unbefriedigend gewesen ist.

Genotypen von bovinen *Staph. aureus*

In einer ersten Studie (Fournier *et al.* 2008) wurden mit der ribosomalen Spacer-PCR (RS-PCR) 17 Genotypen gefunden, wobei der Genotyp B (GTB) und der Genotyp C (GTC) die vorherrschenden waren: Sie repräsentierten 81 % der *Staph. aureus*-Isolate aus Milchproben, die zu Untersuchungszwecken in ein Diagnostiklabor eingeschickt worden waren. Die übrigen Genotypen (GTOG) waren selten und machten lediglich 1 % bis 4 % aller Isolate aus. In der Zwischenzeit konnten nun mehr als 100 bovine *Staph. aureus*-Genotypen und Varianten identifiziert werden. Diese beschränken sich nicht mehr nur auf die Schweiz allein, sondern auf Genotypen von bovinen *Staph. aureus* aus der ganzen Welt, insbesondere aus Europa (Cosandey *et al.* 2016). Auch hier sind GTB und GTC, neben GTR, die häufigsten Genotypen (Cosandey *et al.* 2016). Während GTC und GTR in ganz Europa vorhanden sind, findet man GTB jedoch in Ländern um die Schweiz herum: Österreich, Italien, Frankreich, Belgien, südliches und mittleres Deutschland (Cosandey *et al.* 2016). Die Genotypen weisen ein spezifisches Virulenzgenmuster auf (Cosandey *et al.* 2016; Fournier *et al.* 2008). Insbesondere enthält *Staph. aureus* GTB die Enterotoxingene *sea*, *sed*, *sej* und *ser* und zeigt eine typische Punktmutation im *lukE*-Gen (*lukEB*; Cosandey *et al.* 2016; Fournier *et al.* 2008; Graber *et al.* 2009; Hummerjohann *et al.* 2014). Im Gegensatz dazu weist *Staph. aureus* GTC typischerweise die Enterotoxingene *sec*, *seg*, *sei* und *tst* auf und ist *lukEB*-negativ. Daneben gibt es diverse weitere

Zusammenfassung

Die Mastitis ist die häufigste Erkrankung von Kühen und führt auch in der Schweiz zu sehr hohen Kosten in der Milchwirtschaft. Ein wesentlicher Teil davon ist auf den Erreger *Staphylococcus aureus* Genotyp B (GTB) zurückzuführen. Dieser ist im Gegensatz zu allen übrigen Genotypen von *Staphylococcus aureus* ansteckend und führt deshalb zu Problemen in Herden insbesondere in Alprezonen. Daneben hat *Staphylococcus aureus* GTB auch die Eigenschaft, unter gewissen Bedingungen Enterotoxine zu produzieren, die beim Menschen Lebensmittelvergiftungen verursachen. Enterotoxin-haltiger Käse muss verbrannt werden, was in der Alpwirtschaft immer wieder zu sehr hohen Verlusten führt. Um *Staphylococcus aureus* GTB auf Herdenebene auszurotten, hat Agroscope einen hoch spezifischen und empfindlichen qPCR-Test zum Nachweis dieses Erregers in der Milch entwickelt und ein Verfahren erarbeitet, um infizierte Herden sehr effizient und sicher zu sanieren. Das weltweit einzigartige Verfahren mit der genotypspezifischen qPCR-Analytik stellt einen Durchbruch in der Bekämpfung von *Staphylococcus aureus* als Erreger von ansteckenden Euterentzündungen dar. Tatsächlich gelang es in einer Studie, alle GTB-infizierten Herden innerhalb von neun Monaten vollständig und nachhaltig zu sanieren. Dabei konnten 93 % aller GTB-positiven Kühe erfolgreich geheilt und die Zellzahlen in der Milch deutlich gesenkt werden. In Kanton Tessin mit seiner ausgeprägten GTB-Problematik wurde das Verfahren mit sehr grossem Erfolg in die Praxis umgesetzt. Im Sanierungsprojekt konnte die Infizierungsrate der Kühe von 10 % auf 0,3 % gesenkt werden. Die sanierten Herden blieben nach der Behandlung GTB-frei.

Eine erfolgreiche GTB-Sanierung beruht auf der strikten Umsetzung der fünf Grundpfeiler:

1. Hoch empfindlicher und hoch GTB-spezifischer qPCR Test;
2. Strikte Anwendung der obligatorischen Hofmassnahmen wie Melken nach Gruppe und zweimal täglich vollständige Reinigung der Melkanlage;
3. Die Milch der einzelnen Kühe wird monatlich mit dem qPCR Test untersucht und die Melkgruppen angepasst;
4. Auswahl des Antibiotikums für die Therapie der GTB-positiven Kühe auf Basis von Vollgenomanalysen;
5. Therapie und tierärztliche Einflussnahme.

genetischen Unterschiede zwischen den beiden Genotypen (Cosandey *et al.* 2016; Fournier *et al.* 2008; Leuenberger *et al.* 2019), aber auch markante Unterschiede auf Stufe Genom (Sartori *et al.* 2017). Was die anderen Genotypen betrifft, so sind deren genetischen und genomischen Unterschiede beträchtlich und uneinheitlich (Fournier *et al.* 2008; Sartori *et al.* 2017).

Interessanterweise unterscheiden sich die Genotypen deutlich in ihren klinischen Eigenschaften. *Staph. aureus* GTB ist ansteckend: bis zu 100 % der Kühe einer Milchviehherde weisen eine Infektion mit diesem Erreger auf (mediane Kuhprävalenz = 47 %), wobei normalerweise zwei und mehr Viertel einer Kuh infiziert sind (Cremonesi *et al.* 2015; Fournier *et al.* 2008; Graber *et al.* 2009; Sartori *et al.* 2018a; van den Borne *et al.* 2017). Dagegen verursachen *Staph. aureus* GTC und GTOG in der Schweiz stets eine Einzelviertelinfektion von einzelnen Kühen (Fournier *et al.* 2008; Graber *et al.* 2009). *Staph. aureus* GTB-bedingte Eutererkrankungen kommen schweizweit vor, die Alpregionen sind aber besonders betroffen sind (Cosandey *et al.* 2016)! So sind in der Schweiz durchschnittlich 10,3 % Milchviehherden GTB-infiziert, was circa 2000 Betrieben entspricht (Cosandey *et al.* 2016). Weitere Untersuchungen haben dann nachgewiesen, dass die Alpung selbst der größte Risikofaktor für Kühe ist, um mit *Staph. aureus* GTB infiziert zu werden (Berchtold *et al.* 2014; van den Borne *et al.* 2017; Voelk *et al.* 2014): das Risiko in den Alpen ist 10,2-mal höher als im Tal (Berchtold *et al.* 2014). Dies ist darauf zurückzuführen, dass die Kühe von diversen Betrieben (einige davon sind GTB-infiziert) während der Sömmerung an einem Ort (Alp) zusammenkommen und dann beim Melken durchmischt werden. Die Ansteckung erfolgt dann ausschliesslich durch die GTB-kontaminierten Melkzeuge (Leuenberger *et al.* 2019). Am Ende der Sömmerung sind durchschnittlich 2,64-mal mehr Kühe infiziert als zu Beginn der Saison (Voelk *et al.* 2014). Auf einer Alp stieg die Anzahl GTB-infizierter Kühe von 8 % (Beginn) auf 34 % (Ende), auf einer andern von 39 % auf 72 % (Voelk *et al.* 2014), mit der Konsequenz, dass am Ende der Alpung oft jeder Betrieb, auch solche, die vor der Alpung GTB-negativ waren, infizierte Kühe nach Hause nahmen. Ein weiterer Risikofaktor ist der Zukauf von Kühen (Berchtold *et al.* 2014).

GTB-infizierte Kühe weisen in der Milch meist stark erhöhte Zellzahlen (SCC) auf (Median = 990 000 Zellen/ml), was Ausdruck einer Mastitis ist. Erhöhte SCC findet man aber auch bei GTC und GTOG, wobei es bei Letzteren auch einige Genotypen mit normalen SCC (< 100 000 Zellen/ml) gibt und somit apathogen sind (Fournier *et al.* 2008); dies bedeutet, dass diese Genotypen zwar das

Viertel infizieren, aber keine Entzündung (Mastitis) auslösen.

In *Staph. aureus* GTB infizierten Herden weisen stets eine grössere Anzahl von Kühen (>20 %) erhöhte SCC (> 150 000 Zellen/ml) auf. Zudem treten auf diesen Betrieben Streptokokken sowie die übrigen Staphylokokken eher selten als Mastitiserreger auf (Michel *et al.* 2011). Die Kombination dieser drei Beobachtungen ist dann ein starkes Indiz dafür, dass auf diesem Betrieb ein *Staph. aureus* GTB-bedingtes Herdenproblem vorliegt (Michel *et al.* 2011). Die Tatsache, dass die frisch abgekalbten Rinder, solange sie nicht mit den älteren Kühen zusammen gemolken werden, GTB-frei sind (Abb-Schwedler *et al.* 2014; Guccione *et al.* 2014), ist wichtig für den Erhalt der Genetik innerhalb der Herden, da positive Tiere durch solche des eigenen Zuchtprogramms ersetzt werden können. Folglich bleiben Kuhlinien mit positiven genetischen Eigenschaften erhalten und Ersatz mit fremden, möglicherweise GTB-positiven Kühen kann vermieden werden.

Staph. aureus GTB in Rohmilchkäse

Da *Staph. aureus* GTB in der Milch ausgeschieden wird und dadurch in die Käsereien gelangen kann, ist es naheliegend zu erwarten, dass dieser Genotyp auch im Käse zu finden ist, insbesondere, wenn Rohmilchkäse (Alpkäse!) hergestellt wird. Tatsächlich wurde *Staph. aureus* GTB in 72 % der Rohmilchkäse gefunden, der Koagulase-positive Staphylokokken enthalten hatte, in etwa 50 % der Fälle konnte nur dieser Genotyp gefunden werden (Hummerjohann *et al.*, 2014). Auch konnte *Staph. aureus* GTB und seine Enterotoxine wiederholt in Käse nachgewiesen werden, vom dem Lebensmittelvergiftungen beim Menschen verursacht worden waren (Hummerjohann *et al.* 2014). Enterotoxinhaltiger Käse muss verbrannt werden, was vor allem an Alpen immer wieder zu sehr hohen Verlusten führt, wenn ein Grossteil der Produktion vernichtet werden muss. Diese Ausführungen zeigen, dass die Bekämpfung von *Staph. aureus* GTB nicht nur die hohen wirtschaftlichen Schäden minimieren, sondern auch die Lebensmittelsicherheit von Rohmilchkäse und -produkten wesentlich verbessern könnte.

Vorteile einer Staph. aureus GTB-Bekämpfung

Nach der Studie von Heiniger *et al.* (2014) verursachen ansteckende Rindermastitiden in der Schweiz Kosten von rund 85 Millionen Franken pro Jahr. Da Euterentzündungen mit den beiden andern ansteckenden Erregern *Streptococcus agalactiae* und *Mycoplasma bovis*/spp. derzeit in der Schweiz selten sind oder fehlen, entste-

hen die meisten dieser Kosten durch *Staph. aureus* GTB. Eine GTB-Eliminierung aus Milchviehherden hat folgende Vorteile:

- Massive Kostenreduktion
- Massive Reduktion von Euterentzündungen und damit eine stark verbesserte Milchqualität, Eutergesundheit und Schmerzreduktion.
- Mastitiden beschränken sich nur noch auf einzelne Viertel von einzelnen Kühen.
- Der Verbrauch von Antibiotika kann gesenkt werden.
- Kühe können über mehr Laktationen als bisher gemolken werden, wodurch der Tierverschleiss und die Aufzuchtkosten gesenkt werden.
- Die Käsequalität und die Lebensmittelsicherheit von Rohmilchprodukten werden wesentlich verbessert.
- Die Frustration vieler Bauern wegen unbefriedigender Milchqualität bleibt aus.

Methoden und Resultate

Bekämpfungsstrategien

Grundsätzlich sind drei verschiedene Ansätze möglich, um dieses Ziel zu erreichen: erstens die Behandlung von Kühen mit Antibiotika; zweitens die Impfung und drittens die Herdensanierung und -überwachung.

Antibiotikabehandlung

Der Erfolg der antimikrobiellen Behandlung von *Staph. aureus*-bedingten Viertelentzündungen ist normalerweise unbefriedigend, indem die Erfolgsraten etwa 30 % betragen (Gruet *et al.*, 2001; Nickerson, 1993). Dies war weitestgehend der Ansatz der letzten 50 Jahre, doch damit kriegte man das *Staph. aureus*-Problem nicht in den Griff (Tschopp *et al.*, 2015), obwohl teilweise sehr grosse Mengen an Antibiotika verwendet worden waren.

Impfung

Die Impfung gegen *Staph. aureus* als Mastitiserreger der Kühe hat in der Veterinärmedizin eine lange Geschichte und neue Versuche werden immer wieder veröffentlicht z.B. (Daum und Spellberg 2012; Schukken *et al.* 2014). Die Effekte sind aber leider bis heute zu gering, damit Impfungen gegen *Staph. aureus* als Mastitiserreger empfohlen werden können.

Herdensanierung

Die Sanierung von Herden mit *Staph. aureus*-bedingten Mastitiden als Bestandesproblem wurde erstmals von Wilson und Davidson (1961) beschrieben. Ihr Vorgehen gilt weltweit immer noch als der Goldstandard. In

der Schweiz wurde ein ähnliches Vorgehen propagiert (Kirchhofer *et al.* 2011), wobei die dreimalige aseptische Beprobung aller Viertel zur Gruppeneinteilung und das Melken dieser Kühe entsprechend der Gruppen im Zentrum stehen. Einer der grössten Nachteile dieses Ansatzes ist jedoch die wiederholte aseptische Probenentnahme aller laktierenden Viertel, was mit sehr grossem Aufwand verbunden ist. Ein weiterer Nachteil ist, dass die Untersuchung der Milchproben durch die klassische Bakteriologie arbeits-, material- und zeitaufwändig ist, so dass hohe Kosten für die Probenahme und Analyse entstehen (Sartori *et al.* 2018a). Um diese zu reduzieren, wurden in der Vergangenheit verschiedene Abkürzungen vorgenommen, was oft zu einem unbefriedigenden Sanierungsergebnis führte.

Sanierung von infizierten Milchviehherden

Basierend auf den Überlegungen oben erschien uns die Sanierung zusammen mit dem neuen GTB-spezifischen qPCR-Test von Sartori *et al.* (2017) als der vielversprechendste Ansatz zu sein, um *Staph. aureus* GTB auf Herdenebene auszurotten. Tatsächlich war dieser Ansatz dann auch sehr erfolgreich (Sartori *et al.* 2017; Sartori *et al.* 2018a; Sartori *et al.* 2018b). Er basiert auf den Grundlagen und dem praktischen Vorgehen, wie sie in den letzten Jahren durch Agroscope unter der Leitung von Dr.med.vet. H.U. Graber entwickelt worden waren. Die Vorgehensweise mit seiner genotypspezifischen qPCR-Analytik (Sartori *et al.* 2017) ist weltweit einzigartig und stellt einen Durchbruch in der Bekämpfung von *Staph. aureus* als Erreger von ansteckenden Euterentzündungen dar. Bei der Erarbeitung des Sanierungsprozesses wurde bewusst auf wenige wesentliche Punkte fokussiert, damit insbesondere die Hofmassnahmen möglichst einfach und effizient sind, und um die Untersuchungskosten möglichst tief zu halten. Der monatliche Rhythmus hat sich sehr bewährt und ist gut mit den monatlichen Milchwägungen vereinbar.

Die Sanierungen waren so erfolgreich und nachhaltig, als alle Betriebe, auch solche mit mehr als 120 Kühen oder Hochleistungsbetriebe, innerhalb von neun Monaten vollständig saniert werden konnten und danach GTB-frei blieben. Auch gelang es, die Zellzahlen in der Milch deutlich zu senken. Der Therapieerfolg betrug 93 % (Sartori *et al.*, 2018a), dabei waren alle Kühe eines Betriebes, unabhängig von Alter und Laktationsdauer, therapiert worden (Sartori *et al.* 2018a). Wichtig für die Eutergesundheit ist zudem die Tatsache, dass durch die Eliminierung von *Staph. aureus* GTB aus der Milchdrüse die neu entstandene Nische nicht systematisch mit anderen Bakterien besetzt worden war (Sartori *et al.* 2018b).

Auch war der neue Ansatz wesentlich billiger als der bisherige mit der klassischen Bakteriologie (Sartori *et al.* 2018a).

Da der Erfolg der GTB-Sanierung nach Sartori *et al.* alle Erwartungen übertroffen hatte, wurde im Kanton Tessin ein gemeinsames GTB-Sanierungsprojekt (Pilotprojekt) unter Leitung des dortigen Kantonstierarztes (Dr. T. Vanzetti, Dr. L. Bacciarini) lanciert, denn die GTB-Problematik war hier besonders ausgeprägt. Das Projekt wurde im Dezember 2017 gestartet und dauert bis Ende 2020. Es wird weitgehend vom Bundesamt für Landwirtschaft finanziert (Ressourcenprojekt). Am Projekt nehmen 87 % der Tessiner Milchviehhalter freiwillig teil. Eingeschlossen in diese Studie sind 165 Herden, davon waren 40 anfänglich GTB-positiv. Insgesamt waren 10 % der laktierenden Kühe GTB-infiziert. Die Sanierung erfolgt wiederum nach Sartori *et al.* (Sartori *et al.* 2017; Sartori *et al.*, 2018a; Sartori *et al.*, 2018b), mit minimalen Anpassungen an die lokalen Gegebenheiten. Im März 2019, nach gut einem Jahr, sind nur noch 0,3 % der Kühe GTB-positiv, diese stehen auf zwei Melkroboterbetrieben. Alle übrigen Herden konnten vollständig saniert werden und sind seither GTB-frei. Unter diesen Feldbedingungen betrug die Heilungsrate 90 % (mündliche Mitteilung L. Sesso). Sie ist praktisch identisch (93 %) mit derjenigen von Sartori *et al.* (2018a), die unter etwas besser kontrollierten Bedingungen erzielt worden war. Diese sehr hohe Heilungsrate im Tessin hatte auch zur Folge, dass bisher mehr als CHF 350 000.– als Ausmerzbeiträge gespart werden konnten. Dieser Erfolg ist nicht nur auf die Therapie allein zurückzuführen, sondern ist das Resultat aller gemachten Anstrengungen (siehe unten «Grundpfeiler der GTB-Sanierung»)! Für die Alpung im Sommer 2018 im Tessin wurden zudem nur GTB-negative Kühe zugelassen, wofür auch die ausserkantonalen Kühe untersucht werden mussten. Dieses Vorgehen hat sich sehr bewährt, blieben doch alle gealpten Kühe GTB-negativ (mündliche Mitteilung L. Sesso).

Die Sanierung mit der neuen qPCR Diagnostik beruht auf einer ersten Untersuchung der Ablieferungstankmilch (BTM) auf *Staph. aureus* GTB. Ist das Resultat positiv, werden alle laktierenden Kühe einzeln beprobt (Vierviertel), in eine von drei Gruppen eingeteilt und entsprechend gemolken (Sartori *et al.* 2018a). Die Beprobung der Kühe wird monatlich wiederholt und die Gruppeneinteilung entsprechend der qPCR-Resultate angepasst, bis alle Kühe mindestens zweimal GTB-negativ sind. Danach wird die Herde anhand von BTM-Untersuchungen während fünf Monaten überwacht.

Schlussfolgerungen und Empfehlungen

Fünf Grundpfeiler der GTB-Sanierung

Eine erfolgreiche GTB-Sanierung beruht auf der strikten Umsetzung der fünf Grundpfeiler:

1. qPCR Test: Hoch empfindlicher und hoch GTB-spezifischer qPCR Test, mit dem alle Kühe sehr zuverlässig detektiert und in die entsprechende Melkgruppe eingeteilt werden können.

Der Test nach Sartori *et al.* (Sartori *et al.* 2017) ist hoch spezifisch für *Staph. aureus* GTB und erlaubt daher die SAUBERE (= Standardreinigung fürs Melken) Entnahme von Vierviertelmilchproben statt der aseptischen Entnahme von Einzelviertelmilchproben. Dies vereinfacht die Beprobung massiv: Eine Person kann während des Melkens mehr als 120 Kühe beproben, ohne dass dabei der Melkablauf gestört wird.

Der Test ist so empfindlich (Boss *et al.* 2011; Sartori *et al.* 2017), dass dadurch eine GTB-positive Kuh in BTM von mindestens 138 Kühen nachgewiesen werden kann. Damit ist der Test geeignet für die Erstabklärung (BTM; ist Herde GTB-positiv?), für die Untersuchung der einzelnen Kühe während der Sanierung, sowie zur Herdenüberwachung nach Ende der Sanierung (BTM).

2. Hofmassnahmen

Es wird zwischen obligatorischen und empfohlenen Hofmassnahmen unterschieden.

Obligatorische Massnahmen (aufgeführt nach Wichtigkeit)

- Strikte Melkreihenfolge: **Gruppe 1** (GTB-negativ) → **Gruppe 2** (GTB-unklar) → **Gruppe 3** (GTB-positiv).
- Nach jedem Melken vollständige Reinigung der Melkanlage nach Herstellerangaben. Dadurch wird *Staph. aureus* GTB jeweils vollständig von den Zitzengummis entfernt (Leuenberger *et al.* 2019).
- Einwegmaterial (z. B. Holzwolle oder feuchte Desinfektionstücher oder beides) zum Reinigen von Euter und Zitzen vor dem Melken.
- Zitzendesinfektion nach dem Melken mit iodhaltigem Desinfektionsmittel.
- Wartung der Melkanlage einmal jährlich durch eine Fachperson.

Empfohlene Massnahmen:

- Beim Melken Handschuhe tragen.
- Vormelken in einen Vormelkbecher.

- Schlachtung von therapieresistenten Kühen oder von Kühen mit zusätzlichen Erkrankungen oder Problemen.
- Keine Schlachtung von trächtigen Kühen!

3. Monatliches Testen der Kühe in Gruppe 1 und 2 durch qPCR und Aktualisierung der Gruppen gemäss den qPCR-Ergebnissen.

- BTM-Probe entnehmen und in einem der von Agroscope zertifizierten Labors (BAMOS AG, Eolab, IDEXX Diavet AG, labor-zentral.ch AG) auf *Staph. aureus* GTB untersuchen lassen.
- Falls die BTM-Probe GTB-positiv ist, muss von jeder laktierenden Kuh (frühestens 10 Tage nach dem Abkalben) eine saubere Viertelprobe entnommen und untersucht werden.
- Vom Labor verlangen, dass Milchpools von zehn Kühen untersucht werden (spart Kosten), die Kühe aus Gruppe 2 werden einzeln untersucht.
- Gruppeneinteilung:
 - GTB-negative Kühe ≥ 7 –8 Wochen in Laktation → **Gruppe 1**.
 - GTB-negative Kühe < 7 Wochen in Laktation → **Gruppe 2**; wenn bei nächster Beprobung wieder GTB-negativ → **Gruppe 1**.
 - GTB-positive Kühe → **Gruppe 3**.
 - Kühe nach GTB-Therapie → **Gruppe 2**; wenn zweimal nacheinander GTB-negativ → **Gruppe 1**. Erste Beprobung eine Woche nach offizieller Absetzfrist des Medikamentes.
 - Frisch abgekalbte, zugekaufte oder gealpte Kühe starten immer in **Gruppe 2**.
- Alle laktierenden Kühe ausser Gruppe 3 werden monatlich wieder untersucht. Die Gruppeneinteilung wird anhand der neuen qPCR-Resultate und obigem Schema monatlich angepasst. Sind die Kühe der Gruppe 1 zweimal nacheinander GTB-negativ, brauchen sie nicht mehr weiter beprobt werden.
- Die Sanierung ist abgeschlossen, wenn alle Kühe mindestens zweimal nacheinander GTB-negativ getestet worden sind (auch solche, die noch trockenstehen und erst später abkalben und beprobt werden können).
- Nach der Sanierung werden die Herden durch monatliche BTM-Untersuchung während mindestens fünf Monaten überwacht. Die Fortführung der BTM-Untersuchungen danach ist sehr zu empfehlen, um sofort eingzugreifen zu können, wenn erst eine oder wenige Kühe neu infiziert sind.

4. Auswahl des Antibiotikums

Die Auswahl des Antibiotikums erfolgte primär anhand der Genomanalysen von *Staph. aureus* GTB und diversen andern *Staph. aureus*-Stämmen (Sartori *et al.* 2017; Sartori *et al.* 2018a). Dabei zeigte sich, dass die Genome von *Staph. aureus* GTB keine Resistenzgene gegen Aminoglykoside enthielten (Sartori *et al.* 2017; Sartori *et al.* 2018a). Aus diesem Grunde wurde ein aminoglykosidhaltiges Medikament (Ubrolexin®) zur Therapie von GTB-infizierten Kühen verwendet.

5. Therapie und tierärztliche Einflussnahme (aufgeführt nach Wichtigkeit)

- Die Tierärztin oder der Tierarzt muss die Bäuerinnen und Bauern dazu bringen, dass die obligatorischen Hofmassnahmen (insbesondere die Melkreihenfolge und das Reinigen der Melkanlage!) strikt umgesetzt werden.
- Die Tierärztin oder der Tierarzt zeigt dem Bauern oder der Bäuerin auf dem Betrieb, wie die Melkreihenfolge umzusetzen ist! Sie ist eindeutig für Ställe mit Anbindehaltung. Für Laufställe sind möglich:
 - Räumliche Trennung: die drei Gruppen werden im Stall mit Stangen abgetrennt.
 - Zeitliche Trennung: alle Kühe der Gruppen 2 und 3 werden vor dem Melken herausgebunden.
 - Getrennte Melkzeuge: **Gruppe 1** wird mit den **ordentlichen Melkzeugen des Melkstandes gemolken**; Kühe der Gruppen 2 und 3 werden mit getrennten Eimermelkzeugen gemolken: die **Kühe und der Melkeimer der Gruppe 2 sind orange markiert**, die **Kühe und der Melkeimer der Gruppe 3 rot**.
 - Für die Sanierung von Betrieben mit Melkrobotern muss das Prozedere angepasst werden. Entsprechende Untersuchungen sind im Gange, die vorläufigen Resultate sind vielversprechend (L. Sesso, mündliche Mitteilung).
 - Die Tierärztin oder der Tierarzt gibt dem Bauern oder der Bäuerin nach der monatlichen Beprobung eine Liste sämtlicher laktierenden Kühe mit der angepassten Gruppeneinteilung und mit seinen Anordnungen ab.
- Intramammäre Laktationstherapie: über einen Zeitraum von fünf Tagen täglich alle Viertel einer Kuh ein Mal mit je einem Ubrolexin®-Injektor intramammär behandeln (total 20 Injektoren pro Kuh).
- Allenfalls gestaffelte Therapie: zuerst junge Kühe mit tiefen SCC, zuletzt ältere Kühe mit hohen SCC.

- Während der Sanierung werden alle Kühe oder zumindest die ehemals GTB-positiven mit einem Cloxacillin-haltigen Medikament trockengestellt. Eine vorhergehende, zusätzliche Therapie ist nicht nötig.
- Die Dauer der Sanierung hängt von der Zielvorstellung des Bauern, der Betriebsgrösse und der Häufigkeit der GTB-infizierten Kühe im Betrieb ab. Sie dauert zwischen ein bis neun Monate, in der Regel ist sie nach sieben Monaten abgeschlossen. ■

Literatur

- Abb-Schwedler K., Maeschli A., Boss R., Graber, Steiner A. & Klocke P., 2014. Feeding mastitis milk to organic dairy calves: effect on health and performance during suckling and on udder health at first calving. *BMC Vet. Res.* 10, 267.
- Berchtold B., Bodmer M., van den Borne, Reist M., Graber, Steiner A., Boss R., und Wohlfender F., 2014. Genotype-specific risk factors for *Staphylococcus aureus* in Swiss dairy herds with an elevated yield-corrected herd somatic cell count. *J. Dairy Sci.* 97(8), 4886–4896.
- Boss R., Naskova J., Steiner A. & Graber, 2011. Mastitis diagnostics: quantitative PCR for *Staphylococcus aureus* genotype B in bulk tank milk. *J. Dairy Sci.* 94(1), 128–137.
- Brade E. & Brade W., 2007. Abgangsursachen von Erstkalbskühen in Sachsen. *Tierärztliche Umschau* 62, 416–422.
- Cosandey A., Boss R., Luini M., Artursson K., Bardiau M., Breitenwieser F., Hehenberger E., Lam T., Mansfeld M., Michel A., Mosslacher G., Naskova J., Nelson S., Podpecan O., Raemy A., Ryan E., Salat O., Zangerl P., Steiner A. & Graber, 2016. *Staphylococcus aureus* genotype B and other genotypes isolated from cow milk in European countries. *J. Dairy Sci.* 99(1), 529–540.
- Cremonesi P., Pozzi F., Raschetti M., Bignoli G., Capra E., Graber, Vezzoli F., Piccinini R., Bertasi B., Biffani S., Castiglioni B. & Luini M., 2015. Genomic characteristics of *Staphylococcus aureus* strains associated with high within-herd prevalence of intramammary infections in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98(10), 6828–6838.
- Daum R. S. & Spellberg B., 2012. Progress toward a *Staphylococcus aureus* vaccine. *Clin. Infect. Dis.* 54(4), 560–567.
- Fournier C., Kuhnert P., Frey J., Miserez R., Kirchhofer M., Kaufmann T., Steiner A. & Graber, 2008. Bovine *Staphylococcus aureus*: association of virulence genes, genotypes and clinical outcome. *Res. Vet. Sci.* 85(3), 439–448.
- Graber H. U., Naskova J., Studer E., Kaufmann T., Kirchhofer M., Brechbuhl M., Schaeren W., Steiner A. & Fournier C., 2009. Mastitis-related subtypes of bovine *Staphylococcus aureus* are characterized by different clinical properties. *J. Dairy Sci.* 92(4), 1442–1451.
- Gruet P., Maincent P., Berthelot X. & Kaltsatos V., 2001. Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspectives. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 50(3), 245–259.
- Guccione J., Cosandey A., Pesce A., Di Pascale M., Piantadosi D., Steiner A., Ciaramella P. & Graber, 2014. Clinical outcomes and molecular genotyping of *Staphylococcus aureus* isolated from milk samples of dairy primiparous Mediterranean buffaloes (*Bubalus bubalis*). *J. Dairy Sci.* 97(12), 7606–7613.
- Heiniger D., van den Borne B. H. P., Lechner I., Tschopp A., Strabel D., Steiner A. & Meier H., 2014. Kosten-Nutzen-Analyse einer Intervention zur Verbesserung der Eutergesundheit in Schweizer Milchviehbetrieben. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 156(10), 473–481.
- Hummerjohann J., Naskova J., Baumgartner A. & H. U. Graber, 2014. Enterotoxin-producing *Staphylococcus aureus* genotype B as a major contaminant in Swiss raw milk cheese. *J. Dairy Sci.* 97(3), 1305–1312.
- Kirchhofer M., Kaufmann T., Guelat-Brechbuhl M., Michel A., Syring C. & Bodmer M., 2011. Systematic sanitation of dairy herds with mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 153(8), 361–368.
- Kretzschmar L., van den Borne, Kaufmann T., Reist M., Strabel D., Harisberger M., Steiner A. & M. Bodmer, 2013. Mastitis management in Swiss dairy farms with udder health problems. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 155(8), 453–462.
- Leuenberger A., Sartori C., Boss R., Resch G., Oechslin F., Steiner A., Moreillon P., & H. U. Graber, 2019. Genotypes of *Staphylococcus aureus*: On-farm epidemiology and the consequences for prevention of intramammary infections. *J. Dairy Sci.* 102(4), 3295–3309.
- Michel A., Syring C., Steiner A. & Graber, 2011. Intramammary infections with the contagious *Staphylococcus aureus* genotype B in Swiss dairy cows are associated with low prevalence of coagulase-negative staphylococci and *Streptococcus spp.* *Vet. J.* 188(3), 313–317.
- Nickerson S. C., 1993. Preventing new *Staphylococcus aureus* mastitis infections. *Vet. Med.* 33, 368–373.
- Ruegg P. L., 2003. Investigation on mastitis problems on farms. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 19(1), 47–73.
- Sartori C., Boss R., Bodmer M., Leuenberger A., Ivanovic I. & Graber, 2018a. Sanitation of *Staphylococcus aureus* genotype B-positive dairy herds: a field study. *J. Dairy Sci.* 101(9), 8296–8300.
- Sartori C., Boss R., Ivanovic I. & H. U. Graber, 2017. Development of a new real-time quantitative PCR assay for the detection of *Staphylococcus aureus* genotype B in cow milk, targeting the new gene adlb. *J. Dairy Sci.* 100(10), 7834–7845.
- Sartori C., Perreten V., Haerdi-Landerer Ch. & H. U. Graber, 2018b. Niche occupation during a sanitation program for the contagious pathogen *Staphylococcus aureus* genotype B. *J. Dairy Sci.* 108(1), 6897–6914.
- Schaellibaum M., 1999. Mastitis pathogens isolated in Switzerland, 1987–1996. *IDF Mastitis Newsletter* 23, 14.
- Schukken Y. H., Bronzo V., Locatelli C., Pollera C., Rota N., Casula A., Testa F., Scaccabarozzi L., March R., Zalduendo D., Guix R. & P. Moroni, 2014. Efficacy of vaccination on *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci intramammary infection dynamics in 2 dairy herds. *J. Dairy Sci.* 97(8), 5250–5264.
- Sears P. M. & K. K. McCarthy, 2003. Management and treatment of staphylococcal mastitis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 19(1), 171–185.
- Sears P. M., Smith, English, Herer & R. N. Gonzalez, 1990. Shedding pattern of *Staphylococcus aureus* from bovine intramammary infections. *J. Dairy Sci.* 73(10), 2785–2789.
- Seegers H., Fourichon Chr. & Beaudeau F., 2003. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Vet. Res.* 34, 475–491.
- Studer E., Schaeren W., Naskova J., Pfaeffli H., Kaufmann T., Kirchhofer M., Steiner A. & Graber, 2008. A longitudinal field study to evaluate the diagnostic properties of a quantitative real-time polymerase chain reaction-based assay to detect *Staphylococcus aureus* in milk. *J. Dairy Sci.* 91(5), 1893–1902.
- Tschopp A., Reist M., Kaufmann T., Bodmer M., Kretzschmar L., Heiniger D., Berchtold B., Wohlfender F., Harisberger M., Boss R., Strabel D., Cousin, Graber, Steiner A. & van den Borne, 2015. A multiarm randomized field trial evaluating strategies for udder health improvement in Swiss dairy herds. *J. Dairy Sci.* 98(2), 840–860.
- van den Borne B. H. P., Graber, Voelk V., Sartori C., Steiner A., Haerdi-Landerer & Bodmer M., 2017. A longitudinal study on transmission of *Staphylococcus aureus* genotype B in Swiss communal dairy herds. *Prev. Vet. Med.* 136, 65–68.
- Voelk V., Graber, van den Borne, Sartori C., Steiner A., Bodmer M., & Haerdi-Landerer, 2014. A longitudinal study investigating the prevalence of *Staphylococcus aureus* genotype B in seasonally communal dairy herds. *J. Dairy Sci.* 97(7), 4184–4192.
- Wilson C. D. & Davidson I., 1961. The control of staphylococcal mastitis. *Vet. Rec.* 73, 321–323.

Dank

Der Autor dankt seinen früheren Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern für ihre ausgezeichnete Arbeit und ihr grosses Engagement: R. Boss, P. Burgener, A. Cosandey, Chr. Fournier, I. Ivanovic, J. Hummerjohann, A. Leuenberger, A. Michel, J. Naskova, A. Raemy, C. Sartori, E. Studer, C. Syring, R. Trajanoska, A. Wyder.

Riassunto**Vacche da latte: risanamento delle mandrie dallo *Staphylococcus aureus* genotipo B**

La mastite, spesso attribuibile all'agente patogeno *Staphylococcus aureus* genotipo B (GTB), è la malattia più comune nelle vacche e anche in Svizzera comporta costi molto elevati per l'economia lattiera. A differenza di tutti gli altri genotipi di *Staphylococcus aureus*, il GTB è contagioso e dunque causa problemi alle mandrie, soprattutto nelle regioni alpine. In determinate condizioni, il GTB ha inoltre la particolarità di produrre enterotossine che causano intossicazioni alimentari negli esseri umani. I formaggi contenenti l'enterotossina devono essere inceneriti, il che comporta perdite ingenti e ripetute per l'economia alpestre. Al fine di eradicare il GTB dalle mandrie, Agroscope ha sviluppato un test qPCR altamente specifico e sensibile per individuare questo agente patogeno nel latte e ha scoperto come risanare in modo molto efficace e sicuro le mandrie infette. Questo metodo unico al mondo prevede l'analisi qPCR specifica del genotipo e per le mastiti contagiose rappresenta un passo avanti nella lotta contro l'agente patogeno *Staphylococcus aureus*. Nello specifico, uno studio è riuscito a risanare completamente e in modo sostenibile tutte le mandrie infette dal GTB in nove mesi. Il 93 per cento di tutte le vacche positive al GTB è stato curato in modo efficace e il numero di cellule nel latte si è ridotto significativamente. Nel Canton Ticino, in cui il problema del GTB è molto frequente, il metodo ha dato ottimi risultati. Con il progetto di risanamento si è ridotto dal 10 allo 0,3 per cento il tasso d'infezione delle vacche. Dopo il trattamento, nelle mandrie risanate non vi era più traccia di GTB.

Un risanamento efficace dal GTB si basa sulla rigorosa applicazione di cinque principi fondamentali:

1. test qPCR altamente sensibile e specifico per il GTB;
2. applicazione rigorosa delle misure obbligatorie nell'azienda, come la mungitura per gruppo e la pulizia completa degli impianti di mungitura due volte al giorno;
3. esame mensile del latte delle singole vacche con il test qPCR e adeguamento dei gruppi di mungitura;
4. scelta dell'antibiotico per la terapia delle vacche positive al GTB sulla base di analisi genomiche complete;
5. terapia e influenza dei veterinari.

Summary**Dairy cows: sanitising of *Staphylococcus aureus* genotype B-positive herds**

Mastitis is the most common disease of cows, and also leads to very high costs in the Swiss dairy industry. A significant percentage of cases can be traced back to the *Staphylococcus aureus* genotype B (GTB) pathogen. Unlike all other *Staphylococcus aureus* genotypes, this one is infectious, and thus leads to problems in herds, particularly in alpine regions. Moreover, under certain circumstances *Staphylococcus aureus* GTB also produces enterotoxins which cause food poisoning in humans. Cheese containing enterotoxins must be incinerated, which has led time and again to very high losses in the alpine farming sector. In order to stamp out *Staphylococcus aureus* GTB at herd level, Agroscope has developed a highly specific and sensitive qPCR test for detecting this pathogen in milk, as well as a highly efficient and reliable process for sanitising infected herds. The only process of its kind in the world using a genotype-specific qPCR assay, this method represents a breakthrough in the control of *Staphylococcus aureus* as a pathogen of infectious mastitis. In one study, they actually succeeded in completely and sustainably sanitising all GTB-infected herds within nine months, with 93 % of all GTB-positive cows being successfully cured and milk cell counts falling significantly. The procedure was implemented with great success in the canton of Ticino, which has a significant GTB problem. Thanks to the sanitisation project, the rate of infection of the cows in this canton fell from 10 % to 0,3 %. The sanitised herds remained GTB-free after the treatment.

Successful GTB sanitisation is based on strict implementation of the five basic pillars:

1. A highly sensitive, highly GTB-specific qPCR test;
2. Strict application of the compulsory farmyard measures, such as milking by group and thorough cleaning of the milking plant twice daily;
3. Monthly testing of the milk of the individual cows with the qPCR assay and adjustment of the milking groups;
4. Selection of the antibiotic for the treatment of GTB-positive cows on the basis of whole-genome analyses;
5. Treatment and veterinary influence.

Key words: cattle, mastitis, *Staphylococcus aureus*, genotyping, herd sanitation.