

Aus dem Institut für Hygiene und Technologie
der Lebensmittel tierischen Ursprungs
(Lehrstuhl Prof. Dr. E. P. Märtlbauer)
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Untersuchungen zur zytobakteriologischen Qualität von Ziegenmilch
in bayerischen Bio-Betrieben

Inaugural Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Sarah Helga Höhn

aus

Coburg

München 2006

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. E. P. Märtlbauer
Referent: Univ.-Prof. Dr. E. P. Märtlbauer
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. W. Klee

Tag der Promotion: 10. Februar 2006

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1	Einleitung	1
2	Schrifttum	2
2.1	Umfang und Bedeutung der Ziegenhaltung in Bayern	2
2.2	Mikrobiologische Qualität der Tankmilch (Hofsammelmilch)	3
2.3	Vorkommen von euterpathogenen Keimen in Ziegenmilch	10
2.4	Bestimmung und Beurteilung der somatischen Zellzahl in Ziegenmilch	15
3	Eigene Untersuchungen	22
3.1	Material und Methodik	22
3.1.1	Material	22
3.1.1.1	Probenmaterial – Tankmilchproben, Hälftengemelksproben	22
3.1.1.2	Gewinnung, Transport und Lagerung der Proben	24
3.1.1.3	Nährböden und Reagenzien	25
3.1.1.3.1	Vorbereitung der Proben	25
3.1.1.3.2	Bestimmung der Keimzahl	25
3.1.1.3.3	Bestimmung des Anteils an gramnegativen Keimen (L-Alanin-Amino-peptidase-Test)	25
3.1.1.3.4	Nachweis koagulasepositiver Staphylokokken (KPS)	26
3.1.1.3.5	Identifizierung von <i>Staphylococcus aureus</i> mit dem Thermonuklease-Test	27
3.1.1.3.6	Nachweis von <i>Bacillus cereus</i>	27
3.1.1.3.7	Nachweis von Coliformen und <i>Escherichia coli</i>	27
3.1.1.3.8	Nachweis verotoxinbildender <i>Escherichia coli</i>	28
3.1.1.3.9	Nachweis von Listerien	28

3.1.1.3.10	Nachweis von Salmonellen	29
3.1.1.3.11	Nachweis von Pseudomonaden	30
3.1.1.3.12	Nachweis euterpathogener Keime	30
3.1.1.3.13	Bestimmung des somatischen Zellgehalts	30
3.1.2	Methodik	32
3.1.2.1	Vorbereitung der Proben	32
3.1.2.2	Bestimmung der Keimzahl	32
3.1.2.3	Bestimmung des Anteils der gramnegativen Keime an der Keimzahl (L-Alanin-Aminopeptidase-Test)	32
3.1.2.4	Nachweis koagulasepositiver Staphylokokken	32
3.1.2.5	Identifizierung von <i>Staphylococcus (S.) aureus</i> mit dem Thermo- nuklease-Test	33
3.1.2.6	Nachweis von <i>Bacillus cereus</i>	33
3.1.2.7	Nachweis von Coliformen und <i>Escherichia coli</i>	33
3.1.2.8	Nachweis verotoxinbildender <i>Escherichia coli</i>	33
3.1.2.9	Nachweis von Listerien	33
3.1.2.10	Nachweis von Salmonellen	34
3.1.2.11	Nachweis von Pseudomonaden	34
3.1.2.12	Nachweis euterpathogener Keime	34
3.1.2.13	Bestimmung des somatischen Zellgehalts	34
3.1.2.14	Statistische Auswertung	36
3.2	Ergebnisse	37
3.2.1	Bestimmung der Keimzahlen der Tankmilch	37
3.2.1.2	Keimzahlen der Tankmilch der Einzelbetriebe	37
3.2.1.3	Korrelationen der Keimzahlen mit den Coliformenzahlen und der Zell- zahl	38
3.2.2	Bestimmung der Zahl der gramnegativen Keime der Tankmilch	38
3.2.2.1	Überblick über alle Betriebe	38

3.2.2.2	Zahlen der gramnegativen Keime der Tankmilch der Einzelbetriebe	39
3.2.2.3	Anteil der gramnegativen Keime an der Keimzahl	39
3.2.3	Bestimmung der Zahl der koagulasepositiven Staphylokokken der Tankmilch	40
3.2.3.1	Überblick über alle Betriebe	40
3.2.3.2	Zahlen der koagulasepositiven Staphylokokken der Tankmilch der Einzelbetriebe	40
3.2.4	Bestimmung der Zahlen von <i>Bacillus cereus</i> der Tankmilch	41
3.2.5	Bestimmung der Zahlen von Coliformen, <i>Escherichia coli</i> und verotoxinbildenden <i>Escherichia coli</i> der Tankmilch	41
3.2.5.1	Überblick über alle Betriebe	41
3.2.5.2	Zahl der Coliformen der Tankmilch der Einzelbetriebe	42
3.2.5.3	Zahlen der <i>E. coli</i> der Tankmilch der Einzelbetriebe	43
3.2.5.4	Vorkommen von verotoxinbildenden <i>E. coli</i>	43
3.2.6	Vorkommen von Listerien in der Tankmilch	44
3.2.7	Vorkommen von Salmonellen in der Tankmilch	44
3.2.8	Bestimmung der Zahl der Pseudomonaden der Tankmilch	44
3.2.8.1	Überblick über alle Betriebe	44

3.2.8.2	Zahlen der Pseudomonaden der Tankmilch der Einzelbetriebe	44
3.2.9	Potentiell euterpathogene Keime in Häftengemelksproben	45
3.2.9.1	Vorkommen von potentiell euterpathogenen Keimen	45
3.2.9.2	Überblick über alle Betriebe	47
3.2.9.3	Einteilung der Befunde hinsichtlich der Bedeutung der Isolate als potentielle Mastitiserreger	47
3.2.10	Bestimmung der somatischen Zellzahl	48
3.2.10.1	Überblick über alle Milchproben	48
3.2.10.2	Zellgehalte der Proben (Tankmilch und Häftengemelke) der Einzelbetriebe	49
3.2.10.3	Zuordnung der Zellzahlergebnisse (Fossomatic 5000) zum Ergebnis des SCHALM-Test	50
3.2.10.4	Zusammenhänge zwischen Zellzahlen und Laktationszahl	51
3.2.11	Zusammenhänge zwischen Zellzahlen und mikrobiologischem Befund	52
3.2.12	Zusammenfassender Überblick über die Tankmilchproben der einzelnen Betriebe	54
4	Besprechung der Ergebnisse und Diskussion	56
4.1	Mikrobiologische Qualität der Tankmilch (Hofsammelmilch)	56

4.2	Vorkommen von euterpathogenen Keimen	61
4.3	Höhe, Bestimmung und Aussagekraft der somatischen Zellzahl	64
5	Zusammenfassung	68
6	Schrifttum	72
6.1	Literaturverzeichnis	72
7	Rechtsvorschriften	82
8	Standardisierte Untersuchungsverfahren	82
8.1	Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG	82
8.2	International Organization for Standardization (ISO)	83

1 Einleitung

Der Hauptanteil der Ziegenmilchproduktion in Europa wird von den Mittelmeerländern bestritten, aber auch in Deutschland hat der Konsum von Ziegenmilch und Produkten aus Ziegenmilch an Bedeutung gewonnen. Ziegenmilch gilt als Alternative für Kuhmilchallergiker und in Feinschmeckerkreisen haben vor allem Bio-Ziegenmilch und Bio-Ziegenmilchprodukte einen hohen Stellenwert. Mit neun Prozent ökologisch gehaltenen Ziegen in Deutschland ist ihr Anteil an der biologischen Tierhaltung höher als bei jeder anderen Tierart. Zur Herstellung von Ziegenmilchprodukten muß die Ziegenmilch bestimmte Anforderungen in ihrer Zusammensetzung und mikrobiologischen Beschaffenheit erfüllen, die aber teilweise noch nicht gesetzlich geregelt sind. So finden sich in der Milchverordnung z. B. keine Grenzwerte für die Höhe der somatischen Zellzahl.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, eventuelle Zusammenhänge zwischen Zellzahlhöhe und mikrobiologischem Euterbefund zu ermitteln. Außerdem sollten die Anwendung des in Ziegenmilchbetrieben relativ selten durchgeführten SCHALM-Tests und seine Möglichkeiten zur Beurteilung der Eutergesundheit unter Stallbedingungen untersucht werden. Durch die Bestimmung von mikrobiologischen Hygieneparametern und gesundheitsgefährdenden Keimen in Ziegenmilch sollten Daten über die mikrobiologische Qualität von Bio-Ziegenmilch in bayerischen Betrieben erhoben werden. Darüberhinaus war zu ermitteln, ob ein Zusammenhang zwischen hoher Zellzahl und mangelnder Betriebshygiene besteht.

2 Schrifttum

2.1 Umfang und Bedeutung der Ziegenhaltung in Bayern

Die Zahl der Ziegen in Bayern wird im Bayerischen Agrarbericht 2004 auf 25.000 Ziegen in rund 4.500 Betrieben geschätzt. In drei Viertel der Betriebe werden weniger als fünf Ziegen gehalten (Tab. 2.1). Allerdings ist die Zahl der Betriebe mit mehr als 20 Ziegen im Vergleich zu den Siebzigerjahren wieder angestiegen (STMLF, 2004a-c).

Tabelle 2.1: Ziegenbestände in Bayern im Jahr 2004 (STMLF, 2004a)

Anzahl der Ziegen	Halter		Ziegen insgesamt	
	Anzahl	%	Anzahl	%
1 - 4	2.408	74,8	4.647	23,6
5 - 9	449	13,9	2.808	14,3
10 - 19	211	6,6	2.704	13,7
20 - 29	43	1,3	1.018	5,2
30 - 49	47	1,5	1.753	8,9
50 und mehr	60	1,9	6.756	34,3
insgesamt	3.218	100	19.686	100

Ziegen dienen der Erzeugung von Ziegenkitzfleisch (vor allem Burenziegen) und der Wollproduktion (Angoraziegen), hauptsächlich aber der Milchgewinnung. Als Milchziegen werden in Bayern in erster Linie die Rassen Bunte Deutsche und Weiße Deutsche Edelziege (STMLF, 2004b) gehalten. In der Milchleistungsprüfung 2004 an 3.108 Ziegen aus 74 Betrieben wurde eine Milchmenge von 591 kg und ein Fett- und Eiweißanteil von 3,51 % bzw. 3,32 % ermittelt (Durchschnittsleistung aller geprüften Ziegen) (LANDESVERBAND BAYERISCHER ZIEGENZÜCHTER, 2005). In den Regierungsbezirken Oberbayern, Schwaben und Mittelfranken wurde im Vergleich zu den übrigen Regierungsbezirken eine stärkere Zunahme an ziegenhaltenden Betrieben (STMLF, 2004b) registriert, was sich mit den besseren Absatzmöglichkeiten für die entsprechenden Produkte auf Wochenmärkten, der Vermarktung-ab-Hof und vor allem der Milchlieferung an eine große ziegenmilchbe- und verarbeitende Molkerei begründen läßt (STMLF, 2004c).

2.2 Mikrobiologische Qualität der Tankmilch (Hofsammelmilch)

In Anlage 4 zur Milchverordnung (MilchV) werden unter anderem auch Anforderungen an die mikrobiologische Qualität von Ziegenmilch festgesetzt (Tab. 2.2).

Tabelle 2.2: Anforderungen an die mikrobiologische Qualität von Ziegenmilch (Anlage 4 der MilchV)

Parameter	Verwendungszweck	Anforderung
Keimzahl bei + 30 °C/ml	zur Herstellung wärmebehandelter Konsumziegenmilch oder zur Herstellung wärmebehandelter Erzeugnisse auf Ziegenmilchbasis	$\leq 1.500.000$
	zur Herstellung von Rohmilcherzeugnissen	≤ 500.000
<i>Staphylococcus aureus</i> /ml	zur Herstellung von Rohmilcherzeugnissen	n = 5 m = 500 M = 2.000 c = 2
Salmonellen in 25 ml	zur Herstellung von Rohmilcherzeugnissen	n = 5 m = 0 M = 0 c = 0
sonstige Krankheitserreger (insbesondere <i>Listeria monocytogenes</i> und verotoxinbildende <i>Escherichia coli</i>) und deren Toxine	zur Herstellung von Rohmilcherzeugnissen	dürfen nicht in Mengen vorhanden sein, die die Gesundheit der Verbraucher gefährden können

n: Probenanzahl

m: Schwellenwert für die Keimzahl; das Ergebnis gilt als ausreichend, wenn die Keimzahl jeder einzelnen Probe den Wert "m" nicht übersteigt

M: Höchstwert für die Keimzahl; das Ergebnis gilt als nicht ausreichend, wenn die Keimzahl einer oder mehrerer Proben den Wert "M" erreicht oder überschreitet

c: Anzahl der Proben mit einer Keimzahl zwischen "m" und "M"; das Ergebnis ist akzeptabel, wenn die Keimzahl der übrigen Proben höchstens den Wert „m“ erreicht

Mit der Bestimmung der **Keimzahl** in Rohmilch sollen alle aeroben, mesophilen (30 °C) Bakterien erfaßt werden (JAYARAO et al., 2003). Die Keimzahl gibt Auskunft über die Aus-

gangskontamination der Milch und kann somit als Parameter für eine gute Melkhygiene angesehen werden (GEHRIGER, 1981). Neben dem hygienischen Aspekt ist auch zu berücksichtigen, daß eine schlechte mikrobiologische Qualität der Rohmilch zu Schwierigkeiten bei der Weiterverarbeitung führen kann (MORGAN et al., 2003).

In verschiedenen Untersuchungen bewegten sich die Keimzahlen allerdings unter den in Tab. 2.2 genannten Grenzwerten (Tab. 2.3). So lagen 94,5 % aller untersuchten Ziegenmilchproben unter $4,0 \times 10^5$ KbE/ml und 92,7 % der Proben sogar unter $1,0 \times 10^5$ KbE/ml (KIRST et al., 2002). Diese Werte veranlaßten KIRST et al. (2002) zu der Forderung, den Grenzwert für die Keimzahl in Ziegenmilch dem Wert für Kuhmilch ($1,0 \times 10^5$ KbE/ml) anzupassen, was auch durch spätere Untersuchungen von MUELHERR et al. (2003), denen zufolge die Keimzahl von in der Schweiz untersuchter Ziegenmilch im Mittel (Median) $4,9 \times 10^4$ KbE/ml betrug, gestützt wird. Nach GEHRIGER (1981) sollen bei sorgfältiger Melkpraxis und euter-gesunden Tieren sogar Keimzahlen von weniger als $5,0 \times 10^4$ KbE/ml zu erreichen sein.

Tabelle 2.3: Mittelwerte (geometrische Mittelwerte oder Median) der Keimzahl in Ziegenmilch:

Land	Probenanzahl/-art	KbE/ml	Autor(en)
Deutschland	68 Tankmilchproben (verschiedene Herden)	$2,6 \times 10^4$	HAHN et al. (1992)
USA	312 Tankmilchproben (drei Herden)	$9,1 \times 10^2$	ZENG und ESCOBAR (1996)
Deutschland	109 Tankmilchproben (neun Herden)	$6,7 \times 10^4$	SCHNELHARDT (1998)
Italien	60 Tankmilchproben (zehn Herden)	$5,0 \times 10^4$	FOSCHINO et al. (2002)
Deutschland	keine Angaben	$1,0 \times 10^5$	KIRST et al. (2002)
Schweiz	344 Einzelgemelke (403 verschiedene Tiere)	$4,9 \times 10^4$	MUELHERR et al. (2003)

Als weiterer Hygieneindikator, dessen Bestimmung in der MilchV allerdings nicht gefordert wird, ist der Gehalt an **gramnegativen Bakterien** anzusehen (BUSSE, 2000). Insbesondere die hitzestabilen Enzyme gramnegativer Psychrotropher sind auch nach der Wärmebehandlung und der damit verbundenen Abtötung der Keime selbst wesentlich an der Minderung der Qualität und Haltbarkeit der Milch beteiligt (CHAMPAGNE et al., 1994). Eine detail-

lierte Analyse der gramnegativen Keime in roher Kuhmilch findet sich bei JAYARAO und WANG (1999). Entsprechende Daten für Ziegenmilch konnten im Schrifttum nicht gefunden werden.

Als klassische Hygieneindikatoren gelten die **coliformen Keime**, im engeren Sinne also solche Gramnegativen, die Laktose unter Säure- und/oder Gasbildung abbauen. Wie aus Tab. 2.2 ersichtlich, werden auch diese Mikroorganismen in der MilchV bei roher Ziegenmilch nicht berücksichtigt. Einige von ihnen [vor allem *Escherichia (E.) coli*] kommen im Darmtrakt der Tiere, die meisten in ihrer Umgebung (Wasser, Erde, Pflanzen) vor, so daß sie durch fäkale Kontamination oder durch Kontamination über die Gerätschaften u. a. m. im Sinne einer postsekretorischen Kontamination in die Milch gelangen können (SCHMIDT-LORENZ und SPILLMANN, 1988). Eine sekretorische Kontamination der Rohmilch erfolgt bei Tieren mit klinischen oder subklinischen "Colimastitiden" (JAYARAO et al., 2003). Nach FOSCHINO et al. (2002) betrug der Mittelwert an coliformen Keime in Ziegenmilch $9,1 \times 10^2/\text{ml}$ und lag damit etwas höher als der von SCHNELLHARDT (1998) mit $1,7 \times 10^2/\text{ml}$ angegebene. Niedrigere Werte finden sich bei HAHN et al. (1992), bei dem 60 % aller untersuchten Proben weniger als $1,0 \times 10^2/\text{ml}$ aufwiesen.

E. coli dient in der Trinkwasseruntersuchung als sogenannter Index-Organismus. Er soll eine frische fäkale Verunreinigung anzeigen und somit auf die Gefahr auch der Anwesenheit pathogener Darmbakterien hinweisen. Im Lebensmittelbereich stellen sich diese Zusammenhänge allerdings etwas anders dar, weil kein unmittelbarer Zusammenhang zur ursprünglichen Herkunft mehr besteht und eher zu erwarten ist, daß der Keim in die Hausflora des entsprechenden Betriebes integriert ist (BUSSE, 2000). Im übrigen gelten hinsichtlich der Kontaminationsquellen die schon weiter oben im Zusammenhang mit Coliformen gemachten Ausführungen (SCHMIDT-LORENZ und SPILLMANN, 1988). Die in Ziegenmilch gefundenen *E. coli*-Zahlen sind gering. So fanden FOSCHINO et al. (2002) 2,9/ml, SCHNELLHARDT (1998) 7,4/ml und HAHN et al. (1992) im allgemeinen weniger als 1,0/ml. Die Bestimmung von *E. coli* wird in der MilchV bei roher Ziegenmilch nicht gefordert (Tab. 2.2).

Die Bestimmung der **Pseudomonaden** in der Milch kann als Maß für unzureichende Kühlung der Milch während der Lagerung herangezogen werden (JAYARAO et al., 2003). Diese gramnegativen Bakterien sind psychrotroph und vermehren sich demnach auch bei Kühlungstemperaturen. Selten infolge einer Mastitis, häufiger durch kontaminiertes Wasser (SHAH, 1994), unzureichend gereinigte Melkgerätschaften, alte, defekte Melkanlagen und

durch Vermehrung in Milchstein in den Milchleitungssystemen gelangen die Pseudomonaden in die Milch und vermehren sich insbesondere bei unsachgemäßer Kühlung der Milch, marginaler Milchkühlung oder zu langer Lagerungszeit (SCHMIDT-LORENZ und SPILLMANN, 1988; JAYARAO et al., 2003). *Pseudomonas* spp. produzieren proteolytische und lipolytische Enzyme, die die Pasteurisierung und teilweise auch die Ultrahocherhitzung von Milch überstehen können. Diese Enzyme verursachen Gelbildung von wärmebehandelter Milch, führen zu geringerem Ertrag bei der Käseherstellung und lassen pasteurisierte Milch bitter und ranzig schmecken (SHAH, 1994). Aus geschmacksveränderter, wärmebehandelter Milch konnte vor allem *P. fluorescens* isoliert werden (WIEDMANN et al., 2000). In der Literatur sind die Angaben zum Vorkommen von *Pseudomonas* spp. in Ziegenmilch spärlich. KALOGRIDOU-VASSILIADOU (1991) konnte in 1.350 Einzelgemelken bei 0,7 % *Pseudomonas* spp. nachweisen, SANCHEZ et al. (2001) fanden bei der Untersuchung von 1.679 Einzelgemelken in 7,5 % *P. aeruginosa*. Auch die Erfassung der Pseudomonaden ist in der MilchV nicht vorgesehen (Tab. 2.2).

Die oben besprochenen mikrobiellen Hygieneindikatoren können als Bewertungsgrundlage für eine gute Herstellungspraxis und somit für eine Aussage zur Qualität und Haltbarkeit der Milch verwendet werden (HAHN et al., 1992). Untersuchungen weisen darauf hin, daß die mikrobiologische Qualität von Ziegenmilch auch von der Haltungsform der Tiere und der Melkart abhängt. So zeigten MORGAN et al. (2003), daß die Keimzahl, der Gehalt an Coliformen und der Gehalt an *S. aureus* in extensiv geführten griechischen und portugiesischen Ziegenbetrieben um bis zu vier Zehnerpotenzen höher war als bei intensiv geführten französischen Ziegenbetrieben. Bei handmelkenden Betrieben lagen die Keim- und Coliformenzahlen ebenfalls höher als bei maschinenmelkenden (ZENG und ESCOBAR, 1996). Sehr wesentlich für eine gute mikrobiologische Qualität von Ziegenrohmlch ist neben einem geringen Ausgangskeimgehalt die rasche Kühlung der Milch, wenn möglich auf eine Temperatur von 4 °C (GEHRIGER et al., 1981).

Durch **pathogene Mikroorganismen bzw. deren Toxine** kann es nach dem Genuß von kontaminierten Lebensmitteln zu Infektions- bzw. Intoxikationskrankheiten kommen. Der Anteil der durch Milch- und Milcherzeugnisse bedingten Erkrankungen ist relativ gering. Nach Angaben der WHO (SCHMIDT und GERVELMEYER, 2003) lag er in den Jahren 1999 – 2000 bei etwa 3,4 %, wobei auf Milch 1,4 % entfielen. Bei den Lebensmittelinfektionen kommt es in etwa 95 % der Fälle zu lokalen intestinalen Infektionen. Erkrankungen durch *Listeria* (*L.*)

monocytogenes können allerdings bei immungeschwächten Konsumenten zu einer systemischen Infektion führen (TSCHÄPE, 2000).

Listerien sind grampositive Bodenkeime und gelangen hauptsächlich postsekretorisch über Futter (Heu, Silage, Stroh), Wasser, Melkpersonal, Stallboden und Fäzes etc. in die Milch (HUSU et al., 1990; FEDIO et al., 1992). Unter den verschiedenen Listerienspezies ist vor allem *L. monocytogenes* als durch Lebensmittel übertragener Krankheitserreger von Bedeutung. Bei immungeschwächten Personen, Schwangeren und älteren Menschen führt eine Infektion mit *L. monocytogenes* zu grippeähnlichen Symptomen, Septikämien und zentralnervösen Störungen. Neugeborene erkranken an Meningitis und Septikämie (TSCHÄPE, 2000). In den letzten Jahren wurde allerdings auch über zum Teil sehr umfangreiche Ausbrüche berichtet, die unter gastrointestinalen Symptomen und ohne Todesfälle verliefen (z. B. AURELI et al., 2000). In Ziegenmilch wurden bisher selten Listerien gefunden (Tab. 2.4). Aus Kotproben von Ziegen ließ sich bei 23,0 % der Tiere *L. monocytogenes* isolieren, wobei der Erreger bei Streß (z. B. nach der Geburt oder bei einer Erkrankung) auch mit der Milch ausgeschieden wurde (LØKEN et al., 1982). Die Fähigkeit der Keime in Käse zu persistieren bewiesen Untersuchungen von THAM (1988), wonach *L. monocytogenes* bis zu 18 Wochen in Käse aus unpasteurisierter Ziegenmilch überlebte. Auch aus Weichkäse konnte der Erreger trotz niedrigem Ausgangskeimgehalt (10,0 KbE/ml) isoliert werden (MORGAN et al., 2001).

Tabelle 2.4: Vorkommen von *L. monocytogenes* in Ziegenmilch

Land	Probenanzahl/-art	<i>L. monocytogenes</i>	Autor(en)
Spanien	1.445 Tankmilchproben (405 Herden)	in 2,6 % der Proben	GAYA et al. (1996)
Deutschland	109 (neun Herden)	in fünf Proben	SCHNELHARDT (1998)
USA	450 Tankmilchproben (39 Herden)	in 0,3 % der Proben	ABOU-ELEININ et al. (2000)
Italien	60 Tankmilchproben (zehn Herden)	in keiner Probe	FOSCHINO et al. (2002)
Griechenland, Frankreich, Portugal	keine Angaben	in keiner Probe	MORGAN et al. (2003)

Ebenfalls zu Infektionen des Gastrointestinaltraktes kann es nach dem Verzehr von mit verotoxinbildenden *E. coli*-Stämmen (VTEC) oder mit *Salmonella* spp. kontaminierten Lebens-

mitteln kommen. Bei Wiederkäuern können diese Erreger als obligate Darmbewohner symptomlos im Darmtrakt persistieren (SCHMIDT-LORENZ und SPILLMANN, 1988), ausgeschieden werden und durch fäkale Kontamination der Milch in die Nahrungskette gelangen (BALJER, 1999; TSCHÄPE, 2000). Rohmilch und Rohmilchkäse sind daher mit einem gewissen Risiko behaftet. Durch eine ordnungsgemäße Wärmebehandlung lassen sich VTEC und Salmonellen aus dem Lebensmittel eliminieren (BALJER, 1999), können aber im Be- oder Verarbeitungsprozeß z. B. durch symptomlose menschliche Ausscheider oder aus ökologischen Nischen heraus das Lebensmittel rekontaminieren (AMMON, 1997; BÜLTE, 2002).

Verotoxinbildende *E. coli*-Stämme haben eine äußerst geringe infektiöse Dosis. Nach einer Inkubationszeit von 1 – 2 Tagen kommt es für gewöhnlich zu blutigen Durchfällen (hämorrhagische Colitis, HC). Bei Kleinkindern kann es nach einer Woche infolge von Endothelschädigungen zu Thrombenablagerungen in Niere, Gehirn und anderen Organen mit teils tödlichem Ausgang kommen (hämolytisch urämisches Syndrom, HUS). Seltener tritt bei Erwachsenen eine ähnliche Komplikation, die Thrombotisch-thrombozytopenische Purpura (TTP) auf (TSCHÄPE, 2000; BÜLTE, 2002). Nach dem Verzehr von Ziegenrohmilch erkrankten 1995 in Tschechien vier Kinder (BIELASZWESKA et al., 1997), 2001 in Kanada fünf Kinder (MCINTYRE et al., 2001) an HUS. In Tirol kam es 2001 nach dem Konsum von roher Ziegenmilch bei einem neunjährigen Jungen zu einer HC (ALLERBERGER et al., 2001). In Untersuchungen von Ziegenmilchproben auf das Vorkommen von VTEC wurden nach MUELHERR et al. (2003) 16,3 % positive Proben ermittelt. SCHNELHARDT (1998), LITTLE und DE LOUVOIS (1999) und FOSCHINO et al. (2002) konnten *E. coli* O157:H7 in Ziegenmilch nicht nachweisen.

Die **Salmonellose** ist die am häufigsten registrierte lebensmittelbedingte Durchfallerkrankung (TSCHÄPE, 2000). 45,0 % aller Salmonellosen werden heute durch *S. Enteritidis* verursacht (TSCHÄPE, 2000), wobei neben Durchfall, Erbrechen und Fieber bei immungeschwächten Menschen auch systemische Erkrankungen hervorgerufen werden können (OLSEN et al., 2004). Geschützt durch das Lebensmittel können Salmonellen die Säureschranke des Magens passieren, um dann im Darmtrakt mit Hilfe zahlreicher Pathogenitätsfaktoren zelluläre Stoffwechselforgänge wie den Wasser- und Elektrolythaushalt zu stören (TSCHÄPE, 2000). Salmonellosen nach dem Verzehr von kontaminierter Ziegenrohmilch konnten im Schrifttum nicht gefunden werden. Allerdings kam es 1993 in Frankreich nach dem Verzehr von Rohmilchkäse aus Ziegenmilch bei 273 Personen zu einer Infektion mit *S. Paratyphi* B. Als Quel-

le konnte ein Milcherzeugerbetrieb ermittelt werden, der über Monate kontaminierte Milch verarbeitet hatte (DESENCLOS et al., 1996). Bei Ziegenmilchuntersuchungen von SCHNELLDHARDT (1998), LITTLE und DE LOUVOIS (1999), FOSCHINO et al. (2002), MORGAN et al. (2003) und MUELHERR et al. (2003) konnten keine *Salmonella* spp. isoliert werden.

Klassische Intoxikationen, bei denen das Toxin präformiert im Lebensmittel vorliegt, können durch Enterotoxine von *Staphylococcus (S.) aureus* und, soweit das emetische Toxin (Cereulid) betroffen ist, auch durch *Bacillus (B.) cereus* hervorgerufen werden (TSCHÄPE, 2000).

Die **Staphylokokkenenterotoxine (SE)** in der Ziegenmilch werden hauptsächlich durch koagulasepositive Staphylokokken, insbesondere *S. aureus* gebildet (DE BUYSER et al., 1987; VALLE et al., 1991b; SCHERRER et al., 2004). Allerdings sollen auch bei gleichzeitigem Nachweis von koagulasenegativen Staphylokokken in der Milch SE isoliert worden sein (ORDEN et al., 1992; VERNOZY-ROZAND et al., 1996a; BEDIDI-MADANI et al., 1998). Bei unzulänglich gekühlter Milch können sich die Staphylokokken auf hohe Zahlen vermehren und SE in toxischer Dosis bilden. Die Keime gelangen sowohl auf postsekretorischem als auch sekretorischem Weg in die Milch, wobei im letzteren Fall nicht unbedingt eine Mastitis sondern auch nur eine Besiedelung des Euters vorliegen kann (DE BUYSER et al., 1987; HAHN et al. 1992). SE sind hitzestabil und werden nicht durch gastrointestinale Proteasen inaktiviert (BALABAN und RASOOLY, 2000). Eine Aufnahme einer toxischen Dosis an SE führt innerhalb von kurzer Zeit zu Erbrechen, Übelkeit, Magenschmerzen und Durchfall. Selten soll es bei immungeschwächten Menschen auch zu einer systemischen Erkrankung kommen (MOSEL und VAN NETTEN, 1990; BALABAN und RASOOLY, 2000; TSCHÄPE, 2000). So starben in Israel 1988 drei Kinder durch SE in Ziegenmilch von einer euterkranken Ziege (GROSS et al., 1988). Auf die Bedeutung der SE als Superantigene sei auf die Übersichtsarbeit von FRASER et al. (2000) verwiesen.

In Käse können sich Staphylokokken in Abhängigkeit von der jeweiligen Käsesorte mehr oder weniger gut vermehren und Toxine bilden (VERNOZY-ROZAND et al., 1996b; MEYRAND et al., 1998). So waren bei einer Ausgangskonzentration von 10^4 *S. aureus*/ml in roher Ziegenmilch in daraus hergestellten Frischkäse Spuren von SE und bei einer Ausgangskonzentration von 10^5 bzw. 10^6 *S. aureus*/ml SE in der Größenordnung von 1,0 bis 2,5 ng/g Käse nachzuweisen (VERNOZY-ROZAND et al., 1998). VERNOZY-ROZAND et al. (1998) fordern deshalb, daß Ziegenmilch zur Herstellung von Rohmilchkäse weniger als 10^3 KBE/ml *S. aureus* aufweisen sollte. Ergebnisse von Erhebungen zum Vorkommen von *S. aureus* in Ziegenmilch

zeigt Tab. 2.5.

Tabelle 2.5: Vorkommen von *S. aureus* in Ziegenmilch

Land	Probenanzahl/-art	<i>S. aureus</i>	Autor(en)
Deutschland	288 Einzelgemelke 69 Tankmilchproben (verschiedene Herden)	in 12,8 % der Proben in 23,2 % der Proben	HAHN et al. (1992)
Deutschland	109 Tankmilchproben (neun Herden)	in 45,0 % der Proben	SCHNELLDHARDT (1998)
Spanien	1.679 Einzelgemelke (vier Herden)	in 4,2 % der Proben	SANCHEZ et al. (2001)
Italien	60 Tankmilchproben (zehn Herden)	in 43,0 % der Proben	FOSCHINO et al. (2002)
Schweiz	344 Einzelgemelke (403 verschiedene Tiere)	in 31,7 % der Proben	MUELDHERR et al. (2003)

Bacillus spp. können durch Wasser, Luft, Erdboden und Futtermittel sowie verschmutzte Gerätschaften wie z. B. Leitungen, Eimer, Kannen, Melkmaschinen in die Milch gelangen. Zu den am häufigsten in Milch nachzuweisenden *Bacillus* spp. gehört ***Bacillus (B.) cereus*** (BECKER und BECKER, 2005). Dieser Sporenbildner kann durch Produktion von emetischem Toxin (Cereulid, AGATA et al., 2002) oder Diarrhötoxinen (Enterotoxinen) beim Menschen Krankheitsbilder hervorrufen, die entweder unter dem Leitsymptom Erbrechen oder dem Leitsymptom Durchfall verlaufen (MÄRTLBAUER und BÜRK, 2005). Untersuchungen zum Vorkommen von *B. cereus* in Ziegenmilch sind selten durchgeführt worden, und Fallstudien zu Erkrankungen durch den Verzehr kontaminierter Ziegenmilch fanden sich im Schrifttum nicht. So wies KALOGRIDOU-VASSILIADOU (1991) in 29,9 % von 1.350 Ziegenmilchproben *Bacillus* spp. nach, wobei allerdings aus keiner Probe *B. cereus* isoliert werden konnte.

2.3 Vorkommen von euterpathogenen Keimen in Ziegenmilch

Aufgrund der unterschiedlichen zellulären Reaktion eines Euters auf die Infektion mit pathogenen Keimen werden mastitisrelevante Erreger in "minor pathogens" und "major pathogens" unterteilt (Tab. 2.6). GRIFFIN et al. (1977) bezeichnet die koagulasenegative Staphylokokken (KNS), Mikrokokken und Corynebakterien als "minor pathogens", *S. aureus*, *Streptococcus*

(*S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* sowie die coliformen Keime als "major pathogens".

Eine durch "major pathogens" hervorgerufene Mastitis führt zu einer deutlichen zellulären Antwort des Euters (Zellzahlen $>1,0 \times 10^6$ Zellen/ml; Tab. 2.6), zu veränderter Milchezusammensetzung und eventuell auch zu sichtbaren klinischen Symptomen. *S. aureus* kommt am häufigsten bei klinischen, chronischen und akuten Euterentzündungen der Ziege vor (DE BUYSER et al., 1987). MENZIES und RAMANOON (2001) konnten in 80,0 % von Fällen klinischer Mastitis bei Schafen und Ziegen *S. aureus* isolieren. Ein wesentliches Reservoir ist das infizierte Euter, das oft aufgrund der Antibiotikaresistenz des Keimes nicht erfolgreich therapiert werden kann. Die Übertragung erfolgt daher meist über unzulängliche Melkhygiene (HARMON, 1994; WHITE und HINCKLEY, 1999). Mit niedrigerer Prävalenz werden bei klinischen Mastitiden der Ziege *Streptococcus* spp. isoliert (CONTRERAS et al., 1995). *S. agalactiae* und *S. dysgalactiae* werden ebenfalls häufig durch mangelhafte Melkhygiene von einem infizierten Euter zum nächsten übertragen und führen dann zu chronischer Mastitis mit zum Teil deutlichen Euterveränderungen (HARMON, 1994; WHITE und HINCKLEY, 1999). Seltener haben Ziegen Euterinfektionen, die durch gramnegative Keime hervorgerufen werden (HARMON, 1994; WHITE und HINCKLEY, 1999). PAAPE und CAPUCO (1997) erklären dies mit der trockenen und sauberen Umgebung im Ziegenstall und den dadurch niedrigen Infektionsdruck. Hinzu kommt der höhere Anteil an neutrophilen Granulozyten in Ziegenmilch, der das Ziegeneuter im Vergleich zum Kuheuter gegen diese Keime resistenter macht.

Perakute Mastitiden werden in der Literatur nur selten beschrieben. Aus Nigeria berichteten AMEH et al. (1994) über den Fall einer durch *E. coli* hervorgerufenen gangränösen Mastitis. Laut MENZIES und RAMANOON (2001) können durch Infektionen mit *S. aureus*, *Pasteurella* spp. und *Pseudomonas aeruginosa* derartige Euterentzündungen gelegentlich hervorgerufen werden.

Bei einer Euterinfektion mit "minor pathogens" ist die Zellzahl tendenziell geringgradiger erhöht als bei einer Infektion mit "major pathogens" (Tab. 2.6) und es zeigt sich nur selten eine klinische Ausprägung (GRIFFIN et al., 1977; LERONDELLE und POUTREL, 1984; HARMON, 1994).

Tabelle 2.6: Bakteriologischer Befunde und entsprechende geometrische Zellzahlmittelwerte/ml

Land	Probenanzahl/ -art	bakteriologisch negativ	bakteriologisch positiv		Autor(en)
			"minor pathogens"	"major pathogens"	
Griechenland	1.523 Einzelgemelke (drei Herden)	$2,7 \times 10^5$	$45,0 \% > 1,0 \times 10^6$	$80,0 \% > 1,0 \times 10^6$	KALOGRIDOU-VASSILIADOU et al. (1992)
Frankreich	181 Häftengemelke (zwei Herden)	$5,2 \times 10^5$	$1,0 \times 10^6$	$7,9 \times 10^6$	LERONDELLE et al. (1992)
Österreich	359 Einzelgemelke (vier Herden)	keine Angaben	<i>S. caprae</i> : $8,2 \times 10^5$ <i>S. epidermidis</i> : $1,4 \times 10^6$	$4,5 \times 10^6$	DEINHOFFER und PERNTHANER (1993)
Griechenland	93 Einzelgemelke (sechs Herden)	$1,9 \times 10^5 - 2,8 \times 10^6$	$4,8 \times 10^5 - 4,0 \times 10^6$	$1,8 \times 10^6 - 4,6 \times 10^6$	BOSCOS et al. (1996)
Frankreich	1.060 Einzelgemelke (acht Herden)	$2,7 \times 10^5$	$9,3 \times 10^5$	$2,4 \times 10^6$	POUTREL et al. (1997)
Spanien	538 Einzelgemelke (eine Herde)	links: $1,3 \times 10^6$ rechts: $1,0 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$	k.A.	CONTRERAS et al. (1999)
Spanien	6.262 Häftengemelke (acht Herden)	keine Angaben	$1,0 \times 10^6$	$4,1 \times 10^6$	LUENGO et al. (2004)

Die subklinische Euterentzündung ist die bei Ziegen am häufigsten vorkommende Mastitisform (POUTREL et al., 1997; CONTRERAS et al., 1999). Im Gegensatz zu einer klinischen Mastitis sind keine pathologischen Veränderungen am Euter und am Sekret feststellbar. Die Milch ist allerdings in ihrer Zusammensetzung verändert und die Milchmenge verringert (HARMON, 1994). Hauptsächlich lassen sich bei einer subklinischen Euterinfektion Staphylokokken isolieren (RYAN und GREENWOOD, 1990, ZENG und ESCOBAR, 1996; POUTREL et al., 1997; FAHR et al., 1999; MCDUGALL und VOERMANS, 2002), wobei der Hauptanteil durch die KNS gebildet wird (DULIN et al., 1983; HINCKLEY et al., 1985). Dies zeigen auch Untersuchungen von DEINHOFER und PERNTHANER (1993), bei denen sich zu 17,6 % *S. aureus* und zu 82,4 % KNS bei subklinischen Mastitiden isolieren ließen. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch FOSCHINO et al. (2002). Bei Ziegen wird allerdings die Zuordnung bestimmter KNS (insbesondere *S. simulans* und *S. epidermidis*) zu den "major pathogens" diskutiert, da ein Nachweis dieser Keime mit deutlich erhöhten Zellzahlwerten (DULIN et al., 1983; HINCKLEY et al., 1985, CONTRERAS et al., 1999; LUENGO et al., 2004) oder auch mit klinischen Veränderungen am Euter einherging (DEINHOFER und PERNTHANER, 1993). KNS finden sich auf der Zitzenhaut und im Strichkanal von Eutern gesunder Ziegen (RYAN und GREENWOOD, 1990), werden aber bei einer subklinischen Mastitis auch aus der Zitzenzisterne isoliert (MAISI und RIIPINEN, 1991). Am häufigsten kamen bei Ziegen *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. warneri*, *S. caprae*, *S. chromogenes* und *S. xylosus* vor (VALLE et al., 1991a). Das Vorkommen und die Verteilung der jeweiligen Keime in Ziegenmilch zeigen Untersuchungen verschiedener Autoren, die in Tab. 2.7 dargestellt werden.

Tabelle 2.7: Vorkommen von Mastitiserregern in Ziegenmilch

Land	Probenanzahl/-art	Keimart	Autor(en)
Spanien	369 Einzelgemelke (zehn Herden)	<i>S. caprae</i> : 22,0 % <i>S. epidermidis</i> : 20,0 % <i>S. chromogenes</i> : 12,0 % <i>S. aureus</i> : 6,0 % <i>Streptococcus</i> spp.: 1,0 % andere: 28,0 %	CONTRERAS et al. (1995)
Griechenland	93 Ziegen (sechs Herden)	KNS: 61,1 % <i>S. aureus</i> : 18,5 % <i>Streptococcus</i> spp.: 9,3 %	BOSCOS et al. (1996)

Land	Probenanzahl/-art	Keimart	Autor(en)
		andere: 11,1 %	
USA	2.911 Hältengemelke (33 Herden/ Jahr über acht Jahre)	KNS: 38,2 % <i>S. aureus</i> : 11,0 % <i>Streptococcus</i> spp.: 4,1 % <i>E. coli</i> : 1,6 % <i>Pseudomonas</i> spp.: 1,2 %	WHITE und HINCKLEY (1999)
Italien	60 Tankmilchproben (zehn Herden) aus 74 isolierten KNS-Stämmen	<i>S. aureus</i> : 43,0 % <i>S. caprae</i> : 38,0 % <i>S. chromogenes</i> : 9,0 % <i>S. xylosum</i> : 9,0 % <i>S. epidermidis</i> : 7,0 %	FOSCHINO et al. (2002)

Entstehung und Ausmaß der meist unilateralen Euterinfektion (RYAN und GREENWOOD, 1990; CONTRERAS et al., 1995; SANCHEZ et al., 1999) sind abhängig von der Infektionsdosis und vom Immunstatus der Ziege (DULIN et al., 1983; HINCKLEY et al., 1985). Eine Zusammenstellung von Untersuchungen zum Vorkommen potentieller Mastitiserreger in Ziegenherden findet sich in Tab. 2.8.

Tabelle 2.8: Vorkommen potentieller Mastitiserreger in Ziegenherden ohne Differenzierung der Keime

Land	Probenanzahl/-art	bakt. neg.	bakt. pos.	Autor(en)
Australien	896 Hältengemelke (vier Herden)	keine Angaben	16,7 %	RYAN und GREENWOOD (1990)
Spanien	133 Einzelgemelke (elf Herden)	keine Angaben	35,5 %	VALLE et al. (1991a)
Griechenland	1.523 Einzelgemelke (drei Herden)	18,6 %	81,4 %	KALOGRIDOU-VASSILIADOU et al. (1992)
Frankreich	181 Hältengemelke (zwei Herden)	75,0 %	25,0 %	LERONDELLE et al. (1992)

Land	Probenanzahl/-art	bakt. neg.	bakt. pos.	Autor(en)
Spanien	369 Einzelgemelke (zehn Herden)	30,0 %	70,0 %	CONTRERAS et al. (1995)
Spanien	1.679 Einzelgemelke (vier Herden)	keine Angaben	9,2 %	SANCHEZ et al. (2001)
Spanien	20 Euterhälften (eine Herde)	keine Angaben	16,9 %	SANCHEZ et al. (2002)
Spanien	6.262 Häftengemelke (acht Herden)	92,8 %	7,4 %	LUENGO et al. (2004)

Als weitere beeinflussende Faktoren einer intramammären Infektion benennt HARMON (1994) den Ernährungszustand, das Laktationsstadium und das Alter (Laktationszahl) eines Tieres. So hatten Tiere ab der fünften Laktation eine höhere Anfälligkeit für Euterinfektionen als solche einer niedrigeren Laktationszahl (MCDUGALL et al., 2002). Die Anfälligkeit für eine Euterentzündung war bei Ziegen im ersten und letzten Drittel der Laktation (LERONDELLE und POUTREL, 1984; EAST et al., 1987) und bei multiparen Tieren (BOSCOS et al., 1996) erhöht. Vor allem bei durch KNS hervorgerufenen Mastitiden konnte registriert werden, daß ihr Anteil im Verlauf einer Laktation steigt (KALOGRIDOU-VASSILIADOU et al., 1991; FOSCHINO et al., 2002). Diese Staphylokokken wurden hauptsächlich bei über die gesamte Laktationsperiode und auch Trockenstellphase persistierenden Infektionen nachgewiesen (LERONDELLE und POUTREL, 1984; MAISI und RIIPINEN, 1991; CONTRERAS et al., 1997). Ein fördernder Einfluß einer Caprinen Arthritis-Enzephalitis (CAE)- Infektion auf eine bakterielle Entzündung des Euters wird diskutiert. Bekannt ist, daß eine derartige Virusinfektion das Euter pathologisch verändern kann (PHELPS und SMITH, 1993). NORD und ÅDNØY (1997) konnten allerdings keine Korrelation zwischen CAE- seropositiven Ziegen und einer Mastitis feststellen.

2.4 Bestimmung und Beurteilung der somatischen Zellzahl in Ziegenmilch

Für Kuhmilch gültige Werte der somatischen Zellzahl lassen sich nicht ohne Einschränkung auf Ziegenmilch übertragen. Bei der Beurteilung der Eutergesundheit der Ziege mit Hilfe des Zellgehaltes müssen auch andere Faktoren berücksichtigt werden.

Der physiologische Gehalt an neutrophilen Granulozyten in Ziegenmilch beträgt 50 - 70 % der Gesamtzellzahl, der der Kuhmilch dagegen nur 5 - 20 % (ROTA et al., 1993; PAAPE und

CAPUCO, 1997). Neben Lymphozyten und Monozyten kommen vor allem diese neutrophilen Granulozyten als Initialkomponenten der Euterabwehr in der Ziegenmilch vor (HARMON, 1994). Der Anteil an neutrophilen Granulozyten steigt mit fortschreitender Laktation (DROKE et al., 1993), zunehmender Laktationszahl (PAAPE und CAPUCO, 1997) sowie bei einer bakteriellen Infektion des Euters (WINTER und BAUMGARTNER, 1999), wohingegen sich die Zahl der Lymphozyten und Monozyten verringert (DULIN et al., 1983). Vor allem die neutrophilen Granulozyten bestimmen den erhöhten Gehalt an somatischen Zellen bei älteren Ziegen (DROKE et al., 1993).

Als Folge der apokrinen Milchsekretion des Ziegeneuters gibt es in der Ziegenmilch zusätzlich zu den somatischen Zellen sogenannte cytoplasmatische Partikel. Diese haben die Größe von Milchleukozyten, enthalten aber im allgemeinen keinen Zellkern und ihr Vorkommen ist unabhängig vom Laktationsverlauf und vom Infektionsstatus des Euters (DULIN et al., 1982; DULIN et al., 1983; PAAPE und CAPUCO, 1997). Zur Zellzahlbestimmung in Ziegenmilch werden in der Literatur die fluoreszenzoptische Methode (Fossomatic), die direkte mikroskopische Zählung nach einer Färbung des Milchausstriches mit Pyronin Y-Methylgrün und der California-Mastitis-Test (CMT, SCHALM-Test) als DNA-spezifische Methoden empfohlen (DULIN et al., 1982; DROKE et al., 1993; PAAPE und CAPUCO, 1997). Zellzahlwerte von Fossomaticgeräten, die mit Kuhmilch kalibriert wurden, wiesen um 24,5 % höhere Ergebnisse auf als bei gleichen Messungen von mit Ziegenmilch kalibrierten Geräten (ZENG et al., 1999). CONTRERAS et al. (1996) halten den SCHALM-Test aufgrund seiner einfachen Handhabung und die fluoreszenzoptische Zählung mittels Fossomatic aufgrund ihrer Spezifität und Sensitivität für die Bestimmung der Zellzahl in Ziegenmilch für die am besten anwendbaren Verfahren. Die Bestimmung der somatischen Zellzahl durch die DNA-unspezifische Methode des Coulter Counters führt durch das Miterfassen der cytoplasmatischen Partikel zu erhöhten Werten, die nicht der tatsächlichen Zellzahl des untersuchten Ziegeneuters entsprechen (PAAPE und CAPUCO, 1997).

Die Höhe des Gehaltes an somatischen Zellen in der Ziegenmilch gilt, wie bei der Kuhmilch, als Indikator für die Eutergesundheit. Die Zellzahl ist bei einer intramammären Infektion signifikant erhöht (KALOGRIDOU-VASSILIADOU et al., 1992; LERONDELLE et al., 1992; HARMON et al., 1994; BOSCOS et al., 1996; MCDUGALL et al., 2001; SANCHEZ et al., 2001, MCDUGALL et al., 2002; LUENGO et al., 2004). Der Einfluß einer Infektion mit dem Caprinen Arthritis-Enzephalitis Virus (CAEV) auf das Ziegeneuter wird diskutiert (siehe Abschnitt 2.3).

CAEV- seropositive Ziegen zeigten in Untersuchungen ab der zweiten Laktation eine deutlich höhere Zellzahl als seronegative Tiere (LERONDELLE et al., 1992; NORD und ÅDNØY, 1997; SANCHEZ et al., 2001; FOSCHINO et al.; 2002). Dies ließ sich in Untersuchungen von LUENGO et al. (2004) allerdings nicht betätigen.

Im Vergleich zur Kuhmilch kommt es bei Ziegenmilch zu stärkeren Zellzahlschwankungen und das Ziegeneuter reagiert empfindlicher auf äußere Einflußfaktoren. Vakzination, Azidose infolge übermäßiger Getreidefütterung, Standplatzgestaltung, Klauenpflege und Mehrlingsgeburten werden als zellzahlerhöhende Streßfaktoren in der Literatur genannt (LERONDELLE et al., 1992; CONTRERAS et al., 1996; FAHR et al., 1999; LUENGO et al., 2004). Rasse-spezifische Unterschiede in der Zellzahllhöhe konnten nicht festgestellt werden (BOSCOS et al., 1996; ZENG und ESCOBAR, 1996).

Der Gehalt an somatischen Zellen in Ziegenmilch erhöht sich mit fortdauernder Laktation und dem Alter einer Ziege (CONTRERAS et al., 1996; LUENGO et al., 2004). WINTER und BAUMGARTNER (1999) berichteten, daß 95,0 % der Ziegen im Alter von sechs oder mehr Jahren bei Milchuntersuchungen dreifachpositive SCHALM-Testergebnisse aufwiesen. Je höher die Anzahl der Laktationen, desto höher steigt auch die Zellzahl (WILSON et al., 1995; CONTRERAS et al., 1999). Dies soll zum Beispiel durch die sich verändernde Euterform und dadurch bedingte melktechnische Reizungen verursacht werden (FAHR et al., 1999). Laut ZENG und ESCOBAR (1995) sowie BOSCOS et al. (1996) ließ sich eine Erhöhung der Zellzahl mit fortschreitendem Alter der Ziege allerdings nicht nachweisen. Eine Ziege im Östrus hat eine deutlich höhere Zellzahl als im Anöstrus (ZENG und ESCOBAR, 1995; MCDOUGALL et al., 2001; MCDOUGALL und VOERMANS, 2002). Neben der Beeinflussung der Zellzahl durch die Brunst zeigen sich in den verschiedenen Laktationsstadien Schwankungen in der Höhe der Zellgehalte (Tab. 2.9). Die niedrigsten Zellzahlwerte werden in der Laktationsmitte erreicht (GALINA et al., 1996; ZENG et al., 1997), zum Laktationsende vermindert sich die Milchmenge und erhöht sich die Anzahl an somatischen Zellen unabhängig vom Vorkommen einer intramammären bakteriellen Infektion (WILSON et al., 1995; BOSCOS et al. 1996; ZENG und ESCOBAR, 1996; ZENG et al., 1997). Ziegen mit einer hohen Zellzahl zu Laktationsbeginn behalten im weiteren Laktationsverlauf eine erhöhte Zellzahl bei (FAHR et al., 1999). Zu Laktationsbeginn und Laktationsende können bei eutergesunden Tieren oftmals mehr als $1,0 \times 10^6$ Zellen/ml Milch gezählt werden (GALINA et al., 1996).

Tabelle 2.9: Zellzahlmittelwerte (geometrisch; Zellen/ml) im Verlauf einer Laktation

Land	Früh-	Mittel-	Spätlaktation	Autor(en)
Spanien	$9,2 \times 10^5$	$5,8 \times 10^5$	$1,8 \times 10^6$	ROTA et al. (1993)
Mexiko	50,0 %: $5,0 \times 10^5$ 35,0 %: $1,0 \times 10^6$	90,0 %: $5,0 \times 10^5$	23,0 %: $5,0 \times 10^5$ 15,0 %: $1,0 \times 10^6$	GALINA et al. (1996)
USA	$> 1,0 \times 10^6$	$\leq 4,0 \times 10^5$	$\geq 8,0 \times 10^5$	ZENG et al. (1997)
USA	$1,5 \times 10^6$ (1.Tag)	$2,1 \times 10^5$ (40.Tag)	keine Angaben	MCDUGALL et al. (2002)

Desweiteren unterliegt die Zellzahl innerhalb einer Ziegenherde jahreszeitlichen Schwankungen. Minimalwerte werden in den Frühjahrs- und Sommermonaten, Maximalwerte in den Herbst- und Wintermonaten erreicht (DROKE et al., 1993; WILSON et al., 1995; FAHR et al., 1999; FOSCHINO et al., 2002). Dies erklärt sich teilweise durch das synchronisierte Decken und Ablammen in den Ziegenbetrieben, wo der Großteil der Tiere in den Wintermonaten trockengestellt wird (DROKE et al., 1993). Es zeigten sich allerdings auch Zellzahlschwankungen, die sich nicht durch die oben genannten Faktoren erklären ließen (WILSON et al., 1995; ZENG et al., 1997).

Beim Handmelken wurden niedrigere Zellzahlen gemessen als bei Milchproben, die mittels einer Melkmaschine gewonnen wurden (WINTER und BAUMGARTNER, 1999). Untersuchungen hinsichtlich der Wirksamkeit der Melkhygiene auf das Ziegeneuter sind selten und werden kontrovers diskutiert. POUTREL et al. (1997) und WINTER und BAUMGARTNER (1999) fanden keinen Effekt durch vorheriges Reinigen und Dippen des Ziegeneuters auf die Zellzahl. In dem Versuch von WINTER und BAUMGARTNER (1999) waren die SCHALM-Testwerte von Milchproben aus vorher desinfizierten Eutern höher als bei Proben aus nicht gereinigten Eutern. Bei einigen Arbeiten fand sich eine positive, wenn auch geringe Korrelation ($p < 0,05$) zwischen der Gesamtkeimzahl und der somatischen Zellzahl in der Tankmilch (KALOGRIDOU-VASSILIADOU et al., 1992; DROKE et al., 1993; ZENG und ESCOBAR, 1995; ZENG und ESCOBAR, 1996; SCHNELLHARDT, 1998). Andere Arbeiten konnten keinen Zusammenhang zwischen Keimzahl und Zellzahl nachweisen (TIRARD-COLLET et al., 1991; FOSCHINO et al., 2002).

Wie aus den Ausführungen ersichtlich wird, ist die somatische Zellzahl in Ziegenmilch von vielerlei Faktoren abhängig. In der Literatur wurde die Brauchbarkeit von mittels Fossomatic bestimmten Zellzahlwerten oder des CMT zur Erkennung einer intramammären Infektion diskutiert. Zur Beurteilung von Einzelgemelksproben schlugen WENDT et al. (1994) einen mittels Fossomatic gemessenen Grenzwert zur Unterscheidung von eutergesunden zu euterinfizierten Tieren von $7,5 \times 10^5$ Zellen/ml vor. Für Sammelgemelke wurde ein Wert von $1,0 \times 10^6$ Zellen/ml diskutiert (LERONDELLE und POUTREL, 1984; KALOGRIDOU-VASSILIADOU et al., 1992; PERRIN et al., 1997). Mit diesem Grenzwert erfaßten KALOGRIDOU-VASSILIADOU et al. (1992) mittels Fossomatic 80,0 % aller Euterinfektionen mit *S. aureus*, *S. dysgalactiae* und *S. agalactiae* und 45,0 % aller Infektionen mit KNS. Auch mit Hilfe des CMT ließen sich in Untersuchungen deutliche Unterscheidungen zwischen eutergesunden und bakteriell infizierten Tieren treffen. Verschiedene Ergebnisse aus Milchuntersuchungen mittels eines SCHALM-Testes zeigt Tab. 2.10.

Tabelle 2.10: Verteilung der CMT-Werte in Prozent

Land	Probenanzahl/-art	Verteilung	CMT	Autor(en)
Spanien	369 Einzelgemelke (zehn Herden)	47,0 %	0	CONTRERAS et al. (1995)
		28,0 %	1	
		21,0 %	2	
		5,0 %	3	
Mexiko	1.046 Einzelgemelke (k.A.)	44,0 %	0-0,5	GALINA et al. (1996)
		56,0 %	1-3	
Österreich	129 Häftengemelksproben (neun Herden)	7,0 %	0	WINTER und BAUMGARTNER (1999)
		18,0 %	1	
		36,0 %	2	
		40,0 %	3	

Bei Milchproben aus subklinisch oder klinisch veränderten Eutern war der CMT - Wert höher als bei Milchproben aus gesunden Eutern (LERONDELLE und POUTREL; 1984; MAISI und RIIPINEN; 1991; WINTER und BAUMGARTNER; 1999). Da zwischen den Werten aus CMT - Messungen und Fossomatic - Messungen eine deutliche Korrelation bestand (KALOGRIDOU-VASSILIADOU et al., 1992; PERRIN et al., 1997; WINTER und BAUMGARTNER, 1999), wurden beide Methoden als brauchbar für die Beurteilung des Gesundheitsstatus des Ziegeneuters

angesehen (KALOGRIDOU-VASSILIADOU et al., 1992; CONTRERAS et al., 1996; MCDUGALL et al., 2001; GONZALES-RODRIGUEZ und CARMENES, 1996). Auch zwischen den Ergebnissen der Färbemethode mit Pyronin Y-Methylgrün und der fluoreszensoptischen Zählung mittels Fossomatic wurden keine signifikanten Unterschiede ermittelt (DULIN et al., 1982). Neuere Untersuchungen zur Aussagekraft der mikroskopischen Zählung nach Färbung mit Pyronin Y-Methylgrün wurden im Schrifttum nicht gefunden. Ergebnisse von CMT- Tests sind differenziert zu beurteilen, da diese zwischen den unterschiedlichen Untersuchern, Ziegenrassen, Ziegenherden und Pathogenen variieren (MAISI und RIIPINEN, 1991; KALOGRIDOU-VASSILIADOU et al., 1992; GONZALES-RODRIGUEZ und CARMENES, 1996). Dennoch sehen GALINA et al. (1995) und MCDUGALL et al. (2001) den SCHALM-Test als gute und preisgünstige Hilfe in der Bewertung von Ziegenmilch. In der Zuordnung der SCHALM-Testwerte zu einer Zellzahlhöhe gibt es unterschiedliche Resultate (Tab. 2.11).

Tabelle 2.11: Zellzahlmittelwerte (geometrisch; Zellen/ml) im Vergleich zum CMT-Wert

Land	CMT				Autor(en)
	0	1	2	3	
Spanien	$1,7 \times 10^5$	$5,3 \times 10^5$	$2,1 \times 10^6$	$4,4 \times 10^6$	CONTRERAS et al. (1995)
Neuseeland	$1,4 \times 10^5$	$3,6 \times 10^5$	$1,1 \times 10^6$	$7,5 \times 10^6$	MCDUGALL et al. (2001)

Durch die Zusammenfassung der SCHALM-Testergebnisse 0 und 1 kann mit einer Sensitivität von 87,6 % und Spezifität von 92,7 % eine Milchprobe mit einer Zellzahl von weniger als $7,5 \times 10^5$ Zellen/ml ermittelt werden (PERRIN et al., 1997). Der Grenzwert von $1,0 \times 10^6$ Zellen/ml wurde in der Literatur viel diskutiert. Bei Milchproben aus Ziegeneuern ohne histologische oder pathologische Veränderungen wurden Zellzahlen in Größenordnungen über $1,0 \times 10^6$ Zellen/ml ermittelt (HINCKLEY, 1990; PARK, 1991; DROKE et al., 1993). Unterschiedliche Zellzahlmittelwerte aus Ziegenmilchuntersuchungen klinisch gesunder Ziegen zeigt Tabelle 2.12.

Tabelle 2.12: Geometrische Zellzahlmittelwerte in Milch eutergesunder Ziegen (Fossomatic)

Land	Probenanzahl/-art	Zellgehalt/ml	Autor(en)
USA	71 Tankmilchproben (vier Herden)	$1,3 \times 10^6$	DROKE et al. (1993)

Land	Probenanzahl/-art	Zellgehalt/ml	Autor(en)
USA	117 Tankmilchproben (eine Herde)	$1,2 \times 10^6$	ZENG und ESCOBAR (1995)
USA	312 Tankmilchproben (drei Herden)	$9,3 \times 10^5$	ZENG und ESCOBAR (1996)
Frankreich	1.060 Einzelgemelke (acht Herden)	$2,7 \times 10^5$	POUTREL et al. (1997)
USA	1.848 Einzelgemelke (eine Herde)	$6,2 \times 10^5$	ZENG et al. (1997)
Deutschland	77 Tankmilchproben (neun Herden)	$6,4 \times 10^5$	SCHNELLDHARDT (1998)
Deutschland	1.493 Einzelgemelke (fünf Herden)	$9,3 \times 10^5$	FAHR et al. (1999)
Spanien	1.679 Einzelgemelke (vier Herden)	$2,5 \times 10^5 - 9,5 \times 10^5$	SANCHEZ et al. (2001)
Italien	60 Tankmilchproben (zehn Herden)	$9,9 \times 10^5$	FOSCHINO et al. (2002)
Israel	488 Häuftengemelke (zehn Herden)	$2,9 \times 10^5$	LEITNER et al. (2004)
Spanien	6.262 Häuftengemelke (acht Herden)	$6,5 \times 10^5$	LUENGO et al. (2004)

Da bei einem relativ hohen Prozentsatz der untersuchten Milchproben eine Zellzahl über dem diskutierten Wertes von $1,0 \times 10^6$ /ml ohne gleichzeitigen mikrobiellen bakteriellen Befund ermittelt wurde, wird deutlich, daß eine Differenzierung zwischen gesunden und infizierten Eutern durch alleinige Bestimmung der Zellzahl nur sehr bedingt möglich ist (WILSON et al., 1995; ZENG und ESCOBAR, 1995; WHITE und HINCKLEY, 1999).

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methodik

3.1.1 Material

3.1.1.1 Probenmaterial – Tankmilchproben, Hälftengemelksproben

Insgesamt 154 Tankmilchproben und 1.356 Hälftengemelksproben von 40 verschiedenen Ziegen aus acht unterschiedlichen Ziegenhaltungen in den Regierungsbezirken Oberbayern (sechs Betriebe) und Schwaben (zwei Betriebe) wurden im Zeitraum Januar 2003 bis Januar 2004 untersucht. Die Milch aller Betriebe dient der Herstellung von Bioprodukten aus Ziegenmilch durch eine oberbayerische Molkerei. Daher sind alle Betriebe im Biolandverband organisiert und unterliegen den dort festgesetzten Bestimmungen hinsichtlich Fütterung und Haltung.

Alle Betriebe hielten reine Ziegenherden, wobei der kleinste Betrieb 35 und der größte 240 laktierende Tiere zum Beginn der Versuchsphase aufgestellt hatte. Zur Untersuchung der Hälftengemelke wurden aus jedem Betrieb fünf klinisch gesunde Ziegen unterschiedlicher Laktationszahl und, sofern möglich, unterschiedlicher Laktationsstadien ausgewählt. Zwei Betriebe (A und H; Tab. 3.1) führten in ihren Herden vorwiegend Tiere, die aus unterschiedlichen Rassen gekreuzt waren. Die dominierende Rasse in den anderen Betrieben war die Bunte Deutsche Edelziege, wobei vier Betriebe (B, C, D, F; Tab. 3.1) ausschließlich diese Rasse in ihren Herden hielten. Betrieb G (Tab. 3.1) vergrößerte kurz vor Versuchsbeginn durch den Kauf von Saanenziegen seine ursprünglich nur aus Bunten Deutschen Edelziegen bestehende Herde.

Zu Beginn des Versuchsjahres führte Betrieb A (Tab. 3.2) das Melken der Tiere noch mit einer Eimermelkanlage durch, welche nach der Fertigstellung des Stallneubaus in der ersten Hälfte des Versuchsjahrs durch eine Rohrmelkanlage ersetzt wurde. Danach arbeiteten alle Betriebe mit Rohrmelkanlagen.

Drei Betriebe (A, D, G; Tab. 3.2) entsprachen dem Wunsch der Molkerei und versuchten, ihre Ziegen zu unterschiedlichen Zeitpunkten des Jahres zu decken und trockenzustellen um eine ganzjährige Milchversorgung zu gewährleisten. Die Ziegen der Betriebe B, C, E, F und H (Tab. 3.2) wurden im Herbst gedeckt und im Januar/Februar trocken gestellt. Allerdings

planten auch diese, ihre Ziegen auf eine ganzjährige Milchproduktion umzustellen.

Tabelle 3.1: Rasse, Geburtsjahr, Laktationszahl und -zeit der untersuchten Tiere

Ziege	Rasse	Geburtsjahr	Laktationszahl	Laktationszeit (Tage)*
A1	Bunte Dt. Edelziege x Saanenziege	1996	3	1.380
A2	Toggenburgerziege	1995	6	750
A3	Bunte Dt. Edelziege	2001	1	210
A4	Weißer Dt. Edelziege	1999	2	600
A5	Bunte Dt. Edelziege x Weißer Dt. Edelziege	2000	2	210
B1	Bunte Dt. Edelziege	2000	3	210
B2	Bunte Dt. Edelziege	1998	4	210
B3	Bunte Dt. Edelziege	1997	5	210
B4	Bunte Dt. Edelziege	2001	1	210
B5	Bunte Dt. Edelziege	1998	2	210
C1	Bunte Dt. Edelziege	2001	1	150
C2	Bunte Dt. Edelziege	1996	6	9
C3	Bunte Dt. Edelziege	1995	7	8
C4	Bunte Dt. Edelziege	1997	4	7
C5	Bunte Dt. Edelziege	1997	5	9
D1	Bunte Dt. Edelziege	1999	3	229
D2	Bunte Dt. Edelziege	1999	3	230
D3	Bunte Dt. Edelziege	1999	3	117
D4	Bunte Dt. Edelziege	2001	2	140
D5	Bunte Dt. Edelziege	2001	2	114
E1	Weißer Dt. Edelziege	1997	5	12
E2	Weißer Dt. Edelziege	1999	3	9
E3	Bunte Dt. Edelziege	1999	3	5
E4	Bunte Dt. Edelziege	1996	6	16
E5	Bunte Dt. Edelziege	2000	2	2
F1	Bunte Dt. Edelziege	2001	2	28
F2	Bunte Dt. Edelziege	2000	3	75
F3	Bunte Dt. Edelziege	1997	3	58
F4	Bunte Dt. Edelziege	1997	5	73
F5	Bunte Dt. Edelziege	2000	3	59
G1	Saanenziege	2001	1	123
G2	Saanenziege	2002	1	123
G3	Bunte Dt. Edelziege	1999	3	63
G4	Bunte Dt. Edelziege	2001	1	33
G5	Bunte Dt. Edelziege	1999	2	63
H1	Bunte Dt. Edelziege	1999	3	240
H2	Walliser Schwarzhalsziege	1999	3	230
H3	Bunte Dt. Edelziege x Weißer Dt. Edelziege	1998	4	240
H4	Bunte Dt. Edelziege	1997	5	250
H5	Bunte Dt. Edelziege x Walliser Schwarzhalsziege	1996	6	230

* bezogen auf den Beginn der Untersuchungen

Tabelle 3.2: Tierbestand und Melktechnik der acht Betriebe

Betrieb	Tierbestand			Melktechnik		
	laktierende Tiere	Milchmenge (l/Tag)	saisonale Brunst	Melkzeit	Melkmaschine	Reinigung/ Desinfektion
A	120	200	-	2 x täglich	+	1 x täglich Pampelmusenkernsäure; alle drei Tage alkalisch
B	110	300	+	2 x täglich	+	morgens: sauer abends: alkalisch
C	240	700	+	2 x täglich	+	morgens: sauer abends: alkalisch
D	40	70	-	2 x täglich	+	morgens: sauer abends: alkalisch
E	180	540	+	2 x täglich	+	morgens: sauer abends: alkalisch
F	45	115	+	2 x täglich	+	morgens: sauer abends: alkalisch
G	35	70	-	2 x täglich	+	morgens: sauer abends: alkalisch
H	160	200	+	2 x täglich	+	morgens: sauer abends: alkalisch

3.1.1.2 Gewinnung, Transport und Lagerung der Proben

Die acht Betriebe wurden in zwei Gruppen unterteilt, so daß von jedem Betrieb in zweiwöchigem Abstand Tankmilch- und Hälftengemelksproben gewonnen werden konnten. Die

Probenentnahme wurde nach einer Anlernphase von den Bauern selbst durchgeführt.

Die Hälftengemelksproben wurden in Anlehnung an die "Leitlinien zur Entnahme von Milchproben unter aseptischen Bedingungen" (DVG, 2000) von jeder Ziege zu Beginn des Morgenmelkens gewonnen. Nach der Desinfektion der Zitzen mit alkoholgetränkten Eutertüchern (Ethanol, 70 %), und nach dem Verwerfen des Vorgemelks wurden etwa 40 ml Milch von jeder Euterhälfte in ein steriles Probengefäß gemolken. Von der Tankmilch wurden etwa 200 ml Milch in sterile Probenflaschen gefüllt. Bis zur Abholung am selben Tag wurden die Proben in einem auf 4 °C eingestellten Kühlschrank aufbewahrt und anschließend während des Transports mit Hilfe von Kühlaggregaten auf einer Temperatur von 4 – 7 °C gehalten.

25 ml der Tankmilch wurden im Labor in spezielle Probenfläschchen (mit Konservierungsmittel) des Bayerischen Milchprüfrings umgefüllt. Diese Proben wurden noch am selben Tag zum Milchprüfing nach Wolnzach transportiert und dort fluoreszenzoptisch (Fossomatic) auf ihren Gehalt an somatischen Zellen untersucht. Ansatz und Vorbereitung für die bakteriologische und zytologische Untersuchung der restlichen Tankmilch und der Hälftengemelke erfolgte am Tag der Probenahme im Labor des Lehrstuhls für Hygiene und Technologie der Milch.

3.1.1.3 Nährböden und Reagenzien

3.1.1.3.1 Vorbereitung der Proben

Ringer-Lösung-Tabletten	Oxoid BR52
-------------------------	------------

3.1.1.3.2 Bestimmung der Keimzahl

Standard-I-Nähragar	Merck 1.07881
---------------------	---------------

0,1 % Magermilch, gepulvert	Oxoid L31
-----------------------------	-----------

3.1.1.3.3 Bestimmung des Anteils an gramnegativen Keimen (L-Alanin-Amino-peptidase-Test)

50 mM Tris-maleat-Puffer (pH 7,0):

Lösung A

Trihydroxymethylaminomethan	24,23 g	Merck 1.08382
-----------------------------	---------	---------------

Maleinsäure (anhydr.)	19,61 g	Merck 8.00380
Aqua dest.	1000 ml	

Lösung B

Natronlauge, 0,2 N		Merck 30.04.00
--------------------	--	----------------

Stammlösung

25 ml Lösung A zu 23,7 ml Lösung B; auffüllen mit Aqua dest. auf 100 ml.

Fertiger Puffer

300 ml Aqua dest. zu 100 ml der Stammlösung.

L-Alanin-4-Nitroanilidlösung

L-Alanin-4-nitroanilidhydrochlorid	4,0 g	Sigma 122K1309
------------------------------------	-------	----------------

50 mM Tris-maleat-Puffer (pH 7,0) 100 ml

Das L-Alanin-4-nitroanilidhydrochlorid wird im Tris-maleat-Puffer gelöst.

Cellulose-Filterpapier

Rundfilter		Schleicher & Schüll 10311661
------------	--	------------------------------

Die Filterpapiere wurden so zurechtgeschnitten, daß sie genau in eine Petri-Schale passen, mit der L-Alanin-4-Nitroanilidlösung imprägniert und anschließend in einem Trockenschrank getrocknet.

3.1.1.3.4 Nachweis koagulasepositiver Staphylokokken (KPS)

Eigelb- Tellurit-Glycin- Pyruvat-Agar (ETGPA) nach BAIRD-PARKER:

BAIRD-PARKER-Nährboden-Basis		Oxoid CM275
Eigelb-Kaliumtellurit-Emulsion		Oxoid SR054C
Kaliumhydroxid, 3 %ig		Merck 1.05033

Bactident® Katalase	Merck 1.11351
Hirn-Herz-Bouillon	Merck 1.10493
Coagulase Plasma, EDTA	Becton Dickinson 240826

3.1.1.3.5 Identifizierung von *Staphylococcus aureus* mit dem Thermonuklease-Test

Toluidinblau O-DNA-Agar:

Toluidin-Blau O	Sigma 198161-5G
Trishydroxyaminomethan	Merck 1.08382
Calciumchlorid	Merck 1.02392
Bacto-DNA	Sigma (Hering Sperma) 6898
Natriumchlorid	Merck 1.06400
Bakteriologischer Agar, Agar Nr.1, neutral	Oxoid L11
Thermonuklease-Antiserum	Antiserum vom Kaninchen

3.1.1.3.6 Nachweis von *Bacillus cereus*

Polymyxin-Pyruvat-Eigelb-Mannit-Bromthymolblau-Agar (PEMBA):

<i>Bacillus-Cereus</i> -Agar-Basis	Oxoid CM617
<i>Bacillus-Cereus</i> -Selektiv Supplement	Oxoid SR099E
Eigelb-Emulsion	Oxoid SR47

3.1.1.3.7 Nachweis von Coliformen und *Escherichia coli*

Fluorocult® Laurylsulfat-Bouillon	Merck 1.12588
Kovács Indolreagenz	Merck 1.09293
UV-Lampe 4 W/ 366 nm	Merck 1.3203

3.1.1.3.8 Nachweis verotoxinbildender *Escherichia coli*

Modifizierte Trypton-Soja-Bouillon mit Novobiocin (mTSB-n):

Trypton-Soja-Bouillon	Oxoid CM129
Gallensalze Nr.3	Oxoid LP0056
Di-Kaliumhydrogenphosphat	Sigma P8281
Novobiocin	Sigma N1628
Schüttelwasserbad	GFL 1083

Enzymimmunologischer Nachweis der Verotoxine (ELISA):

Novitec Verotoxin Veterinär	Hiss 710096V
Natriumchlorid, reinst	Merck 1.06400

Nachweis der Verotoxingene (PCR):

Nach BÜRK et al. (2002)

3.1.1.3.9 Nachweis von Listerien

Universal Preenrichment Broth	Difco 223510
Fraser-Anreicherungsbouillon	Oxoid CM0895
Fraser-Selektiv Supplement	Oxoid SR156
PALCAM- <i>Listeria</i> - Selektiv-Agar	Merck 1.11755
PALCAM- <i>Listeria</i> -Selektiv-Supplement	Merck 1.12122
ALOA-Agar	AES 207312
Bactident® Katalase	Merck 1.11351
Kaliumhydroxid, 3 %ig	Merck 1.05033

Trypton-Soja-Hefeextrakt-Agar (TSYEA) und Trypton-Soja-Hefeextrakt-Bouillon(TSYEB):

Trypton-Soja-Agar	Oxoid CM131
Trypton-Soja-Bouillon	Oxoid CM129
Hefeextrakt	Oxoid L21
Columbia-Agar mit Schafblut	Oxoid PB5039A
Purple Broth Base	Becton Dickinson 81-1558-0
D (-)-Mannit	Merck 1.05987
D (+)-Xylose	Merck 1.08692
L (+)-Rhamnose	Merck 1.07361
3.1.1.3.10 Nachweis von Salmonellen	
Universal Preenrichment Broth	Difco 223510
Modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis Medium	Oxoid CM910
Brillantgrün-Phenolrot-Laktose-Saccharose-Agar	Oxoid CM329
Mannit-Lysin-Kristallviolett-Brillantgrün-Agar	Oxoid CM783
Standard-II-Nähragar	Merck 1.07883
Kaliumhydroxid, 3 %ig	Merck 1.05033
Oxidase-Teststäbchen	Oxoid BR 64A
<i>Salmonella</i> Testserum polyvalent I und II	Dade Behring ORMT11 bzw. ORMU11
BBL Enterotube II	Becton Dickinson 273176

3.1.1.3.11 Nachweis von Pseudomonaden

Glutamat-Stärke-Phenolrot-Agar (GSP)	Merck 1.10230
Penicillin G 100.000 I.E.	Sigma PEN-NA
Standard-II-Nähragar	Merck 1.07883
Oxidase-Teststäbchen	Oxoid BR64A
Kaliumhydroxid, 3 %ig	Merck 1.05033
API- NE	bioMérieux 200050
API-Natriumchlorid 0,85 %	bioMérieux 20070

3.1.1.3.12 Nachweis euterpathogener Keime

Aeskulin-Blutagar, modifiziert	Oxoid PB5023A
Kaliumhydroxid, 3 %ig	Merck 1.05033
Bactident® Katalase	Merck 1.11351
Columbia-Agar mit Schafblut	Oxoid PB5039A
Hirn-Herz-Bouillon	Merck 1.10493
Coagulase Plasma, EDTA	Becton Dickinson 240826
API-Staph	bioMérieux 20500
API-Strep	bioMérieux 20600
Toluidinblau O-DNA-Agar	siehe 3.1.1.3.5

3.1.1.3.13 Bestimmung des somatischen ZellgehaltsCalifornia-Mastitis-Test (SCHALM-Test)

Vorgemelksschale	Heiland VET 730-911
------------------	---------------------

Anti-Germ-Milchzelltest Ruff 08012101

Pyronin Y-Methylgrün-Färbung

Carnoy's Fixative:

Chloroform	60 ml	Merck 1.02445
Eisessig 100 %	20 ml	Merck 1.00063
Ethanol absolut	120 ml	Merck 1.00983

Pyronin Y-Methylgrün:

Pyronin	1,0 g	Sigma P6653
Methylgrün	0,56 g	Sigma M5015
Aqua dest.	196 ml	

Vor Gebrauch filtern:

Faltenfilter	Schleicher & Schüll 304203
--------------	----------------------------

Färbelösung kühl und dunkel aufbewahren.

Spülflüssigkeiten:

50 % Ethanol	Merck 1.00983
30 % Ethanol	Merck 1.00983
1-Butylalkohol	Merck 1.01990
Xylol	Merck 1.08685
Objektträger	Diagonal 36057000
Mikroskop	Leitz Aristoplan
<u>Fluoreszensoptische Zählung</u>	Fossomatic 5000

3.1.2 Methodik

3.1.2.1 Vorbereitung der Proben

Die Vorbereitung der Tankmilchproben für die quantitative Bestimmung der Keimzahl, der koagulasepositiven Staphylokokken, von *Bacillus (B.) cereus*, der Coliformen, von *Escherichia (E.) coli* und der Pseudomonaden erfolgte entsprechend der Methode L 01.00 – 1 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG.

3.1.2.2 Bestimmung der Keimzahl

Die Bestimmung der Keimzahl wurde mit der Methode L 01.00 – 57 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG vorgenommen. Hierbei handelt es sich um ein Oberflächenverfahren (Spatelverfahren), bei dem es im Gegensatz zum Gußplattenverfahren möglich ist, den L-Alanin-Aminopeptidase-Test mit Filterpapieren (3.1.2.3) durchzuführen.

3.1.2.3 Bestimmung des Anteils der gramnegativen Keime an der Keimzahl (L-Alanin-Aminopeptidase-Test)

Nach der Auszählung der entsprechend dem unter 3.1.2.2 genannten Verfahren gewonnenen Kolonien wurde mit Hilfe des L-Alanin-Aminopeptidase-Tests eine Differenzierung in grampositive und gramnegative Kolonien vorgenommen, und der Gehalt an gramnegativen Keimen quantitativ erfaßt. Zu diesem Zweck wurde ein mit L-Alanin-4-Nitroanilidhydrochlorid und Trismaleat-Puffer imprägniertes und auf die Größe einer Petri-Schale zurechtgeschnittenes Filterpapier (3.1.1.3.3) auf die Agaroberfläche gelegt. Gramnegative Keime bilden das Enzym L-Alanin-Aminopeptidase, welches L-Alanin-4-Nitroanilid in L-Alanin und gelbes 4-Nitroanilid spaltet. Im Bereich gramnegativer Kolonien färbt sich das Filterpapier gelb und die koloniebildenden Einheiten können entsprechend der Methode L 01.00 – 57 ermittelt werden. Einzelheiten und Literatur finden sich bei BECKER (1993).

3.1.2.4 Nachweis koagulasepositiver Staphylokokken

Die quantitative Bestimmung der koagulasepositiven Staphylokokken erfolgte mit der Methode L 00.00 – 55 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG.

3.1.2.5 Identifizierung von *Staphylococcus (S.) aureus* mit dem Thermonuklease-Test

Eine nach 3.1.2.4 gewonnene Kolonien koagulasepositiver Staphylokokken wurde in Hirn-Herz-Bouillon 24 h bei 37 °C bebrütet und diese Kultur anschließend für 15 min bei 100 °C erhitzt (Inaktivierung nicht hitzestabiler Nukleasen). Anschließend wurden zwei Löcher im Abstand von etwa 2 mm in Toluidinblau O-DNA-Agar (3.1.1.3.5) gestanzt. In eines der beiden Löcher wurden 7 µl der erhitzten Kultur, in das andere 7 µl eines *S. aureus*-Thermonuklease-Antiserums (3.1.1.3.5) pipettiert und bis zu 24 h bei 37 °C bebrütet. Die Thermonuklease spaltet die im Nährboden enthaltene DNA, was aufgrund der metachromatischen Eigenschaften des Farbstoffs zu einer Rosafärbung des ansonsten blauen Agars um das Loch führt. Im Bereich der Diffusionszone des für *S. aureus* spezifischen Antiserums kommt es zu einer Hemmung des Enzyms, wodurch hier die Rosafärbung des Nährbodens unterbleibt (Seroinhibitionstest; BECKER et al., 1984).

3.1.2.6 Nachweis von *Bacillus cereus*

Die quantitative Bestimmung von *B. cereus* wurde gemäß der Methode L 01.00 – 72 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG vorgenommen.

3.1.2.7 Nachweis von Coliformen und *Escherichia coli*

Die Zählung der Coliforme und von *E. coli* erfolgte entsprechend der Methode L 01.00 – 54 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG.

3.1.2.8 Nachweis verotoxinbildender *Escherichia coli*

Zum Nachweis der Verotoxine und Verotoxingene wurden 25 ml Milch in 225 ml modifizierter Trypton-Soja-Bouillon (3.1.1.3.8) 24 h bei 37 °C in einem Schüttelwasserbad inkubiert. Der Nachweis der Toxine erfolgte mit einem kommerziell verfügbaren enzymimmunologischen Verfahren (3.1.1.3.8), der der Toxingene mittels PCR und Gelelektrophorese entsprechend der von BÜRK et al. (2002) beschriebenen Methode.

3.1.2.9 Nachweis von Listerien

Listerien und Salmonellen (3.1.2.10) wurden gemeinsam nach Zugabe von 25 ml Milch in Universal Preenrichment Broth (BAILEY und COX, 1992) angereichert. Die weitere Untersu-

chung auf Listerien erfolgte wie in ISO 11290-1/FDAM 1 beschrieben.

3.1.2.10 Nachweis von Salmonellen

Aus der Anreicherung in Universal Preenrichment Broth (3.1.2.9) wurden 3 x 1 Tropfen auf Modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis Medium (MSRV; DE SMEDT et al., 1986) verbracht und bei 42 °C für 24 h bebrütet. Im Fall der Ausbildung der für diesen halbfesten Nährboden typischen Schwärmzone beweglicher Salmonellen wurde Kulturmaterial auf Brillantgrün-Phenolrot-Laktose-Saccharose-Agar (BPLS) bzw. Mannit-Lysin-Kristallviolett-Brillantgrün-Agar (MLCB) überimpft. Wenn nach der Inkubation (24 – 48 h/37 °C) auch hier verdächtige Kolonien wuchsen, wurden diese auf Standard-II-Nähragar übertragen und 24 h bei 37 °C bebrütet. Falls es sich bei den dort gewachsenen Kolonien um gramnegative (KOH-Test), oxidasenegative (Oxidase-Test) Stäbchen (Phasenkontrastmikroskop) handelte, erfolgte eine biochemische und serologische Bestätigung (3.1.1.3.10).

3.1.2.11 Nachweis von Pseudomonaden

0,1 ml der nach 3.1.2.1 vorbereiteten Probe wurden auf Glutamat-Stärke-Phenolrot-Agar (GSP) ausgespatelt und bei 25 °C über 72 h bebrütet. Verdächtige Kolonien wurden auf Standard-II-Nähragar übertragen und ebenfalls bei 25 °C über 72 h inkubiert. Falls es sich bei den dort gewachsenen Kolonien um gramnegative (KOH-Test), oxidasepositive (Oxidase-Test) Stäbchen (Phasenkontrastmikroskop) handelte, erfolgte eine biochemische Bestätigung mittels API-NE (3.1.1.3.11).

3.1.2.12 Nachweis euterpathogener Keime

Die Milchprobe wurde mit einer Öse fraktioniert auf Blutagar (3.1.1.3.12) ausgestrichen und bei 37 °C 24 – 48 h bebrütet. Anschließend erfolgte die Beurteilung von Koloniemorphologie und Hämolyse in Anlehnung an die "Leitlinien zur Isolierung und Identifizierung von Mastitiserregern" (DVG, 2000) sowie eine weitere Differenzierung mit Hilfe biochemischer Tests (3.1.1.3.12).

3.1.2.13 Bestimmung des somatischen Zellgehalts

California-Mastitis-Test (CMT, SCHALM-Test)

Der SCHALM-Test wurde nach Anweisung des Herstellers vorgenommen (3.1.1.3.13). Die

Interpretation des Testresultats orientierte sich an den bei SCHALM et al. (1971) für die einzelnen Reaktionsstufen genannten Werten (Tab. 3.3).

Tabelle 3.3: CMT-Reaktionen in Abhängigkeit von der Zahl der neutrophilen Granulozyten/ml Ziegenmilch (SCHALM et al., 1971)

CMT-Stufe	Neutrophile Granulozyten/ml		
	Bereich	Medianwert	Mittelwert
0	0 – 480.000	60.000	68.000
1	240.000 – 1.440.000	660.000	800.000
2	1.080.000 – 5.850.000	2.400.000	2.560.000
3	über 10.000.000	–	–

Pyronin Y-Methylgrün-Färbung

Ausstrich und Färbung wurden in Anlehnung an die Methode der FDA (2001) vorgenommen:

0,01 ml Milch wurden auf ein Feld von einer Fläche von 5 x 20 mm auf einem Objektträger aufgetragen und luftgetrocknet. Danach wurde der Ausstrich wie folgt behandelt:

Carnoy's Fixative	5 min.
50 % Ethanol	1 min.
30 % Ethanol	1 min.
Aqua dest.	1 min.
Färbelösung	6 min.
1-Butylalkohol	kurz spülen
Xylol	kurz spülen

Lufttrocknen.

Die Zählung der somatischen Zellen erfolgte nach der Methode L 01.01 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG.

Fluoreszenzoptische Zählung mittels Fossomatic

Siehe 3.1.1.2 und 3.1.1.3.13.

3.1.2.14 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Osterkorn, Tierärztliche Fakultät der LMU München.

Zur Berechnung der statistischen Parameter wurden die Werte in der logarithmischen Form verwendet. Die in den Tabellen und Grafiken dargestellten Zahlen sind delogarithmierte, gerundete Werte. Bei sämtlichen im Text angegebenen Mittelwerten handelt es sich - soweit nicht anders vermerkt - um geometrische Mittelwerte (\bar{x}_g).

Die untere Nachweisgrenze zur Bestimmung des Gehalts an *E. coli* und Coliformen mit dem MPN-Verfahren lag bei 3 Keimen/ ml; bei der Bestimmung der Keimzahl, den gramnegativen Keimen, den koagulasepositiven Staphylokokken, *B. cereus*, Listerien und Pseudomonaden betrug die untere Nachweisgrenze 100 Keime/ ml. Ergebnisse unter den Nachweisgrenzen wurden mit der halben unteren Nachweisgrenzen in die Berechnungen einbezogen.

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Bestimmung der Keimzahlen der Tankmilch

3.2.1.1 Überblick über alle Betriebe

Für die 154 Tankmilchproben ergab sich ein geometrischer Mittelwert von $3,5 \times 10^4$ Keimen/ml (Tab. 3.4). Dieser lag unter den in der Anlage 4 der MilchV bestimmten Grenzwerten für rohe Ziegenmilch zur Herstellung von Rohmilcherzeugnissen (≤ 500.000 Keime/ml) und für rohe Ziegenmilch zur Herstellung von wärmebehandelter Konsumziegenmilch oder wärmebehandelter Erzeugnisse auf Ziegenmilchbasis ($\leq 1.500.000$ Keime/ml).

Tabelle 3.4: Keimzahlen/ml der Tankmilchproben

n (pos)	\bar{x}_g	s	min	max
154 (154)	$3,5 \times 10^4$	$8,3 \times 10^3 - 1,5 \times 10^5$	$1,9 \times 10^3$	$6,2 \times 10^6$

n: Anzahl der Proben; (pos): davon positiv

\bar{x}_g : Geometrisches Mittel

s: Streubereich

min: Minimalwert

max: Maximalwert

96 % aller Proben hatten ein Keimzahl ≤ 500.000 Keime/ml und 98 % der Tankmilchproben wiesen eine Keimzahl $\leq 1.500.000$ Keime/ml auf.

3.2.1.2 Keimzahlen der Tankmilch der Einzelbetriebe

Die Keimzahlen der einzelnen Betriebe lagen bei jedem Betrieb im geometrischen Mittel unter 500.000 Keimen/ml (Tab. 3.5). Die Betriebe B und C überschritten diesen Grenzwert in einer, Betrieb E in zwei und Betrieb H in drei Proben. Die Betriebe C, E und H wiesen jeweils eine Tankmilchprobe mit einer Keimzahl $\geq 1.500.000$ Keimen/ml auf.

Tabelle 3.5: Keimzahlen/ml der Tankmilchproben der einzelnen Betriebe

Betriebe	n (pos)	\bar{x}_g	s	min	max
A	21 (21)	$1,6 \times 10^4$	$6,3 \times 10^3 - 4,0 \times 10^4$	$1,9 \times 10^3$	$1,8 \times 10^5$
B	17 (17)	$5,1 \times 10^4$	$1,9 \times 10^4 - 1,4 \times 10^5$	$1,4 \times 10^4$	$5,8 \times 10^5$
C	19 (19)	$3,5 \times 10^4$	$5,9 \times 10^3 - 2,1 \times 10^5$	$5,5 \times 10^3$	$6,0 \times 10^6$
D	22 (22)	$9,7 \times 10^3$	$3,0 \times 10^3 - 3,1 \times 10^4$	$2,1 \times 10^3$	$4,7 \times 10^5$

Betriebe	n (pos)	\bar{x}_g	s	min	max
E	17 (17)	$8,8 \times 10^4$	$2,2 \times 10^4 - 3,5 \times 10^5$	$9,2 \times 10^3$	$1,0 \times 10^6$
F	21 (21)	$3,2 \times 10^4$	$1,2 \times 10^4 - 8,5 \times 10^4$	$9,3 \times 10^3$	$2,7 \times 10^5$
G	20 (20)	$3,9 \times 10^4$	$1,7 \times 10^4 - 9,1 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$	$1,9 \times 10^5$
H	17 (17)	$1,5 \times 10^5$	$3,3 \times 10^4 - 6,7 \times 10^5$	$2,0 \times 10^4$	$6,2 \times 10^6$

Abkürzungen s. Tab. 3.4

3.2.1.3 Korrelationen der Keimzahlen mit den Coliformenzahlen und der Zellzahl

Eine Korrelation ($p < 0,001$) konnte zwischen der Keimzahl und der mit Fossomatic 5000 bestimmten somatischen Zellzahl in Ziegenmilch nachgewiesen werden. Ebenso bestand eine Korrelation ($p < 0,001$) zwischen der Keimzahl und dem Gehalt an coliformen Keimen (Tab. 3.6).

Tabelle 3.6: Korrelationskoeffizienten in Ziegenmilch ($p < 0,001$)

	Coliforme	Zellzahl (Fossomatic)
Keimzahl	0,48	0,36

3.2.2 Bestimmung der Zahl der gramnegativen Keime der Tankmilch

3.2.2.1 Überblick über alle Betriebe

In 88 % ($n = 136$) der 154 Tankmilchproben konnten gramnegative Keime nachgewiesen werden. Das geometrische Mittel aus allen Tankmilchproben betrug $5,3 \times 10^3$ Keime/ml (Tab. 3.7).

Tabelle 3.7: Zahlen gramnegativer Keime/ml der Tankmilchproben

n (pos)	\bar{x}_g	s	min	max
154 (136)	$5,3 \times 10^3$	$5,9 \times 10^2 - 6,8 \times 10^4$	< 100	$3,8 \times 10^6$

Abkürzungen s. Tab. 3.4

3.2.2.2 Zahlen der gramnegativen Keime der Tankmilch der Einzelbetriebe

In zwei Betrieben (E und H) fanden sich im geometrischen Mittel mehr als $2,0 \times 10^4$ gramnegative Keime/ml der Tankmilchproben (Tab. 3.8).

Tabelle 3.8: Zahlen gramnegativer Keime/ml der Tankmilchproben der einzelnen Betriebe

Betriebe	n (pos)	\bar{x}_g	s	min	max
A	21 (16)	$1,5 \times 10^3$	$2,0 \times 10^2 - 1,1 \times 10^4$	< 100	$1,7 \times 10^4$
B	17 (17)	$1,6 \times 10^4$	$4,5 \times 10^3 - 5,8 \times 10^4$	$2,2 \times 10^3$	$3,1 \times 10^5$
C	19 (17)	$6,8 \times 10^3$	$4,7 \times 10^2 - 9,6 \times 10^4$	< 100	$3,6 \times 10^6$
D	22 (15)	$9,9 \times 10^2$	89,0 - $1,1 \times 10^4$	< 100	$3,1 \times 10^5$
E	17 (17)	$3,0 \times 10^4$	$5,3 \times 10^3 - 1,7 \times 10^5$	$1,2 \times 10^3$	$6,0 \times 10^5$
F	21 (20)	$7,5 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3 - 4,0 \times 10^4$	< 100	$1,9 \times 10^5$
G	20 (19)	$5,9 \times 10^3$	$1,2 \times 10^3 - 3,0 \times 10^4$	< 100	$6,5 \times 10^4$
H	17 (15)	$2,9 \times 10^4$	$1,6 \times 10^3 - 5,4 \times 10^5$	< 100	$3,8 \times 10^6$

Abkürzungen s. Tab. 3.4

Bei Betrieb A wies keine der Proben mehr als $2,0 \times 10^4$ gramnegative Keime/ml auf. Die Verteilung an gramnegativen Keimen $\geq 2,0 \times 10^4$ /ml in den einzelnen Betrieben zeigt Tab. 3.9.

Tabelle 3.9: Anteil der Tankmilchproben in % mit gramnegativen Keimen $\geq 2,0 \times 10^4$ /ml

Betriebe:	A	B	C	D	E	F	G	H
%	-	53	26	9	65	19	30	77

3.2.2.3 Anteil der gramnegativen Keime an der Keimzahl

Beim Vergleich der geometrischen Mittel der Keimzahlen und der Zahlen der gramnegativen Keime in den 154 Tankmilchproben betrug der Anteil an gramnegativen Keimen an der Keimzahl 15 % (Tab. 3.10). Die Ergebnisse der einzelnen Betriebe finden sich ebenfalls in Tab. 3.10.

Tabelle 3.10: Prozentualer Anteil der gramnegativen Keime an der Keimzahl

Betrieb:	A	B	C	D	E	F	G	H	gesamt
%	9	31	19	10	34	24	15	20	15

3.2.3 Bestimmung der Zahl der koagulasepositiven Staphylokokken der Tankmilch

3.2.3.1 Überblick über alle Betriebe

In 18 % (n = 27) der 154 Tankmilchproben wurden KPS nachgewiesen. Das geometrische Mittel aller Tankmilchproben betrug $1,2 \times 10^2$ Keime/ml (Tab. 3.11). Damit lag dieser Wert unter dem in der Anlage 4 der MilchV vorgeschriebenen Schwellenwert von $m = 500$ Keime/ml.

Tabelle 3.11: Zahl der KPS/ml der Tankmilchproben

n (pos)	\bar{x}_g	s	min	max
154 (27)	$1,2 \times 10^2$	17,0 - $8,7 \times 10^2$	< 100	$2,8 \times 10^5$

Abkürzungen s. Tab. 3.4

126 Tankmilchproben wiesen weniger als 500 KPS/ml auf, fünf Proben lagen zwischen 500 und 2.000 KPS/ml, 23 Proben überschritten den in Anlage 4 der MilchV genannten Grenzwert von 2.000 KPS/ml.

3.2.3.2 Zahlen der koagulasepositiven Staphylokokken der Tankmilch der Einzelbetriebe

Der Gehalt an KPS lag bei sieben der acht Betriebe im geometrischen Mittel unter 500 Keimen/ml. Nur Betrieb G überschritt diesen Wert. (Tab. 3.12)

Tabelle 3.12: Zahl der KPS/ml der Tankmilchproben der einzelnen Betriebe

Betriebe	n (pos)	\bar{x}_g	s	min	max
A	21 (2)	71,0	23,0 - $2,2 \times 10^2$	< 100	$4,1 \times 10^3$
B	17 (3)	$1,1 \times 10^2$	18,0 - $7,3 \times 10^2$	< 100	$1,9 \times 10^4$

Betriebe	n (pos)	\bar{x}_g	s	min	max
C	19 (1)	66,0	19,0 - 2,3 x 10 ³	< 100	1,1 x 10 ⁴
D	22 (1)	64,0	20,0 - 2,1 x 10 ²	< 100	1,2 x 10 ⁴
E	17 (7)	3,3 x 10 ²	31,0 - 3,5 x 10 ³	< 100	9,2 x 10 ³
F	21 (2)	1,1 x 10 ²	9,0 - 1,4 x 10 ³	< 100	2,8 x 10 ⁵
G	20 (9)	5,6 x 10 ²	40,0 - 7,7 x 10 ³	< 100	8,1 x 10 ⁴
H	17 (2)	76,0	23,0 - 2,5 x 10 ²	< 100	3,2 x 10 ³

Abkürzungen s. Tab. 3.4

Tab. 3.13 zeigt, ob und ggf. wie viele Proben der einzelnen Betriebe den gesetzlichen Schwellenwert $m = 500$ Keime/ml bzw. den gesetzlichen Grenzwert $M = 2.000$ Keime/ml überschritten (MilchV, Anlage 4).

Tabelle 3.13 : Zahl der Überschreitungen des gesetzlichen Schwellen- bzw. Grenzwertes bei den einzelnen Betrieben

KPS/ml	Betrieb (Anzahl der Proben)							
	A (21)	B (17)	C (19)	D (22)	E (17)	F (21)	G (20)	H (17)
≤ 500	19	14	18	21	10	19	10	15
> 500 - 2.000	-	-	-	-	1	-	3	1
> 2.000	2	3	1	1	6	2	7	1

3.2.4 Bestimmung der Zahlen von *Bacillus cereus* der Tankmilch

In allen 154 Tankmilchproben lag der Gehalt an *B. cereus* unter 100 Keimen/ml.

3.2.5 Bestimmung der Zahlen von Coliformen, *Escherichia coli* und verotoxinbildenden *Escherichia coli* der Tankmilch

3.2.5.1 Überblick über alle Betriebe

In 68 % ($n = 104$) der 154 Tankmilchproben wurden coliforme Keime nachgewiesen. Der geometrische Mittelwert aller Tankmilchproben betrug 15,0 Keime/ml. *E. coli* wurden aus 32 % ($n = 49$) der 154 Tankmilchproben isoliert. Das geometrische Mittel aller Proben lag

bei 3,0 Keimen/ ml. (Tab. 3.14)

Tabelle 3.14: Zahl der Coliformen/ml und von *E. coli*/ml der Tankmilchproben

	n (pos)	\bar{x}_g	s	min	max
Coliforme	154 (104)	15,0	1,0 - 1,7 x 10 ²	< 3	1,1 x 10 ⁴
<i>E. coli</i>	154 (49)	3,0	1,0 - 9,0	< 3	9,3 x 10 ²

Abkürzungen s. Tab. 3.4

Bei 123 der 154 Milchproben wurden weniger als 1,0 x 10² coliforme Keime/ml nachgewiesen. Zwei Tankmilchproben aus zwei verschiedenen Betrieben (C und E) hatten mehr als 5,0 x 10³ coliforme Keime/ml.

148 der 154 Tankmilchproben wiesen weniger als 50,0 *E. coli*/ml auf. Bei vier Milchproben (zwei von Betrieb A und jeweils eine von den Betrieben E und H) betrug der Gehalt an *E. coli*/ml mehr als 1,0 x 10² Keime/ml.

3.2.5.2 Zahl der Coliformen der Tankmilch der Einzelbetriebe

Bei Betrieb H überstieg der Gehalt an coliformen Keimen im geometrischen Mittelwert 50,0 Keime/ml und bei Betrieb E wurden mehr als 2,0 x 10² Keime/ml im geometrischen Mittel gefunden (Tab. 3.15). Die Betriebe B und D hatten in keiner ihrer Proben mehr als 1,0 x 10² Keime/ml.

Tabelle 3.15: Zahl der Coliformen/ml der Tankmilchproben der einzelnen Betriebe

Betriebe	n (pos)	\bar{x}_g	s	min	max
A	21 (19)	23,0	4,0 - 1,3 x 10 ²	< 3	1,5 x 10 ³
B	17 (7)	4,0	1,0 - 12,0	< 3	43,0
C	19 (10)	9,0	1,0 - 1 x 10 ²	< 3	1,1 x 10 ⁴
D	22 (5)	2,0	1,0 - 6,0	< 3	43,0
E	17 (15)	2,1 x 10 ²	13,0 - 3,3 x 10 ³	< 3	1,1 x 10 ⁴
F	21 (18)	30,0	2,0 - 3,7 x 10 ²	< 3	4,6 x 10 ³
G	20 (15)	7,0	2,0 - 22,0	< 3	23,0

Betriebe	n (pos)	\bar{x}_g	s	min	max
H	17 (15)	67,0	4,0 - 1,1 x 10 ³	< 3	4,6 x 10 ³

Abkürzungen s. Tab. 3.4

3.2.5.3 Zahlen der *E. coli* der Tankmilch der Einzelbetriebe

Lediglich bei Betrieb E wurden im geometrischen Mittel 10,0 Keime/ml nachgewiesen. Alle anderen Betriebe hatten über das Versuchsjahr weniger als 10,0 Keime/ml in ihren Tankmilchproben (Tab. 3.16).

Tabelle 3.16: Zahlen der *E. coli*/ml der Tankmilch der einzelnen Betriebe

Betriebe	n (pos)	\bar{x}_g	s	min	max
A	21 (9)	5,0	1,0 - 28,0	< 3	9,3 x 10 ²
B	17 (4)	2,0	1,0 - 3,0	< 3	4,0
C	19 (5)	2,0	1,0 - 4,0	< 3	9,0
D	22 (2)	2,0	1,0- 4,0	< 3	43,0
E	17 (13)	10,0	2,0 - 41,0	< 3	1,5 x 10 ²
F	21 (3)	2,0	1,0 - 2,0	< 3	4,0
G	20 (7)	2,0	1,0- 5,0	< 3	21,0
H	17 (6)	4,0	1,0 - 21,0	< 3	2,1 x 10 ²

Abkürzungen s. Tab. 3.4

3.2.5.4 Vorkommen von verotoxinbildenden *E. coli*

Der Nachweis von verotoxinbildenden *E. coli* erfolgte mit ELISA und PCR. Beide Untersuchungsverfahren zeigten bei sechs von 154 Tankmilchproben ein positives Ergebnis. Drei dieser Proben wurden bei Betrieb D und jeweils eine Probe bei Betrieb A, Betrieb B und Betrieb C gefunden (Tab. 3.17).

Bei neun der 154 Tankmilchproben zeigte nur der genotypische Nachweis ein positives Ergebnis. Dies war dreimal bei Betrieb H, jeweils zweimal bei den Betrieben A und E und jeweils einmal bei den Betrieben D und F der Fall (Tab. 3.17).

Tabelle 3.17: Vorkommen von verotoxinbildenden *E. coli*

	Probenanzahl	Anteil an Gesamtproben in % (100 = 154)	Betriebsanzahl
ELISA positiv/ PCR positiv	6	3,9	4
ELISA negativ/ PCR positiv	9	5,8	5

3.2.6 Vorkommen von Listerien in der Tankmilch

In den 154 untersuchten Tankmilchproben wurde in 25 ml keinmal *L. monocytogenes* nachgewiesen. *L. innocua* wurde bei Betrieb C in einer von 19 Tankmilchproben gefunden.

3.2.7 Vorkommen von Salmonellen in der Tankmilch

Aus keiner der 154 untersuchten Tankmilchproben konnten Salmonellen isoliert werden, was den Anforderungen der Anlage 4 der MilchV gerecht wird.

3.2.8 Bestimmung der Zahl der Pseudomonaden der Tankmilch

3.2.8.1 Überblick über alle Betriebe

Pseudomonas spp. wurden in 34 % (n = 53) der 154 Tankmilchproben nachgewiesen. Das geometrische Mittel betrug $3,2 \times 10^2$ Keime/ ml (Tab. 3.18).

Tabelle 3.18: Zahlen der Pseudomonaden/ml der Tankmilchproben

n (pos)	\bar{x}_g	s	min	max
154 (53)	$3,2 \times 10^2$	11,0 - $8,8 \times 10^3$	< 100	$9,5 \times 10^6$

Abkürzungen s. Tab. 3.4

19 % der Proben hatten mehr als $1,0 \times 10^3$ Keime/ml und 16 % mehr als $1,0 \times 10^4$ Keime/ml.

3.2.8.2 Zahlen der Pseudomonaden der Tankmilch der Einzelbetriebe

Bei allen Betrieben konnten Pseudomonaden isoliert werden (Tab. 3.19).

Tabelle 3.19: Zahlen der Pseudomonaden/ml der Tankmilch der einzelnen Betriebe

Betriebe	n (pos)	\bar{x}_g	s	min	max
A	21 (1)	62,0	23,0 - 1,7 x 10 ²	< 100	5,4 x 10 ³
B	17 (5)	2,4 x 10 ²	19,0 - 3,0 x 10 ³	< 100	2,7 x 10 ⁴
C	19 (1)	69,0	17,0 - 2,8 x 10 ²	< 100	2,2 x 10 ⁴
D	22 (3)	91,0	18,0 - 5,0 x 10 ²	< 100	1,7 x 10 ⁴
E	17 (10)	1,1 x 10 ³	52,0 - 2,1 x 10 ⁴	< 100	1,2 x 10 ⁵
F	21 (12)	1,0 x 10 ³	57,0 - 1,8 x 10 ⁴	< 100	3,4 x 10 ⁵
G	20 (6)	1,7 x 10 ²	21,0 - 1,5 x 10 ³	< 100	7,1 x 10 ⁴
H	17 (15)	1,2 x 10 ⁴	6,3 x 10 ² - 2,4 x 10 ⁵	< 100	9,5 x 10 ⁶

Abkürzungen s. Tab. 3.4

Bei den Betrieben A, B, C, D und G lag in weniger als 50 % der Proben der Gehalt an Pseudomonaden über der Nachweisgrenze (≥ 100 Keimen/ml). Betrieb H wies in 88 % der Proben einen Gehalt an Pseudomonaden > 100 Keime/ml auf; davon wurden bei 8 % *Pseudomonas* spp. in einer Höhe von mehr als $1,0 \times 10^4$ Keimen/ml isoliert. (Tab. 3.20).

Tabelle 3.20: Tankmilchproben, in denen Pseudomonaden nachgewiesen wurden

Betriebe:	A	B	C	D	E	F	G	H
Probenanzahl	21	17	19	22	17	21	20	17
≥ 1.000 Keime/ ml (%)	5	18	-	9	29	29	25	41
≥ 10.000 Keime/ ml (%)	-	12	5	1	5	6	1	8

3.2.9 Potentiell euterpathogene Keime in Hälftegemelksproben

3.2.9.1 Vorkommen von potentiell euterpathogenen Keimen

Hälftegemelksproben wurden als in bakteriologischer Hinsicht unauffällig (ohne Befund) beurteilt, wenn weniger als drei morphologisch ähnliche Kolonien auf dem Blutagar wuchsen. Bei den insgesamt untersuchten 1.356 Hälftegemelksproben waren demnach 926 Proben (68,3 %) ohne Befund. Bei den positiven Proben konnten am häufigsten koagulasenegative Staphylokokken (KNS) nachgewiesen werden. Von den klassischen Mastitiserregern

wurden in drei Hälftengemelken *S. dysgalactiae* und in 39 *S. aureus* gefunden. Eine Zusammenstellung der bakteriologischen Befunde über den gesamten Untersuchungszeitraum findet sich in Tab. 3.21. Vor allem KNS persistierten in den Euterhälften. Auch konnten diese im Vergleich zu den anderen Keimen am häufigsten in beiden Euterhälften eines Tieres nachgewiesen werden.

Tabelle 3.21: Vorkommen potentieller Mastitiserreger in Hälftengemelksproben

Bakteriologischer Befund	n (%)	Euterhälften¹	Euter²
Staphylokokken:			
KNS ³	104 (23,0)	16	3
<i>S. epidermidis</i>	117 (25,9)	16	4
<i>S. aureus</i>	39 (8,6)	3	-
<i>S. caprae</i>	35 (7,7)	4	1
<i>S. simulans</i>	23 (5,1)	2	1
<i>S. saprophyticus</i>	19 (4,2)	4	1
<i>S. xylosus</i>	14 (3,1)	-	-
<i>S. capitis</i>	7 (1,5)	4	1
<i>S. lentus</i>	5 (1,1)	-	-
<i>S. hominis</i>	4 (0,9)	-	-
<i>S. hyicus</i>	4 (0,9)	-	-
<i>S. intermedius</i>	1 (0,2)	-	-
<i>S. chromogenes</i>	1 (0,2)	-	-
Streptokokken:			
<i>S. suis</i>	26 (5,8)	3	1
<i>S. bovis</i>	8 (1,8)	2	1
<i>Streptococcus</i> spp. ⁴	7 (1,5)	1	-
<i>S. dysgalactiae</i>	3 (0,7)	1	-
andere:			
<i>Aerococcus viridans</i>	15 (3,3)	1	-
<i>Micrococcus</i> spp.	10 (2,2)	-	-
<i>Lactococcus</i> spp.	6 (1,3)	-	-
<i>Enterococcus faecium</i>	3 (0,7)	1	-
<i>Bacillus</i> spp.	1 (0,2)	-	-

n: Gesamtzahl der positiven Befunde

¹: Anzahl der Euterhälften, aus denen mindestens dreimal im Untersuchungszeitraum von einem Jahr die in Spalte 1 genannten Keime isoliert werden konnten

²: Anzahl der Euter, aus deren beiden Hälften mindestens dreimal im Untersuchungszeitraum von einem Jahr die in Spalte 1 genannten Keime isoliert werden konnten

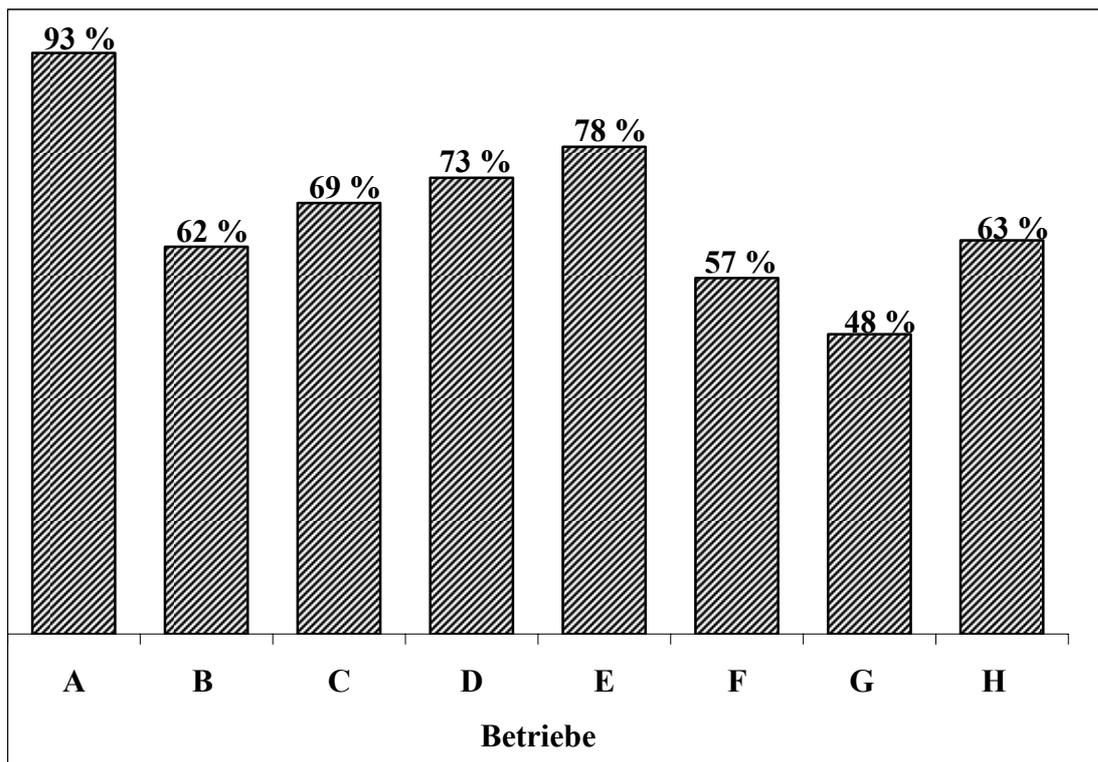
³: mit API Staph nicht eindeutig identifizierbare koagulase negative Staphylokokken

⁴: mit API Strep nicht eindeutig identifizierbare Streptokokken

3.2.9.2 Überblick über alle Betriebe

Bei sieben Betrieben waren die Hälftengemelksproben in bis zu 93 % der Fälle ohne bakteriologischen Befund, während in 52 % der in Betrieb G untersuchten Hälftengemelke potentiell euterpathogene Keime nachgewiesen werden konnten. (Abb. 3.1)

Abbildung 3.1: Hälftengemelksproben der einzelnen Betriebe ohne bakteriologischen Befund



3.2.9.3 Einteilung der Befunde hinsichtlich der Bedeutung der Isolate als potentielle Mastitiserreger

Von insgesamt 40 untersuchten Ziegen konnten bei 16 Tieren im Untersuchungszeitraum in beiden Euterhälften weniger als dreimal Euterpathogene in den Hälftengemelksproben nachgewiesen werden (Tab. 3.22). Demnach waren bei 40 % der untersuchten Tiere die Euter ohne bakteriologischen Befund. Von 80 untersuchten Euterhälften waren 42 (53 %) im Untersuchungszeitraum ohne bakteriologischen Befund. *S. aureus* und *S. dysgalactiae* als klassische Erreger von Euterentzündungen ("major pathogens") wurden bei vier Ziegen aus vier verschiedenen Betrieben (E, F, G, H) mehr als zweimal im Jahr isoliert (Tab. 3.22). Zwei dieser Ziegen waren in der fünften, eine in der sechsten und eine in der ersten Laktation. Bei allen vier Tieren waren die "major pathogens" in nur einer Euterhälfte nachweisbar, wobei

bei drei Tieren aus der jeweils anderen Euterhälfte KNS oder andere *Streptococcus* spp. ("minor pathogens") isoliert wurden. Ziegen mit "minor pathogens" in ihren Milchproben waren in verschiedenen Laktationsstadien, und es trat keine vermehrte Häufung bestimmter Keime in bestimmten Altersgruppen auf.

Tabelle 3.22: Bakteriologisch negative Befunde und Vorkommen von "minor" und "major pathogens"

Kriterium	n	Hälften	Euter	
			(Befund in beiden Hälften)	(Befund in einer Hälfte)
Bakteriologisch negativ	926	42	16	10
"major pathogens" ¹	42	4	-	4
"minor pathogens" ²	387	32	11	10

n: Anzahl der Hälftengemelksproben

¹: *S. aureus* und *S. dysgalactiae*

²: KNS, *Micrococcus* spp. und *Streptococcus* spp. (außer *S. dysgalactiae*)

3.2.10 Bestimmung der somatischen Zellzahl

3.2.10.1 Überblick über alle Milchproben

Der sich aus den Zellgehaltsbestimmungen mit Fossomatic 5000 ergebende geometrische Mittelwert aller 1.510 Milchproben (Tankmilch- und Hälftengemelksproben) betrug $7,8 \times 10^5$ Zellen/ml. Bei den 154 Tankmilchproben lag der Mittelwert bei $8,7 \times 10^5$ Zellen/ml, bei den 1.356 Hälftengemelken bei $7,8 \times 10^5$ Zellen/ml. Im Vergleich dazu betrug die Zellzahl im geometrischen Mittel bei der Bestimmung mit der Pyronin Y-Methylgrün-Färbung bei 766 Tank- und Hälftengemelken $2,0 \times 10^5$ Zellen/ml, bei 73 Tankmilchproben $3,6 \times 10^5$ Zellen/ml und bei 693 Hälftengemelksproben $1,9 \times 10^5$ Zellen/ml. (Tab. 3.23) Zwischen diesen beiden Methoden zur Zellzahlbestimmung bestand keine signifikante Korrelation.

Tabelle 3.23: Vergleich der mit Fossomatic 5000 und Pyronin Y- Methylgrün-Färbung ermittelten Zellgehalten/ml

Probenmaterial	n	Fossomatic 5000			
		\bar{x}_g	s	min	max
Tankmilch	154	$8,7 \times 10^5$	$4,2 \times 10^5 - 1,7 \times 10^6$	$1,5 \times 10^5$	$1,0 \times 10^7$
Hälftengemelke	1.356	$7,8 \times 10^5$	$2,1 \times 10^5 - 2,9 \times 10^6$	$2,1 \times 10^4$	$2,6 \times 10^7$
gesamt	1.510	$7,8 \times 10^5$	$2,2 \times 10^5 - 2,8 \times 10^6$	$2,1 \times 10^4$	$2,6 \times 10^7$

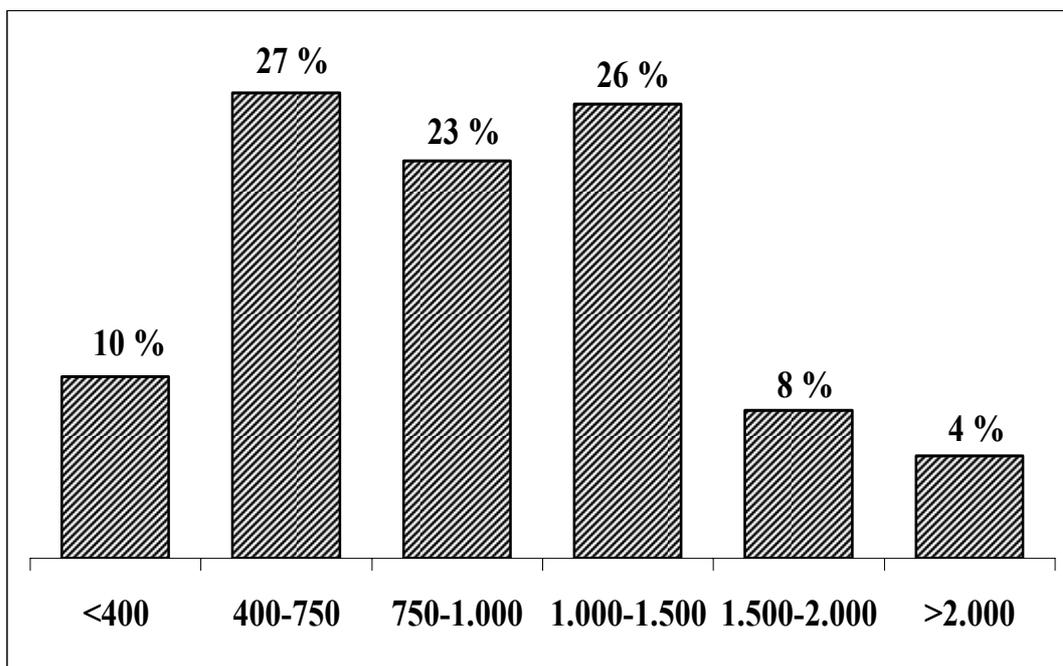
Pyronin Y-Methylgrün-Färbung					
Probenmaterial	n	\bar{x}_g	s	min	max
Tankmilch	73	$3,6 \times 10^5$	$1,1 \times 10^5 - 1,2 \times 10^6$	$6,4 \times 10^3$	$4,2 \times 10^6$
Hälftengemelke	693	$1,9 \times 10^5$	$1,4 \times 10^4 - 2,5 \times 10^6$	36,0	$4,5 \times 10^7$
gesamt	766	$2,0 \times 10^5$	$1,7 \times 10^4 - 2,4 \times 10^6$	36,0	$4,5 \times 10^7$

Abkürzungen s. Tab. 3.4

3.2.10.2 Zellgehalte der Proben (Tankmilch und Hälftengemelke) der Einzelbetriebe

60 % aller **Tankmilchproben** wiesen Zellzahlwerte unter $1,0 \times 10^6$ Zellen/ml auf (Abb. 3.2).

Abbildung 3.2: Verteilung der Zellzahlergebnisse (x 1.000) der 154 Tankmilchproben (Fossomatic 5000)



Im Jahresdurchschnitt der Gehalte an somatischen Zellen der **Hälftengemelke** von den jeweils fünf Ziegen der acht verschiedenen Betriebe zeigten sich erhebliche Unterschiede, die tendenziell durch die Zellzahlmittelwerte der Tankmilch bestätigt wurden (Tab. 3.24) Vier der Betriebe wiesen im Jahresverlauf durchschnittliche Zellzahlen in den Hälftengemelksproben von $< 1,0 \times 10^6$ Zellen/ml auf, während Betrieb E, F, G und H diesen Wert

überschritten. Bei den Betrieben G und H, zusätzlich noch bei Betrieb B, lag auch im Fall der Tankmilchproben der Zellgehalt deutlich über $1,0 \times 10^6$ Zellen/ml.

Tabelle 3.24: Zellgehalte/ml der Milchproben bestimmt mit Fossomatic 5000

Betriebe		n	\bar{x}_g	s	min	max
A	Tankmilch:	21	$6,3 \times 10^5$	$4,1 \times 10^5 - 9,8 \times 10^5$	$1,8 \times 10^5$	$1,1 \times 10^6$
	Hälftengemelke:	207	$3,8 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5 - 9,8 \times 10^5$	$3,3 \times 10^4$	$1,8 \times 10^7$
B	Tankmilch:	17	$1,2 \times 10^6$	$8,1 \times 10^5 - 1,8 \times 10^6$	$8,0 \times 10^5$	$4,8 \times 10^6$
	Hälftengemelke:	138	$7,7 \times 10^5$	$3,2 \times 10^5 - 1,9 \times 10^6$	$1,3 \times 10^5$	$5,9 \times 10^6$
C	Tankmilch:	19	$5,2 \times 10^5$	$2,3 \times 10^5 - 1,2 \times 10^6$	$1,5 \times 10^5$	$4,6 \times 10^6$
	Hälftengemelke:	188	$6,4 \times 10^5$	$1,9 \times 10^5 - 2,1 \times 10^6$	$2,9 \times 10^4$	$1,1 \times 10^7$
D	Tankmilch:	22	$5,4 \times 10^5$	$2,8 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$	$2,0 \times 10^5$	$2,4 \times 10^6$
	Hälftengemelke:	199	$4,1 \times 10^5$	$1,4 \times 10^5 - 1,2 \times 10^6$	$3,5 \times 10^4$	$1,8 \times 10^7$
E	Tankmilch:	17	$9,1 \times 10^5$	$6,3 \times 10^5 - 1,3 \times 10^6$	$4,8 \times 10^5$	$1,8 \times 10^6$
	Hälftengemelke:	128	$1,1 \times 10^6$	$2,4 \times 10^5 - 5,4 \times 10^6$	$3,3 \times 10^4$	$2,1 \times 10^7$
F	Tankmilch:	21	$7,4 \times 10^5$	$4,7 \times 10^5 - 1,2 \times 10^6$	$3,4 \times 10^5$	$1,7 \times 10^6$
	Hälftengemelke:	163	$1,0 \times 10^6$	$2,7 \times 10^5 - 4,1 \times 10^6$	$7,7 \times 10^4$	$2,6 \times 10^7$
G	Tankmilch:	20	$1,2 \times 10^6$	$9,6 \times 10^5 - 1,6 \times 10^6$	$7,4 \times 10^5$	$2,0 \times 10^6$
	Hälftengemelke:	178	$1,1 \times 10^6$	$3,3 \times 10^5 - 4,1 \times 10^6$	$2,1 \times 10^4$	$2,6 \times 10^7$
H	Tankmilch:	17	$1,8 \times 10^6$	$7,4 \times 10^5 - 4,4 \times 10^6$	$5,7 \times 10^5$	$1,0 \times 10^7$
	Hälftengemelke:	155	$2,0 \times 10^6$	$5,0 \times 10^5 - 7,7 \times 10^6$	$1,8 \times 10^5$	$2,4 \times 10^7$

Abkürzungen s. Tab. 3.4

3.2.10.3 Zuordnung der Zellzahlergebnisse (Fossomatic 5000) zum Ergebnis des SCHALM-Test

Bei allen Tankmilch- und Hälftengemelksproben wurde der SCHALM-Test (CMT) durchgeführt. Bei insgesamt 1.507 Milchproben wurde bei 26,5 % ($n = 399$) ein CMT-Wert von 0, bei 47,6 % ($n = 717$) ein CMT-Wert von 1, bei 15,5 % ($n = 234$) ein CMT-Wert von 2 und bei 10,4 % ($n = 157$) ein CMT-Wert von 3 ermittelt.

Im Vergleich der Ergebnisse des SCHALM-Tests mit den Zellzahlen aus der Bestimmung mit dem Fossomatic 5000 zeigte sich bei einem negativen CMT-Ergebnis im Mittel eine Zellzahl

von $2,2 \times 10^5$ Zellen/ml. Bei einem zweifach- oder dreifachpositiven CMT-Ergebnis war der geometrische Mittelwert $> 2,0 \times 10^6$ Zellen/ml (Tab.3.25)

Tabelle 3.25: CMT - Ergebnisse und die dazu ermittelte Zellzahl/ml (Fossomatic 5000)

CMT	Fossomatic 5000				
	n	\bar{x}_g	s	min	max
0	399	$2,2 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5 - 4,8 \times 10^5$	$2,1 \times 10^4$	$3,8 \times 10^6$
1	717	$7,3 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5 - 1,5 \times 10^6$	$4,0 \times 10^4$	$1,6 \times 10^7$
2	234	$2,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6 - 4,1 \times 10^6$	$3,5 \times 10^5$	$1,4 \times 10^7$
3	157	$6,4 \times 10^6$	$2,7 \times 10^6 - 1,5 \times 10^7$	$1,8 \times 10^5$	$2,6 \times 10^7$

Abkürzungen s. Tab. 3.4

3.2.10.4 Zusammenhänge zwischen Zellzahlen und Laktationszahl

Wie aus Tab. 3.26 hervorgeht, erhöhen sich die Mittelwerte der Zellgehalte mit zunehmender Laktationszahl. Ziegen ab der vierten Laktation hatten im Mittel eine Zellzahl von $> 1,0 \times 10^6$ /ml. Zu beachten ist, daß unter diesen Ziegen lediglich drei eutergesunde Tiere waren. Die beiden Tiere in der siebten Laktation hatten ähnliche Zellzahlmittelwerte wie die Ziegen der ersten drei Laktationszahlen. Zellgehalt und Laktationszahl waren positiv korreliert ($r = 0,21$; $p < 0,0001$).

Tabelle 3.26: Zellgehalte/ml in Abhängigkeit von der Laktationszahl

Laktationszahl	Proben	Tiere	eutergesunde Tiere	\bar{x}_g	s	min	max
1	224	6	2	$6,3 \times 10^5$	$1,8 \times 10^5 - 2,2 \times 10^6$	$2,1 \times 10^4$	$1,8 \times 10^7$
2	280	8	4	$5,0 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5 - 1,5 \times 10^6$	$3,5 \times 10^4$	$2,1 \times 10^7$
3	432	13	7	$6,8 \times 10^5$	$1,8 \times 10^5 - 2,5 \times 10^6$	$3,3 \times 10^4$	$2,6 \times 10^7$
4	58	2	0	$1,2 \times 10^6$	$3,2 \times 10^5 - 4,5 \times 10^6$	$1,3 \times 10^5$	$2,4 \times 10^7$
5	159	5	0	$1,8 \times 10^6$	$5,2 \times 10^5 - 6,5 \times 10^6$	$4,6 \times 10^4$	$2,6 \times 10^7$
6	127	4	2	$1,2 \times 10^6$	$3,6 \times 10^5 - 4,2 \times 10^6$	$8,1 \times 10^4$	$2,3 \times 10^7$
7	76	2	1	$7,0 \times 10^5$	$1,7 \times 10^5 - 2,8 \times 10^6$	$2,9 \times 10^4$	$1,1 \times 10^7$

Abkürzungen s. Tab. 3.4

3.2.11 Zusammenhänge zwischen Zellzahlen und mikrobiologischem Befund

Beim Vergleich der Zellzahlen mit dem Vorkommen von pathogenen Keimen im entsprechenden Euter wurde deutlich, daß die somatischen Zellzahlen im Mittel $> 2,0 \times 10^6/\text{ml}$ bei einem gleichzeitigen Vorkommen von *S. aureus* und *S. dysgalactiae* ("major pathogens") betragen. Beim Nachweis von *S. epidermidis*, *S. simulans*, *S. lentus*, *S. hyicus*, *Streptococcus* spp., *Aerococcus viridans*, *Lactococcus* spp. und *Enterococcus faecium* konnten Zellzahlmittelwerte von $> 1,0 \times 10^6$ Zellen/ml bestimmt werden (Tab. 3.27)

Tabelle 3.27: Nachgewiesene Keime und die entsprechenden Zellzahlen/ml (Fossomatic 5000)

	n	\bar{x}_g	s	min	max
Staphylokokken:					
KNS	104	$9,1 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5 - 2,4 \times 10^6$	$3,3 \times 10^4$	$1,6 \times 10^7$
<i>S. epidermidis</i>	117	$1,1 \times 10^6$	$4,2 \times 10^5 - 2,9 \times 10^6$	$8,3 \times 10^4$	$1,6 \times 10^7$
<i>S. aureus</i>	39	$2,7 \times 10^6$	$8,2 \times 10^5 - 8,9 \times 10^6$	$5,4 \times 10^4$	$1,8 \times 10^7$
<i>S. caprae</i>	35	$7,8 \times 10^5$	$3,0 \times 10^5 - 2,1 \times 10^6$	$6,4 \times 10^4$	$1,5 \times 10^7$
<i>S. simulans</i>	23	$1,4 \times 10^6$	$5,0 \times 10^5 - 3,7 \times 10^6$	$2,5 \times 10^5$	$1,8 \times 10^7$
<i>S. saprophyticus</i>	19	$5,6 \times 10^5$	$2,6 \times 10^5 - 1,2 \times 10^6$	$8,8 \times 10^4$	$1,4 \times 10^6$
<i>S. xylosus</i>	14	$9,6 \times 10^5$	$2,4 \times 10^5 - 3,8 \times 10^6$	$3,5 \times 10^4$	$7,3 \times 10^6$
<i>S. capitis</i>	7	$3,9 \times 10^5$	$1,8 \times 10^5 - 8,7 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$	$9,6 \times 10^5$
<i>S. lentus</i>	5	$1,1 \times 10^6$	$5,0 \times 10^5 - 3,7 \times 10^6$	$2,5 \times 10^5$	$1,8 \times 10^7$
<i>S. hominis</i>	4	$9,1 \times 10^5$	$5,5 \times 10^5 - 1,5 \times 10^6$	$5,5 \times 10^5$	$1,8 \times 10^6$
<i>S. hyicus</i>	4	$1,6 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6 - 1,9 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$	$1,7 \times 10^6$
<i>S. intermedius</i>	1	$1,2 \times 10^6$	-	-	-
<i>S. chromogenes</i>	1	$3,2 \times 10^6$	-	-	-
Streptokokken:					
<i>S. suis</i>	26	$7,9 \times 10^5$	$3,7 \times 10^5 - 1,7 \times 10^6$	$2,7 \times 10^5$	$8,9 \times 10^6$
<i>S. bovis</i>	8	$6,3 \times 10^5$	$4,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$	$3,2 \times 10^5$	$1,1 \times 10^6$
<i>Streptococcus</i> spp.	7	$1,8 \times 10^6$	$5,6 \times 10^5 - 5,9 \times 10^6$	$4,6 \times 10^5$	$8,7 \times 10^6$
<i>S. dysgalactiae</i>	3	$5,0 \times 10^6$	$2,7 \times 10^6 - 9,2 \times 10^6$	$2,9 \times 10^6$	$9,5 \times 10^6$

	n	\bar{x}_g	s	min	max
andere:					
<i>Aerococcus viridans</i>	15	$9,3 \times 10^5$	$3,7 \times 10^5 - 2,5 \times 10^6$	$2,9 \times 10^5$	$5,6 \times 10^6$
<i>Micrococcus</i> spp.	10	$6,2 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5 - 2,4 \times 10^6$	$1,8 \times 10^5$	$1,1 \times 10^7$
<i>Lactococcus</i> spp.	6	$4,3 \times 10^6$	$9,2 \times 10^5 - 2,0 \times 10^7$	$6,2 \times 10^5$	$2,1 \times 10^7$
<i>Enterococcus faecium</i>	3	$1,3 \times 10^6$	$6,3 \times 10^5 - 2,8 \times 10^6$	$6,2 \times 10^5$	$2,7 \times 10^6$
<i>Bacillus</i> spp.	1	$3,6 \times 10^5$	-	-	-

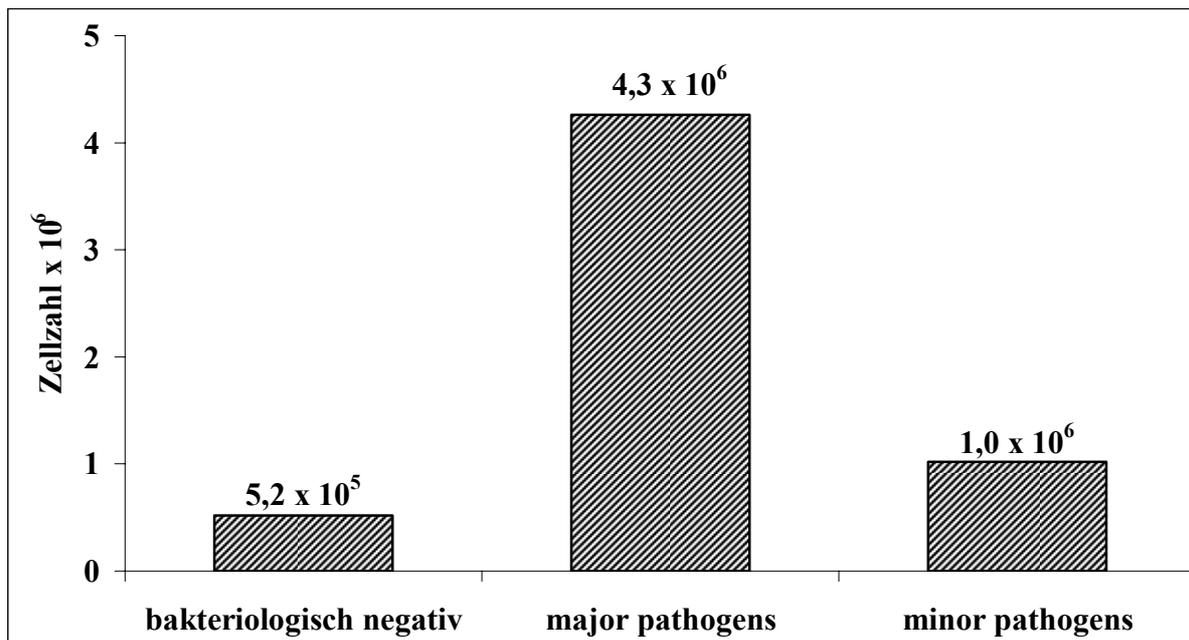
Abkürzungen s. Tab. 3.4

Bei Betrachtung der mikrobiellen Befunde der einzelnen Tiere über den Verlauf eines ganzen Jahres, wurde deutlich, daß die vier Ziegen, bei denen mehr als zweimal "major pathogens" (*S. dysgalactiae*, *S. aureus*) in jeweils einer Euterhälfte nachgewiesen worden waren, in dieser Hälfte einen Zellzahlmittelwert von $4,3 \times 10^6$ Zellen/ml aufwiesen. Die Zellzahl der 26 Tiere mit mindestens einer Euterhälfte, in der keine potentiellen Mastitiserreger nachgewiesen werden konnten, betrug dagegen im Mittel $5,2 \times 10^5$ Zellen/ml. Im Fall der 21 Tiere, bei denen "minor pathogens" (Streptokokken außer *S. dysgalactiae* oder KNS) in wenigstens einer Euterhälfte gefunden worden waren, betrug der geometrische Mittelwert der somatischen Zellzahl $1,0 \times 10^6$ Zellen/ml (Tab. 3.22, Tab. 3.28 und Abb. 3.3).

Tabelle 3.28: Zellzahlwerte/ml und der bakteriologische Befund bezogen auf die Euterhälfte und das ganze Jahr

Bakteriologischer Befund	n	\bar{x}_g	s	min	max
"minor pathogens"	599	$1,0 \times 10^6$	$3,3 \times 10^5 - 3,2 \times 10^6$	$2,1 \times 10^4$	$2,6 \times 10^7$
"major pathogens"	62	$4,3 \times 10^6$	$1,6 \times 10^6 - 1,2 \times 10^7$	$1,4 \times 10^5$	$2,4 \times 10^7$
bakteriologisch negativ	690	$5,2 \times 10^5$	$1,4 \times 10^5 - 1,9 \times 10^6$	$2,9 \times 10^4$	$2,4 \times 10^7$

Abkürzungen s. Tab. 3.4

Abbildung 3.3: Zellzahlen/ml in Abhängigkeit vom bakteriologischen Befund

Um zu ermitteln wie hoch die Zellzahlen bei eutergesunden Ziegen lagen, wurde aus den mit Fossomatic 5000 ermittelten Zellzahlen der 16 Tiere, bei denen in beiden Euterhälften keine Keime nachgewiesen worden waren (Tab. 3.22), der geometrische Mittelwert bestimmt. Dieser belief sich auf $5,5 \times 10^5$ Zellen/ml (Tab. 3.29)

Tabelle 3.29: Zellzahlmittelwerte/ml bei Tieren mit bakteriologisch negativem Euterbefund

	n	\bar{x}_g	s	min	max
Fossomatic 5000	533	$5,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5 - 2,0 \times 10^6$	$3,3 \times 10^4$	$2,1 \times 10^7$

Abkürzungen s. Tab. 3.4

3.2.12 Zusammenfassender Überblick über die Tankmilchproben der einzelnen Betriebe

In Tab. 3.30 findet sich eine Zusammenstellung der Zellzahlen, der mikrobiologischen Hygieneparameter sowie der gefundenen pathogenen Keime in der Tankmilch der einzelnen Betriebe.

4 Besprechung der Ergebnisse und Diskussion

Bisherige Untersuchungen geben keinen klaren Aufschluß darüber, ob die Bestimmung der somatischen Zellzahl in Ziegenmilch ein geeignetes Mittel ist, Aussagen zur Eutergesundheit zu treffen. Dementsprechend wurden z. B. in Anlage 4 der MilchV, anders als bei Kuh- und Büffelmilch, auch noch keine Grenzwerte festgelegt. Durch die vorliegenden Untersuchungen sollte ermittelt werden, ob es auch bei Ziegen einen Zusammenhang zwischen hoher somatischer Zellzahl, dem Vorkommen euterpathogener Keime und der Betriebshygiene (mikrobiologische Qualität der Milch) gibt.

Zu diesem Zweck wurde im Verlauf eines Jahres (Januar 2003 bis Januar 2004) Ziegenmilch aus acht südbayerischen Biolandbetrieben auf den Gehalt an somatischen Zellen und das Vorkommen euterpathogener Keime (Hälftengemelke) untersucht. Dabei wurden aus jedem Betrieb fünf klinisch gesunde, mastitisfreie Ziegen unterschiedlichen Alters und verschiedener Laktationsperioden ausgewählt, von denen in 14tägigem Abstand die Milchprobenahme erfolgte. Die Untersuchung der insgesamt 1.356 Hälftengemelke auf ihren Zellgehalt wurde direkt mittels fluoreszensoptischer (Fossomatic 5000) und mikroskopischer Zählung (Pyronin Y-Methylgrün-Färbung) sowie indirekt mittels California-Mastitis-Test (SCHALM-Test) vorgenommen. Der Nachweis euterpathogener Keime erfolgte auf Blut-Agar. Außerdem wurden, ebenfalls in 14tägigem Abstand, insgesamt 154 Tankmilchproben (Hofsammelmilch) gezogen und auf den Gehalt an somatischen Zellen sowie mikrobiologisch geprüft. Letztere Untersuchungen umfaßten die Bestimmung der Keimzahl und des Anteils gramnegativer Keime, die Bestimmung von *Escherichia coli*, Coliformen und Pseudomonaden sowie die Untersuchungen auf einige relevante pathogene Keime (Salmonellen, *Listeria monocytogenes*, koagulasepositive Staphylokokken, *Bacillus cereus* sowie verotoxinbildende *Escherichia coli*).

4.1 Mikrobiologische Qualität der Tankmilch (Hofsammelmilch)

Faßt man die Ergebnisse der **Keimzahlbestimmungen** aller 154 Tankmilchproben der acht in die Untersuchungen einbezogenen Betriebe zusammen, so ergibt sich ein geometrischer Mittelwert von $3,5 \times 10^4$ Keimen/ml (Tab.3.4). Dieser Wert liegt sowohl unter dem in Anlage 4 der MilchV geforderten Grenzwert für rohe Ziegenmilch zur Herstellung von Rohmilcherzeugnissen ($\leq 5,0 \times 10^5$ /ml), als auch unter dem für rohe Ziegenmilch zur Herstellung von wärmebehandelter Konsumziegenmilch oder wärmebehandelter Erzeugnisse auf Ziegen-

milchbasis. Der gefundene Wert deckt sich etwa mit den in Tab. 2.3 wiedergegebenen Ergebnissen anderer Untersucher an Tankmilchproben deutscher und italienischer Ziegenhaltungen. Über wesentlich niedrigere Keimgehalte berichten dagegen ZENG und ESCOBAR (1996) bei Untersuchungen in den USA (Tab. 2.3), wobei allerdings in Abhängigkeit von Rasse und Melktechnik Unterschiede zu registrieren waren. Zwischen den geometrischen Mittelwerten der einzelnen acht Betriebe waren nur geringe Abweichungen zu beobachten (Tab. 3.5). Den niedrigsten Minimalwert ($1,9 \times 10^3/\text{ml}$) wies Betrieb A, den höchsten Maximalwert ($6,2 \times 10^6/\text{ml}$) Betrieb H auf. Überschreitungen der in der MilchV geforderten Grenzwerte traten nur sporadisch bei der Hälfte der Betriebe auf (Betrieb B, C, E und H).

Im geometrischen Mittel betrug der Gehalt an **gramnegativen Keimen** in allen 154 Tankmilchproben aus den acht untersuchten Betrieben $5,3 \times 10^3$ Keime/ml (Tab. 3.7). Damit belief sich der Anteil an gramnegativen Keimen an der Keimzahl auf 15 % (Tab. 3.10). Bei der Betrachtung der Einzelbetriebe fiel auf, daß in den Tankmilchproben der Betriebe B und E stets gramnegative Keime nachweisbar waren (Tab. 3.8). Zusätzlich zu diesen beiden Betrieben hatte auch Betrieb H im geometrischen Mittel eine deutlich höhere Zahl an gramnegativen Keimen in der Tankmilch (Tab. 3.8). Bei den anderen Betrieben hingegen fanden sich zu über 50 % weniger als $2,0 \times 10^4$ gramnegative Keime/ml in den einzelnen Tankmilchproben (Tab. 3.9). Keiner der Betriebe hatte einen Anteil von gramnegativen Keimen an der Keimzahl von über 35 %. Den niedrigsten Anteil wiesen die Betriebe A und D auf (Tab. 3.10). Mit dem Anteil der gramnegativen Keime an der Keimzahl läßt sich eine sehr wesentliche Aussage über die hygienische Qualität der Tankmilch treffen. Die zu dieser Gruppe gehörenden Keime (siehe 2.2) können durch proteolytische und lipolytische Enzyme die Qualität und Haltbarkeit der Milch nachteilig beeinflussen, da diese zum Teil eine erhebliche Hitzeresistenz besitzen, daher, anders als die Keime selbst, bei der Wärmebehandlung nicht inaktiviert werden und auch bei Kühlungstemperaturen aktiv bleiben (CHAMPAGNE et al., 1994). Im Schrifttum konnten keine vergleichbaren Angaben zum Gehalt an gramnegativen Keimen in Ziegenmilch gefunden werden. Dort liegen lediglich Daten zum Vorkommen einzelner gramnegativer Keime, wie Coliforme, *E. coli* und Pseudomonaden, vor.

Der Gehalt an **coliformen Keimen** in den 154 Tankmilchproben aus den acht Betrieben betrug im geometrischen Mittel 15,0 Keime/ml (Tab. 3.14). Diese Indikatororganismen für eine unzureichende Hygiene bei der Erzeugung der Milch wurden in Deutschland von SCHNELLDHARDT (1998) mit $1,7 \times 10^2$ Keimen/ml und von FOSCHINO et al. (2002) in Italien mit $9,1 \times$

10^2 Keimen/ml in deutlich höheren Zahlen nachgewiesen. Bei den Ergebnissen von SCHNELLHARDT (1998) ist allerdings zu berücksichtigen, daß sich unter den in die Studie einbezogenen Betrieben auch solche mit kleinen, von Hand gemolkenen Herden befanden. Bei FOSCHINO et al. (2002) mangelte es in manchen Betrieben an einer sachgemäßen Kühlung der Tankmilchproben. Auch bei den eigenen Untersuchungen wurden trotz des recht niedrigen Durchschnittswertes in den Tankmilchproben einzelner Betriebe relativ hohe Coliformenzahlen von $1,5 \times 10^3$ /ml (Betrieb A), $1,1 \times 10^4$ /ml (Betrieb C), $1,1 \times 10^4$ /ml (Betrieb E) oder $4,6 \times 10^3$ /ml (Betriebe F und H) nachgewiesen (Tab. 3.15). Allerdings lag der geometrische Mittelwert der coliformen Keime/ml in den Tankmilchproben bei den Betrieben B, C, D und G unter 10,0 coliformen Keimen/ml und bei den Betrieben A und F unter 50 Keimen/ml. Besonders Betrieb E fiel durch die hohe Zahl an coliformen Keimen mit $2,1 \times 10^2$ Keimen/ml im geometrischen Mittel auf. In diesem Betrieb erhöhten sich ab Mai die Werte, was auf einen Fehler bei Reinigung der Melkanlage bzw. der Kühlung schließen läßt.

In 32 % der 154 Tankmilchproben wurde *E. coli* nachgewiesen. Der geometrische Mittelwert aus allen Tankmilchproben betrug 3,0 Keime/ml (Tab. 3.14) Das entspricht dem geometrischen Mittelwert von 2,9 Keimen/ml aus den Untersuchungen von italienischen Tankmilchproben (FOSCHINO et al., 2002) und ist niedriger als der Mittelwert (7,4 Keime/ml) aus 210 Tankmilchproben bei SCHNELLHARDT (1998). Bei den Tankmilchproben der Einzelbetriebe (eigene Untersuchungen) fanden sich im geometrischen Mittel $\leq 5,0$ Keime/ml (Tab. 3.16). Betrieb E wies mit 10,0 Keimen/ml den höchsten geometrischen Mittelwert auf, was sich wohl ebenfalls durch das im Mai aufgetretene Problem mit der Melkanlage erklären läßt.

Pseudomonas spp. wurden in 34 % der 154 Tankmilchproben nachgewiesen. Der geometrische Mittelwert aus allen Tankmilchproben betrug $3,2 \times 10^2$ Keime/ml (Tab. 3.18). Im Schrifttum fanden sich keine Angaben zum Vorkommen von Pseudomonaden in der Tankmilch von Ziegenhaltungen. KALOGRIDOU-VASSILIADOU (1991) und SANCHEZ et al. (2001) untersuchten Einzelgemelke und fanden dort deutlich weniger *Pseudomonas spp.* Das weist darauf hin, daß aufgrund unzureichender Hygiene der Melkgerätschaften und nicht etwa durch Mastitiden die Zahl an Pseudomonaden in der Milch bestimmt wird. Bei den Betrieben E, F und H ließen sich bei über 50 % ihrer Tankmilchproben Pseudomonaden nachweisen. Besonders Betrieb H fiel durch den hohen geometrischen Mittelwert von $1,2 \times 10^4$ Keimen/ml und den Maximalwert von $9,5 \times 10^6$ Keimen/ml auf. Trotz der unkonventionellen Reinigung der Melkanlage mit Pampelmuskernsäure (Tab. 3.2) in Betrieb A, hatte dieser

den niedrigsten geometrischen Mittelwert an Pseudomonaden/ml (Tab. 3.19).

In keiner der 154 Tankmilchproben wurde *L. monocytogenes* gefunden. Dies entspricht den Anforderungen an die hygienische Beschaffenheit von Ziegenmilch der Anlage 4 der MilchV (Tab. 2.2). Da in allen Betrieben auch Silage gefüttert wurde, und diese bekanntlich ein Hauptreservoir für Listerien im Erzeugerbetrieb darstellt (HUSU et al., 1990), läßt dieses Ergebnis auf effiziente Hygienemaßnahmen bei der Milchgewinnung schließen. Auch FOSCHINO et al. (2002) und MORGAN et al. (2003) fanden in Milchproben aus italienischen bzw. griechischen, französischen und portugiesischen Ziegenbetrieben keine *L. monocytogenes*. Von SCHNELLHARDT (1998) konnte in den Tankmilchproben eines Betriebes der Erreger mehrfach, von GAYA et al. (1996) in 2,6 % von 1.445 Tankmilchproben spanischer Ziegen und von ABOU-ELEININ et al. (2000) in 0,3 % von 450 Tankmilchproben amerikanischer Ziegenbetriebe *L. monocytogenes* nachgewiesen werden. SCHNELLHARDT (1998) führt ihre Ergebnisse auf unzureichende Hygienemaßnahmen in dem betreffenden Betrieb zurück, wodurch die Listerien persistieren konnten. GAYA et al. (1996) und ABOU-ELEININ et al. (2000) stellten deutlich höhere Zahlen von *L. monocytogenes* in den Winter- und Herbstmonaten fest. Sie erklären dies durch einen erhöhten Infektionsdruck infolge Stallhaltung und Silagefütterung in diesen Monaten.

Zum Nachweis von **verotoxinbildenden** *E. coli* in den Tankmilchproben wurde der Toxinnachweis mittels ELISA und der Toxingennachweis mittels PCR durchgeführt. In sechs Tankmilchproben aus vier verschiedenen Betrieben (A, B, C, D) wurde das Toxin mittels ELISA gefunden. Positive PCR-Ergebnisse bei negativem Toxinbefund, traten in neun Tankmilchproben aus fünf verschiedenen Betrieben (A, D, E, F, H) auf. Nach MUELHERR et al. (2003) waren in der Schweiz 16,3 % von 344 Tankmilchproben PCR-positiv; auf die Toxine selbst wurde nicht untersucht. In der vorliegenden Arbeit betrug der Anteil an PCR-positiven Tankmilchproben 5,8 % (Tab. 3.17). Laut Anlage 4 zur MilchV dürfen verotoxinbildende *E. coli* "nicht in Mengen vorhanden sein, die die Gesundheit der Verbraucher gefährden können". Dabei ergibt sich die Frage, in welchen Mengen verotoxinbildende *E. coli* vorhanden bzw. nicht vorhanden sein dürfen, da der Nachweis ohne eine Anreicherung nicht möglich ist und so auf den Ausgangskeimgehalt nicht mehr rückgeschlossen werden kann.

Aus keiner Tankmilchprobe wurden **Salmonellen** isoliert, was den gesetzlichen Anforderungen der Anlage 4 der MilchV entspricht. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der Untersuchungen von SCHNELLHARDT (1998), LITTLE und DE LOUVOIS (1999), FOSCHINO et al.

(2002) sowie MORGAN et al. (2003).

In 27 (18 %) von 154 Tankmilchproben ließen sich **koagulasepositive Staphylokokken (KPS)** nachweisen. In derselben Größenordnung isolierten HAHN et al. (1992) aus 69 Tankmilchproben verschiedener deutscher Ziegenherden KPS. Deutlich mehr dieser Keime fanden SCHNELLHARDT (1998) und FOSCHINO et al. (2002) in Tankmilchproben von deutschen bzw. italienischen Ziegenhaltungen (Tab. 2.5). Bei den eigenen Untersuchungen lag der geometrische Mittelwert der KPS in allen Tankmilchproben aus allen acht Betrieben bei $1,2 \times 10^2$ /ml und erfüllte somit die Anforderungen der Anlage 4 der MilchV (Tab. 3.11). Bei Betrachtung des Vorkommens von KPS in den Tankmilchproben der Einzelbetriebe fiel allerdings auf, daß bei allen Betrieben in mindestens einer Tankmilchprobe der gesetzliche Grenzwert von 2.000 KPS/ml überschritten wurde (Tab. 3.13). Insbesondere Proben der Betriebe E und G lagen über dem Grenzwert. Die Tankmilch des Betriebes G entsprach auch im geometrischen Mittel nicht den gesetzlichen Forderungen und lag mit $5,6 \times 10^2$ KPS/ml über dem festgelegten Schwellenwert von 500 KPS/ml. In diesem Betrieb wurde bei der Untersuchung der Hälf-tengemelke der fünf Ziegen ein Tier mit einem *S. aureus* infizierten Euter ermittelt, daß trotz Anraten nicht therapiert und in der Melkreihenfolge nicht hinten angestellt wurde. Deshalb ist zu vermuten, daß in diesem Betrieb auch bei anderen, nicht in die Untersuchungen einbezogenen Tieren Euterprobleme mit *S. aureus* vorkamen, die zu den hohen KPS-Zahlen in den Tankmilchproben führten. Die geometrischen Mittelwerte aus den Tankmilchproben der anderen Betriebe lagen alle unter dem gesetzlichen Schwellenwert von 500 KPS/ml (Tab. 3.12). In Anbetracht der Möglichkeit zur Bildung von Staphylokokkenenterotoxinen (SE) durch KPS ist eine möglichst geringe Zahl an KPS in roher Ziegenmilch anzustreben. VERNOZY-ROZAND et al. (1998) konnten in Untersuchungen mit künstlich kontaminierter Kesselmilch bei Keimzahlen von 10^5 und 10^6 *S. aureus*/ml SE in den daraus gefertigten Rohmilch-Ziegenkäsen nachweisen.

In keiner der untersuchten Tankmilchproben wurde *Bacillus cereus* gefunden. Dies entspricht den Ergebnissen von KALOGRIDOU-VASSILIADOU (1991) an griechischen Ziegenmilchproben.

Faßt man abschließend die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen der Tankmilch für die einzelnen Betriebe zusammen, so ergibt sich folgendes Bild:

Alle Proben von den Betrieben A, C und D hatten stets eine Keimzahl von weniger als

500.000 Keime/ml (Anlage 4 der MilchV), die übrigen Hygieneparameter lagen ebenfalls in niedrigen Bereichen. In Betrieb D wurden dreimal (zweimal im Mai und einmal im September) verotoxinbildende *E. coli* aus der Tankmilch isoliert. Besonders Betrieb H zeichnet sich im Vergleich zu den anderen untersuchten Betrieben durch höhere Werte hinsichtlich der Hygieneparameter aus. So ließen sich aus der Milch dieses Betriebes in 88 % der Proben Pseudomonaden in Zahlen von $> 100/\text{ml}$ isolieren, wohingegen bei den anderen Betrieben dieser Keim wesentlich seltener isoliert wurde (Tab. 3.19). Bei Betrieb E waren ab Mitte Mai die Hygieneparameter stets deutlich erhöht (Keimzahl $> 1,0 \times 10^5$ Keime/ml; stets Coliforme und *E. coli* nachweisbar). Dieser Betrieb wies auch den höchsten Anteil der gramnegativen Keime an der Keimzahl auf (34 %; Tab. 3.10). Bei Betrieb G fiel neben dem im geometrischen Mittel über $1,0 \times 10^6$ Zellen/ml liegenden Zellzahlwert das über dem gesetzlichen Schwellenwert (500 KPS/ml) liegende geometrische Mittel an KPS auf. In allen Proben wurden KPS nachgewiesen, wobei sich in sieben Proben mehr als 2.000 KPS/ml fanden (Tab. 3.13). Im Jahresüberblick wird ersichtlich, daß die geometrischen Mittelwerte der Keimzahlen der Betriebe, das Fehlen von Salmonellen und *L. monocytogenes* in den Tankmilchproben aller Betriebe den Anforderungen der MilchV (Tab. 2.2) entsprechen. Allerdings konnte in vier Betrieben (A, B, C, D) in mindestens einer Tankmilchprobe VTEC nachgewiesen werden. Laut MilchV (Tab. 2.2) wären die jeweiligen Proben nicht zur Herstellung von Rohmilcherzeugnissen geeignet (Tab. 3.30). Das geometrische Mittel von KPS/ml bei Betrieb G lag über dem in der MilchV (Tab. 2.2) geforderten Grenzwert. Bei den Betrieben B, E und H sind die Zahlen der Gramnegativen im Jahresmittel im Vergleich zu den anderen Betrieben höher. Bei diesen Betrieben besteht der Anteil der gramnegativen Keime hauptsächlich aus Pseudomonaden, wobei Betrieb E auch einen deutlich erhöhten Mittelwert an Coliformen/ml aufweist (Tab. 3.30).

4.2 Vorkommen von euterpathogenen Keimen

Der im Vergleich zu RYAN und GREENWOOD (1990), SANCHEZ et al. (2002) und LUENGO et al. (2004) (Tab. 2.8) hohe Anteil an bakteriologisch positiven Hälftegemelksproben (damit sind Hälftegemelke gemeint, aus denen potentiell euterpathogene Keime isoliert wurden) von 31,7 % erklärt sich unter anderem durch die ökologische Haltung der Ziegen. Ein Verbot des Zitzendippens und des antibiotischen Trockenstellens durch den Biolandverband kann, wie von POUTREL et al. (1997) und CONTRERAS et al. (1999) festgestellt, den Infektionsdruck innerhalb der Herde erhöhen. Des weiteren können die Keime kontinuierlich weiter übertra-

gen werden, da in diesen Herden die Ziegen nicht mehr gleichzeitig trockengestellt werden (MCDUGALL et al. 2002).

Die nach den vorliegenden Ergebnissen in den Hälftengemelken vorherrschenden Keime waren koagulasenegative Staphylokokken (KNS) (Tab. 3.21), die als sogenannte "minor pathogens" gelten (siehe 2.3). Auch DEINHOFER und PERNTHANER (1993); CONTRERAS et al. (1995), ZENG und ESCOBAR (1996), CONTRERAS et al. (1999), WHITE und HINCKLEY (1999) und FOSCHINO et al. (2002) isolierten aus klinisch unveränderten Ziegeneutern vornehmlich KNS (Tab. 2.7). Insgesamt ließen sich zwölf verschiedene *Staphylococcus* spp. und drei verschiedene *Streptococcus* spp. aus den Hälftengemelksproben isolieren. Wie auch von LEITNER et al. (2004) beobachtet, dominierten die Staphylokokkenspezies *S. epidermidis* und *S. caprae* (Tab. 3.21). Diese und auch die übrigen KNS wurden vor allem aus nur einer Euterhälfte isoliert (Tab. 3.21). So wurde z. B. *S. epidermidis* aus Proben von 16 Euterhälften isoliert, aber nur bei vier Ziegen in beiden Euterhälften gefunden. Auch bei der Einteilung der Befunde in "major" und "minor pathogens" in Tab. 3.22 wird ersichtlich, daß eine Euterinfektion mit "minor pathogens" bei nur elf Ziegen in beiden Euterhälften gefunden werden konnte, aber insgesamt 32 Euterhälften mehr als zwei dieser Keime im Jahr aufwiesen. Dies bestätigt die Aussage von RYAN und GREENWOOD (1990), CONTRERAS et al. (1995) und SANCHEZ et al. (1999), daß Euterentzündungen bei Ziegen hauptsächlich unilateral sind.

Von den "major pathogens" geltenden potentiellen Euterentzündungserregern (siehe 2.3) wurden in den eigenen Untersuchungen bei drei Tieren in jeweils einer Euterhälfte *S. aureus* und bei einer Ziege in einer Hälfte *S. dysgalactiae* gefunden. Die Euter der betreffenden Tieren zeigten zwar keine sichtbaren Entzündungssymptome, die Milch der betroffenen Euterhälften war allerdings adspektorisch deutlich verändert. DE BUYSER et al. (1987) und MENZIES und RAMANOON (2001) isolierten *S. aureus* ebenfalls hauptsächlich aus klinisch erkrankten Ziegeneutern.

Aus Abb. 3.1 wird ersichtlich, daß sechs der acht Betriebe einen Anteil an bakteriologisch negativen Proben (kein Nachweis potentiell euterpathogener Keime in den Hälftengemelksproben) von 50 - 80 % aufwiesen. Bei Betrieb A kamen besonders viele (93 %) und bei Betrieb G relativ wenige (48 %) bakteriologisch negative Hälftengemelksproben vor. In diesem Betrieb wurden bei allen fünf Ziegen sowohl "minor" (vier Tiere) als auch "major pathogens" (ein Tier) gefunden. Auffällig war, daß bestimmte Keime in dem jeweiligen Betrieb vermehrt gefunden wurden. Aufgeschlüsselt für die einzelnen Betriebe stellt sich dies wie

folgt dar:

Von den fünf auf Anwesenheit potentiell euterpathogener Keime untersuchten Ziegen aus Betrieb A waren die Proben von drei Tieren negativ, in den Proben von zwei Tieren wurden KNS (hauptsächlich *S. epidermidis*) nachgewiesen. Bei Betrieb B wurden aus den Proben von drei Tieren vor allem *S. epidermidis* und *S. caprae* isoliert. Auch in den Milchproben der drei bakteriologisch positiven Ziegen des Betriebes C wurden vornehmlich *S. caprae* gefunden. Bei Betrieb D waren drei Tiere ohne bakteriologischen Befund, bei zwei Ziegen wurden hauptsächlich *S. simulans* sowie mit dem verwendeten miniaturisierten Testsystem nicht eindeutig voneinander abgrenzbare KNS (*S. warneri* oder *S. saprophyticus*) isoliert. In Betrieb E befand sich eines der vier mit "major pathogens" infizierten Tiere (Tab. 3.22). Bei dieser Ziege wurde *S. aureus* nachgewiesen. Eine weitere Ziege hatte einen bakteriologisch positiven Euterbefund aufgrund des Vorkommens von *S. epidermidis*. Auch in Betrieb F fand sich in der Milchprobe eines Tieres hauptsächlich *S. aureus*. In den Milchproben von zwei weiteren Ziegen wurden vor allem *S. suis* und *A. viridans* festgestellt. Bei Betrieb G hatten alle fünf untersuchten Ziegen einen bakteriologisch positiven Befund, wobei die Milchproben von einer Ziege hauptsächlich *S. aureus* enthielten. Bei den anderen Tieren wurden vorwiegend *S. epidermidis* und nicht eindeutig voneinander abzugrenzende *S. warneri* oder *S. saprophyticus* (siehe Betrieb D) nachgewiesen. Bei einem Tier des Betriebs H wurde *S. dysgalactiae* isoliert. Drei andere Tiere enthielten in ihren Milchproben vornehmlich *S. epidermidis* und *A. viridans*.

Die extensive Haltung der Tiere und der daher seltenere Kontakt zu Keimen aus Dung und Mist könnten erklären, warum in keinem Fall gramnegative Keime in den Hälftegemelksproben nachgewiesen wurden (Tab. 3.21) (HARMON, 1994; PAAPE und CAPUCO, 1997; WHITE und HINCKLEY, 1999).

Tendenziell waren ältere Ziegen bei den eigenen Untersuchungen anfälliger für eine Euterinfektion mit "major pathogens" als jüngere, was auch MCDUGALL et al. (2002) registrieren konnten. So wurden bei einer Ziege aus der sechsten und zwei aus der fünften Laktation nur bei einer Ziege aus der ersten Laktation "major pathogens" isoliert. Es sollte allerdings berücksichtigt werden, daß diese Aussage auf der Beobachtung an nur vier Tieren basiert. Bei der Infektion der Euter mit "minor pathogens" konnten keine Altersunterschiede festgestellt werden, und eutergesunde Ziegen kamen ebenfalls bei allen Altersgruppen vor.

4.3 Höhe, Bestimmung und Aussagekraft der somatischen Zellzahl

Der Zellzahlmittelwert der **Tankmilchproben** ($n = 154$) von $8,7 \times 10^5$ Zellen/ml (Tab. 3.23) entspricht weitgehend den Ergebnissen aus Tankmilchuntersuchungen von SCHNELLDHARDT (1998), ZENG et al. (1996), FOSCHINO et al. (2002) (Tab. 2.12) und liegt unter dem häufig in der Literatur geforderten Grenzwert für Zellzahlen in der Tankmilch von $1,0 \times 10^6$ Zellen/ml (LERONDELLE und POUTREL, 1984; KALOGRIDOU-VASSILIADOU et al., 1992; PERRIN et al., 1996). Allerdings überstiegen die Zellzahlen von 40 % aller Tankmilchproben der Einzelbetriebe diesen Wert (Abb. 3.2). Auch überschritten drei der acht Betriebe (Betriebe B, G und H) im Jahresmittel die Zellzahl von $1,0 \times 10^6$ Zellen/ml und wurden somit dieser Anforderung nicht gerecht (Tab. 3.24, 3.30). Bei Betrieb H (Tab. 3.30) lag der Zellgehalt der Tankmilch im geometrischen Mittel über $1,0 \times 10^6$ Zellen/ml und die Werte der Keimzahlen, der gramnegativen Keime, der Coliformen sowie der Pseudomonaden, also aller hier geprüften Hygieneindikatoren, waren deutlich höher als bei den Betrieben mit Zellzahlen unter $1,0 \times 10^6$ Zellen/ml. Dies legt die Vermutung nahe, daß sich mangelnde Betriebshygiene nachteilig auf die Zellzahl in der Tankmilch auswirkt. Die zwar niedrige aber signifikante positive Korrelation ($r = 0,36$; Tab. 3.6) zwischen der Keimzahl und der Zellzahl in der Tankmilch bestätigt dies und stimmt mit den Ergebnissen aus Arbeiten von KALOGRIDOU-VASSILIADOU et al. (1992), DROKE et al. (1993), ZENG und ESCOBAR (1995), ZENG und ESCOBAR (1996) und SCHNELLDHARDT (1998) überein.

Das geometrische Mittel von $7,8 \times 10^5$ Zellen/ml aus den **Hälftengemelksproben** ($n = 1.356$) (Tab. 3.23) liegt geringfügig über den von ZENG et al. (1997) und LUENGO et al. (2004) ermittelten Zellzahlen aus Einzelgemelken (Tab. 2.12). Auch der von WENDT et al. (1994) geforderte Grenzwert für die Zellzahl von Hälftegemelken ($7,5 \times 10^5$ Zellen/ml) wird leicht überschritten. Die Zellzahlmittelwerte aus den Hälftegemelksproben der Betriebe E, F, G, und H bewegen sich mit Werten von $> 1,0 \times 10^6$ Zellen/ml deutlich über dem von WENDT et al. (1994) diskutierten Wert (Tab. 3.24). Der Mittelwert $7,8 \times 10^5$ Zellen/ml errechnet sich aus den Zellzahlwerten aller, also auch bakteriologisch positiver, Hälftegemelksproben, welche höhere Zellzahlen als bakteriologisch negative Euter aufwiesen (Tab. 3.28, 3.29). Beim Vorkommen von "major pathogens" (*S. aureus*, *S. dysgalactiae*; Tab. 3.27 und 3.28; Abb. 3.3) war die Zellzahl auf im Mittel $4,3 \times 10^6$ Zellen/ml erhöht. Ähnliche und auch höhere Zellzahlwerte fanden LERONDELLE et al. (1992), DEINHOFER und PERNTHANER (1993), BOSCO et al. (1996) und LUENGO et al. (2004) bei Infektionen mit derartigen Erregern (Tab.

2.6). Wurden "minor pathogens" (vor allem KNS) isoliert, so lag die Zellzahl im Mittel mit $1,0 \times 10^6$ Zellen/ml niedriger als beim Vorkommen von "major pathogens", war aber dennoch gegenüber dem Zellzahlmittelwert ($5,2 \times 10^5$ Zellen/ml) von nicht mit potentiell euterpathogenen Keimen belasteten Proben erhöht (Tab. 3.28; Abb. 3.3). Aufgrund der im Vergleich zu den anderen isolierten "minor pathogens" (Tab. 3.27) deutlich höheren Zellzahl ($> 1,0 \times 10^6$ Zellen/ml) beim Nachweis von *S. epidermidis* und *S. simulans*, könnte, wie von DULIN et al. (1983), HINCKLEY et al. (1985), CONTRERAS et al. (1999) und LUENGO et al. (2004) angeregt, im Fall des Ziegeneuters eine Zuordnung dieser beiden Spezies zu den "major pathogens" erwogen werden.

Wie auch bei CONTRERAS et al. (1996), WINTER und BAUMGARTNER (1999) und LUENGO et al. (2004) ausgeführt, stieg die somatische Zellzahl bei höheren Laktationszahlen an (Tab. 3.26). Im Gegensatz zu den Angaben bei LEITNER et al. (2004) bestand in den eigenen Untersuchungen eine positive Korrelation zwischen der Zellzahllhöhe und der Laktationszahl (siehe 3.2.10.4). Ziegen in der vierten, fünften und sechsten Laktation hatten um eine Zehnerpotenz höhere Zellzahlen als Tiere in der ersten, zweiten und dritten Laktation (Tab. 3.26). Allerdings ist zu berücksichtigen, daß sich der Zellzahlmittelwert der vierten Laktation aus nur zwei Ziegen errechnet, und bei den Ziegen in der vierten und fünften Laktation stets potentiell euterpathogene Keime gefunden wurden, was ebenfalls zu einer Erhöhung der Zellzahlen beigetragen haben könnte. Im Vergleich zu den vorausgegangenen Laktationszahlen lag der Mittelwert der somatischen Zellgehalte der siebten Laktation in einem deutlich niedrigeren Bereich (Tab. 3.26). Ähnliches beobachteten auch SANCHEZ et al. (1999) und erklären dies mit einer Selektion der Tiere hinsichtlich ihrer guten Leistung und niedrigeren Infektionsanfälligkeit und damit einhergehenden niedrigen Zellzahlen.

Zur Berechnung eines als physiologisch anzusehenden Zellzahlmittelwertes aus Hälftegemelksproben wurden die Zellzahlergebnisse ($n = 533$) der 16 Ziegen einbezogen, die im Versuchsjahr als bakteriologisch negativ (keine potentiell euterpathogenen Keime nachgewiesen) eingestuft wurden. Der so gefundene Mittelwert von $5,5 \times 10^5$ Zellen/ml liegt deutlich unter den von WENDT et al. (1994) geforderten $7,5 \times 10^5$ Zellen/ml (Tab. 3.29). Auch der aus den Zellzahlwerten aller bakteriologisch negativen Hälftegemelksproben ($n = 690$) errechnete geometrische Mittelwert von $5,2 \times 10^5$ Zellen/ml liegt unter diesem Wert (Tab. 3.28). In den Erhebungen von POUTREL et al. (1997) und LEITNER et al. (2004) bewegten sich die Zellzahlmittelwerte in der Milch gesunder Ziegen mit $2,7 \times 10^5$ bzw. $2,9 \times 10^5$ Zellen/ml noch

unter dem in den eigenen Untersuchungen registrierten Wert (Tab. 2.12). Insgesamt gesehen wird deutlich, daß Milch aus gesunden Ziegenutern Zellzahlen unter $7,5 \times 10^5$ Zellen/ml aufweisen kann.

Die zur Bestimmung der somatischen Zellzahl in Ziegenmilch empfohlene direkte mikroskopische Zählung nach einer Färbung des Milchausstrichs mit Pyronin Y-Methylgrün erwies sich in den vorliegenden Untersuchungen als unbrauchbar. Die gewonnenen Werte zeigten in den Einzelmessungen zum Teil erhebliche Diskrepanzen zu den mit Fossomatic 5000 gewonnenen Werten. Eine Korrelation zwischen den beiden Meßmethoden, wie sie DULIN et al. (1982), DROKE et al. (1993) und ZENG et al. (1999) errechneten, ließ sich nicht ermitteln. Als besonders schwierig erwies sich bei der mikroskopischen Zählung eine genauere Bestimmung niedriger oder hoher Zellzahlen, was anhand der extrem niedrigen bzw. hohen Minimal- bzw. Maximalwertes deutlich wird (Tab. 3.23). Aufgrund der kontroversen Ergebnisse, des hohen Zeitaufwands und der Schwierigkeiten bei der Beurteilung eines Ausstrichs, kann diese Methode zur Bestimmung der Zellzahl in Ziegenmilch nicht als Standardmethode empfohlen werden, zumal die mit Fossomatic 5000 ermittelten Werte eine gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen des SCHALM-Tests (siehe unten) und den Ergebnissen im Schrifttum aufweisen. Auch KALOGRIDOU-VASSILIADOU et al. (1992), PERRIN et al. (1996) und WINTER und BAUMGARTNER (1999) halten eine Zellzahlbestimmung mittels Fossomatic und SCHALM-Test für eine einfache und schnell durchführbare Methode.

Die Beurteilung der Zellzahl einer Milchprobe mit Hilfe des SCHALM-Tests war in den vorliegenden Untersuchungen gut möglich. Bei einem CMT-Wert von 2 wurden mittels Fossomatic 5000 im geometrischen Mittel Zellzahlhöhen $> 1,0 \times 10^6$ Zellen/ml gemessen (Tab. 3.25), wie auch bei CONTRERAS et al. (1995) und MCDUGALL et al. (2001) (Tab. 2.11) beschrieben. Allerdings ließ sich bei dem häufig ermittelten einfach positivem CMT-Ergebnis (47,6 % der Milchproben) nicht eindeutig die Aussage treffen, ob die Zellzahl von $1,0 \times 10^6$ Zellen/ml überschritten worden war. Ein zweifach- oder dreifachpositives CMT-Ergebnis kann aber nach mehrmaliger Messung daraufhin weisen, daß die Zellzahl über $1,0 \times 10^6$ Zellen/ml liegt. Beim Vergleich der Zellzahlen mit den bakteriologischen Befunden der Milch (Abb. 3.3) wird deutlich, daß eine Infektion des Euters mit *S. aureus* oder *S. dysgalactiae* zu deutlich erhöhten Zellzahlen führt, die mit dem SCHALM-Test unter Stallbedingungen leicht festgestellt werden können und sich durch die Fossomatic-Methode bestätigen lassen. Unter Berücksichtigung des Laktationsstadiums und in der Literatur beschriebener täglicher

Schwankungen der Zellzahl (ZENG et al., 1997; LUENGO et al., 2004) kann die mehrmalige Bestimmung der Zellzahlhöhe zur Beurteilung der Eutergesundheit einer Ziege erfolgreich herangezogen werden.

5 Zusammenfassung / Summary

Die Bestimmung des Gehaltes an somatischen Zellen der Milch als diagnostisches Hilfsmittel für die Beurteilung der Eutergesundheit von Ziegen wird kontrovers diskutiert. So sind auch in Anlage 4 der Milchverordnung (MilchV), anders als bei Kuh- und Büffelmilch, bisher noch keine entsprechenden Grenzwerte für Ziegenmilch festgelegt. Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher zu ermitteln, ob ähnlich wie bei der Milch der letztgenannten Tierarten bei Ziegen ein Zusammenhang zwischen hoher somatischer Zellzahl, dem Vorkommen euterpathogener Keime und der Betriebshygiene (mikrobiologische Qualität der Milch) besteht.

Zu diesem Zweck wurde im Verlauf eines Jahres (Januar 2003 bis Januar 2004) Ziegenmilch (Hälftengemelks- und Tankmilchproben) aus acht Bio-Betrieben bezüglich der Zellzahl, des Vorkommens euterpathogener Keime sowie ihres mikrobiologischen Status untersucht. Aus jedem Betrieb wurden fünf gesunde Ziegen unterschiedlichen Alters und verschiedener Laktationsphase ausgewählt. Die Probenahme erfolgte in 14tägigem Abstand. Bei insgesamt 1.356 Hälftengemelken wurde mittels California-Mastitis-Test (CMT), Fossomatic 5000 und Pyronin Y-Methylgrün Färbung der Gehalt an somatischen Zellen bestimmt. Des weiteren erfolgte eine Differenzierung potentiell euterpathogener Keime. Bei den 154 Tankmilchproben erfolgte ebenfalls eine Zählung somatischer Zellen sowie die Untersuchung auf Hygiene-Indikatorkeime (Keimzahlen und der Anteil gramnegativer Mikroorganismen, Coliforme, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp.) und relevante pathogene Keime (koagulasepositive Staphylokokken, *Bacillus cereus*, Verotoxinbildende *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp).

Der geometrische Mittelwert der **Zellzahlen** aller 1.356 Hälftengemelksproben betrug $7,8 \times 10^5$ Zellen/ml (Fossomatic 5000) und lag somit leicht über dem von WENDT et al. (1994) geforderten Wert für die Zellzahl in Einzelgemelksproben ($7,5 \times 10^5$ Zellen/ml). Wurden allerdings nur die Zellzahlwerte von den 690 Hälftengemelksproben, aus denen keine potentiell euterpathogenen Keime isoliert worden waren, zur Berechnung eines Mittelwertes herangezogen, so lag dieser bei $5,2 \times 10^5$ Zellen/ml. Im Fall des Nachweises von "minor pathogens" betrug die somatische Zellzahl im geometrischen Mittel $1,0 \times 10^6$ Zellen/ml und war beim Vorkommen von "major pathogens" auf $4,3 \times 10^6$ Zellen/ml erhöht.

Die in den 154 Tankmilchproben mit Fossomatic 5000 gemessene somatische Zellzahl betrug im geometrischen Mittel $8,7 \times 10^5$ Zellen/ml und lag somit unter Empfehlungen aus dem

Schrifttum an den Gehalt an somatischen Zellen in Ziegentankmilch ($1,0 \times 10^6$ Zellen/ml). Bei Betrachtung der geometrischen Mittelwerte der Einzelbetriebe wurde registriert, daß drei Betriebe eine Zellzahl von mehr als $1,0 \times 10^6$ Zellen/ml in ihrer Tankmilch aufwiesen. Besonders am Beispiel eines dieser Betriebe konnte gezeigt werden, daß eine unzureichende Betriebshygiene negative Auswirkungen auf die Höhe des Zellgehaltes in der Tankmilch hat.

Insgesamt gesehen erwiesen sich die fluoreszenzoptische Methode (Fossomatic 5000) und der SCHALM-Test bei der Bestimmung der somatischen Zellzahl in Ziegenmilch als gut geeignete Verfahren.

Aus 31,7 % der 1.356 Hälftengemelksproben wurden **potentiell euterpathogene Keime** isoliert. Vorherrschend waren die zu zur Gruppe der "minor pathogens" gehörenden koagulase-negativen Staphylokokken (KNS) und unter diesen vor allem *Staphylococcus epidermidis* und *Staphylococcus caprae*. Von den klassischen Mastitiserregern ("major pathogens") wurden in drei Hälftengemelken *Streptococcus dysgalactiae* und in 39 Hälftengemelken *Staphylococcus aureus* gefunden. In den meisten Fällen konnten potentiell euterpathogene Keime nur in einer Euterhälfte nachgewiesen werden.

Bezüglich des geometrischen Mittelwertes der **Keimzahlen** ($3,5 \times 10^4$ /ml) bzw. der **koagula-sepositiven Staphylokokken** ($1,2 \times 10^2$ /ml) aller 154 Tankmilchproben wurden die Anforderungen der Anlage 4 zur MilchV erfüllt. **Gramnegative Keime, Coliforme, *Escherichia coli* und Pseudomonaden** konnten zwar in einem relativ hohen Prozentsatz der Tankmilchproben nachgewiesen werden (88 %, 68 %, 32 %, 34 %), allerdings in niedrigen Zahlen (geometrische Mittelwerte $5,3 \times 10^3$ /ml, 15,0/ml, 3,0/ml, $3,2 \times 10^2$ /ml). In sechs Tankmilchproben fanden sich **verotoxinbildende *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* oder Salmonellen** wurden nicht nachgewiesen.

Summary

A study on the cyto-bacteriological quality of goat milk from organic farms in Bavaria

The importance of the somatic cell count in milk as a quantitative index for inflammation of the caprine udder is discussed controversially. Therefore, compared to cow and buffalo milk, in annex 4 of the German "Milchverordnung" criteria for the somatic cell count in goat milk are not defined yet. Objective of the study presented here was to determine if there is an inter-relationship between high somatic cell counts, the presence of mastitis-related pathogens and the hygienic conditions of the farm (microbiological quality of milk) in the case of goats too.

For these purposes during the course of one year (January 2003 to January 2004) goat milk samples from udder halves as well as bulk tank milk derived from eight organic farms were examined regarding the somatic cell count, presence of mastitis-related pathogens and microbiological quality. Five healthy goats of different ages and phases of lactation were chosen from each farm. Milk from the glands of these animals and the bulk tank milk were sampled at biweekly intervals. The somatic cell count of the milk from 1356 udder halves was determined using the California Mastitis Test (CMT), the Fossomatic 5000 somatic cell counter and the pyronin Y-methyl green stain. Moreover, presumptive mastitis-related pathogenic microorganisms were isolated and identified. The 154 bulk tank milk samples were also examined for their somatic cell counts as well as for marker organisms (total bacterial count, Gram negative bacteria, coliforms, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp.) and relevant pathogenic microorganisms (coagulase positive staphylococci, *Bacillus cereus*, verotoxinogenic *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp.).

The geometric mean of the **somatic cell counts** of the 1356 udder halves came to 7.8×10^5 cells/ml, exceeding slightly the limit of 7.5×10^5 cells/ml claimed by WENDT et al (1994) for goat milk samples. Regarding only the results from those samples (690) where presumptive mastitis-related pathogens could not be found the geometric mean amounted to 5.2×10^5 cells/ml. In the case of the detection of "minor pathogens" the geometric mean was 1.0×10^6 cells/ml and came to 4.3×10^6 cells/ml when "major pathogens" were isolated.

Using Fossomatic 5000 the geometric mean of the somatic cell counts of the 154 bulk tank milk samples amounted to 8.7×10^5 cells/ml. This value is below the limit of 1.0×10^6 cells/ml claimed in the literature. However, three farms did not meet this criterion. Considering as example one of these farms it becomes clear that poor hygienic conditions have an

unfavourable influence on the somatic cells counts.

It could be shown that Fossomatic 5000 and CMT proved to be appropriate to the determination of somatic cell counts in goat milk.

Presumptive mastitis-related pathogens were isolated from 31.7 % of the 1356 udder halves. Most of them belonged to the coagulase negative staphylococci ("minor pathogens"). In this group *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus caprae* were most frequently identified. "Major pathogens" could be detected in the samples from three (*Streptococcus dysgalactiae*) and 39 (*Staphylococcus aureus*) udder halves. Presumptive mastitis-related pathogens were mainly isolated from only one of the udder halves.

The geometric means of the **total bacterial counts** ($3.5 \times 10^4/\text{ml}$) and the **coagulase positive staphylococci** ($1.2 \times 10^2/\text{ml}$) detected in the 154 bulk tank milk samples met the criteria of annex 4 of the German "Milchverordnung". A relatively high percentage rate of the bulk tank milk samples were contaminated with **Gram negative bacteria, coliforms, *Escherichia coli*** and ***Pseudomonas spp.*** (88 %, 68 %, 32 %, 34 %). However, the geometric means of their counts were low ($5.3 \times 10^3/\text{ml}$, 15.0/ml, 3.0/ml, $3.2 \times 10^2/\text{ml}$). **Verotoxinogenic *Escherichia coli*** could be isolated from six samples, ***Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*** or ***salmonellae*** were not detected.

6 Schrifttum

6.1 Literaturverzeichnis

- ABOU-ELEININ, A.A.; RYSER, E.T.; DONNELLY, C.W. (2000):
Incidence and seasonal variation of *Listeria* species in bulk tank goat's milk
Journal of Food Protection 63, 1208 - 1213
- AGATA, N.; OHTA, M.; YOKOYAMA, K. (2002):
Production of *Bacillus cereus* emetic toxin (cereulide) in various foods
International Journal of Food Microbiology 73, 23 - 27
- ALLERBERGER, F.; WAGNER, M.; SCHWEIGER, P.; RAMMER, H.P.; RESCH, A.; DIEREICH, M.P.;
FRIEDRICH, A.W.; KARCH, H. (2001):
Escherichia coli O157 infections and unpasteurized milk
Eurosurveillance 6, 147 - 151
- AMEH, A.J.; ADDO, P.B.; ADEKEYE, J.O.; GYANG, E.O.; TEDDEK, L.B.; ABUBAKAR, Y. (1994):
Gangrenous caprine coliform mastitis
Small Ruminant Research 13, 307 - 309
- AMMON, A. (1997):
Surveillance of Enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) infections and haemolytic uraemic syn-
drome (HUS) in Europe
Eurosurveillance 2, 91 - 95
- AURELI, P.; FIORUCCI, G.C.; CAROLI, D.; MARCHIARO, G.; NOVARA, O.; LEONE, L.; SAL-
MASO, S. (2000):
An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocy-
togenes*.
The New England Journal of Medicine 342, 1236 – 1241
- BAILEY, J.S.; COX, N.A. (1992):
Universal preenrichment broth for the simultaneous detection of *Salmonella* and *Listeria* in
food.
Journal of Food Protection 55, 256 - 259
- BALABAN, N.; RASOOLY, A. (2000):
Staphylococcal enterotoxins
International Journal of Food Microbiology 61, 1 - 10
- BALJER, G.; WIELER, L.H. (1999):
Tiere als Infektionsquelle für den Menschen - durch EHEC hervorgerufene Erkrankungen
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 106, 339 - 343
- BECKER, B. ; BECKER, H. (2005):
Industrielle Relevanz und Präventionsstrategien – Milchindustrie.
In: BECKER, B. (Hrsg.): *Bacillus cereus*.
Behr's Verlag, Hamburg, pp. 71 – 72

- BECKER, H. (1993):
Aminopeptidase test for enumeration of gram-negative recontaminants in pasteurized milk
International Dairy Federation. Catalogue of tests for the detection of post-pasteurization contamination of milk. Supplement to E-doc 477
- BECKER, H.; EL-BASSIONY, T.A.; TERPLAN, G. (1984):
Zur Abgrenzung der *Staphylococcus aureus*-Thermonuclease von hitzestabilen Nucleasen anderer Bakterien.
Archiv für Lebensmittelhygiene 35, 114 – 118
- BEDIDI-MADANI, N.; GREENLAND, T.; RICHARD, Y. (1998):
Exoprotein and slime production by coagulase-negative staphylococci isolated from goat's milk
Veterinary Microbiology 59, 139 - 145
- BIELASZEWSKA, M.; JANDA, J.; BLAHOVA, K.; MINARIKOVA, H.; JOKOVA, E.; KARMALI, M.A.; LAUBOVA, J.; SIKULOVA, J.; PRESTON, M.A.; KHAKHRIA, R.; KARCH, H.; KLAZAROVA, H.; NYC, O. (1997):
Human *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with the consumption of unpasteurized goat's milk
Epidemiology and Infection 119, 299 - 305
- BOSCOS, C.; STEFANAKIS, A.; ALEXOPOULOS, C.; SAMARTZI, F. (1996):
Prevalence of subclinical mastitis and influence of breed, parity, stage of lactation and mammary bacteriological status on Coulter Counter Counts and California Mastitis Test in the milk of Saanen and autochthonous Greek goats
Small Ruminant Research 21, 139 - 147
- BÜLTE, M. (2002):
Veterinärmedizinische Aspekte der Infektionen durch enterohämorrhagische *E-coli*-Stämme (EHEC)
Bundesgesundheitsblatt 45, 484 - 490
- BÜRK, C.; BRAUMILLER, I.G.B.; BECKER, H.; MÄRTLBAUER, E. (2002):
Nuclease fluorescence assay for the detection of verotoxin genes in raw milk
Letters in Applied Microbiology 35, 153 - 156
- BUSSE, M. (2000):
Qualitätssicherung in der Milchwirtschaft.
Th. Mann Verlag, Gelsenkirchen
- CHAMPAGNE, C.P.; LAING, R.R.; ROY, D.; MAFU, A.A.; GRIFFITHS, M.W. (1994):
Psychrotrophs in dairy products: their effects and their control
Critical Reviews in Food Science and Nutrition 34, 1 - 30
- CONTRERAS, A.; PAAPE, M.J.; MILLER, R.H. (1999):
Prevalence of subclinical intramammary infection caused by *Staphylococcus epidermidis* in a commercial dairy goat herd
Small Ruminant Research 31, 203 - 208

- CONTRERAS, A.; CORRALES, J.C.; SIERRA, D.; MARCO, J. (1995):
Prevalence and aetiology of non-clinical intramammary infection in Murciano-Granadina goats
Small Ruminant Research 17, 71 - 78
- CONTRERAS, A.; CORRALES, J.C.; SANCHEZ, A.; SIERRA, D. (1997):
Persistence of subclinical intramammary pathogens in goats throughout lactation
Journal of Dairy Science 80, 2815 - 2819
- CONTRERAS, A.; SIERRA, D.; CORRALES, J.C.; SANCHEZ, A.; MARCO, J. (1996):
Physiological threshold of somatic cell count and California mastitis test for diagnosis of caprine subclinical mastitis
Small Ruminant Research 21, 259 - 264
- DE BUYSER, M.L.; DILASSER, F.; HUMMEL, R.; BERGDOLL, M.S. (1987):
Enterotoxin and toxic shock syndrome toxin-1 production by *staphylococci* isolated from goat's milk
International Journal of Food Microbiology 5, 301 - 309
- DEINHOFER, M.; PERNTHANER, A. (1993):
Differenzierung von Staphylokokken aus Schaf- und Ziegenmilchproben
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 100, 234 - 236
- DESENCLOS, J.C.; BOUVET, P.; BENZ LEMOINE, E.; GRIMONT, F.; DESQUEYROUX, H.; REBIERE, L.; GRIMONT, P.A.D. (1996):
Large outbreak of *Salmonella enterica* serotype Paratyphi B infection caused by a goat milk cheese, France, 1993: a case finding and epidemiological study
British Medical Journal 312, 91 - 94
- DE SMEDT, J.M.; BOLDERDIJK, R.; RAPPOLD, H.; LAUTENSCHLAEGER, D. (1986):
Rapid *Salmonella* detection in foods by motility enrichment on modified semisolid Rappaport-Vassiliadis medium.
Journal of Food Protection 49, 510 - 514
- DROKE, E.A.; PAAPE, M.J.; DI CARLO, A.L. (1993):
Prevalence of high somatic cell counts in bulk tank goat milk
Journal of Dairy Science 76, 1035 - 1039
- DULIN, A.M.; PAAPE, M.J.; WERGIN, W.P. (1982):
Differentiation and enumeration of somatic cells in goat milk
Journal of Food Protection 45, 435 - 439
- DULIN, A.M.; PAAPE, M.J.; SCHULTZ, W.D.; WEINLAND, B.T. (1983):
Effect of parity, stage of lactation and intramammary infection on concentration of somatic cells and cytoplasmatic particles in goat milk
Journal of Dairy Science 66, 2426 - 2433
- DVG – DEUTSCHE VETERINÄRMEDIZINISCHE GESELLSCHAFT (2000):
Fachgruppe "Milchhygiene", Sachverständigenausschuß "Subklinische Mastitis" – Leitlinien

zur Entnahme von Milchproben unter aseptischen Bedingungen und Leitlinien zur Isolierung und Identifizierung von Mastitiserregern
Verlag der Deutschen Veterinärmedizinische Gesellschaft e. V., Gießen

EAST, N.E.; BIRNIE, E.F.; FARVER, T.B. (1987):
Risk factors associated with mastitis in dairy goats
American Journal of Veterinary Research 48, 776 - 779

FAHR, R.-D.; SCHULZ, J.; FINN, G.; LENGERKEN, G.V.; WALTHER, R. (1999):
Zellgehalt und Differenzialbild der Ziegenmilch - Variabilität und Einflußfaktoren
Tierärztliche Praxis 27, 99 - 106

FDA – FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (2001):
Department of Health and Human Services – Public Health Service
Direct microscopic somatic cell count
<www.fda.gov/opacom/morechoices/fdaforms/FDA-2400d.pdf>

FEDIO, W.M.; JACKSON, H. (1992):
On the origin of *Listeria monocytogenes* in raw bulk-tank milk
International Dairy Journal 2, 197 - 208

FOSCHINO, R.; INVERNIZZINI, A.; BARUCCO, R.; STRADIOTTO, K. (2002):
Microbial composition, including the incidence of pathogens of goat milk from the Bergamo region of Italy during a lactation year
Journal of Dairy Research 69, 213 - 225

FRASER, J.; ARCUS, V.; KONG, P.; BAKER, E.; PROFT, T. (2000):
Superantigens – powerful modifiers of the immune system.
Molecular Medicine Today 6, 125 – 132

GALINA, M.A.; MORALES, R.; LOPEZ, B.; CARMONA, M.A. (1996):
Effect of somatic cell count on lactation and soft cheese yield by dairy goats
Small Ruminant Research 21, 251 - 257

GAYA, P.; SARALEGU, C.; MEDINA, M.; NUNEZ, M. (1996):
Occurrence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in raw caprine milk
Journal of Dairy Science 79, 1936 - 1941

GEHRIGER, G. (1981):
Multiplication of bacteria in milk during farm storage
Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte 33, 317 - 323

GONZALES-RODRIGUEZ, M.C.; CARMENES, P. (1996):
Evaluation of the California mastitis test as a discriminant method to detect subclinical mastitis in ewes
Small Ruminant Research 21, 245 - 250

GRIFFIN, T.K.; DODD, F.H.; NEAVE, F.K.; WESTGARTH, D.R.; KINGWILL, R.G.; WILSON, C.D. (1977):
A method of diagnosing intramammary infection in dairy cows for large experiments

Journal of Dairy Research 44, 25

GROSS, E.M.; WEIZMAN, Z.; PICARD, E.; MATES, A.; SHEINMAN, R.; PLATZNER, N.; WOLFF, A. (1988):

Milk borne gastroenteritis due to *Staphylococcus aureus* enterotoxin B from a goat with mastitis

American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 39, 103 - 104

HAHN, G.; KIRCHHOFF, H.; HAMMER, P.; UBBEN, E.-H.; HEESCHEN, W. (1992):

Bakteriologische Befunde und deren Bewertung in Milch und Milchprodukten von Ziegen und Schafen

Archiv für Lebensmittelhygiene 43, 73 - 96

HARMON, R.J. (1994):

Physiology of mastitis and factors effecting somatic cell counts

Journal of Dairy Science 77, 2103 - 2112

HINCKLEY, L.S.; POST, J.E.; DUVAL, M.C. (1985):

The role of non-haemolytic *staphylococci* in caprine mastitis

Veterinary Medicine 80, 76 - 80

HUSU, J.R.; SEPPÄNEN, J.T.; SIVELÄ, S. K.; RAURAMAA, A.L. (1990):

Contamination of raw milk by *Listeria monocytogenes* on dairy farms

Journal of Veterinary Medicine B 37, 268 - 275

JAYARAO, B.M.; WANG, L. (1999):

A study on the prevalence of gram-negative bacteria in bulk tank milk

Journal of Dairy Science 82, 2620 - 2624

JAYARAO, B.M.; WOLFGANG, D.R. (2003):

Bulk-tank milk analysis. A useful tool for improving milk quality and herd udder health

The Veterinary Clinics of North America, Food and Animal Practice 19, 75 - 92

JAYARAO, B.M.; WANG, L.; AN, L.; BANGALORE, R.; HENNING, D.R.; STEGEMAN, G. (1997):

A study on the prevalence of gram-negative bacteria in a dairy herd

Journal of Dairy Science 80, 172

KALOGRIDOU-VASSILIADOU, D. (1991):

Mastitis-related pathogens in goat milk

Small Ruminant Research 4, 203 - 212

KALOGRIDOU-VASSILIADOU, D.; MANOLKIDIS, K.; HATZIMINAOGLOU, J. (1991):

Changes in mastitis pathogens in goat milk throughout lactation

Small Ruminant Research 4, 197 - 201

KALOGRIDOU-VASSILIADOU, D.; MANOLKIDIS, K.; TSIGOIDA, A. (1992):

Somatic cell counts in relation to infection status of the goat udder

Journal of Dairy Research 59, 21 - 28

KIRST, E.; RENSING, A.; HAMMEL, M.; KLOPSCH, B.; SCHURIG, J. (2002):

Untersuchung von Schaf- und Ziegenmilch
Deutsche Molkereizeitung 10, 37 - 43

LANDESVERBAND BAYERISCHER ZIEGENZÜCHTER (2005):
Ziegenzucht und -haltung
<<http://www.ziegenzucht-bayern.de>>

LEITNER, G.; MERIN, U.; SILANIKOVE, N.; EZRA, E.; CHAFFER, M.; GOLLOP, N.; WINKLER, M.; GLICKMAN, A.; SARAN, A. (2004):
Effect of subclinical intramammary infection on somatic cell counts, NAGase activity and gross composition of goat's milk
Journal of Dairy Research 71, 311 - 315

LERONDELLE, C.; POUTREL, B. (1984):
Characteristics of non-clinical mammary infections of goats
Annales des Recherches Vétérinaires 15, 105 - 112

LERONDELLE, C.; RICHARD, Y.; ISSARTIAL, J. (1992):
Factors affecting somatic cell counts in goat milk
Small Ruminant Research 8, 129 - 139

LITTLE, C.L.; DE LOUVOIS, J. (1999):
Health risks associated with unpasteurized goats' and ewes' milk on retail sale in England and Wales. A PHLS Dairy products Working Group Study
Epidemiology and Infection 122, 403 - 408

LØKEN, T.; ASPOEY, E.; GRØENSTØL, H. (1982):
Listeria monocytogenes excretion and humoral immunity in goats in a herd with outbreak of listeriosis in a healthy herd
Acta Veterinaria Scandinavica 23, 392 - 399

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
Journal of Dairy Research 71, 169 - 174

MÄRTLBAUER, E.; BÜRK, C. (2005):
Pathogenitätsmechanismen.
In: BECKER, B. (Hrsg.): *Bacillus cereus*.
Behr's Verlag, Hamburg, pp. 35 – 44

MAISI, P.; RIIPINEN, I. (1991):
Pathogenicity of different species of *staphylococci* in caprine udder
British Veterinary Journal 147, 126-132

MCDUGALL, S.; VOERMANS, M. (2002):
Influence of estrus on somatic cell count in dairy goats
Journal of Dairy Science 85, 378 - 383

MCDUGALL, S.; MURDOUGH, P.; PANKEY, W.; DELANEY, C.; BARLOW, J.; SCRUTON, D.

(2001):

Relationships among somatic cell count, California mastitis test, impedance and bacteriological status of milk in goats and sheep in early lactation
Small Ruminant Research 40, 245 - 254

MCDUGALL, S.; PANKEY, W.; DELANEY, C.; BARLOW, J.; MURDOUGH, P.; SCRUTON, D. (2002):

Prevalence and incidence of subclinical mastitis in goats and dairy ewes in Vermont, USA
Small Ruminant Research 46, 115 - 121

MCINTYRE, L.; FUNG, J.; PACCAGNELLA, A.; ISAAC-RENTON, J.; ROCKWELL, F.; EMERSON, B.; PRESTON, T. (2002):

Escherichia coli O157 outbreak associated with the ingestion of unpasteurized goat's milk in British Columbia
Canada Communicable Disease Report 28, 6 - 8

MENZIES, P.; RAMANOON, S. (2001):

Mastitis in sheep and goats
Veterinary Clinics of North American Food Animal Practice 17, 333 - 358

MEYRAND, A.; BOUTRAND-LOEI, S.; RAY-GUENIOT, S.; MAZUY, C.; GASPARD, C.E.; JAUBERT, G.; PERRIN, G.; LAPEYRE, C.; VERNOZY-ROZAND, C. (1998):

Growth and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* during the manufacture and ripening of Camembert-type cheeses from raw goats' milk
Journal of Applied Microbiology 85, 537 - 544

MORGAN, F.; BONNIN, V.; MALLEREAU, M.P.; PERRIN, G. (2001):

Survival of *Listeria monocytogenes* during manufacture, ripening and storage of soft lactic cheese made from raw goat milk
International Journal of Food Microbiology 64, 212 - 217

MORGAN, R.; MASSOURAS, T.; BARBOSA, M.; ROSEIRO, L.; RAVASCO, F.; KANDARAKIS, I.; BONNIN, V.; FISTAKORIS, M.; ANIFANTAKIS, E.; JAUBERT, G.; RAYNAL-LJUTOVAC, D. (2003):
Characteristics of goat milk collected from small and medium enterprises in Greece, Portugal and France

Small Ruminant Research 47, 39 - 49

MOSSEL, D.A.A.; VAN NETTEN, P. (1990):

Staphylococcus aureus and related *staphylococci* in foods: ecology, proliferation, toxinogenesis, control and monitoring
Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement 19, 123S - 145S

MUELHERR, J.E.; ZWEIFEL, C.; CORTI, S.; BLANCO, J.E.; STEPHAN, R. (2003):

Microbiological quality of raw goat's and ewe's bulk-tank milk in Switzerland
Journal of Dairy Science 86, 3849 - 3856

NORD, K.; ÅDNØY, T. (1997):

Effects of infection by caprine arthritis-encephalitis virus on milk production of goats
Journal of Dairy Science 80, 2391 - 2397

- OLSEN, S.J.; YING, M.; DAVIS, M.F.; HOLLAND, B.; IAMPIETRO, L.; BAYSINGER, C.M.; SASSANO, F.; POLK, L.D.; GORMLEY, B.; HUNG, M.J.; PILOT, K.; ORSINI, M.; VAN DUYN, S.; RANKIN, S.; GENESE, C.; BRESNITZ, E.A.; SMUCKER, J.; MOLL, M.; SOBEL, J. (2004):
Multidrug-resistant *Salmonella Typhimurium* infection from milk contaminated after pasteurization
Emerging Infectious Diseases 10, 932 - 935
- ORDEN, J.A.; GOYACHE, J.; HERNANDEZ, J.; DOMENECH, A.; SUAREZ, G.; GOMEZ-LUCIA, E. (1992):
Production of *staphylococci* enterotoxins and TSST 1 coagulase negative *staphylococci* isolated from ruminant mastitis
Journal of Veterinary Medicine B 39, 144 - 148
- PAAPE, M.J.; CAPUCO, T. (1997):
Cellular defence-mechanisms in the udder and lactation of goats
Journal of Animal Science 75, 556 - 565
- PARK, Y.W. (1991):
Interrelationships between somatic cell counts, electrical conductivity, bacteria counts, percent fat and protein in goat milk
Small Ruminant Research 5, 367 - 375
- PERRIN, G.; MALLEREAU, M.P.; LENFANT, D.; BAUDRY, C. (1997):
Relationships between California Mastitis Test (CMT) and somatic cell counts in dairy goats
Small Ruminant Research 26, 167 - 170
- PHELPS, S.L.; SMITH, M.C. (1993):
Caprine arthritis-encephalitis virus infection
Journal of American Veterinary Medical Association 203, 1663 - 1666
- POUTREL, B.; DE CREMOUX, R.; DUCCELLIEZ, M.; VERNEAU, D. (1997):
Control of intramammary infections in goats: Impact on somatic cell counts
Journal of Animal Science 75, 566 - 570
- ROTA, A.M.; GONZALO, C.; RODRIGUEZ, P.L.; ROJAS, A.I.; MARTIN, L.; TOVAR, J.J. (1993):
Somatic cell types in goat milk in relation to total cell count, stage and number of lactation
Small Ruminant Research 12, 89 - 98
- RYAN, D.P.; GREENWOOD, P.L. (1990):
Prevalence of udder bacteria in milk samples from four dairy goat herds
Australian Veterinary Journal 67, 362-363
- SANCHEZ, A.; CONTRERAS, A.; CORRALES, J.C. (1999):
Parity as a risk factor for caprine subclinical intramammary infection
Small Ruminant Research 31, 197 - 201
- SANCHEZ, A.; CONTRERAS, A.; CORRALES, J.C.; MARCO, J.C. (2001):
Relationships between infection with caprine arthritis encephalitis virus, intramammary bacterial infection and somatic cell counts in dairy goats
Veterinary Record 148, 711 - 714

SANCHEZ, A.; FERNANDEZ, C.; CONTRERAS, A.; LUENGO, C.; RUBERT, J. (2002):
Effect of intramammary infection by *Staphylococcus caprae* on somatic cell counts and milk composition in goats
Journal of Dairy Research 69, 325 - 328

SCHALM, O.W.; CARROLL, E.J.; JAIN, N.C. (1971):
Bovine Mastitis, pp. 150 – 151
Lea & Febiger, Philadelphia

SCHERRER, D.; CORTI, S.; MUELHERR, J.E.; ZWEIFEL, C.; STEPHAN, R. (2004):
Phenotypic and genotypic characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from raw bulk-tank milk samples of goats and sheep
Veterinary Microbiology 99, 101 - 107

SCHMIDT, K.; GERVELMEYER, A. (2003):
WHO Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications in Europe – 8th Report 1999 – 2000; Country Reports: Germany; Online Version
<http://www.bfr.bund.de/internet/8threport/8threp_fr.htm>

SCHMIDT-LORENZ, W.; SPILLMANN, H. (1988):
Kritische Überlegungen zum Aussagewert von *E.coli*, Coliformen und Enterobacteriaceen in Lebensmitteln
Archiv für Lebensmittelhygiene 39, 3 - 15

SCHNELHARDT, C. (1998):
Untersuchungen zur bakteriologischen und zytologischen Qualität von Schaf- und Ziegenmilch
Diss. Med. Vet. München

SHAH, N.P. (1994):
Psychrotrophs in milk: a review
Milchwissenschaft 49, 432 - 437

STMLF – Bayerisches Staatsministerium für Landwirtschaft und Forsten (2004a):
Bayerischer Agrarbericht 2004
<http://www.stmlf.bayern.de/agrarpolitik/daten_fakten/ab2004>

STMLF – Bayerisches Staatsministerium für Landwirtschaft und Forsten (2004b):
Ziegenzucht und Ziegenhaltung. Bedeutung, Entwicklung und Situation in Bayern
< <http://www.landwirtschaft.bayern.de/publikationen>>

STMLF – Bayerisches Staatsministerium für Landwirtschaft und Forsten (2004c):
Schafe, Ziegen, Gehegewild, Geflügel, Bienen – Fakten und Daten aus Bayern
< <http://www.landwirtschaft.bayern.de/publikationen>>

THAM, W. (1988):
Survival of *Listeria monocytogenes* in cheese made from unpasteurized goat milk
Acta Veterinaria Scandinavica 29, 165 - 172

TIRARD-COLLET, P.; ZEE, J.A.; CARMICHAEL, L.; SIMARD, R.E. (1991):
A study of the microbiological quality of goat milk in Quebec
Journal of Food Protection 54, 263 - 266

TSCHÄPE, H. (2000):
Lebensmittelbedingte Infektionskrankheiten durch Bakterien
Bundesgesundheitsblatt 43, 758 - 769

VALLE, J.; PIRIZ, S.; DE LA FUENTE, R.; VADILLO, S. (1991a):
Staphylococci isolated from healthy goats
Journal of Veterinary Medicine 38, 81 - 89

VALLE, J.; GOMEZ-LUCIA, E.; PIRIZ, S.; VADILLO, S. (1991b):
Staphylococcal enterotoxins and toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) during induced goat mastitis
Journal of Food Protection 54, 267 - 271

VERNOZY-ROZAND, C.; MAZUY, C.; PREVOST, G.; LAPEYRE, C.; BES, M.; BRUN, Y.; FLEURETTE, J. (1996a):
Enterotoxin production by coagulase-negative *staphylococci* isolated from goats' milk and cheese
International Journal of Food Microbiology 30, 271 - 280

VERNOZY-ROZAND, C.; MAZUY, C.; PERRIN, G.; HAOND, F.; BES, M.; BRUN, Y.; FLEURETTE, J. (1996b):
Identification of *micrococcaceae* isolated from goat's milk in the Poitou-Charentes region
International Journal of Food Microbiology 30, 373 - 378

VERNOZY-ROZAND, C.; MEYRAND, A.; MAZUY, C.; DELIGNETTE-MÜLLER, M.L.; JAUBERT, G.; PERRIN, G.; LAPEYRE, C.; RICHARD, Y. (1998):
Behaviour and enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* during the manufacture and ripening of raw goats' milk lactic cheeses
Journal of Dairy Research 65, 273 - 281

WENDT K.; BOSTEDT, H.; MIELKE, H.; FUCHS H.-W. (1994):
Euter- und Gesäugekrankheiten
Gustav Fischer Verlag, Jena Stuttgart, 111

WHITE, E.C.; HINCKLEY, L.S. (1999):
Prevalence of mastitis pathogens in goat milk
Small Ruminant Research 33, 117 - 121

WIEDMANN, M.; WEILMEYER, D.; DINEEN, S.; RALYEA, R.; BOOR, K.J. (2000):
Molecular and phenotypic characterization of *Pseudomonas* spp. isolated from milk
Applied and Environmental Microbiology 66, 2085 - 2095

WILSON, D.J.; STEWART, K.N.; SEARS, P.M. (1995):
Effects of stage of lactation, production, parity and season on somatic cell counts in infected and uninfected dairy goats
Small Ruminant Research 16, 165 - 169

WINTER, P.; BAUMGARTNER, W. (1999):
Schalmtestreaktionen in Ziegenmilch und deren Interpretation
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 106, 30 - 34

ZENG, S.S.; ESCOBAR, E.N. (1995):
Effect of parity and milk production on somatic cell count, standard plate count and composition of goat milk
Small Ruminant Research 17, 269 - 274

ZENG, S.S.; ESCOBAR, E.N. (1996):
Effect of breed and milking method on somatic cell count, standard plate count and composition of goat milk
Small Ruminant Research 19, 169 - 175

ZENG, S.S.; ESCOBAR, E.N.; POPHAM, T. (1997):
Daily variations in somatic cell count, composition and production of Alpine goat milk
Small Ruminant Research 26, 253 - 260

ZENG, S.S.; ESCOBAR, E.N.; HART, S.P.; HINCKLEY, L.; BAULTHAUS, M.; ROBINSON, G.T.; JAHNKE, G. (1999):
Comparative study of the effects of testing laboratory, counting method, storage and shipment on somatic cell counts in goat milk
Small Ruminant Research 31, 103 - 107

7 Rechtsvorschriften

Verordnung über Hygiene- und Qualitätsanforderungen an Milch und Erzeugnisse auf Milchbasis (Milchverordnung). In der Fassung der Bekanntmachung vom 20. Juli 2000. Zuletzt geändert durch Art. 5 ÄndV vom 9.11.2004

8 Standardisierte Untersuchungsverfahren

8.1 Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG

L 00.00 – 55:2000, Untersuchung von Lebensmitteln - Verfahren für die Zählung von koagulasepositiven Staphylokokken (*Staphylococcus aureus* und andere Spezies) in Lebensmitteln - Teil 1: Verfahren mit BAIRD-PARKER Agar.

L 01.00 – 1:2002, Untersuchung von Lebensmitteln - Allgemeiner Leitfaden für die Vorbereitung von Untersuchungsproben und die Herstellung von Anschüttelungen und Dezimal-

verdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen von Milch und Milchprodukten.

L 01.00 – 54:1992, Untersuchung von Lebensmitteln - Bestimmung der *Escherichia coli* in Milch und Milchprodukten - Fluoreszenzoptisches Verfahren mit paralleler Bestimmung coliformer Keime.

L 01.00 – 57:1995, Untersuchung von Lebensmitteln - Bestimmung der Keimzahl in Milch und Milchprodukten – Spatelverfahren.

L 01.00 – 72:2000, Untersuchung von Lebensmitteln - Bestimmung präsumtiver *Bacillus cereus* in Milch und Milchprodukten - Teil 1: Koloniezählverfahren bei 37 °C.

L 01.01 – 3:1990, Untersuchung von Lebensmitteln - Zählung somatischer Zellen in Rohmilch - Mikroskopische Zählung somatischer Zellen.

8.2 International Organization for Standardization (ISO)

ISO 11290-1:1996, Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* - Part 1: Detection method.

ISO 11290-1:1996/FDAM 1, Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* - Part 1: Detection method - Amendment 1: Modification of the isolation media, of the haemolysis test and inclusion of precision data.

Danksagung

Herrn Professor E. Märtlbauer danke ich besonders für die Überlassung des Themas, die freundlich gewährten Arbeitsmöglichkeiten und die allzeitige Unterstützung beim Anfertigen dieser Arbeit.

Ganz besonders danke ich meinem Betreuer Herrn Dr. H. Becker für seine hervorragende stetige Unterstützung, die zahlreichen Anregungen und die sorgfältige Durchsicht der Arbeit, die zum Gelingen eben dieser beigetragen haben.

Allen Mitarbeitern des Instituts sei für die große Kollegialität und die angenehme Arbeitsatmosphäre herzlich gedankt. Besonders bedanke ich mich bei Frau U. Ritzerfeld, Frau S. Eberhardt, Frau U. Wimmer und bei Herrn J. König für die dauerhafte und freundliche Hilfsbereitschaft während der Anfertigung dieser Arbeit.

Weiterhin danke ich Herrn Dr. C. Baumgartner für wertvolle Ratschläge und allen Ziegenhaltern für das rege Interesse und die Bereitwilligkeit zur Unterstützung dieser Arbeit.

Schließlich danke ich von ganzem Herzen meinen Eltern, ohne deren Zuwendung, Geduld und Motivation diese Arbeit nur schwer zu bewältigen gewesen wäre.