

**Intramammäre Infektionen in der bayerischen Milchviehhaltung – Erregerverteilung,
Risikofaktoren und quantitative Erregerausscheidung**

von Klara Kalverkamp

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

**Intramammäre Infektionen in der bayerischen Milchviehhaltung – Erregerverteilung,
Risikofaktoren und quantitative Erregerausscheidung**

von Klara Kalverkamp
aus Sendenhorst

München 2026

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:

Priv.-Doz. Dr. Wolfram Petzl

Angefertigt beim

Tiergesundheitsdienst Bayern e.V.

Eutergesundheitsdienst

Poing-Grub

Mentorin: Dr. Ulrike Sorge, Ph.D.

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Wolfram Petzl

Korreferent/en: Univ.-Prof. Dr. Sophia Johler
Priv.-Doz. Dr. Beate K. Walter
Univ.-Prof. Dr. Anna May
Prof. Dr. Armin M. Scholz

Tag der Promotion: 07.02.2026

Für meine Familie

Die vorliegende Arbeit wurde gemäß § 6 Abs. 2 der Promotionsordnung für die Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München in kumulativer Form verfasst.

Die Arbeit umfasst die folgenden wissenschaftlichen Publikationen:

1. Veröffentlichung

Kalverkamp K.; Petzl W.; Sorge U.S.

Risk Factors for Intramammary Infections on Bavarian Dairy Farms – A Herd-Level Analysis

<https://doi.org/10.3390/ani15172616>

Animals Vol. 15 No 2616, 2025

Eingereicht: 03.08.2025; Akzeptiert: 04.09.2025; Publiziert: 06.09.2025

2. Veröffentlichung

Kalverkamp K.; Petzl W.; Sorge U.S.

Quantitative Erregerausscheidung bei intramammären Infektionen – eine praxisnahe Studie bei bayerischen Milchkühen

Tierärztliche Praxis Großtiere/Nutztiere

Eingereicht: 03.08.2025; Akzeptiert: 03.01.2026

Inhaltsverzeichnis

<u>I. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</u>	<u>8</u>
<u>II. EINLEITUNG.....</u>	<u>9</u>
<u>III. LITERATURÜBERSICHT.....</u>	<u>11</u>
1. BEDEUTUNG VON MASTITIS IN DER MILCHVIEHHALTUNG	11
1.1. INTRAMAMMÄRE INFEKTION UND MASTITIS – GRUNDBEGRIFFE.....	11
2. MASTITISERREGER – PATHOGENPROFILE UND INFEKTIONSDYNAMIK.....	12
2.1. <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	13
2.2. <i>STREPTOCOCCUS AGALACTIAE</i>	14
2.3. <i>STREPTOCOCCUS DYSGALACTIAE</i>	15
2.4. <i>STREPTOCOCCUS UBERIS</i>	15
2.5. <i>ESCHERICHIA COLI</i>	15
2.6. NICHT-AUREUS-STAPHYLOKOKKEN (NAS)	15
2.7. QUANTITATIVE ERREGERAUSSCHIEDUNG	16
3. RISIKOFAKTOREN FÜR MASTITIS UND INTRAMAMMÄRE INFEKTIONEN.....	17
3.1. TIERINDIVIDUELLE FAKTOREN	17
3.2. EINSTREU UND LIEGEFLÄCHEN.....	18
3.3. FÜTTERUNG.....	18
3.4. KLIMA	19
3.5. MELKARBEIT UND MELKHYGIENE.....	20
3.6. TROCKENSTELLEN.....	20
4. REGION BAYERN – STRUKTUR UND BESONDERHEITEN.....	21
<u>IV. VERÖFFENTLICHUNGEN.....</u>	<u>23</u>
1. 1. VERÖFFENTLICHUNG	23
2. 2. VERÖFFENTLICHUNG	46
<u>V. DISKUSSION.....</u>	<u>65</u>
1. LIMITATIONEN DER STUDIE.....	65
2. STRUKTURWANDEL	66
3. PRÄVALENZEN	67
4. EINSTREU	68

5. SAISONALITÄT	69
6. MELKEN	70
7. ERREGERAUSSCHIEDUNG.....	71
8. GERINGE FALLZAHLEN VON <i>E. COLI</i> UND <i>STREP. AGALACTIAE</i>	71
9. FAZIT FÜR DIE PRAXIS.....	71
<u>VI. ZUSAMMENFASSUNG.....</u>	<u>73</u>
<u>VII. SUMMARY</u>	<u>75</u>
<u>VIII. LITERATURVERZEICHNIS</u>	<u>77</u>
<u>IX. ANHANG</u>	<u>92</u>
1. FRAGENBOGEN	92
1.1. BESTANDSANALYSE KONVENTIONELL	92
1.2. BESTANDSANALYSE AMS	94
1.3. BETRIEBSERHEBUNGSPROTOKOLL.....	96
<u>X. DANKSAGUNG.....</u>	<u>98</u>

I. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

IMI	Intramammäre Infektion
IDF	International Dairy Federation
DVG	Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft
NMC	National Mastitis Council
<i>Strep.</i>	<i>Streptococcus</i>
<i>S.</i>	<i>Staphylococcus</i>
<i>E.</i>	<i>Escherichia</i>
NAS	Nicht-Aureus-Staphylokokken
LPS	Lipopolysaccharid
SZZ	Somatische Zellzahl
VGP	Viertelgemelksproben
CMT	California Mastitis Test
LKV	Landeskontrollverband
AMS	Automatisches Melksystem
MPR	Milchprüfring

II. EINLEITUNG

Intramammäre Infektionen (IMI) stellen die unmittelbare Ursache der Mastitis dar (WELLNITZ & BRUCKMAIER, 2012) und gehören weltweit zu den wichtigsten Gesundheitsproblemen in der Milchviehhaltung (RUEGG, 2017). Sie beeinträchtigen nicht nur die Tiergesundheit, sondern verursachen auch erhebliche wirtschaftliche Verluste (MORALES-UBALDO et al., 2023).

Während zahlreiche internationale Untersuchungen die Bedeutung einzelner Mastitiserreger und deren Risikofaktoren dokumentieren, ist wenig darüber bekannt, in welchem Ausmaß diese Erkenntnisse auf die bayerische Milchviehhaltung übertragbar sind (GROH et al., 2023; BECHTOLD et al., 2024). Bayern weist eine Reihe spezifischer Strukturen auf, darunter ein hoher Anteil an Fleckvieh (BMEL, 2024) und vergleichsweise kleine Herden (TERGAST et al., 2022), produziert jedoch rund ein Viertel der Deutschen Milchmenge (MILCHERZEUGERVERBAND, 2024). Diese Besonderheiten, kombiniert mit den Veränderungen in Haltung (z. B. Anbindehaltung im Vergleich zu Laufstallhaltung) und Technik (z. B. konventionelles Melken im Vergleich zu automatischen Melksystemen) infolge des landwirtschaftlichen Strukturwandels, unterstreichen die Notwendigkeit aktueller und regionaler Daten zu IMI.

Von besonderem Interesse ist dabei nicht nur die Häufigkeit einzelner Erreger, sondern auch ihre Ausscheidungsintensität sowie deren Zusammenhang mit betriebs- oder saisonbedingten Faktoren. Eine umfassende Analyse erfordert daher sowohl eine Betrachtung auf Herdenebene zur Identifizierung relevanter Risikofaktoren als auch eine Untersuchung auf Viertelbasis, um das Infektionsgeschehen im Euter präzise zu erfassen.

Die vorliegende kumulative Dissertation verfolgt daher in zwei Publikationen zwei zentrale Ziele:

Zuerst die Erfassung der Prävalenz und Analyse herdenspezifischer Risikofaktoren für das Auftreten ausgewählter Mastitiserreger (*Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* sowie Nicht-Aureus-Staphylokokken) in bayerischen Milchviehbetrieben. Danach zusätzlich die Untersuchung der quantitativen Erregerausscheidung der gleichen Erreger auf Viertelbasis, mit besonderem Fokus auf den Zusammenhang zwischen Ausscheidungsintensität, Eutergesundheitsstatus und saisonalen Einflüssen.

Durch die Kombination dieser beiden Ansätze soll ein detailliertes Bild zum Vorliegen von IMI in Bayern geschaffen werden. Die Ergebnisse sollen nicht nur bekannte Risikofaktoren bestätigen, sondern auch neue regionalspezifische Aspekte aufzeigen. Damit leistet die Arbeit einen Beitrag zur Entwicklung praxisnaher Präventions- und Bekämpfungsstrategien, die den besonderen Bedingungen der bayerischen Milchviehhaltung gerecht werden.

III. LITERATURÜBERSICHT

1. Bedeutung von Mastitis in der Milchviehhaltung

Mastitis gehört zu den weltweit häufigsten Erkrankungen in der Milchviehhaltung (MORALES-UBALDO et al., 2023). Betroffene Kühe zeigen Anzeichen von Schmerz und Unbehagen (BROOM, 2000), eine verringerte Liegezeit (MEDRANO-GALARZA et al., 2012), eine geringere Futteraufnahme sowie Wiederkäuzeit und Verhaltensänderungen, die auf Schmerzen hindeuten, wie das Einklemmen des Schwanzes zwischen den Hintergliedmaßen (GINGER et al., 2023). Weiter noch führt die Erkrankung zu gravierenden wirtschaftlichen Einbußen für Milchviehbetriebe: vor allem durch geringere Milchleistung (BAR et al., 2007; PFÜTZNER & ÓZSÁVRI, 2017; PUERTO et al., 2021), reduzierter Milchqualität (PFÜTZNER & ÓZSÁVRI, 2017), erhöhten Behandlungskosten (SEEGERS et al., 2003) und einer gesteigerten Abgangsrate (PUERTO et al., 2021). Neben den direkten wirtschaftlichen Folgen hat Mastitis auch eine gesellschaftliche Dimension, da ihre Behandlung in vielen Fällen nach wie vor durch Einsatz von Antibiotika erfolgt.

Die Minimierung des Antibiotikaverbrauchs stellt ein zentrales Ziel im Rahmen der Tiergesundheitsstrategien dar. Obwohl der Einsatz in der Tiermedizin in den letzten Jahren stetig zurückgegangen ist, wird weiterhin an einer Reduktion gearbeitet (BVL). In Deutschland wurden im Jahr 2012 insgesamt 1.619 Tonnen antimikrobiell wirksamer Grundsubstanzen an Tierärztinnen und Tierärzte abgegeben, wovon 13 Tonnen für die intramammäre Anwendung vorgesehen waren (WALLMANN et al., 2020). Ein erheblicher Anteil (75 %) dieser Präparate wird dabei für das antibiotische Trockenstellen der Kühe verwendet (KRÖMKER & LEIMBACH, 2017). Die notwendige Reduktion von Antibiotika-Behandlungen in der Nutztierhaltung steht im Kontext des One-Health-Ansatzes, der einen integrierten Ansatz zur Prävention und Kontrolle von Gesundheitsgefahren an der Schnittstelle zwischen Mensch, Tier und Umwelt verfolgt, um Risiken wie die Entstehung und Verbreitung antimikrobieller Resistenzen zu reduzieren (WHO).

1.1. Intramammäre Infektion und Mastitis – Grundbegriffe

Ein zentrales Anliegen im Bereich der Eutergesundheit ist die begriffliche Trennung zwischen einer IMI und einer Mastitis. Diese begriffliche Präzision ist nicht nur für wissenschaftliche Fragestellungen, sondern auch für die

veterinärmedizinische Praxis, für epidemiologische Untersuchungen und das betriebliche Management von hoher Relevanz. Die International Dairy Federation (IDF) hat standardisierte und international anerkannte Definitionen der wichtigsten Mastitis-bezogenen Begriffe vorgelegt, die im Folgenden herangezogen werden (IDF, 2011).

Demnach ist eine IMI das Vorhandensein Mastitis-erregender Mikroorganismen im Eutersekret, welche durch mikrobiologische Untersuchung aseptisch entnommener Eutersekretproben nachgewiesen werden. International gibt es einheitliche Untersuchungsabläufe, die den Nachweis von Mastitiserregern ermöglichen (IDF, 1981; NMC, 1999). In Deutschland dienen die Leitlinien der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) als Vorlage, welche auf der Grundlage der Leitlinien der IDF und des National Mastitis Council (NMC) beruhen (DVG, 2018).

Mastitis bezeichnet die entzündliche Reaktion eines oder mehrerer Euterviertel. Die Mastitis wird noch weiter differenziert in subklinisch, klinisch und chronisch. Klinische Mastitiden sind durch sichtbare Entzündungszeichen gekennzeichnet (Rötungen, Schwellungen am Euter) und/oder eine sichtbare Sekretveränderung (zum Beispiel Flocken). Eine zusätzliche Störung des Allgemeinbefindens ist ebenfalls möglich. Anhand dieser Merkmale wird die klinische Mastitis in drei Schweregrade eingeteilt: mild (Sekretveränderung und möglicherweise geringgradige Anzeichen einer Entzündung am Euter), moderat (Sekretveränderung und deutliche Anzeichen einer Entzündung am Euter, keine Störung des Allgemeinbefindens) und schwer (gravierende lokale und systemische Anzeichen einer Entzündung, gestörtes Allgemeinbefinden) (IDF, 2011). Die subklinische Mastitis ist dadurch gekennzeichnet, dass äußerlich keine Anzeichen einer Entzündung sichtbar sind (IDF, 2011). Sie wird anhand der somatischen Zellzahl (SZZ) in der Milch definiert, auf Viertelebene ab > 100.000 Zellen/ml Milch und auf Kuhebene ab > 200.000 Zellen/ml Milch (IDF, 2013). Die chronische Mastitis ist festgelegt als eine Euterentzündung, die sich über einen längeren Zeitraum streckt und sowohl subklinische als auch klinische Erscheinungen zeigen kann (IDF, 2011) mit einer erhöhten Zellzahl von mindestens drei bis vier Wochen (BONESTROO et al., 2021).

2. Mastitiserreger – Pathogenprofile und Infektionsdynamik

Ätiologisch lassen sich Mastitiserreger in überwiegend kontagiös (kuhassoziiert)

und überwiegend umweltassoziiert einteilen, wobei immer wieder beschrieben wird, dass diese Einteilung nicht immer eindeutig ist und eine Differenzierung auf Stammebene sinnvoller ist (ZADOKS et al., 2011; KLAAS & ZADOKS, 2017). Zu den klassischen kontagiösen Keimen zählen insbesondere *Staphylococcus* (*S.*) *aureus* und *Streptococcus* (*Strep.*) *agalactiae* (KEEFE, 2012). Umweltassoziierte Erreger hingegen stammen typischerweise aus der Umgebung der Tiere. Zu den wichtigsten Vertretern dieser Gruppe zählen *Strep. uberis* und *Escherichia* (*E.*) *coli* (COBIRKA et al., 2020; MEÇAJ et al., 2023). Studien, auch aus Bayern, zeigen, dass kontagiöse Erreger wie *S. aureus* und *Strep. agalactiae* seltener geworden sind, während umweltassoziierte Erreger, insbesondere *Strep. uberis*, zunehmend an Bedeutung gewinnen (ZADOKS & FITZPATRICK, 2009; BECHTOLD et al., 2024).

Einige Erreger weisen sowohl Charaktereigenschaften kontagiöser als auch umweltassoziiierter Keime auf. Dazu zählen insbesondere *Strep. dysgalactiae* (LUNDBERG et al., 2016; WENTE & KRÖMKER, 2020) sowie die Gruppe der Nicht-Aureus-Staphylokokken (NAS) (PYORÄLÄ & TAPONEN, 2009; DE BUCK et al., 2021).

Zusätzlich lassen sich Mastitiserreger auf Grundlage ihrer Pathogenität und epidemiologischen Relevanz in sogenannte „Major Pathogens“ und „Minor Pathogens“ unterteilen. „Major Pathogens“ wie *S. aureus*, *Strep. agalactiae*, *E. coli* oder *Strep. uberis* führen in der Regel zu einer ausgeprägten zellulären Immunantwort im Euter, zu Milchleistungsverlusten sowie häufiger zu klinischen Krankheitsverläufen (GRIFFIN et al., 1977).

„Minor Pathogens“ wie NAS (DE BUCK et al., 2021) und *Corynebacterium* spp. gelten demgegenüber als weniger pathogen. Sie lösen in den meisten Fällen im Vergleich zu den „Major Pathogens“ eine schwächere Immunantwort aus und persistieren kürzer oder gar nicht in der Milchdrüse (SRITHANASUWAN et al., 2023). Sie werden auch als Kommensalen der Schleimhaut beschrieben (BROOKS & BARNUM, 1984; DE BUCK et al., 2021).

2.1. *Staphylococcus aureus*

S. aureus gehört zu den grampositiven Kokken und kann sowohl als Pathogen aber auch als Haut- und Schleimhautkommensale vorkommen (MATOS et al., 1991; CAPURRO et al., 2010; CICCONI-HOGAN et al., 2013). Die hervorgerufene Mastitis verläuft häufig subklinisch mit erhöhten Zellzahlen, kann jedoch auch

klinisch manifest werden (SEARS et al., 1990; WALKER et al., 2013). Chronische Verläufe mit Abszess- und Granulombildung erschweren die Behandlung (SEARS et al., 1990). Zusätzlich gelten *S.-aureus*-Infektionen als schwer therapierbar, da die bakteriologische Heilungsrate nach antibiotischer Behandlung häufig niedrig ist (BARKEMA et al., 2006). Dies wird unter anderem durch die Bildung von Biofilmen sowie die Fähigkeit zur Persistenz in phagozytierenden Zellen und innerhalb von Epithelzellen erklärt (HENSEN et al., 2000; MULLARKY et al., 2001).

Klassisch erfolgt die Übertragung während des Melkens über kontaminierte Melkzeuge oder Hände (KEEFE, 2012), wobei jedoch auch ein Infektionsgeschehen nachgewiesen wurde, welches sonst eher umweltassoziierten Erregern zugeschrieben wird (ZADOKS et al., 2001). Fliegen können als Vektoren für *S. aureus* dienen (CAPURRO et al., 2010). Kühe mit persistenten Infektionen dienen als Reservoir, weshalb eine Melkreihenfolge oder Keulung betroffener Tiere empfohlen wird (PETERSSON-WOLFE et al., 2010).

2.2. *Streptococcus agalactiae*

Strept. agalactiae gehört ebenfalls zu den grampositiven Kokken und zählt zu den kontagiösen Erregern (KEEFE, 2012), konnte aber auch in der Umwelt, im Kot und in Tränken nachgewiesen werden (JØRGENSEN et al., 2016). Lange Zeit galt dieser Erreger als obligater Euterkeim (MCDONALD, 1984). Die hervorgerufene Mastitis verläuft meist subklinisch mit hohen Zellzahlen (DJABRI et al., 2002) und kann chronisch werden, bis hin zur Atrophie eines Euterviertels. Antibiotikatherapien, insbesondere mit Penicillin, sind meist wirksam (HUBER-SCHLENSTEDT et al., 2017), jedoch müssen Kühe mit persistenten Infektionen konsequent aus der Herde eliminiert werden. Mit der Einführung des Fünf-Punkte Plans Mitte des 20. Jahrhunderts konnten die Prävalenzen von kontagiösen Erregern, insbesondere von *Strep. agalactiae*, deutlich gesenkt werden (DODD et al., 1969; NEAVE et al., 1969). Der Schwerpunkt des Fünf-Punkte Plans lag dabei auf der Reduktion von IMI mit kontagiösen Erregern und einer Senkung der weit verbreiteten hohen Zellzahlen (HILLERTON & BOOTH, 2018). Um diese Ziele zu erreichen, sollten Melkanlagen regelmäßig gewartet werden, Zitzendesinfektion nach dem Melken durchgeführt werden, Kühe mit klinischer Mastitis und trockenzustellende Kühe einer gezielten Antibiotikatherapie unterzogen werden und therapieresistente oder nichtbehandlungswürdige Kühe konsequent gekeult

werden (DODD et al., 1969; NEAVE et al., 1969).

2.3. *Streptococcus dysgalactiae*

Strep. dysgalactiae weist sowohl Charaktereigenschaften kontagiöser als auch umweltassoziiierter Natur auf (WENTE & KRÖMKER, 2020). Innerhalb einer Herde können mehrere Stämme gleichzeitig vorkommen (WENTE & KRÖMKER, 2020). Die Infektion verläuft überwiegend subklinisch und ist mit Milchverlusten verbunden (HEIKKILÄ et al., 2018).

2.4. *Streptococcus uberis*

Strep. uberis zählt ebenfalls zu den grampositiven Kokken und weist die Fähigkeit der Äskulin-Spaltung auf. Das Vorkommen ist dabei ubiquitär, vor allem aber in der Umgebung der Kühe, darunter in Einstreu, Wartebereichen vor dem Melkstand (WENTE & KRÖMKER, 2020) und in Fäzes (ZADOKS et al., 2005; BREEN et al., 2009). Neben der klassischen Umweltübertragung sind auch direkte Kuh-zu-Kuh-Infektionen beschrieben (ZADOKS et al., 2003). Eine Infektion kann sowohl subklinische als auch klinische Mastitis verursachen. *Strep. uberis* gilt als einer der wichtigsten Erreger der klinischen Mastitis in Bayern (HUBER-SCHLENSTEDT et al., 2017; BECHTOLD et al., 2024).

2.5. *Escherichia coli*

E. coli gehört zu den gramnegativen Stäbchen, ist physiologisch im Kot vorhanden und gelangt opportunistisch in das Euter (BURVENICH et al., 2003). Dabei können schwere klinische Mastitiden ausgelöst werden, da sowohl während der Vermehrung als auch nach dem Tod der Bakterien das Zellwand-Endotoxin Lipopolysaccharid (LPS) freigesetzt wird. In Folge dessen wird eine vergleichsweise starke Aktivierung von Komponenten der angeborenen Immunantwort ausgelöst (GÜNTHER et al., 2017). Je schneller die Anzahl der Keime steigt, desto mehr LPS ist vorhanden und umso schneller kann es zu einer Entzündungsreaktion und einer klinisch manifestierten Erkrankung kommen (MEHRZAD et al., 2008). In fulminanten Verläufen kann es zu einem systemisch inflammatorischen Schocksyndrom mit Multiorganversagen führen (HAZLETT et al., 1984).

2.6. Nicht-Aureus-Staphylokokken (NAS)

NAS sind eine heterogene Gruppe und weisen sowohl Charaktereigenschaften von

umweltassoziierten als auch von kontagiösen Erregern auf (PYORÄLÄ & TAPONEN, 2009; DE BUCK et al., 2021). Die Bezeichnung NAS umfasst alle Staphylokokkenarten außer *S. aureus* und schließt auch Koagulase-positive sowie Koagulase-variable Spezies wie zum Beispiel *S. hyicus* ein (FOX et al., 1996) ein. Aufgrund der diagnostischen Unschärfen bei der Koagulasetypisierung wird der Begriff NAS als präziser angesehen (FOX et al., 1996; AKINEDEN et al., 2011). In vielen Ländern sind NAS die am häufigsten nachgewiesenen Erreger in VGP (PITKÄLÄ et al., 2004; TENHAGEN et al., 2006; SAMPIMON et al., 2009; GROH et al., 2023). Infektionen mit NAS lösen vor allem subklinische Mastitiden aus (PYORÄLÄ & TAPONEN, 2009), können aber auch bei klinisch gesunden Tieren nachgewiesen werden (REYHER et al., 2011; DUFOUR et al., 2012). Die Prävalenz von NAS ist besonders hoch bei Färsen und in der ersten Laktation (FOX et al., 1995; PIEPERS et al., 2007).

Die Spezies *S. chromogenes* wurde in mehreren Ländern als häufigste NAS-Spezies nachgewiesen (DE VISSCHER et al., 2016; CONDAS et al., 2017; CONDAS et al., 2017a; JENKINS et al., 2019). Sie ist sowohl in klinischen als auch subklinischen Fällen häufig vertreten und mit erhöhten somatischen Zellzahlen assoziiert (TAPONEN & PYORÄLÄ, 2009). Neben *S. chromogenes* zählen *S. epidermidis*, *S. simulans*, *S. haemolyticus* und *S. xylosus* zu den am häufigsten isolierten NAS-Spezies (CONDAS et al., 2017; CONDAS et al., 2017a). In einer Analyse von über 5.000 NAS-Isolaten aus kanadischen Milchproben konnten insgesamt 23 verschiedene Spezies identifiziert werden (CONDAS et al., 2017a). Die Verteilung einzelner Spezies variiert zwischen Regionen, wobei ein Einfluss durch das Herdenmanagement vermutet wird (VANDERHAECHEN et al., 2015).

2.7. Quantitative Erregerausscheidung

Die Menge der ausgeschiedenen Bakterien bei intramammären Infektionen variiert in Abhängigkeit vom verursachenden Erreger. *S. aureus* wird in der Regel in geringeren Mengen (< 1.000 KbE/ml Milch) ausgeschieden (SEARS et al., 1990). Allerdings kann *S. aureus* in Einzelfällen deutlich höhere Werte erreichen, wie bei natürlichen Infektionen mit mittleren Koloniezahlen von $2,4 \times 10^4$ KbE/ml beschrieben (WALKER et al., 2011). Unter den in dieser Arbeit betrachteten Pathogenen wies *S. aureus* die niedrigste Erregerausscheidung in Studien auf (HAMEL et al., 2021). *Strep. uberis* wurde sowohl in experimentellen als auch in Felduntersuchungen mit höheren Koloniezahlen nachgewiesen. In einem Versuch

mit einem wirtsadaptierten Stamm wurden nach experimenteller Infektion Koloniezahlen von bis zu $7,7 \log_{10}$ KbE/ml gemessen (TASSI et al., 2013). Bei natürlichen Infektionen betrug der Mittelwert etwa $4,0 \log_{10}$ KbE/ml, wobei mehr als ein Drittel der Proben an der oberen Nachweisgrenze lag (HAMEL et al., 2021). *Strep. dysgalactiae* wurde ebenfalls mit hohen Ausscheidungsmengen in Verbindung gebracht. Nach einer experimentellen Infektion wurden bis zu $9,3 \log_{10}$ KbE/ml erreicht (MAYE et al., 2017). Unter Praxisbedingungen überschritten in einer Untersuchung mehr als die Hälfte der Proben die obere Nachweisgrenze von 30.000 KbE/ml Milch (HAMEL et al., 2021). *E. coli* wird häufig bei akuten klinischen Mastitiden nachgewiesen und kann in diesen Fällen hohe Koloniezahlen aufweisen. Eine hohe initiale Koloniezahl wurde mit schwereren klinischen Verläufen und einer ausgeprägteren Immunreaktion bei erstlaktierenden Kühen in Verbindung gebracht (VANGROENWEGHE et al., 2004). Eine hohe Erregerlast wurde mit einer geringeren Wahrscheinlichkeit der bakteriellen Heilung, auch nach Therapie, (ZIESCH & KRÖMKER, 2016) und ebenfalls mit reduzierten Heilungsraten bei klinischen (FREDEBEUL-KREIN et al., 2022) und subklinischen Mastitiden beschrieben (KREBS et al., 2023). Bestimmte Tier- und Infektions-bezogene Faktoren können die Höhe der Erregerausscheidung beeinflussen. Eine höhere Keimausscheidung wurde bei Tieren mit erhöhten somatischen Zellzahlen beobachtet (HAMEL et al., 2021). Eine erhöhte Ausscheidungsmenge ist außerdem ab der ≥ 2 . Laktation zu beobachten (HAMEL et al., 2021). Nach Stresssituationen, wie beispielsweise hohen Umgebungstemperaturen (HAMEL et al., 2021), oder nach einer Klauenpflege wurden ebenfalls höhere Koloniezahlen festgestellt (KRÖMKER et al., 2008). Untersuchungen zur natürlichen quantitativen Erregerausscheidung liegen bislang nur in begrenztem Umfang vor. Diese sind jedoch notwendig, um Tierärztinnen und Tierärzten bei der Einordnung des Infektionsgeschehens und Therapieentscheidungen zu unterstützen.

3. Risikofaktoren für Mastitis und intramammäre Infektionen

3.1. Tierindividuelle Faktoren

Zu den tierbezogenen Risikofaktoren für intramammäre Infektionen zählt die Parität: Kühe mit höherer Laktationszahl tragen dabei ein erhöhtes Risiko (HERTL

et al., 2011; ELGHAFGHUF et al., 2014). Dahingehend wird auch ein unvollständiger Zitzenschluss mit steigendem Alter beschrieben, welcher die mechanische Barriere gegen das Eindringen von Erregern nachteilig beeinflusst (KIBEBEW, 2017). Außerdem konnte festgestellt werden, dass Zitzen mit Hyperkeratosen an der Spitze zu einem erhöhten Risiko für intramammäre Infektionen mit *Strep. uberis* oder *E.coli* führen (BREEN et al., 2009).

Eine hohe Milchleistung wurde ebenfalls als Risikofaktor beschrieben (JAMALI et al., 2018). Darüber hinaus kann die genetische Veranlagung die Resistenz oder Empfänglichkeit gegenüber IMI beeinflussen, wobei Hochleistungsrasen wie Holstein-Friesian häufiger betroffen sind als Rassen mit moderater Milchleistung (CURONE et al., 2018).

3.2. Einstreu und Liegeflächen

Die Einstreu und die Liegeflächen stellen einen weiteren wesentlichen Faktor dar, der das Risiko für IMI beeinflusst. Materialien wie Stroh können als Reservoir für Krankheitserreger dienen, insbesondere für Umweltkeime wie *Strep. uberis* (HOGAN et al., 1989; ERICSSON UNNERSTAD et al., 2009; PATEL et al., 2019; SHERWIN et al., 2021). Die Sauberkeit der Haltungsumgebung, welche auch maßgeblichen Einfluss auf die Sauberkeit der Kühe hat (DEVRIES et al., 2012), und der regelmäßige Wechsel der Einstreu sind daher essenziell, um die bakterielle Belastung zu minimieren und die Übertragung von Erregern zwischen den Tieren zu reduzieren (ABEBE et al., 2016; PATEL et al., 2019). Verschmutzte Kühe haben zusätzlich ein höheres Risiko für eine *E.-coli*-Infektion (BREEN et al., 2009). Fehlende Einstreu oder die Nutzung ungeeigneter Liegeflächen, wie Gummimatten, können die Prävalenz von *S. aureus* (ABEBE et al., 2016) und *Strep. dysgalactiae* erhöhen (Groh et al., 2022). Ein weiterer wichtiger Faktor stellt die Hygiene im Abkalbestall dar. Die Hygienemaßnahmen sollten in diesem Bereich besonders gründlich eingehalten werden, weil hier potenziell ein großes Risiko für eine Neuinfektion herrscht (BARKEMA et al., 1999).

3.3. Fütterung

Auch die Fütterung beeinflusst das Mastitisrisiko indirekt durch die Beeinflussung der Immunkompetenz der Kühe. Eine ausgewogene Ernährung fördert das Immunsystem, während Nährstoffmängel oder ungünstige Futterbestandteile das Infektionsrisiko erhöhen können (O'ROURKE, 2009). Zusätzlich kann

schmackhaftes Futter, welches direkt nach dem Melken angeboten wird, dabei helfen, Standzeiten nach dem Melken zu verlängern, während sich der Zitzenschluss vollzieht und somit das Eindringen von Erregern (im Liegen) verhindert wird (DUFOUR et al., 2011).

3.4. Klima

Das Klima, insbesondere Temperatur und Luftfeuchtigkeit, stellt einen bedeutenden Risikofaktor für das Auftreten von Mastitis dar. Hitzestress infolge erhöhter Umgebungstemperaturen kann die Immunkompetenz von Milchkühen beeinträchtigen und somit die Infektanfälligkeit erhöhen (HAMEL et al., 2021; ZIGO et al., 2021). Gleichzeitig beeinflussen Temperatur und Luftfeuchtigkeit das Umweltmilieu und fördern unter bestimmten Bedingungen die Vermehrung Mastitis-relevanter Umweltkeime, wie zum Beispiel *E. coli* und *Strep. uberis* (VITALI et al., 2020). Ein erhöhter Keimdruck in Stall- und Liegebereichen wird dabei insbesondere durch feuchte und ungenügend belüftete Flächen begünstigt (DLG-MERKBLATT 450, 2021).

Zahlreiche Studien berichten von einem Zusammenhang zwischen steigender Umgebungstemperatur bzw. Temperature Humidity Index (THI) und der somatischen Zellzahl sowie der Inzidenz klinischer Mastitis (BOURAOUI et al., 2002; SMITH et al., 2013; BERTOCCHI et al., 2014; HAMEL et al., 2021). Vitali et al. (2020) zeigten anhand des Heat Load Index (HLI), dass ein akkumulierter Hitzeeintrag in den Tagen vor der Erkrankung mit einem erhöhten Mastitisrisiko assoziiert ist. Einflussgrößen wie Milchleistung, Laktationsstadium und Parität verstärken diesen Effekt zusätzlich.

Darüber hinaus belegen Untersuchungen von Chen et al. (2022), dass die Abmilderung von Hitzestress durch Verdunstungskühlung nicht nur leistungsbezogene Parameter wie Milchmenge und Futteraufnahme positiv beeinflusst, sondern auch die Immunantwort im Euter moduliert. Nach einer experimentellen intramammären Infektion wiesen nicht gekühlte Tiere höhere Konzentrationen inflammatorischer Marker in der Milch sowie eine erhöhte somatische Zellzahl auf (CHEN et al., 2023).

Neben Temperatur und Luftfeuchtigkeit ist auch die Jahreszeit von Bedeutung. Olde Riekerink et al. (2007) berichteten über einen saisonalen Anstieg der somatischen Zellzahl in den Sommermonaten sowie über eine erhöhte Mastitisinzidenz im Winter. Dabei wurden pathogenabhängige Unterschiede

festgestellt: *Strep. uberis* trat verstärkt im Sommer auf, insbesondere im Zusammenhang mit Weidehaltung, während *E. coli* gehäuft in den Sommermonaten in Laufställen nachgewiesen wurde (OLDE RIEKERINK et al., 2007).

3.5. Melkarbeit und Melkhygiene

Im Bereich der Melkarbeit und Melkhygiene beeinflussen verschiedene Faktoren die Mastitisinzidenz maßgeblich. Schlechte Melkhygiene, defekte Melkmaschinen und unzureichende Zitzenreinigung erhöhen die Infektionsgefahr deutlich (HOGAN et al., 1989; BREEN et al., 2009). Das Eintauchen der Zitzen in Desinfektionslösungen nach dem Melken und das Tragen von Einweghandschuhen stellen dagegen wichtige Schutzfaktoren dar (BARKEMA et al., 1999; DUFOUR et al., 2011). Die Einhaltung einer Melkreihenfolge verhindert vor allem die Übertragung kontagiöser Erreger wie *S. aureus* (ABEBE et al., 2016) und *Strep. agalactiae*. Melkanlagen, die nicht regelmäßig überprüft werden und Mängel aufweisen, stellen ebenfalls ein erhöhtes Risiko dar (NOORLANDER, 1977). In manchen Fällen ist ein hörbares Schlürfen („Liner slips“) wahrzunehmen, welches als ein Risikofaktor für Umweltmastitiden (NMC, 1997) gilt.

3.6. Trockenstellen

Das Trockenstellen ist eine zentrale Maßnahme im Herdenmanagement und dient der Regeneration des Eutergewebes nach der Laktation (CAPUCO & AKERS, 1999). Während dieser 45- bis 60-tägigen Phase durchläuft die Milchdrüse drei Phasen: aktive Involution, stabile Involution mit hoher Infektionsresistenz und Neolaktogenese (DLG-MERKBLATT 400, 2019). Diese Phase ist entscheidend für die langfristige Eutergesundheit und Leistungsfähigkeit in der Folgelaktation (LEITFADEN EUTERGESUNDHEIT, 2018).

Das Trockenstellen ermöglicht die Ausheilung während der Laktation erworbener intramammärer Infektionen, birgt jedoch insbesondere um den Kalbezeitpunkt ein hohes Risiko für Neuinfektionen – bis zu 90 % treten in dieser Zeit auf (NITZ et al., 2021). Ursachen sind ein noch offener Strichkanal und Milchreste im Euter, die pathogenen Keimen Nahrung bieten (BURVENICH et al., 2003; DLG-MERKBLATT 400, 2019).

Die antibiotische Langzeitbehandlung beim Trockenstellen ist bewährt zur Infektionsbekämpfung und Reduktion von Neuinfektionen (DUFOUR et al., 2011;

NIEMI et al., 2021). Angesichts antimikrobieller Resistenzen ist ein verantwortungsvoller Einsatz wichtig, etwa durch selektives Trockenstellen (SORGE et al., 2023). Dieses wird in nordischen Ländern wie Finnland und Dänemark seit Jahren erfolgreich praktiziert. Studien zeigen, dass selektives Trockenstellen bei Verwendung eines internen Zitzenversieglers keine oder nur geringe Auswirkungen auf Zellzahl und Milchleistung hat (NIEMI et al., 2020; KABERA et al., 2021), wobei eine herdenspezifische Anpassung entscheidend ist (NIEMI et al., 2020; RAJALA-SCHULTZ et al., 2021).

Die spontane Heilungsrate während der Trockenstehzeit kann in gut geführten Betrieben bis zu 75 % betragen (DLG-MERKBLATT 400, 2019). Interne Zitzenversieglers schützen besonders in den ersten Tagen nach dem Trockenstellen wirksam, sofern sie hygienisch korrekt angewendet werden (DLG-MERKBLATT 400, 2019).

Mit dem Inkrafttreten des neuen Tierarzneimittelgesetzes (TAMG, 2021) zum 1. Januar 2023 wurde die Erfassung des Antibiotikaverbrauchs auf Milchkühe ausgeweitet, was den pauschalen Antibiotikaeinsatz beim Trockenstellen rechtlich einschränkt und eine indikationsbezogene Anwendung verlangt.

Nicht jede Kuh benötigt eine antibiotische Behandlung. Entscheidungshilfen wie der RAST (Reduktion des Antibiotikaeinsatzes beim Milchvieh durch Selektives Trockenstellen)-Entscheidungsbaum (RAST, 2020) unterstützen das selektive Trockenstellen. Voraussetzungen sind eine eutergesunde Herde mit Tankmilchzellzahl unter 200.000 Zellen/ml, unauffällige Mastitishistorie und ein negativer California Mastitis Test (CMT) am Tag des Trockenstellens. Nach mikrobiologischer Untersuchung kann auf Antibiotika verzichtet werden (SCHMON, 2019). Zudem empfiehlt sich eine Bestandsuntersuchung zur Erfassung kontagiöser Erreger, um gezielte Maßnahmen zu ermöglichen (SCHMON, 2019).

4. Region Bayern – Struktur und Besonderheiten

In Bayern werden rund 1,036 Millionen Milchkühe gehalten, was einem Anteil von etwa 29 % am gesamten deutschen Milchkuhbestand entspricht (BMEL, 2024). Der Beitrag Bayerns zur nationalen Milchproduktion liegt bei 25 % (MILCHERZEUGERVERBAND, 2024). Die durchschnittliche Herdengröße beträgt 44 Kühe (BMEL, 2024) und ist damit die niedrigste im bundesweiten Vergleich. Die vorherrschende Rasse ist Fleckvieh und macht 77 % des bayerischen

Milchkuhbestands aus (BMEL, 2024). Diese Zweinutzungsrasse wird sowohl für die Milch- als auch für die Fleischproduktion eingesetzt (MICIŃSKI et al., 2014). Sie weist im Vergleich zu Holstein-Friesian-Kühen Unterschiede in der Milchezusammensetzung, insbesondere höhere Milchfettgehalte sowie eine geringere Abgangsrate auf (KARSLIOGLU KARA & KOYUNCU, 2018). Zudem bestehen Unterschiede im Stoffwechsel und in den Fütterungsanforderungen zwischen Fleckvieh und Holstein-Kühen (ZABLOTSKI et al., 2022). Die bayerische Milchviehhaltung ist durch eine große strukturelle Heterogenität gekennzeichnet. In den südlichen Regionen, insbesondere in den Alpen- und Voralpengebieten, dominieren kleinere Familienbetriebe mit Anbindehaltung oder kleinen Laufställen. In den nördlichen Regionen, vor allem in Franken und der Oberpfalz, finden sich größere Betriebe mit Laufstallhaltung. Die Haltungsformen umfassen sowohl klassische Anbindeställe, Mischformen mit teilweise Weidegang als auch große Laufställe mit automatischen Melksystemen (GROH et al., 2023).

IV. VERÖFFENTLICHUNGEN

1. 1. Veröffentlichung



Article

Risk Factors for Intramammary Infections on Bavarian Dairy Farms—A Herd-Level Analysis

Klara Kalverkamp ^{1,2,*} , Wolfram Petzl ² and Ulrike S. Sorge ¹

¹ Department of Udder Health and Milk Quality, Bavarian Animal Health Services, 85586 Poing, Germany; ulrike.sorge@tgd-bayern.de

² Clinic for Ruminants with Ambulatory and Herd Health Services, Centre for Clinical Veterinary Medicine, Ludwig Maximilians University Munich, 85764 Oberschleissheim, Germany; wpetzl@lmu.de

* Correspondence: klarakalve@gmail.com

Simple Summary

This study investigated the prevalence of mastitis pathogens and risk factors at the herd level in 305 dairy farms in Bavaria, Germany. The most common pathogen in quarter milk samples from more than 14,000 cows was identified as non-aureus staphylococci, followed by *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus*. Risk factors varied by pathogen and included factors such as herd size, type of bedding, milking system, and hygiene practices. Known preventive measures such as post-milking teat disinfection and equipment maintenance were again associated with lower infection rates. These findings highlight the importance of good management practices in reducing intramammary infections and improving udder health in dairy herds.

Abstract

This cross-sectional study aimed to (a) determine the apparent prevalence of mastitis pathogens and (b) to identify risk factors for intramammary infections (IMIs) at the herd level in dairy herds in Bavaria, Germany. A stratified random sample of 305 herds was selected based on herd size, administrative district, and season. During the farm visits between July 2023 and July 2024, management data were recorded, quarter milk samples (QMSs) from 14,700 lactating cows were collected aseptically and analyzed, and the somatic cell count (SCC) at the quarter level was determined. Risk factors for the within-herd prevalence of *Staphylococcus* (*S.*) *aureus*, *Streptococcus* (*Strep.*) *uberis*, *Strep. dysgalactiae*, and non-aureus staphylococci (NAS) were analyzed by negative binomial regression, while risk factors for the presence of *Escherichia* (*E.*) *coli* and *Strep. agalactiae* IMIs on dairy farms were identified by logistic regression. The most frequently detected pathogens were NAS, found in 5.0% of all QMSs ($n = 57,251$), followed by *Strep. uberis* (1.9%) and *S. aureus* (1.8%), *Strep. agalactiae* (0.2%), and *E. coli* (0.1%). At the herd level, NAS, *Strep. uberis*, *S. aureus*, and *Strep. dysgalactiae* were found in 92%, 69%, 67%, and 57% of farms, respectively. Risk factors for increased within-herd prevalence included automated milking systems (NAS), organic production (*Strep. uberis*, *S. aureus*), straw bedding (*Strep. uberis*), and lack of bedding or mattress cubicles (*Strep. dysgalactiae*). The odds for a herd to be positive were increased with audible liner slips (*E. coli*) and the irregular cleaning of water troughs (*Strep. agalactiae*), and without a maintenance agreement for milking equipment (*Strep. agalactiae*). These results provide valuable insights into options for the targeted prevention of IMI.

Keywords: mastitis pathogens; risk factors; dairy cattle



Received: 3 August 2025

Revised: 28 August 2025

Accepted: 4 September 2025

Published: 6 September 2025

Citation: Kalverkamp, K.; Petzl, W.; Sorge, U.S. Risk Factors for Intramammary Infections on Bavarian Dairy Farms—A Herd-Level Analysis. *Animals* **2025**, *15*, 2616. <https://doi.org/10.3390/ani15172616>

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Mastitis is one of the most common diseases in dairy farming globally [1] and has a profound impact on animal welfare [2]. Affected animals can show clear behavioral changes, such as shorter lying times [3–5], reduced rumination time and feed intake, and pinching of the tail between the hind legs, as a sign of discomfort [6].

In addition to the impact on welfare, bovine mastitis has an enormous economic effect due to milk loss [7–9], lower milk quality [9], treatment costs [10], and increased involuntary culling [8].

In Germany, dairy farms differ greatly between regions. In Bavaria, dairy farming has some unique characteristics that highlight the importance of regional studies. The 1,036,089 dairy cows in Bavaria alone make up 29% of all German dairy cows [11] and produce 25% of Germany's total milk volume [12]. However, the average herd size of 44 cows is smallest in a nationwide ranking. By comparison, the herds in north-eastern Germany (Mecklenburg-Western Pomerania) are largest with an average of 244 cows per herd, and the Holstein–Friesian breed dominates the German dairy industry outside of Bavaria [13]. By contrast, the dual-purpose breed Simmental [14] is the predominant dairy breed in Bavaria, representing 77% of the Bavarian dairy cows [11]. Distinguished by their robustness, higher milk fat production, and lower culling rate, Simmental cows are growing in importance in Europe [15] and, above all, in Turkey [16]. It has also been shown that, compared to Holstein–Friesian cows, this breed has different feeding requirements in different stages of life [17]. Therefore, breed-specific factors may also impact the occurrence of IMI.

Mastitis is predominantly caused by bacterial intramammary infection (IMI), which results in local and systemic inflammation [18]. Etiologically, mastitis-causing pathogens are classified based on their main reservoir and transmission route: environmental and contagious pathogens [19]. Environmental pathogens such as *Streptococcus* (*Strep.*) *uberis* and *Escherichia* (*E.*) *coli* originate from the cows' surroundings and may opportunistically invade the udder [20,21].

Contagious pathogens are predominantly transmitted from cow to cow and mainly include *Strep. agalactiae* and *Staphylococcus* (*S.*) *aureus* [22]. However, this binary classification does not fully capture the complexity of pathogen behavior; some pathogens, such as *Strep. dysgalactiae* [23–25] and the heterogeneous group of non-aureus staphylococci (NAS), can exhibit both environmental and contagious transmission characteristics [26,27].

In the mid-20th century, a five-point plan (tested milking systems, implementation of teat dipping, antibiotic treatment of clinical mastitis, antibiotic dry cow therapy, and culling of non-treatable animals) was drawn up to fight mastitis [28,29]. The main focus was on reducing IMI with contagious pathogens (*Strep. agalactiae* and *S. aureus*) and fighting infections with antibiotic dry cow therapy [30]. High somatic cell counts (SCCs) were common, and much of the emphasis was placed on reducing subclinical mastitis. The five-point plan was highly successful [30], but as a result, the prevalence of environmental pathogens has since increased, which are known to more likely cause clinical mastitis (CM) [31,32].

In this study, we focus on IMI, defined as the presence of mastitis-causing pathogens in quarter milk samples, regardless of the presence of inflammatory symptoms. There is a possibility that IMI may lead to subclinical (SCM) or CM, but it does not always result in inflammation. Therefore, although we reference studies describing risk factors for mastitis, our outcome is pathogen-based (IMI) rather than inflammation-based (SCM or CM).

The known risk factors for IMI include age and milk yield [33,34]. Cows with a higher parity are more prone to mastitis [35–37]. Similarly, high milk yield has been associated with an increased risk of mastitis [38,39]. Environmental causes and certain management

practices have also been identified as risk factors for mastitis: Nutrition and heat stress can impair the immune competence of cows [40–42], while the material and hygiene of bedding materials influence cow cleanliness, which in turn affects mastitis risk [43–46]. Furthermore, poor milking hygiene and malfunctioning milking machines can increase the risk for mastitis as well. Previously described sparing factors include teat dipping [47,48], a clean calving pen [47], and a milking sequence [49]. Well-maintained milking machines [50], wearing disposable gloves, or providing feed after milking, to allow for teat closure before cows lie down, can further reduce the risk for IMI [48].

However, risk factors for IMI will vary geographically due to differences in cattle breeds, production level, and farming style, including housing, and also due to the change in prevalence since the introduction of the five-point plan.

In 2018, a Bavarian study investigated risk factors for the herd prevalence of mastitis pathogens [51], and another recent study from Bavaria analyzed the distribution of mastitis pathogens identified in the largest regional veterinary laboratory between January 2014 and December 2023 [52]. However, a re-evaluation of risk factors for IMI in this dairy region was needed, as the previous study [51] could not evaluate seasonal risk factors, and there have been legislative changes regarding antibiotic usage for livestock production in Germany and the European Union since. Specifically, in 2018, the German Veterinary Pharmacy Regulation (TÄHAV) [53] was revised, introducing an antibiogram requirement for certain cases (e.g., when changing antibiotic prescription during therapy or when using fluoroquinolones and 3rd/4th-generation cephalosporines). More recently, the National Veterinary Medicinal Products Act (TAMG) [54] was amended in 2023, extending the national antibiotic reduction program, thereby tightening monitoring and also reporting obligations for dairy cattle. Furthermore, the dairy industry has developed towards fewer but larger dairy farms and the number of farms with robotic milking is steadily increasing [55].

Therefore, the aim of this study was to describe the prevalence of the mastitis pathogens and to investigate herd-level risk factors associated with the within-herd prevalence of the common mastitis pathogens *Strep. uberis*, *Strep. dysgalactiae*, *Strep. agalactiae*, *S. aureus*, *E. coli*, and NAS in Bavarian dairy herds.

2. Materials and Methods

All animal-related procedures complied with institutional and national guidelines for the ethical care and use of animals. Due to the non-invasive study design, local animal ethics committee approval was not required. The participating farmers gave written informed consent for the use of their animals and voluntarily answered any questions regarding management practices.

2.1. Herd Selection

This cross-sectional study was conducted in Bavaria between July 2023 and July 2024. A list of all dairy Bavarian farms ($N = 20,624$) that included milk shipped daily was used to identify potential participants. Since the herd size was not available, the milk shipped was used as a surrogate for herd size. Farms with <200 kg of milk shipped daily ($n = 2399$) were excluded, as it was assumed that the herd size was fewer than 10 cows. Excluding these very small herds also increased the statistical robustness of the analysis, as estimates from very small sample sizes per herd are more prone to random variation. The remaining farms ($n = 18,225$) were divided into 4 groups based on the quartiles of daily milk haul (group 1: 201–479 kg, group 2: 480–869 kg, group 3: 870–1498 kg, group 4: ≥ 1499 kg). Due to logistical and financial constraints, a total of 304 herds could be examined, which were divided into groups of 76 herds per season (spring, summer, fall, and winter) for each group (1–4). The seasons were defined by month as follows: spring—March to

May; summer—June to August; fall—September to November; and winter—December to February. For a good representation of the whole state of Bavaria, the herds were also divided into the six administrative districts on a percentage basis due to geographical differences in number of farms and farm sizes. Thus, 61 herds were to be studied in Franconia, 50 in Lower Bavaria, 54 in Swabia, 43 in Upper Palatinate, 52 in Upper Bavaria East, and 44 in Upper Bavaria West. The resulting farm lists were randomized (in Microsoft Excel® 2019 MSO (16.101417.20007), function RAND()) and then contacted by telephone starting from the top of the list. Each farm was visited once by trained technicians from the Bavarian Animal Health Service at milking time or, in the case of robotic milking farms, at one point throughout the day.

During a farm visit, the hygiene score (1–4: 1 = clean cow, manure contamination up to dewclaws; 2 = light soiling, manure contamination up to hock joint; 3 = manure contamination above hocks and on flanks; 4 = severe manure contamination including soiled belly) [56], the hock score (1–3: 1 = no swelling or hair missing; 2 = no swelling, >1 cm diameter bald area on the hock; 3 = swelling or crust/open lesion of skin) [57], and the teat score (1–4: 1 = no hyperkeratosis; 2 = ring at teat end; 3 = moderate hyperkeratosis; 4 = extreme hyperkeratosis) [58] of lactating and dry cows were assessed on a cow level (the highest score was recorded). On farms with conventional milking systems, quarter milk samples (QMSs) were collected aseptically from all quarters of all lactating cows, prior to milking, in a sterile container with 0.5% boric acid as a preservative agent for shipment [59]. After pre-cleaning of the teats by the milker, the teat ends were rubbed with an alcohol swab and the cleanliness of the pre-cleaning was recorded (score 1–4: 1 = clean: no manure, dirt, or dip; 2 = dip present: no manure or dirt; 3 = small amount of dirt and manure present; 4 = larger amount of dirt and manure present) [56]. Finally, on conventional milking farms, the strip yield from all four quarters was manually milked in a measuring cup for 1 min (up to 10 cows per farm) immediately after cluster removal. On farms with robotic milking, animals were restrained in head locks, and aseptic QMS collection was performed independently of milking time. All samples were cooled immediately after collection and transported to the Bavarian Animal Health Service laboratory for further analysis on the same or the following day.

Based on standardized questionnaires, we recorded farm management practices, including farm type (i.e., organic or conventional), dairy and beef animal population on the farm, milking system, milking system cleaning procedures, milking processes (incl. teat dipping), milk quality metrics, dry cow management, bedding types, housing, feeding, and water supply assessments.

2.2. Laboratory Analysis

All QMSs were analyzed according to the guidelines of the German Veterinary Association (DVG) [60], which are based on the guidelines of the International Dairy Federation (IDF) [61] and the National Mastitis Council (NMC) [62]. An esculin agar plate with 5% sheep blood (Thermo Scientific™ OXOID™, Basingstoke, UK) was prepared for each cow, and an inoculum of 0.01 mL was applied to each quarter using calibrated eyelets. In the case of clinical mastitis, an additional 0.05 mL was spread on a whole agar plate. In addition to the esculin agar plate, a Sabouraud dextrose agar plate (Thermo Scientific™ OXOID™, Basingstoke, UK) was prepared for cows that had a history of antibiotic treatment, as yeast and fungi grow more easily on this medium. Plates were incubated at 36 ± 1 °C for 36–48 h. The analysis was performed after 36–48 h. An initial classification of the pathogens was based on colony morphology (size, color, mucus formation, and odor), hemolysis, and hemotoxin zone [60].

S. aureus was identified by phenotypic colony morphology and clear hemolysis with the toxin zone. If the hemolysis zone was equivocal, the clumping factor and coagulase were also tested. If negative, the colony was considered NAS. Questionable *S. aureus* colonies and all identified NASs (e.g., *S. epidermidis*, *S. chromogenes*, *S. borealis*) were examined by MALDI-TOF (MALDI Biotyper® Sirius, Bruker Daltonics SPR, Hamburg, Germany).

Streptococcal differentiation was based on colony morphology, hemolysis zone, ability to cleave esculin, the CAMP test (Christie, Atkins, Munch-Petersen), and classification into Lancefield groups (B, C, G). The CAMP test with a hemolytic *S. aureus* strain was performed on all esculin-negative streptococci, but was mainly used to differentiate between *Strep. agalactiae* (CAMP test-positive) and *Strep. dysgalactiae* (CAMP test-negative) [60,62]. Hemolytic streptococci, such as *Strep. canis*, were differentiated using a commercial Lancefield group test kit (Thermo Scientific™ Streptex™, Nepean, ON, Canada). Esculin-positive streptococci (*Strep. uberis*, *Enterococcus* spp., *Lactococcus* spp.) were further differentiated using the selective medium kanamycin-esculin acid (KAA-Agar, produced in-house [60]) and characteristic zones of inhibition in the agar diffusion test with penicillin and rifampicin (Thermo Scientific™ OXOID™, Basingstoke, UK) [60]. Colonies of *Enterococcus* spp. and *Lactococcus* spp. were examined by MALDI-TOF to determine the exact species. If no species could be determined after repeated microbiological examination and MALDI-TOF, the bacteria were divided into esculin-positive and -negative streptococci according to their esculin cleavage. Due to logistical and financial constraints, not all pathogen colonies were examined using MALDI-TOF.

Trueperella (*T.*) *pyogenes* was also differentiated based on colony morphology and hemolysis behavior. When necessary, additional tests were performed on a Loeffler serum plate (Thermo Scientific™ OXOID™, Basingstoke, UK) (characteristic formation of a trench) [60] or with MALDI-TOF.

All Gram-negative bacteria (e.g., *E. coli*, *Serratia* spp., *Klebsiella* spp.) were differentiated with MALDI-TOF. Differentiation between yeasts, *Prototheca* spp., and *Nocardia* spp. was performed microscopically [60].

To classify the health status of the udder quarters, the somatic cell count (SCC) was determined for each QMS using flow cytometry (FOSSOMATIC MC, FOSS GmbH, Hamburg, Germany). The quarter was classified as healthy if the SCC was $\leq 100,000$ cells/mL, quarters with $>100,000$ cells/mL were recorded as subclinical mastitis [63], and samples with visible abnormalities in the milk (e.g., flakes) were classified cow-side as clinical mastitis [19].

2.3. Statistical Analysis

For statistical analysis, the group classification (quartiles) was adjusted based on actually recorded cow numbers on the day of the visit rather than the initially used milk shipped daily.

SAS 9.4 software (SAS Institute Inc., Cary, NY, USA) was used for statistical analysis and alpha was set at 0.05. Descriptive statistics were calculated using PROC MEANS for continuous and PROC FREQ for categorical variables. For univariable analysis, categorical predictors were compared across continuous outcomes using Kruskal–Wallis or Mann–Whitney U-tests via PROC NPAR1WAY.

For the multivariate models, the unit of interest was the herd. Two types of outcomes were considered: For *S. aureus*, *Strep. uberis*, *Strep. dysgalactiae*, and NAS, the outcome was the within-herd prevalence. For *E. coli* and *Strep. agalactiae*, the outcome was binary (herd infected: yes/no) due to the high number of herds without the detection of these pathogens and little variation in the within-herd prevalence of positive herds.

Predictors and models were selected as follows: Initially, all potential risk factors (Table 1) were tested for an association with the prevalence of the pathogens (treated as a continuous variable) or the presence/absence of *E. coli* or *Strep. agalactiae* in a herd using appropriate non-parametric tests, such as the chi-square or Fishers exact test (PROC FREQ), Mann–Whitney U-test (PROC NPAR1WAY), or Spearman correlation (PROC CORR). If they were associated with the outcome ($p < 0.05$), they were further assessed for biological plausibility and data quality (i.e., sufficient data points per category) and collinearity. If the collinearity of potential predictors had to be assumed (e.g., $r > 0.7$), the more biologically plausible and data-rich variable was selected for the multivariate models. For example, the presence of *Strep. dysgalactiae* was retained instead of bulk tank somatic cell count (BTSCC), as pathogen occurrence is more likely to drive changes in SCC. Similarly, herd size was retained instead of average milk yield, as larger herds tend to have higher yields. In addition, cubicle type (deep bedded cubicles and mattress stall cubicles) was excluded when strongly correlated with the housing system, since tiestall farms by definition do not provide cubicles.

Table 1. Evaluated risk factors for the within-herd prevalence of *Strep. uberis*, *S. aureus*, *Strep. dysgalactiae*, *Strep. agalactiae*, *E. coli*, and NAS.

Parameter	Variable
Herd Size	Group 1 = 9–29 cows, Group 2 = 30–47 cows, Group 3 = 48–69 cows, Group 4 = ≥ 70 cows
Season	Spring, Summer, Fall, Winter
Farm- and herd structure	Farm organization (<i>organic, conventional</i>), breed (<i>Simmental, Brown Swiss, Holstein, German Yellow cattle, mixed</i>), DHI ¹ , farm type (<i>dairy farming, young stock raising, bull fattening, field crop, biodigester, other</i>), open farm ¹ (<i>biocontrol of purchased animals</i> ¹)
Udder health	Rolling herd average (kg), bulk tank somatic cell count, bulk tank bacteria count, flaming of the udder hair, trimming of tail tassel, frequency of hoof care per year, hygiene score ² , teat end score ² , and hock score ³ of adult cows
Milking and milking system	Milking (<i>robotic milking, milking parlor, pipe milking system, other</i> ⁵), liner (<i>rubber, silicone</i>), maintenance agreement ¹ , system service (<i>regular, only when required</i>), number of milking units Hygiene of milking system, hygiene milking clusters, hygiene milk filter, frequency of milk filter change Automatic cluster removal ¹ , machine stripping (<i>never, automatic, manual by pushing the claw down</i>), cluster position ¹ , audible liner slips ¹ , disposable gloves ¹ , overmilking (<i>never, at start or end of milking, both</i>), milking sequence ¹ , pre-stripping (<i>never, with pre-milk cup, without pre-milk cup</i>), restless cows during milking ¹ , teat cleaning (<i>not done, dry, moist, with pre-dip</i>), post-dip ¹ , dip coverage ($<50\%$ of teat, $\geq 50\%$ of teat), dip agent category (<i>iodine, lactic acid, chlorhexidine, chlorine dioxide, other</i> ⁶), intermediate cluster disinfection (ICD) (<i>none, automatic, manual</i>), ICD-type (<i>peracetic acid, steam, other</i> ⁷) Milking robot: attachment works without problems ¹ , selection pen ¹ , exit protected ¹ , fetched cows/day (%), manual cleaning of exterior of the robot (times/day), interior rinse (minutes after last cow), main cleaning cycles (times/day)
Feeding	Head locks ¹ , clean feeding table ¹ , rough feeding table surface ¹ , fresh food (n/day), push up of feed (n/day), cattle sort feed ¹ , assessment of feed (<i>no feed on feed bunk at visit, insufficient, good</i>) Total mixed ration (TMR) ¹ , partial TMR ¹ , hay ¹ , fresh cut greens ¹ , minerals ¹ , wet feedstuffs (<i>none, spent grains, wet pulp, mix</i>), feed stuff analysis (frequency/year), transit feed ration (<i>yes, no, anionic salts</i>)

Table 1. Cont.

Parameter	Variable
Water	Water source (<i>municipal, tested or untested well</i>), regular cleaning of water troughs ¹ , hygiene of water trough (<i>clean, slightly soiled, severely soiled</i>), sufficient number of water troughs (>9 cm/cow) ¹ , adequate water flow (>15 L/min) ¹
Housing	Housing (<i>freestall, tiestall</i>), mattress or deep bedded cubicles, calving pen (<i>yes, no, also used as sick pen</i>), pasture-access ¹ , outdoor pen ¹ , ventilators ¹ , correctly lying ¹ , unobstructed standing up and lying down ¹ , robotic manure scraper ¹ , frequency/day of manure scraper, overcrowding ¹ , bedding (<i>none, lime, straw with lime, lime-straw mattress, straw or hay, sawdust, recycled manure solids (incl. biodegradable substrate, other ⁸)</i>)
Dry cow management	Type of dry-off (<i>abrupt, intermittent, other ⁹</i>) at dry-off ⁴ : CMT, milk samples for bacteriological determination, antimicrobial treatment during lactation at the end of lactation, antibiotic dry-off therapy, internal teat sealant, bolus, homeopathy

¹ Yes or no; ² % of score ≥ 3 ; ³ % of score ≥ 2 ; ⁴ Cow/herd; ⁵ Rotary milking system, bucket milking machine; ⁶ Effective microorganisms, tea tree oil, hydrogen peroxide; ⁷ Hydrogen peroxide, water; ⁸ Fermentation substrates of plant and/or animal origin and manure from other animals; ⁹ Farm-specific dry-off.

For herds infected with *E. coli* and *Strep. agalactiae*, logistic regression models were used to model the likelihood of a positive herd test with PROC GLIMMIX. For *S. aureus*, *Strep. uberis*, *Strep. dysgalactiae*, and NAS, both Poisson and negative binomial regression models were evaluated using PROC GENMOD. The natural logarithm of the herd size (i.e., number of lactating cows) was included as an offset in these models to normalize the count data (number of pathogen-positive cows per herd). In all models, the herd (either positive or negative) or number of positive cows per herd size (offset) was the unit of interest.

The predictors were selected based on aforementioned criteria, both biological and statistical, and included in the initial model. Then, backward elimination was used to achieve a parsimonious final model by stepwise removal of predictors with the highest *p*-values. Upon removal, some variables were put back into the smaller model to assess changes in the coefficients to avoid potential confounding. Model fit was assessed through residual plots and the evaluation of overdispersion. The final negative binomial model was selected over the Poisson model, because overdispersion was present and it had a lower Akaike Information Criterion (AIC).

During residual analysis of the *Strep. uberis* prevalence model, three herds were identified as strong outliers based on markedly divergent residual values that distorted the model fit. These herds were excluded from the final model to improve robustness and interpretability. As such, results for *Strep. uberis* apply to herds with similar structure and pathogen profiles. One herd with only German Yellow cattle had to be reassigned to the mixed-breed category, because it caused computational problems due to its influence on the covariate patterns in the model.

Although data were collected at the quarter and cow levels, all statistical analyses were performed at the herd level to match the study design, which focused on identifying herd-level risk factors.

3. Results

3.1. Herd Description and Farm Analysis

A total of 648 herds were contacted by telephone. The overall response rate was 47%, though the response rate increased with increasing herd size (group (G) 1 = 35%,

G2 = 40%, G3 = 64%, and G4 = 75%). The most common reasons for non-participation, especially in smaller herds, were anticipated farm closure (G1 = 20%, G2 = 15%, G3 = 5%, and G4 = 4%) and “no interest in studies” (G1 = 8%, G2 = 6%, G3 = 2%, and G4 = 0%). In the end, 305 farms with a total of 14,700 lactating cows participated in this study. One additional herd was included beyond the original plan because some farmers’ responses were delayed, resulting in a total of 305 herds instead of the initially planned 304 herds. The surveys were carried out fairly evenly across herd sizes, season, and administrative district; 77 herds were surveyed in summer, 76 herds in spring, 75 herds in autumn, and 77 herds in winter. The average herd size was 48 cows (range: 9 to 250 cows). Table 2 summarizes herd characteristics and observations across the different groups. The majority of participants (83%) farmed conventionally and had Simmental cows (78% of herds). The best 25% of farms had less than 13% of cows with a hygiene score ≥ 3 . Additionally, no cows on these farms had a hock score ≥ 2 . However, regardless of herd size or group, on average, almost half of the cows/farm had a hygiene score ≥ 3 (39%) or had at least hairless areas on their hocks (score $\geq 2 = 44\%$). Yet a hock score of 3 was rarely observed (median 0%, IQR: 0–7%). At dry-off, on an average herd (median), 40% and 0% of cows per herd received antibiotic drying-off therapy (IQR: 10–100%) or internal teat sealants (IQR: 0–50%), respectively.

The BTSCC in G1 (144,000 cells/mL) was lower than that of the large herds (G3, 166,000 cells/mL, $p = 0.04$; G4: 184,000 cells/mL, $p = 0.01$; Table 2). While 95% of the G4 herds were members of the Dairy Herd Improvement Association (DHI), only 74% of small herds (G1) were. Furthermore, smaller farms used more pasture (G2: 34% vs. G4: 13%, $p = 0.01$) or tiestalls (G1: 69% vs. G4: 0%, $p < 0.01$) compared to larger herds, respectively. Additionally, the rolling herd average was significantly higher in G4 (9067 kg) herds than in smaller herds of G1 (7226 kg) through G3 (8005 kg, $p < 0.01$).

3.2. Prevalence of Mastitis Pathogens

A total of 58,108 QMSs were taken, of which 1.5% ($n = 857$) were contaminated (more than two pathogen types were present or were overgrown samples). Additionally, two pathogens were detected in 184 of all 57,251 QMSs. Some samples contained too little milk to assess the SCC ($n = 1732$, 3%). Of all QMSs, 88% ($n = 50,625$) tested pathogen-negative and 61% ($n = 36,370$) of samples had an SCC $\leq 100,000$ cells/mL and were therefore classified as “healthy”.

The apparent prevalence is herein referred to as the prevalence. Table 3 shows the prevalence of mastitis pathogens detected in all 57,251 QMSs. While only 28% of quarters with subclinical mastitis ($n = 18,338$) were pathogen-positive, 3% of the samples classified as healthy were pathogen-positive, and 68% ($n = 344$) of the 504 samples from quarters with clinical mastitis were pathogen-positive. No clinical mastitis case could be classified as severe.

The most frequently identified group of pathogens at the quarter level were NAS, detected in 5% of all samples, followed by *Strep. uberis* (2%), *S. aureus* (2%), and *Strep. dysgalactiae* (1%). In general, the number of detections of *Strep. agalactiae* and *E. coli* was relatively low compared to that for the other pathogens. *Strep. agalactiae* and *E. coli* were detected in 0.2% ($n = 99$) and 0.1% ($n = 69$) of all QMSs, respectively.

In addition, NASs were found in 63% of all healthy pathogen-positive quarters, in 41% of all pathogen-positive QMSs from subclinical mastitis cases ($n = 4910$), and in 8% of all pathogen-positive QMSs from clinical mastitis cases. By contrast, *Strep. uberis* was the main pathogen (32%) detected in pathogen-positive QMSs with clinical mastitis ($n = 344$), followed by *S. aureus* (14%), *E. coli* (10%), and *Strep. dysgalactiae* (9%).

Table 2. Description of the herds and farms for 305 Bavarian dairy farms. All scores and husbandry refer to lactating cows.

Parameter	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	Overall
N	77	75	76	77	305
Herd size ¹ , n	22 (19–25)	35 (32–40)	56 (51–63)	87 (75–125)	48 (29–70)
Total dairy cows	2 (1–3)	4 (2–5)	6 (5–9)	10 (7–15)	5 (3–8)
Dry cows	7226 (5854–8198)	7728 (6552–8793)	8005 (7085–8955)	9067 (7900–9897)	7974 (6991–9076)
Rolling herd average milk, kg	13 (9–20)	14 (8–25)	11 (8–20)	14 (9–20)	13 (9–20)
Bulk tank bacteria count (10 ³ /mL)	144 (100–207)	168 (111–235)	166 (123–217)	184 (130–220)	168 (117–220)
Bulk tank somatic cell count (10 ³ /mL)	13	27	17	12	17
Organic production, %	74	81	91	95	85
Member dairy herd improvement association, %					
Breed, %					
Simmental	86	74	75	78	78
Brown Swiss	7	7	11	5	7
Holstein	0	0	3	4	2
other ²	8	19	12	13	13
Hygiene score ≥ 3 ³ , %	38 (21–75)	44 (14–77)	40 (14–64)	31 (10–60)	39 (13–70)
Hock score ≥ 2 ⁴ , %	46 (17–95)	35 (10–91)	49 (19–97)	36 (17–96)	44 (15–95)
Teat cleanliness score ≥ 3 ⁵ , %	23 (8–50)	25 (10–66)	36 (10–63)	40 (18–68)	30 (10–60)
Hyperkeratosis score ≥ 3 ⁶ , % cows/herd	0 (0–4)	0 (0–5)	0 (0–6)	0 (0–2)	0 (0–4)
Milking system, %					
Milking parlor	30	51	63	51	49
Pipe milking system	68	36	9	0	28
Robotic milking system	1	12	26	46	21
Other ⁷	1	1	1	4	2
Housing, %					
Freestall	35	67	93	100	74
Testall	65	33	7	0	26
Mattress stalls cubicles	18	28	49	40	34
Deep bedded cubicles	13	32	49	61	39
Pasture	26	34	22	13	23
Dry cow management, %					
Internal teat sealant	0 (0–0)	0 (0–30)	0 (0–90)	0 (0–100)	0 (0–50)
Antibiotic dry-off	50 (8–100)	30 (0–90)	37 (13–90)	50 (20–100)	40 (10–100)

¹ Median (25th–75th percentile); ² mixed herds with different breeds (G1: n = 6, G2: n = 15, G3: n = 8, G4: n = 10), German Yellow cattle (G3: n = 1) (overall: n = 40); ³ Score according to Cook and Reinemann; ⁴ score according to University Cornell; ⁵ score according to Cook and Reinemann; ⁶ Score according to NMC; ⁷ rotary milking system (G4: n = 2) or bucket milking machine (G1: n = 1, G2: n = 1, G3: n = 1, G4: n = 1).

Table 3. Apparent prevalences of mastitis pathogens from all quarter milk samples without contamination (*n* = 57,251), including no-growth samples (*n* = 50,625) and divided, based on SCC on quarter level, into healthy (<100,000 cells/mL, *n* = 36,370), subclinical mastitis (>100,000 cells/mL, *n* = 18,338), and clinical mastitis (*n* = 504) samples. SCC could not be assessed in 1732 samples (3%), due to insufficient milk volume.

All Quarter Milk Samples (n = 57,251)						
Pathogen	n	%	Pathogen-Positive			
			Overall (n = 6625) %	Healthy (n = 1269) %	Subclinical (n = 4910) %	Clinical (n = 344) %
Non-aureus	2847	5.0	42.9	62.9	40.6	8.4
Staphylococci (NAS)	1062	1.9	16.0	5.3	19.4	32.3
Streptococcus uberis	1020	1.8	15.4	20.4	13.6	14.0
Streptococcus aureus	521	0.9	7.9	2.7	8.9	8.7
Streptococcus dysgalactiae	265	0.5	4.0	2.1	4.4	1.7
Lactococcus garvieae	235	0.4	3.5	2.0	4.0	1.2
Enterococcus faecalis	99	0.2	0.7	0.5	1.8	0.3
Streptococcus agalactiae	92	0.2	1.5	0.1	1.2	6.4
Serratia spp.	92	0.2	1.4	0.8	1.3	0.9
Lactococcus lactis	78	0.1	1.2	1.7	0.8	5.2
Trueperella pyogenes	69	0.1	1.2	0.1	0.8	10.2
Escherichia coli	44	0.1	1.0	0.2	0.2	2.3
Other ¹	42	0.1	0.6	0.3	0.7	0.6
Citrobacter spp.	33	0.1	0.5	0.3	0.3	0.9
Other esculin-pos.	31	0.1	0.5	0.2	0.5	0.3
Streptococci	26	<0.1	0.4	0.1	0.4	2.0
Enterococcus spp.	26	<0.1	0.4	0	0.4	2.0
Klebsiella spp.	24	<0.1	0.4	0.3	0.4	0.3
Yeast	14	<0.1	0.2	0.2	0.1	1.7
Streptococcus gallolyticus	8	<0.1	0.1	0.1	0.1	0.6
Other esculin-neg.	5	<0.1	0.1	<0.1	<0.1	<0.1
Streptococci						
Prototheca spp.						
Streptococcus canis						

¹ *Streptococcus pluranimalium*, *Weissella cibaria*, *cornuform* bacteria, *Noradria* spp., *Streptococcus hyogeninus*, *Enterobacteriaceae*, *Halococcus* *ortis*, *Streptococcus lutetiensis*, *Proteus* spp., *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *Aerococcus* spp.

Table 4 shows the within-herd prevalence of selected mastitis pathogens and the number of positive herds (i.e., herds with at least one cow tested positive for the respective pathogen). Almost all herds (92%) were NAS-positive and had, on average, 13% NAS-positive cows across all groups (range: 1% to 45%).

Table 4. Within-herd prevalence of the mastitis pathogens by group (median, 25th and 75th percentiles) as well as percent-positive herds, defined as herds with at least one cow with the respective pathogen.

Pathogen	Within-Herd Prevalence (%)					Herds Positive n (%) All
	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	All	
Herd size, range of cows	9–29	30–47	48–69	70–250	9–250	
Non-aureus Staphylococci (NAS)	11 (0–19)	13 (7–19)	13 (8–20)	14 (9–24)	13 (7–20)	279 (92)
<i>Staphylococcus aureus</i>	4 (0–11)	4 (0–10)	2 (0–6)	1 (1–3)	3 (0–8)	211 (69)
<i>Streptococcus uberis</i>	0 (0–6)	3 (0–7)	3 (0–7)	4 (2–8)	3 (0–7)	205 (67)
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	0 (0–5)	2 (0–5)	2 (0–4)	1 (0–3)	2 (0–4)	173 (57)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0 (0–0)	0 (0–0)	0 (0–0)	0 (0–0)	0 (0–0)	11 (4)
<i>Escherichia coli</i>	0 (0–0)	0 (0–0)	0 (0–0)	0 (0–1)	0 (0–0)	51 (17)

3.3. Risk Factors on a Herd Level

Tables 5–10 show the results of the multivariate risk factor models associated with the within-herd prevalence (*S. aureus*, *Strep. uberis*, *Strep. dysgalactiae*, and NAS) or the odds for a herd to be positive (*E. coli* and *Strep. agalactiae*) of the various pathogens.

Table 5. Negative binomial model to assess risk factors associated with *Strep. uberis* within-herd prevalence. Model excludes 3 herds that were severe outliers.

Parameter	n	Prevalence Ratio	95% CL		p-Value
			Lower	Upper	
Intercept		−4.09	−5.04	−3.12	<0.01
Breed					
Brown Swiss	22	3.01	1.12	7.85	0.02
Simmental	238	1.86	0.73	4.52	0.17
Mix	38	2.05	0.79	5.14	0.13
Holstein	5	Reference			
Production system					
Organic	52	1.58	1.17	2.15	<0.01
Conventional	253	Reference			
Bedding ¹					
Recycled manure solids	9	0.87	0.41	1.86	0.72
Lime	24	1.04	0.60	1.81	0.88
Lime-straw mattress	44	1.24	0.52	2.00	0.45
Straw with lime	57	1.70	1.06	2.60	0.02
Straw	92	1.41	0.92	2.12	0.12
Sawdust	38	0.69	0.39	1.19	0.17
Mattress cubicle, none	41	Reference			
Dispersion		0.52	0.36	0.73	

¹ Recycled manure solids included fermentation substrates (biodigester) of plant and/or animal origin and manure from other animals. A ‘lime-straw mattress’ refers to a premixed mattress of lime and chopped straw for cubicles. The term ‘straw and lime’ refers to separately added straw and lime, usually by hand, to the cubicle. The term ‘straw/hay bedding’ refers to either pure straw, pure hay, or a mixture of both.

Table 6. Results of the negative binomial model to identify risk factors associated with the within-herd prevalence of *S. aureus*.

Parameter	n	Prevalence Ratio	95% CL		p-Value
			Lower	Upper	
Intercept		−3.59	−4.19	−2.98	<0.01
Group					
1	77	2.93	1.77	4.82	<0.01
2	75	2.09	1.26	3.45	<0.01

Table 6. Cont.

Parameter	<i>n</i>	Prevalence Ratio	95% CL		<i>p</i> -Value
			Lower	Upper	
3	76	2.01	1.21	3.30	<0.01
4	77	Reference			
Production system					
Organic	52	2.05	1.37	3.12	<0.01
Conventional	253	Reference			
Hygiene milking system					
Visibly clean	199	1.55	1.08	2.22	0.02
Visibly soiled	105	Reference			
Bedding					
Recycled manure solids	9	0.62	0.23	1.83	0.36
Lime-only	24	0.64	0.31	1.36	0.23
Lime-straw mattress	44	0.26	0.15	0.54	<0.01
Straw with lime	57	0.48	0.26	0.85	0.01
Straw	92	0.73	0.43	1.21	0.23
Sawdust	38	0.85	0.47	1.55	0.60
Mattress cubicle, none	41	Reference			
Dispersion		1.01	0.76	1.34	

Table 7. Results of the negative binomial model to identify risk factors associated with the within-herd prevalence of *Strep. dysgalactiae*.

Parameter	<i>n</i>	Prevalence Ratio	95% CL		<i>p</i> -Value
			Lower	Upper	
Intercept		−2.57	−3.12	−2.03	<0.01
Teat cleaning					
Moist	136	1.05	0.79	1.41	0.73
None	19	0.43	0.22	0.86	0.02
Predip ¹	28	1.33	0.82	2.16	0.25
Dry	122	Reference			
Application of post-dip					
No	129	1.36	1.03	1.79	0.03
Yes	176	Reference			
Bedding					
Recycled manure solids	9	0.84	0.39	1.80	0.65
Lime	24	0.96	0.57	1.62	0.87
Lime-straw mattress	44	0.21	0.11	0.39	<0.01
Straw with lime	57	0.70	0.45	1.07	0.05
Straw	92	0.57	0.38	0.87	0.01
Sawdust	38	0.77	0.46	1.28	0.31
Mattress cubicle, none	41	Reference			
Antibiotic dry-off ²		0.99	0.98	0.99	<0.01
Rolling herd average, kg		0.99	0.98	0.99	0.01
Dispersion		0.45	0.27	0.75	

¹ Disinfected wipes; ² cows/herd.

Table 8. Results of the negative binomial model to identify risk factors associated with the within-herd prevalence of NAS.

Parameter	<i>n</i>	Prevalence Ratio	95% CL		<i>p</i> -Value
			Lower	Upper	
Intercept		−2.36	−2.82	−1.90	<0.01
Milking system					
Robotic milking system	65	1.74	1.36	2.14	<0.01
Milking parlor	153	1.12	0.91	1.37	0.28
Pipe milking system	87	Reference			
Dip agent base					
Chlorine dioxide	3	0.24	0.10	0.60	<0.01
Chlorhexidine	20	0.98	0.65	1.48	0.94
Iodine	87	0.81	0.58	1.12	0.21

Table 8. Cont.

Parameter	<i>n</i>	Prevalence Ratio	95% CL		<i>p</i> -Value
			Lower	Upper	
Other	15	0.85	0.61	1.18	0.33
Lactic acid	51	0.96	0.67	1.36	0.80
No post-dip used	129	Reference			
Agitated cows during milking					
Yes	42	1.34	1.09	1.66	<0.01
No	257	Reference			
Dispersion		0.23	0.17	0.31	

Table 9. Results of the logistic regression model to identify risk factors associated with *E. coli*-positive herds.

Parameter	<i>n</i>	Odds Ratio	95% CL		<i>p</i> -Value
			Lower	Upper	
Intercept (estimate)		0.59			
Group					
1	77	0.03	0.003	0.26	<0.01
2	75	0.21	0.06	0.69	0.01
3	76	0.51	0.17	1.45	0.20
4	77	Reference			
Audible liner slips					
No	202	0.16	0.05	0.45	<0.01
Yes	32	Reference			

Table 10. Results of the logistic regression model to identify risk factors associated with *Strep. agalactiae*-positive herds.

Parameter	<i>n</i>	Odds Ratio	95% CL		<i>p</i> -Value
			Lower	Upper	
Intercept (estimate)		−2.67			<0.01
Maintenance contract, milking system					
No	237	0.28	0.08	0.97	0.04
Yes	67	Reference			
Water trough cleaning					
Irregularly	31	4.36	1.04	18.34	0.04
Regularly	274	Reference			

Herd size also influenced the within-herd prevalence of certain pathogens. While the highest within-herd prevalence of *S. aureus* was found in smaller herds (G1, $p = 0.01$), *Strep. uberis* was more frequently detected in larger herds (G4) compared to smaller herds (G1, $p < 0.01$), and *E. coli* was also more frequently detected in larger herds (G4) compared to smaller herds (G1, $p < 0.01$), based on binary infection status.

The bedding material was associated with the within-herd prevalence of *Strep. uberis*, *S. aureus*, and *Strep. dysgalactiae*. For *Strep. uberis*, bedding with straw content (lime-straw mattress, straw and lime, straw/hay) was associated with a higher within-herd prevalence of *Strep. uberis* than only mattresses with lime conditioner ($p = 0.05$), no bedding on rubber mattress stalls ($p = 0.02$), or sawdust ($p < 0.01$). By contrast, the highest within-herd prevalence of *S. aureus* or *Strep. dysgalactiae* was observed on farms with no bedding, only lime (both usually mattress stalls), or sawdust. Herds with lime-straw mattress bedding in loose bedded stalls had the lowest within-herd prevalence of those two pathogens ($p < 0.01$). In addition, organic farms had a higher within-herd prevalence of *S. aureus* ($p < 0.01$) or *Strep. uberis* ($p < 0.01$) than conventional farms.

When analyzing the milking system and milking procedure, different parameters were identified as risk factors for five of the six pathogens studied. A high level (visual assessment) of milking system hygiene was associated with a higher within-herd prevalence of *S. aureus* ($p = 0.03$) (Table 6). In addition, a maintenance contract with a milking machine company for regular maintenance of the milking equipment (5 of 11 *Strep. agalactiae*-positive herds with the contract) and also only sporadic ('irregular') cleaning of the water troughs (3 of 11 *Strep. agalactiae*-positive herds with irregular cleaning) were both associated with lower odds of herds being *Strep. Agalactiae*-positive ($p = 0.04$) (Table 10). Audible liner slips during milking (9 of 51 *E. coli*-positive herds) were associated with increased odds for herds being *E. coli*-positive ($p = 0.01$) (Table 9).

The within-herd prevalence of NAS (Table 8) was higher when agitated cow behavior during milking (defined as kicking or increased movement, yes/no) had been observed ($p < 0.01$). In addition, the analysis of the used post-dip components showed that chlorine dioxide-based products were associated with the lowest within-herd prevalence of NAS ($p < 0.01$). In addition, robotic milking systems had a higher within-herd prevalence of NAS compared to parlor ($p < 0.01$) or pipeline milking systems ($p < 0.01$).

The within-herd prevalence of *Strep. dysgalactiae* of herds was lower when the herd did not clean teats before milking ($p < 0.01$), when teat dips were applied post milking ($p = 0.03$), or when more cows per herd were treated with antibiotic dry-off therapy ($p < 0.01$, Table 7). In addition, the within-herd prevalence of *Strep. dysgalactiae* decreased by 1% with each 100 kg increase in rolling herd average ($p = 0.01$).

4. Discussion

This study examined the prevalence of mastitis pathogens and risk factors for IMI in Bavarian dairy farms at the herd level. A strength of the study was that the sample population was derived from a stratified random sampling that covered all Bavarian administrative districts, regardless of the udder health status of the herd or DHIA membership. Furthermore, an equal number of different herd sizes were visited and the study period deliberately covered all four seasons. The average herd size was 48 cows in this study, which was slightly higher than the average herd size of 44 cows in Bavaria [11]. However, this was due to the fact that farms with a daily milk yield of less than 200 kg (11.6% of all farms) were excluded from the study. The study results should therefore only be extrapolated for herds with more than 10 cows and up to 250 cows. A Bavarian study from 2018 with a similar study design had an initial list of 28,884 dairy farms in Bavaria and $n = 24,011$ farms with more than 200 kg of milk shipped daily, yet ultimately the same average herd size of 48 cows [51]. Therefore, there has been a decrease of 29% in all farms and 32% in small farms between 2017 and 2023 in Bavaria. This observation highlights the rapid changes in the Bavarian dairy industry over just a five-year span and an overproportioned loss of the smallest dairy farms of the region.

While conventional culture methods are widely used and align with current guidelines, it should be noted that molecular techniques like polymerase chain reaction (PCR) offer higher sensitivity and may improve pathogen detection, particularly for fastidious or emerging bacteria [64]. This aspect should be considered when interpreting the results.

In our study, NAS were the most frequently detected pathogens, with an apparent prevalence of 5% on a QMS level. This finding aligns with previous reports, including studies from Canada [65]. However, substantially higher NAS prevalences at the quarter level were reported in other German regions (e.g., 17% in Hesse, 9% in Brandenburg) and across Europe: Belgium—10% [66] and 33% [67]; Norway—18% [68]; Netherlands—11% [69]; or Finland—11% [70] and 43% [71]. This can largely be attributed to differences in study

design, sampling criteria, or diagnostic methods. For instance, the highest values came from studies that used PCR or repeatedly sampled healthy herds [67,71].

An evaluation of laboratory submissions from Bavaria, conducted by Bechtold et al. (2024), showed an increase in NAS detection from 25% (2014) to 35% (2023) within pathogen-positive QMSs [52]. That sample included submissions from individual mastitic cows and we found NAS most likely in subclinical cases. However, a previous Bavarian study with a similar unbiased study design reported 4% NAS at the QMS level [51]. Since that value is numerically lower than our results, this may indicate a slight upward trend in prevalence. The widespread and increasing detection of NAS across studies may point to their growing relevance in dairy production. In our study, automatic milking systems were associated with a higher prevalence of NAS on the herd level. Automatic milking systems have become increasingly prevalent. NAS occur naturally on the cow's skin and teat canal and may infect the udder, if the milking hygiene [26,72] or the milking process is suboptimal, which puts strain on the teat canal. For instance, agitated cows during milking were associated with a higher within-herd prevalence in this study. The higher milking frequency of automatic milking systems compared to the traditional 2x/d milking [73] might also affect their presence in the teat canal [74]. While beyond the scope of this cross-sectional study, it is noteworthy that, compared to Groh et al., 2023 [51], a higher proportion of farms in our dataset already used automatic milking systems (9% vs. 21%), reflecting the general trend towards increasing technology use in dairy farming. In this context, future research may explore how precision livestock farming tools could contribute to earlier detection and improved prevention of mastitis. This aligns with recent findings by Lavrijsen-Kromwijk et al. (2024) [55], who reported that German dairy farms implementing more technology benefited from reduced contamination and lower lameness prevalence.

The choice of teat dip was also important for the within-herd prevalence of NAS. Similar to the reports by Oliver et al. (1989) [75], we demonstrated that chlorine dioxide was associated with lower NAS prevalence on a herd level. This was not seen with the other pathogens evaluated under this study. Given the heterogeneous species composition of "NAS" and variable pathogenic potential [26], it should be noted that NAS are discussed as a group in this study, and not as individual species, despite the known differences in pathogenicity between species. Further research is warranted to better understand their epidemiology and develop targeted control strategies, if NASs become problematic for the udder health of a herd.

In this study, the most frequently isolated pathogens (after NAS) were *Strep. uberis* and *S. aureus*, with QMS prevalences of 1.9% and 1.8%, respectively. *Strep. dysgalactiae*, ranked fourth with a QMS prevalence of 1%, which was comparable to other studies from Germany [76]. Among these, *Strep. uberis* showed the strongest association with clinical mastitis in this study, a finding supported by previous research [46,77]. A very small proportion of isolates (< 0.1% of all QMSs) could not be definitively identified beyond esculin-positive or -negative streptococci despite repeated microbiological testing, and are therefore unlikely to substantially affect the reported prevalence of specific pathogens.

Compared to a previous Bavarian study [51], the prevalence of *S. aureus* decreased (from 3% to 2%), while that of *Strep. uberis* increased (from 1% to 2%) and that of *Strep. dysgalactiae* remained the same (1% to 1%) at the QMS level. This shift was also reflected in a 10-year retrospective analysis of positive QMSs, where *S. aureus* decreased from 25% (2014) to 16% (2023) and *Strep. uberis* increased from 17% to 22% [52]. Together, these findings indicate a gradual transition from contagious to environmental pathogen dominance. Studies from other regions showed wider variations. In Hesse, *Strep. uberis* was more prevalent (9%) than *S. aureus* (5%) at the QMS level [78], probably due to the inclusion of herds with known udder health problems. By contrast, the Brandenburg study

reported a higher *S. aureus* prevalence (6%) and lower *Strep. uberis* prevalence (1%) at the QMS level [76], possibly due to the focus on clinically healthy animals. Similar to our study, a Dutch study showed a decrease in *S. aureus* from 6% (1973) to 2% (2003), while *Strep. uberis* remained fairly stable (1–2%) [69]. A higher *S. aureus* quarter-level prevalence was observed in Norway (21%) and Finland (up to 21%) compared to *Strep. uberis* (7–9%) [68,70,71]. Methodological factors, regional antimicrobial policies, breed, nutrition, or climate differences likely contribute to these differences.

At the herd level, the comparatively high within-herd prevalence of *Strep. uberis* and *S. aureus* on organic compared to conventional farms was noteworthy ($p < 0.01$). Groh et al. (2023) [51] was previously unable to find an association between organic farming and an increased prevalence of either *Strep. uberis* or *S. aureus* in the same region. However, *S. aureus* had been previously reported as more prevalent in organic farms than in conventional farms [79] in other parts of the world. This might be because organic farmers refrain from treating cows with subclinical mastitis with antibiotics in order to avoid economic strain due to the long withdrawal times or even lose the animal to organic production in accordance with the limits set by their respective organic standards (maximum number of antibiotic treatments per dairy cow per year to obtain organic certification: three times in the European Union and none in the United States) [80,81]. Therefore, by preventing cures, they are increasing the prevalence within their herds. A higher level of dry cow therapy (the more cows per herd, %) was associated with a lower within-herd prevalence of *Strep. dysgalactiae* ($p < 0.01$), which was also previously reported by Groh et al. (2023) [51]. However, because the analysis was conducted at the herd level, no conclusions can be drawn about the treatment status of individual infected cows and, therefore, the potential for an ecological fallacy has to be acknowledged. Nevertheless, the observed association underlined the importance of effective dry cow protocols.

Housing, especially bedding, was another important factor for these three pathogens. Several studies have described straw as a reservoir for *Strep. uberis* [43,44,82,83]. According to European regulation 2018/848 for organic farming, bedding is mandatory on organic farms [80]. While Barth et al. (2010) reported that straw was always a part of the bedding on German organic farms [84], we did not see this. In our study, straw was a bedding component on 81% of organic farms (conventional farms: 60%; $p < 0.01$). However, this might still drive our observation, where *Strep. uberis* was more prevalent in organic compared to conventional farms. Furthermore, we observed that the absence of bedding (e.g., lime use only) or the use of rubber mats as lying surfaces increased the within-herd prevalence of *S. aureus* and *Strep. dysgalactiae* ($p < 0.01$). A study from Southern Ethiopia also found that no litter was associated with an increased detection rate of *S. aureus* [49]. It is known that *S. aureus* is not only detectable within the mammary gland, but also on the skin or in the environment [85,86]. Leaked milk from infected quarters might contain enough viable *S. aureus* for some time to infect the next cow that uses that cubicle, as *S. aureus* easily survives on these surfaces [87]. Similarly, *Strep. dysgalactiae* has to be considered environmental as well as contagious [23]. Therefore, regular changes or adding of fresh bedding will likely decrease the bacterial load on the lying surface and therefore reduce the risk of transmission between cows.

Furthermore, in this study, the absence of teat cleaning was associated with a lower *Strep. dysgalactiae* within-herd prevalence. One might argue that well-maintained cubicles resulted in better cow and udder hygiene where farmers may not see the need to clean teats prior to milking. This assumption is supported by previous findings where the hygiene of cows and their udders is greatly influenced by the cleanliness of their lying areas [88]. Comparable to our study, the use of a post-dip has been previously identified as a protective factor towards *Strep. dysgalactiae* IMI [33,42,51]. Interestingly, the *Strep.*

dysgalactiae within-herd prevalence decreased with increasing herd performance in this study. Again, one could argue that higher milk yields may be accomplished because of better herd management practices [89].

In addition, a clean milking system was associated with a higher *S. aureus* within-herd prevalence ($p = 0.03$). One might speculate that *S. aureus* infections were first observed on the farm and then more emphasis was placed on a clean milking system. This interpretation is consistent with findings from sanitation programs for *S. aureus*-positive herds, where enhanced milking hygiene and strict milking routines are key components of control strategies [90]. While this study identifies associations between various factors and pathogen prevalence, it is important to note that the cross-sectional design does not allow for causal inferences. Longitudinal studies are needed to explore causal relationships more thoroughly.

Furthermore, it is noteworthy that *Strep. uberis* was detected more frequently in herds with Brown Swiss cattle. Breed has already been described as a risk factor [91,92]. Brown Swiss cattle have a fundamentally different immune response than Holstein Friesian animals and should therefore be more resistant to IMI than other breeds [93]. However, we found the opposite at the herd level and future studies need to further evaluate this. One possible explanation could be seasonal influences: Brown Swiss cows have been reported to show autumn low milk yield syndrome, potentially related to summer heat stress, which was also associated with increased mastitis occurrence [94]. Another aspect might be breed-specific udder and teat morphology. Brown Swiss cows are characterized by longer and thicker teats [95], which could potentially influence milking characteristics and pathogen transmission dynamics. While our cross-sectional design does not allow conclusions to be made on causality, such breed-related physiological and morphological traits may partly contribute to the observed associations and should be investigated in more detail in future studies.

The quarter-level prevalence of *E. coli* and *Strep. agalactiae* remained very low (0.1% and 0.2%, respectively), which is consistent with previous findings in the region [51]. Long term data showed a downward trend of *Strep. agalactiae* prevalence in Bavaria (5% to 3%) [52], Finland (0.12% to 0.02%) [70], or the Netherlands (7% to 0%) at the QMS level [69]. Although both pathogens were so rarely found, and we had to use a different statistical approach, we were still able to find statistical differences despite a potentially low power.

For instance, *Strep. agalactiae* was detected in only 11 out of 305 herds, and only 3 of these herds reported irregular cleaning of water troughs. Despite the low number of *Strep. agalactiae*-positive herds, we could show that, contrary to the assumption that *Strep. agalactiae* is a classical contagious pathogen, the cleaning of water troughs was associated with a reduced likelihood for a herd to be *Strep. agalactiae*-positive. Since a recent Norwegian study found *Strep. agalactiae* in the environment and especially in water troughs [96], the environmental component of *Strep. agalactiae* infections needs to be acknowledged. At the same time, the contagious nature of this pathogen was confirmed, as the regular maintenance of milking equipment was a protective factor in this study. The original five-point plan to combat contagious mastitis pathogens emphasized the importance of well-set and well-maintained milking equipment. This shows that these findings are still relevant and that careful maintenance of milking equipment remains essential to good udder health.

Similarly to *Strep. agalactiae*, the median within-herd prevalence of *E. coli* was very low (0%) and the overall herd-level prevalence of *E. coli* was also low (only 51 positive herds). Due to the short residence time of *E. coli* in the udder, the likelihood of a cow in a large herd testing positive for *E. coli* is higher compared to a cow in a smaller herd at any given day, as the total number of animals tested is higher. Therefore, larger herds are more prone

to test positive for *E. coli*, and the lower likelihood of smaller herds to be *E. coli*-positive should therefore not be overinterpreted. This likely resulted in the higher detection risk of *E. coli* in our study compared to Groh et al. (2023) [51], because this study included more large herds (>100 cows: 22 vs. 2) than the previous one.

The National Mastitis Council previously reported a link between liner slips and environmental mastitis, but without naming specific pathogens [97]. In this study, we could show an association between the presence of audible liner slips and the *E. coli* status of herds. As *E. coli* can occur as an environmental pathogen both on liners and on the teat skin, the sudden influx of air during a liner slip could cause milk particles and pathogens to return into the udder. The study was therefore able to confirm previously named risk factors but also identified new risk factors, such as the lack of bedding for *S. aureus* and *Strep. dysgalactiae*. It is worth noting that none of the within-herd prevalences or odds for a positive herd were associated with season in this study. This was surprising as Bechtold et al. (2024) [52] found more environmental pathogens in quarter-milk samples during the summer months in the same region, and cows shed *Strep. uberis* more during the hot season [40]. However, while the bulk tank SCC also rises during the summer in Bavaria [98], we were unable to find a seasonal effect on the within-herd prevalence or odds for positive herds of environmental or other pathogens. Seasonal influences, such as heat or humidity, often affect individual cows, but they may not result in a measurable shift in overall within-herd prevalence. Potentially, this is an individual cow problem as the samples of Bechtold et al. (2024) included approximately 20–30% of individual cow submissions by farmers or veterinarians. By contrast, this study sampled the entire milking herd regardless of disease status.

Despite its broad scope, this study had several limitations. The cross-sectional design did not allow temporal effects to be measured, such as short-term fluctuations in bacterial shedding or changes over time. In addition, the number of positive herds was relatively small for some pathogens, such as *E. coli* and *Strep. agalactiae*, which limited the statistical power of their risk factor analysis.

5. Conclusions

This study provides a comprehensive overview of IMI in Bavarian dairy herds and identifies key management factors at the herd level associated with their occurrence. By systematically sampling all lactating cows from randomly selected herds, the study provides an unbiased view of the presence of relevant mastitis pathogens on small- to mid-sized farms. Frequent pathogens, such as *S. aureus*, *Strep. uberis*, and *Strep. dysgalactiae*, were analyzed based on their within-herd prevalence. Less frequent pathogens, such as *E. coli* and *Strep. agalactiae*, were evaluated based on their herd-level presence. The results underscore the importance of adequate bedding, dry-off treatment, and milking hygiene in minimizing pathogen presence. These findings provide a basis for developing pathogen-specific prevention strategies that are feasible and relevant for small- and medium-sized dairy herds.

Author Contributions: Conceptualization, U.S.S., K.K., and W.P.; Methodology, U.S.S. and K.K.; Software, U.S.S. and K.K.; Validation, U.S.S., W.P., and K.K.; Formal Analysis, K.K. and U.S.S.; Investigation, K.K. and U.S.S.; Resources, U.S.S.; Data Curation, K.K. and U.S.S.; Writing—Original Draft Preparation, K.K.; Writing—Review and Editing, K.K., U.S.S., and W.P.; Visualization, K.K.; Supervision, U.S.S.; Project Administration, U.S.S.; Funding Acquisition, U.S.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This study was made possible by the financial support of the Free State of Bavaria (Bavarian State Ministry of Food, Agriculture, Forestry, and Tourism; Munich, Germany), the Bavarian Joint Founding Scheme for Control and Eradication of Contagious Livestock Diseases (Bayerische

Tierseuchenkasse; Munich, Germany), and the Association of the Bavarian Milk and Dairy Industry (milch.bayern; Munich, Germany).

Data Availability Statement: Data are contained within the article.

Acknowledgments: The authors would like to thank the participating Bavarian farmers for their cooperation.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

Abbreviations

The following abbreviations are used in this manuscript:

AIC	Akaike Information Criterion
BTSCC	Bulk Tank Somatic Cell Count
CM	Clinical Mastitis
CMT	California Mastitis Test
DHI	Dairy Herd Improvement Association
DVG	German Veterinary Association
E.	Escherichia
G.	Group
ICD	Intermediate Cluster Disinfection
IDF	International Dairy Federation
IQR	Inter-Quartile Range
NAS	Non-Aureus Staphylococci
NMC	National Mastitis Council
PCR	Polymerase Chain Reaction
QMS	Quarter Milk Sample
T.	Trueperella
TMR	Total Mixed Ration
SCM	Subclinical Mastitis
S.	Staphylococcus
Strep.	Streptococcus

References

1. Morales-Ubaldo, A.L.; Rivero-Perez, N.; Valladares-Carranza, B.; Velazquez-Ordóñez, V.; Delgadillo-Ruiz, L.; Zaragoza-Bastida, A. Bovine mastitis, a worldwide impact disease: Prevalence, antimicrobial resistance, and viable alternative approaches. *Vet. Anim. Sci.* **2023**, *21*, 100306. [\[CrossRef\]](#)
2. Broom, D.M. Effects of dairy cattle breeding and production methods on animal welfare. In Proceedings of the 21st World Buiatrics Congress, Punta del Este, Uruguay, 4–8 December 2000; pp. 1–7.
3. Siivonen, J.; Taponen, S.; Hovinen, M.; Pastell, M.; Lensink, B.J.; Pyörälä, S.; Hänninen, L. Impact of acute clinical mastitis on cow behaviour. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **2011**, *132*, 101–106. [\[CrossRef\]](#)
4. Cyples, J.A.; Fitzpatrick, C.E.; Leslie, K.E.; DeVries, T.J.; Haley, D.B.; Chapinal, N. Short communication: The effects of experimentally induced *Escherichia coli* clinical mastitis on lying behavior of dairy cows. *J. Dairy Sci.* **2012**, *95*, 2571–2575. [\[CrossRef\]](#)
5. Medrano-Galarza, C.; Gibbons, J.; Wagner, S.; de Passille, A.M.; Rushen, J. Behavioral changes in dairy cows with mastitis. *J. Dairy Sci.* **2012**, *95*, 6994–7002. [\[CrossRef\]](#)
6. Ginger, L.; Ledoux, D.; Bouchon, M.; Rautenbach, I.; Bagnard, C.; Lurier, T.; Foucras, G.; Germon, P.; Durand, D.; de Boyer des Roches, A. Using behavioral observations in freestalls and at milking to improve pain detection in dairy cows after lipopolysaccharide-induced clinical mastitis. *J. Dairy Sci.* **2023**, *106*, 5606–5625. [\[CrossRef\]](#)
7. Bar, D.; Grohn, Y.T.; Bennett, G.; Gonzalez, R.N.; Hertl, J.A.; Schulte, H.F.; Tauer, L.W.; Welcome, F.L.; Schukken, Y.H. Effect of repeated episodes of generic clinical mastitis on milk yield in dairy cows. *J. Dairy Sci.* **2007**, *90*, 4643–4653. [\[CrossRef\]](#)
8. Puerto, M.A.; Shepley, E.; Cue, R.I.; Warner, D.; Dubuc, J.; Vasseur, E. The hidden cost of disease: I. Impact of the first incidence of mastitis on production and economic indicators of primiparous dairy cows. *J. Dairy Sci.* **2021**, *104*, 7932–7943. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

9. Pfützner, M.; Ózsávri, L. The Financial Impact of Decreased Milk Production Due to Subclinical Mastitis in German Dairy Herds. *J. Fac. Vet. Med. Istanbul Univ.* **2017**, *40*, 110–115. [CrossRef]
10. Seegers, H.; Fourichon, C.; Beaudeau, F. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Vet. Res.* **2003**, *34*, 475–491. [CrossRef] [PubMed]
11. BMEL. Visualisierung der Tabelle Rinderbestand und Rinderbestände nach Nutzungsrichtung und Rinderrassen. Available online: <https://www.bmel-statistik.de/landwirtschaft/tierhaltung/rinderhaltung> (accessed on 12 February 2025).
12. Milcherzeugerverband, B. Milchwirtschaft | Vergleich Deutschland und Bayern. 2024. Available online: <https://www.milcherzeugerverband-bayern.de/milcherzeugung> (accessed on 18 June 2025).
13. Tergast, H.; Hansen, H.; Weber, E.-C. *Steckbriefe zur Tierhaltung in Deutschland: Milchkühe*; Thünen-Institut für Betriebswirtschaft: Braunschweig, Germany, 2022; p. 17.
14. Buonaiuto, G.; Lopez-Villalobos, N.; Costa, A.; Niero, G.; Degano, L.; Mammi, L.M.E.; Cavallini, D.; Palmonari, A.; Formigoni, A.; Visentin, G. Stayability in Simmental cattle as affected by muscularity and body condition score between calvings. *Front. Vet. Sci.* **2023**, *10*, 1141286. [CrossRef] [PubMed]
15. Miciński, J.; Maršálek, M.; Pogorzelska, J.; Vrobová, A. The comparative analysis of milk performance in Czech Pied Cattle raised in the Czech Republic versus Polish Holstein-Friesian, Simmental and Czech Pied Cattle raised in Poland. *Vet. Ir Zootech.* **2014**, *67*, 75–80.
16. Karslioglu Kara, N.; Koyuncu, M. A Research on longevity, culling reasons and milk yield trait between Holstein and Simmental cows. *Mediterranean Agric. Sci.* **2018**, *31*. [CrossRef]
17. Zablotzki, Y.; Knubben-Schweizer, G.; Hoedemaker, M.; Campe, A.; Muller, K.; Merle, R.; Dopfer, D.; Oehm, A.W. Non-linear change in body condition score over lifetime is associated with breed in dairy cows in Germany. *Vet. Anim. Sci.* **2022**, *18*, 100275. [CrossRef] [PubMed]
18. Wellnitz, O.; Bruckmaier, R.M. The innate immune response of the bovine mammary gland to bacterial infection. *Vet. J.* **2012**, *192*, 148–152. [CrossRef] [PubMed]
19. IDF. Suggested Interpretation of Mastitis Terminology (Revision of Bulletin of IDF No. 338/1999). Available online: https://fil-idf.org/wp-content/uploads/woocommerce_uploads/2011/03/Bulletin-of-the-IDF-No.-448_2011-Suggested-Interpretation-of-Mastitis-Terminology-revision-of-Bulletin-of-IDF-No-338-1999-1-fdvlh1.pdf (accessed on 17 June 2025).
20. Cobirka, M.; Tancin, V.; Slama, P. Epidemiology and Classification of Mastitis. *Animals* **2020**, *10*, 2212. [CrossRef]
21. Meçaj, R.; Muça, G.; Koleci, X.; Sulçe, M.; Turmalaj, L.; Zalla, P.; Koni, A.; Tafaj, M. Bovine Environmental Mastitis and Their Control: An Overview. *Int. J. Agric. Biosci.* **2023**, *12*, 216–221. [CrossRef] [PubMed]
22. Keefe, G. Update on Control of Staphylococcus aureus and Streptococcus agalactiae for Management of Mastitis. *Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract.* **2012**, *28*, 203–216. [CrossRef]
23. Wente, N.; Krömker, V. Streptococcus dysgalactiae—Contagious or Environmental? *Animals* **2020**, *10*, 2185. [CrossRef]
24. Lundberg, A.; Nyman, A.K.; Aspan, A.; Borjesson, S.; Unnerstad, H.E.; Waller, K.P. Udder infections with Staphylococcus aureus, Streptococcus dysgalactiae, and Streptococcus uberis at calving in dairy herds with suboptimal udder health. *J. Dairy Sci.* **2016**, *99*, 2102–2117. [CrossRef]
25. Todhunter, D.A.; Smith, K.L.; Hogan, J.S. Environmental streptococcal intramammary infections of the bovine mammary gland. *J. Dairy Sci.* **1995**, *78*, 2366–2374. [CrossRef]
26. De Buck, J.; Ha, V.; Naushad, S.; Nobrega, D.B.; Luby, C.; Middleton, J.R.; De Vliegher, S.; Barkema, H.W. Non-aureus Staphylococci and Bovine Udder Health: Current Understanding and Knowledge Gaps. *Front. Vet. Sci.* **2021**, *8*, 658031. [CrossRef]
27. Pyörälä, S.; Taponen, S. Coagulase-negative staphylococci-emerging mastitis pathogens. *Vet. Microbiol.* **2009**, *134*, 3–8. [CrossRef]
28. Neave, F.K.; Dodd, F.H.; Kingwill, R.G.; Westgarth, D.R. Control of mastitis in the dairy herd by hygiene and management. *J. Dairy Sci.* **1969**, *52*, 696–707. [CrossRef] [PubMed]
29. Dodd, F.H.; Westgarth, D.R.; Neave, F.K.; Kingwill, R.G. Mastitis—The strategy of control. *J. Dairy Sci.* **1969**, *52*, 689–695. [CrossRef]
30. Hillerton, E.; Booth, J.M. The Five-Point Mastitis Control Plan—A Revisory Tutorial! In Proceedings of the NMC Annual Meeting Proceedings, Tucson, AZ, USA, 30 January–2 February 2018.
31. Döpfer, D.; Barkema, H.W.; Lam, T.J.; Schukken, Y.H.; Gaastra, W. Recurrent clinical mastitis caused by Escherichia coli in dairy cows. *J. Dairy Sci.* **1999**, *82*, 80–85. [CrossRef] [PubMed]
32. Zadoks, R.N.; Allore, H.G.; Barkema, H.W.; Sampimon, O.C.; Wellenberg, G.J.; Grohn, Y.T.; Schukken, Y.H. Cow- and quarter-level risk factors for Streptococcus uberis and Staphylococcus aureus mastitis. *J. Dairy Sci.* **2001**, *84*, 2649–2663. [CrossRef] [PubMed]
33. Cheng, W.N.; Han, S.G. Bovine mastitis: Risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments—A review. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* **2020**, *33*, 1699–1713. [CrossRef]
34. Ruegg, P.L. A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. *J. Dairy Sci.* **2017**, *100*, 10381–10397. [CrossRef]

35. Hertl, J.A.; Schukken, Y.H.; Bar, D.; Bennett, G.J.; Gonzalez, R.N.; Rauch, B.J.; Welcome, F.L.; Tauer, L.W.; Grohn, Y.T. The effect of recurrent episodes of clinical mastitis caused by gram-positive and gram-negative bacteria and other organisms on mortality and culling in Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* **2011**, *94*, 4863–4877. [CrossRef]
36. Elghafghuf, A.; Dufour, S.; Reyher, K.; Dohoo, I.; Stryhn, H. Survival analysis of clinical mastitis data using a nested frailty Cox model fit as a mixed-effects Poisson model. *Prev. Vet. Med.* **2014**, *117*, 456–468. [CrossRef]
37. Mirazei, A.; Ararooti, T.; Ghavami, M.; Tamadon, A. Sub-clinical Mastitis and Reproduction: Season, Parity and Stage of Lactation Effects on Conception Rate and Milk Somatic Cell Count. *J. Infertil. Reprod. Biol.* **2023**, *11*, 55–60. [CrossRef]
38. Jamali, H.; Barkema, H.W.; Jacques, M.; Lavalley-Bourget, E.M.; Malouin, F.; Saini, V.; Stryhn, H.; Dufour, S. Invited review: Incidence, risk factors, and effects of clinical mastitis recurrence in dairy cows. *J. Dairy Sci.* **2018**, *101*, 4729–4746. [CrossRef]
39. Grohn, Y.T.; Eicker, S.W.; Hertl, J.A. The association between previous 305-day milk yield and disease in New York State dairy cows. *J. Dairy Sci.* **1995**, *78*, 1693–1702. [CrossRef]
40. Hamel, J.; Zhang, Y.; Wente, N.; Krömker, V. Heat stress and cow factors affect bacteria shedding pattern from naturally infected mammary gland quarters in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* **2021**, *104*, 786–794. [CrossRef] [PubMed]
41. O'Rourke, D. Nutrition and udder health in dairy cows: A review. *Ir. Vet. J.* **2009**, *62* (Suppl. 4), S15–S20. [CrossRef]
42. Zigo, F.; Vasil, M.; Ondrasovicova, S.; Vyrostkova, J.; Bujok, J.; Pecka-Kielb, E. Maintaining Optimal Mammary Gland Health and Prevention of Mastitis. *Front. Vet. Sci.* **2021**, *8*, 607311. [CrossRef] [PubMed]
43. Hogan, J.S.; Smith, K.L.; Hoblet, K.H.; Todhunter, D.A.; Schoenberger, P.S.; Hueston, W.D.; Pritchard, D.E.; Bowman, G.L.; Heider, L.E.; Brockett, B.L.; et al. Bacterial counts in bedding materials used on nine commercial dairies. *J. Dairy Sci.* **1989**, *72*, 250–258. [CrossRef]
44. Patel, K.; Godden, S.M.; Royster, E.; Crooker, B.A.; Timmerman, J.; Fox, L. Relationships among bedding materials, bedding bacteria counts, udder hygiene, milk quality, and udder health in US dairy herds. *J. Dairy Sci.* **2019**, *102*, 10213–10234. [CrossRef] [PubMed]
45. Rowbotham, R.F.; Ruegg, P.L. Associations of selected bedding types with incidence rates of subclinical and clinical mastitis in primiparous Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* **2016**, *99*, 4707–4717. [CrossRef]
46. Breen, J.E.; Green, M.J.; Bradley, A.J. Quarter and cow risk factors associated with the occurrence of clinical mastitis in dairy cows in the United Kingdom. *J. Dairy Sci.* **2009**, *92*, 2551–2561. [CrossRef]
47. Barkema, H.W.; Schukken, Y.H.; Lam, T.J.; Beiboer, M.L.; Benedictus, G.; Brand, A. Management practices associated with the incidence rate of clinical mastitis. *J. Dairy Sci.* **1999**, *82*, 1643–1654. [CrossRef]
48. Dufour, S.; Frechette, A.; Barkema, H.W.; Mussell, A.; Scholl, D.T. Invited review: Effect of udder health management practices on herd somatic cell count. *J. Dairy Sci.* **2011**, *94*, 563–579. [CrossRef]
49. Abebe, R.; Hatiya, H.; Abera, M.; Megersa, B.; Asmare, K. Bovine mastitis: Prevalence, risk factors and isolation of *Staphylococcus aureus* in dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia. *BMC Vet. Res.* **2016**, *12*, 270. [CrossRef]
50. Noorlander, D.O. The Milking Machine as It Relates to Mastitis. *J. Food Prot.* **1977**, *40*, 643–645. [CrossRef]
51. Groh, L.J.; Mansfeld, R.; Baumgartner, C.; Sorge, U.S. Mastitis pathogens in Bavaria, Southern Germany: Apparent prevalence and herd-level risk factor. *Milk Sci. Int.* **2023**, *76*, 15–23. [CrossRef]
52. Bechtold, V.; Petzl, W.; Huber-Schlenstedt, R.; Sorge, U.S. Distribution of Bovine Mastitis Pathogens in Quarter Milk Samples from Bavaria, Southern Germany, between 2014 and 2023—A Retrospective Study. *Animals* **2024**, *14*, 2504. [CrossRef] [PubMed]
53. Bundestierärztekammer. Verordnung über Tierärztliche Hausapotheken, TÄHAV. Available online: https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://www.bundestieraerztekammer.de/tieraerzte/leitlinien/downloads/DTBI_04_2018-TAeHAV.pdf&ved=2ahUKEwirlvXg58GPaxXR3QIHHT9AbgQFnoECBkQAQ&usq=AOvVaw087KXwp_x8m-o0wnsqi5S7 (accessed on 17 June 2025).
54. TAMG. Gesetz über den Verkehr mit Tierarzneimitteln und zur Durchführung unionsrechtlicher Vorschriften betreffend Tierarzneimittel (Tierarzneimittelgesetz—TAMG). Available online: <https://www.gesetze-im-internet.de/tamg/BJNR453010021.html> (accessed on 17 June 2025).
55. Lavrijsen-Kromwijk, L.; Demba, S.; Muller, U.; Rose, S. Impact of Automation Level of Dairy Farms in Northern and Central Germany on Dairy Cattle Welfare. *Animals* **2024**, *14*, 3699. [CrossRef]
56. Cook, N.B.; Reinemann, D. A Tool Box for Assessing Cow, Udder and Teat Hygiene. In Proceedings of the 46th Annual Meeting National Mastitis Council, San Antonio, TX, USA, 21–24 January 2007; pp. 31–43.
57. University Cornell. Hock Assessment Chart for Cattle. Available online: <https://ecommons.cornell.edu/server/api/core/bitstreams/bb254090-ac6b-4cc1-ab41-9739fba71d96/content> (accessed on 17 February 2025).
58. NMC. Guidelines for Evaluating Teat Skin Condition. Available online: <https://www.nmconline.org/wp-content/uploads/2016/09/Guidelines-for-Evaluating.pdf> (accessed on 17 February 2025).
59. Besse, N.G.; Couquil, A.; Vignaud, M.-L.; Barre, L.; Deperrois, V.; Voitoux, E.; Obabaka, M.-B.; Lombard, B. Comparative Study of Different Milk Samples Preservation Procedures for Bacteriological Examination. *Food Anal. Methods* **2008**, *1*, 36–42. [CrossRef]

60. DVG. *Leitlinien zur Labordiagnostik der Mastitis: Probenahme und Mikrobiologische Untersuchung*, 3rd ed.; Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft/Fachgruppe Milchhygiene: Giessen, Germany, 2018.
61. IDF. *Laboratory Methods for Use in Mastitis Work*; International Dairy Federation: Brussels, Belgium, 1981.
62. NMC. *Laboratory Handbook on Bovine Mastitis*; National Mastitis Council: New Prague, MN, USA, 1999.
63. IDF. Guidelines for the Use and Interpretation of Bovine Milk Somatic Cell Counts (SCC) in Dairy Industry. Available online: <https://shop.fil-idf.org/products/guidelines-for-the-use-and-interpretation-of-bovine-milk-somatic-cell-counts-scc-in-the-dairy-industry> (accessed on 18 June 2025).
64. Nyman, A.K.; Persson Waller, K.; Emanuelson, U.; Frossling, J. Sensitivity and specificity of PCR analysis and bacteriological culture of milk samples for identification of intramammary infections in dairy cows using latent class analysis. *Prev. Vet. Med.* **2016**, *135*, 123–131. [CrossRef] [PubMed]
65. Condas, L.A.Z.; De Buck, J.; Nobrega, D.B.; Carson, D.A.; Roy, J.P.; Keefe, G.P.; DeVries, T.J.; Middleton, J.R.; Dufour, S.; Barkema, H.W. Distribution of non-aureus staphylococci species in udder quarters with low and high somatic cell count, and clinical mastitis. *J. Dairy Sci.* **2017**, *100*, 5613–5627. [CrossRef] [PubMed]
66. Piepers, S.; De Meulemeester, L.; de Kruijff, A.; Opsomer, G.; Barkema, H.W.; De Vlieghe, S. Prevalence and distribution of mastitis pathogens in subclinically infected dairy cows in Flanders, Belgium. *J. Dairy Res.* **2007**, *74*, 478–483. [CrossRef] [PubMed]
67. Wuytack, A.; De Visscher, A.; Piepers, S.; Boyen, F.; Haesebrouck, F.; De Vlieghe, S. Distribution of non-aureus staphylococci from quarter milk, teat apices, and rectal feces of dairy cows, and their virulence potential. *J. Dairy Sci.* **2020**, *103*, 10658–10675. [CrossRef] [PubMed]
68. Smistad, M.; Bakka, H.C.; Solverod, L.; Jorgensen, H.J.; Wolff, C. Prevalence of udder pathogens in milk samples from Norwegian dairy cows recorded in a national database in 2019 and 2020. *Acta Vet. Scand.* **2023**, *65*, 19. [CrossRef]
69. Sampimon, O.C.; Barkema, H.W.; Berends, I.M.; Sol, J.; Lam, T.J. Prevalence and herd-level risk factors for intramammary infection with coagulase-negative staphylococci in Dutch dairy herds. *Vet. Microbiol.* **2009**, *134*, 37–44. [CrossRef]
70. Pitkälä, A.; Haveri, M.; Pyörala, S.; Myllys, V.; Honkanen-Buzalski, T. Bovine mastitis in Finland 2001—prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. *J. Dairy Sci.* **2004**, *87*, 2433–2441. [CrossRef]
71. Vakkamäki, J.; Taponen, S.; Heikkilä, A.M.; Pyörala, S. Bacteriological etiology and treatment of mastitis in Finnish dairy herds. *Acta Vet. Scand.* **2017**, *59*, 33. [CrossRef]
72. Traversari, J.; van den Borne, B.H.P.; Dolder, C.; Thomann, A.; Perreten, V.; Bodmer, M. Non-aureus Staphylococci Species in the Teat Canal and Milk in Four Commercial Swiss Dairy Herds. *Front. Vet. Sci.* **2019**, *6*, 186. [CrossRef]
73. Gyga, L.; Neuffer, I.; Kaufmann, C.; Hauser, R.; Wechsler, B. Comparison of functional aspects in two automatic milking systems and auto-tandem milking parlors. *J. Dairy Sci.* **2007**, *90*, 4265–4274. [CrossRef]
74. Mahmood, Y.S.; Klaas, I.C.; Svennensen, L.; Pedersen, K.; Ingmer, H. Communications of Staphylococcus aureus and non-aureus Staphylococcus species from bovine intramammary infections and teat apex colonization. *J. Dairy Sci.* **2018**, *101*, 7322–7333. [CrossRef] [PubMed]
75. Oliver, S.P.; King, S.H.; Torre, P.M.; Shull, E.P.; Dowlen, H.H.; Lewis, M.J.; Sordillo, L.M. Prevention of Bovine Mastitis by a Postmilking Teat Disinfectant Containing Chlorous Acid and Chlorine Dioxide in a Soluble Polymer Gel. *J. Dairy Sci.* **1989**, *72*, 3091–3097. [CrossRef] [PubMed]
76. Tenhagen, B.A.; Koster, G.; Wallmann, J.; Heuwieser, W. Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *J. Dairy Sci.* **2006**, *89*, 2542–2551. [CrossRef]
77. Schmenger, A.; Krömker, V. Characterization, Cure Rates and Associated Risks of Clinical Mastitis in Northern Germany. *Vet. Sci.* **2020**, *7*, 170. [CrossRef] [PubMed]
78. Schwarz, D.; Diesterbeck, U.S.; Failing, K.; König, S.; Brüggemann, K.; Zschock, M.; Wolter, W.; Czerny, C.P. Somatic cell counts and bacteriological status in quarter foremilk samples of cows in Hesse, Germany—a longitudinal study. *J. Dairy Sci.* **2010**, *93*, 5716–5728. [CrossRef]
79. Cicconi-Hogan, K.M.; Gamroth, M.; Richert, R.; Ruegg, P.L.; Stiglbauer, K.E.; Schukken, Y.H. Risk factors associated with bulk tank standard plate count, bulk tank coliform count, and the presence of Staphylococcus aureus on organic and conventional dairy farms in the United States. *J. Dairy Sci.* **2013**, *96*, 7578–7590. [CrossRef]
80. European Commission. *Regulation (EC) No 2018/848 of 30 May 2018, Rules for Organic Production and Labeling of Organic Products with Regard to Organic Production, Labeling and Control*; European Commission: Brussels, Belgium, 2018.
81. U.S.D.A. 7 CFR Part 205. Available online: <https://www.ecfr.gov/current/title-7/subtitle-B/chapter-I/subchapter-M/part-205> (accessed on 17 June 2025).
82. Ericsson Unnerstad, H.; Lindberg, A.; Persson Waller, K.; Ekman, T.; Artursson, K.; Nilsson-Ost, M.; Bengtsson, B. Microbial aetiology of acute clinical mastitis and agent-specific risk factors. *Vet. Microbiol.* **2009**, *137*, 90–97. [CrossRef]
83. Sherwin, V.E.; Egan, S.A.; Green, M.J.; Leigh, J.A. Survival of Streptococcus uberis on bedding substrates. *Vet. J.* **2021**, *276*, 105731. [CrossRef]

84. Barth, K.; Murk, K.; Brinkmann, J.; March, S.; Volling, O.; Weiler, M.; Weiß, M.; Drerup, C.; Krömker, V. Einstreumanagement in der Ökologischen Milchviehhaltung. Available online: https://literatur.thuenen.de/digbib_extern/dn048515.pdf (accessed on 17 June 2025).
85. Matos, J.S.; White, D.G.; Harmon, R.J.; Langlois, B.E. Isolation of *Staphylococcus aureus* from sites other than the lactating mammary gland. *J. Dairy Sci.* **1991**, *74*, 1544–1549. [\[CrossRef\]](#)
86. Capurro, A.; Aspan, A.; Ericsson Unnerstad, H.; Persson Waller, K.; Artursson, K. Identification of potential sources of *Staphylococcus aureus* in herds with mastitis problems. *J. Dairy Sci.* **2010**, *93*, 180–191. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
87. Neely, A.N.; Maley, M.P. Survival of enterococci and staphylococci on hospital fabrics and plastic. *J. Clin. Microbiol.* **2000**, *38*, 724–726. [\[CrossRef\]](#)
88. Devries, T.J.; Aarnoudse, M.G.; Barkema, H.W.; Leslie, K.E.; von Keyserlingk, M.A. Associations of dairy cow behavior, barn hygiene, cow hygiene, and risk of elevated somatic cell count. *J. Dairy Sci.* **2012**, *95*, 5730–5739. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
89. Lindena, T.; Hess, S. Is animal welfare better on smaller dairy farms? Evidence from 3085 dairy farms in Germany. *J. Dairy Sci.* **2022**, *105*, 8924–8945. [\[CrossRef\]](#)
90. Sartori, C.; Boss, R.; Bodmer, M.; Leuenberger, A.; Ivanovic, I.; Graber, H.U. Sanitation of *Staphylococcus aureus* genotype B-positive dairy herds: A field study. *J. Dairy Sci.* **2018**, *101*, 6897–6914. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
91. Washburn, S.P.; White, S.L.; Green, J.T., Jr.; Benson, G.A. Reproduction, mastitis, and body condition of seasonally calved Holstein and Jersey cows in confinement or pasture systems. *J. Dairy Sci.* **2002**, *85*, 105–111. [\[CrossRef\]](#)
92. Curone, G.; Filipe, J.; Cremonesi, P.; Trevisi, E.; Amadori, M.; Pollera, C.; Castiglioni, B.; Turin, L.; Tedde, V.; Vigo, D.; et al. What we have lost: Mastitis resistance in Holstein Friesians and in a local cattle breed. *Res. Vet. Sci.* **2018**, *116*, 88–98. [\[CrossRef\]](#)
93. Gibson, A.J.; Woodman, S.; Pennelegion, C.; Patterson, R.; Stuart, E.; Hosker, N.; Siviter, P.; Douglas, C.; Whitehouse, J.; Wilkinson, W.; et al. Differential macrophage function in Brown Swiss and Holstein Friesian cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **2016**, *181*, 15–23. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
94. Mylostyyvi, R.; Lacetera, N.; Amadori, M.; Sejian, V.; Freire Souza-Junior, J.B.; Hoffmann, G. The autumn low milk yield syndrome in Brown Swiss cows in continental climates: Hypotheses and facts. *Vet. Res. Commun.* **2023**, *48*, 203–213. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
95. Genc, M.; Coban, O.; Ozenturk, U.; Eltas, O. Influence of breed and parity on teat and milking characteristics in dairy cattle. *Maced. Vet. Rev.* **2018**, *41*, 169–176. [\[CrossRef\]](#)
96. Jørgensen, H.J.; Nordstoga, A.B.; Sviland, S.; Zadoks, R.N.; Solverod, L.; Kvitle, B.; Mørk, T. *Streptococcus agalactiae* in the environment of bovine dairy herds—rewriting the textbooks? *Vet. Microbiol.* **2016**, *184*, 64–72. [\[CrossRef\]](#)
97. NMC. A Practical Look at Environmental Mastitis. Available online: <https://www.nmconline.org/wp-content/uploads/2023/06/Fact-Sheet-A-Practical-Look-at-Environmental-Mastitis-Formatted.pdf> (accessed on 30 March 2025).
98. MPR. Jahresauswertung 2022—Zellzahl 2022. Available online: <https://www.mpr-bayern.de/de/Infothek> (accessed on 16 April 2025).

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

2. 2. Veröffentlichung

Quantitative Erregerausscheidung bei intramammären Infektionen – eine praxisnahe Studie bei bayerischen Milchkühen

Quantitative pathogen shedding in intramammary infections – a practical study with Bavarian dairy cows

K. Kalverkamp^{1,2}, W. Petzl², U.S. Sorge¹

¹Eutergesundheitsdienst und Milchhygiene, Tiergesundheitsdienst Bayern e.V., 85586 Poing, Deutschland

²Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung, Zentrum für klinische Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München, 85764 Oberschleißheim, Deutschland

Korrespondenzadresse

Klara Kalverkamp
Tiergesundheitsdienst Bayern e.V.
Senator-Gerauer-Straße 23
85586 Poing
klarakalve@gmail.com

Schlüsselwörter

Mastitis, intramammäre Infektion, Ausscheidung, mikrobiologische Diagnostik

Zusammenfassung**Gegenstand und Ziel:**

Ziel dieser bayernweiten Querschnittsstudie war es, das Ausmaß der quantitativen bakteriellen Erregerausscheidung in Viertelgemelksproben laktierender Milchkühe unter Praxisbedingungen zu beschreiben. Besonderes Augenmerk lag auf dem Zusammenhang zwischen Erregerausscheidung, Eutergesundheit und saisonalen Einflüssen.

Material und Methoden:

Es wurden 305 zufällig ausgewählte Milchviehbetriebe aus allen bayerischen Regierungsbezirken im Jahresverlauf besucht. Insgesamt wurden 58.108 Viertelgemelksproben von 14.700 Kühen entnommen und mikrobiologisch untersucht. Die Erregerausscheidung wurde semiquantitativ (1-10 KbE/0,01ml bis > 200 KbE/0,01ml) bestimmt und gemeinsam mit dem somatischen Zellgehalt auf Viertelebene analysiert. Für die statistische Auswertung wurden die fünf Ausscheidungsklassen in drei Kategorien verdichtet.

Ergebnisse:

Die Höhe der bakteriellen Erregerausscheidung variierte deutlich in Abhängigkeit vom Gesundheitsstatus des Euterviertels. Gesunde Viertel zeigten signifikant häufiger niedrige oder mittlere Erregerausscheidung als subklinisch oder klinisch betroffene Viertel. Für *Staphylococcus aureus* war die Wahrscheinlichkeit, eine niedrige Erregerausscheidung (1–10 KbE/0,01 ml) zu zeigen, bei gesunden Vierteln mehr als zwölfmal höher als bei klinisch auffälligen. Auch *Streptococcus uberis* und *Streptococcus dysgalactiae* wurden in gesunden Vierteln überwiegend in mittleren Konzentrationen ausgeschieden. Für *Staphylococcus aureus* zeigte sich zusätzlich ein saisonaler Effekt, wo im Sommer seltener eine geringe Erregerausscheidung als im Winter beobachtet wurde. Für *Escherichia coli* und *Streptococcus agalactiae* konnten aufgrund nur weniger Nachweise keine belastbaren Aussagen getroffen werden.

Schlussfolgerungen:

Die Studie zeigt, dass auch klinisch unauffällige Tiere relevante Mengen pathogener Keime ausscheiden können. Eine ausschließliche Betrachtung der Zellzahl reicht zur Einschätzung der Eutergesundheit nicht aus.

Klinische Relevanz:

Gezielte mikrobiologische Herdenuntersuchungen sind eine sinnvolle Ergänzung zur somatischen Zellzahl in der Milch als Eutergesundheitsparameter. Sie ermöglichen es, klinisch

inapparente aber infizierte Kühe in der Herde zu erkennen und tragen durch Früherkennung zur Optimierung der Eutergesundheit bei.

Key words

Mastitis, intramammary infection, shedding, microbiological diagnostics

Abstract***Subject and objective:***

The objective of this Bavaria-wide cross-sectional field study was to describe the extent of selected quantitative bacterial pathogen shedding in quarter milk samples from lactating dairy cows. The association between pathogen shedding, udder health, and seasonal influences was evaluated.

Materials and methods:

Randomly selected dairy farms (N = 305) from all Bavarian administrative districts were visited once over the course of a year. A total of 58,108 quarter milk samples were taken from 14,700 cows and examined microbiologically. Pathogen shedding was determined semi-quantitatively (1-10 cfu/0.01ml to > 200 cfu/0.01ml) per quarter. For the statistical analysis the five shedding classes were summarized into three categories.

Results:

The level of bacterial pathogen shedding varied depending on the health status of the udder quarter. Healthy quarters were more likely to show low or medium bacterial counts than subclinically or clinically affected quarters. For *Staphylococcus aureus*, the probability of low shedding (1-10 cfu/0.01 ml) was more than twelve times higher in healthy quarters than in clinically affected quarters. *Streptococcus uberis* and *Streptococcus dysgalactiae* were also predominantly shed in medium concentrations in healthy quarters. For *Staphylococcus aureus*, there was also a seasonal effect with low pathogen shedding being observed less frequently in summer than in winter. For *Escherichia coli* and *Streptococcus agalactiae*, no reliable conclusions could be drawn due to overall low detection rates.

Conclusions:

The study showed that even clinically inapparent animals can shed relevant amounts of pathogenic bacteria. This confirms that milk somatic cell count alone is insufficient to fully assess udder health or infection status.

Clinical relevance:

Targeted microbiological herd testing is a necessary supplement to somatic cell count analysis. It enables the detection of hidden infection sources and may help in preventing spreading and new infections.

Einleitung

Die Mastitis zählt zu den wirtschaftlich und tiergesundheitlich relevantesten Erkrankungen in der Milchviehhaltung. Sie beeinträchtigt das Tierwohl erheblich (1) und verursacht hohe direkte wie indirekte Kosten für Milchviehbetriebe (2, 3). In der überwiegenden Zahl der Fälle liegt eine bakterielle Ursache vor, wobei insbesondere Streptokokken, Staphylokokken und coliforme Keime eine zentrale Rolle einnehmen (4).

Die verschiedenen Mastitiserreger unterscheiden sich deutlich hinsichtlich ihrer Infektionsdynamik, Pathogenität und Übertragungswege. So werden *Staphylococcus* (*S.*) *aureus* und *Streptococcus* (*Strep.*) *agalactiae* als kontagiöse Erreger eingeordnet (5). Die Übertragung erfolgt primär während des Melkvorgangs, beispielsweise durch kontaminiertes Melkzeug, unzureichende Zwischenmelkhygiene oder über kontaminierte Hände beziehungsweise Tücher (4). Dabei kann es sowohl zu einer direkten Kontamination der Zitzenkuppe als auch zu einem anschließenden Eindringen der Erreger in das Eutergewebe kommen (5). Umwelterreger gelten in der Regel als opportunistisch und finden sich in der Umgebung der Tiere. Zu ihnen zählen unter anderem *Strep. uberis* und *Escherichia* (*E.*) *coli* (6). Beide Merkmale weist *Strep. dysgalactiae* auf, sowohl kontagiös als auch umweltassoziiert (7).

Bekannt ist, dass die Höhe der bakteriellen Ausscheidung (KbE/ml) bei Mastitiden stark variiert und wird in der Literatur entweder in koloniebildenden Einheiten pro Milliliter (KbE/ml) oder als logarithmischer Wert ($\log_{10}$ KbE/ml) angegeben. Zur besseren Vergleichbarkeit werden im Folgenden beide Darstellungsformen entsprechend der Originalquellen verwendet. Während *S. aureus* in der Regel in eher geringen Mengen ausgeschieden wird, häufig < 1.000 KbE/ml (8), wurden in natürlichen Infektionen vereinzelt auch Mittelwerte von $2,4 \times 10^4$ KbE/ml gemessen (9). Insgesamt weist *S. aureus* jedoch die niedrigste Erregerausscheidung unter den hier untersuchten Pathogenen auf (10). Deutlich höhere Konzentrationen treten hingegen bei *Strep. uberis* auf. Bei einem Wirts-adaptierten Stamm wurden nach experimenteller Infektion bakterielle Konzentrationen von bis zu $7,7 \log_{10}$ KbE/ml beobachtet (11). In natürlichen Infektionen lag der Mittelwert bei ca. $4,0 \log_{10}$ KbE/ml, wobei mehr als ein Drittel der Proben an der oberen Nachweisgrenze von 30.000 KbE/ml lag (10).

Auch *Strep. dysgalactiae* konnte mit hohen Ausscheidungsmengen in Verbindung gebracht werden. In einer experimentellen Studie erreichten die bakterielle Ausscheidung nach Infektion bis zu $9,3 \log_{10}$ KbE/ml (12). In einer Feldstudie überschritten mehr als die Hälfte der Proben die obere Nachweisgrenze von 30.000 KbE/ml (10). Diese Ergebnisse unterstreichen das hohe Ausscheidungspotenzial dieses Pathogens.

Darüber hinaus, können sowohl infektionsbedingte als auch tierindividuelle Faktoren die Keimausscheidung beeinflussen. Für *E. coli* konnte gezeigt werden, dass eine hohe initiale Keimzahl mit schwereren klinischen Verläufen sowie einer intensiveren Immunantwort bei

Färsen assoziiert ist (13). Hohe Erregerlast wirkt sich negativ auf den Therapieerfolg aus und ist mit reduzierten Heilungsraten verbunden (14-16). Zudem wurde beschrieben, dass die Erregerausscheidung bei Tieren mit erhöhten Zellzahlen, in frühen Laktationen (≤ 2 . Laktation) sowie unter klimatischem Stress (z.B. Hitzebelastung) verstärkt auftritt (10).

Trotz der klinischen und epidemiologischen Relevanz liegen bislang nur wenige Arbeiten zur quantitativen Erregerausscheidung vor. Diese Studien basieren zumeist auf experimentellen Ansätzen oder konzentrieren sich auf klinisch auffällige Tiere (8, 12, 16). Daten aus der Feldpraxis sind bislang kaum vorhanden (9, 10, 17) und fehlen für die spezifischen Bedingungen des bayerischen Milchviehsektors ganz.

Bayern stellt mit einem Anteil von rund einem Drittel der deutschen Milchkühe eine zentrale Region der nationalen Milchproduktion dar. Charakteristisch für die Region sind die vorherrschende Haltung der Rasse Fleckvieh (77 %) sowie eine im Bundesvergleich geringe durchschnittliche Herdengröße (18). Vor diesem Hintergrund verfolgte die vorliegende Beobachtungsstudie das Ziel, die natürliche quantitative Erregerausscheidung ausgewählter Mastitiserreger (*S. aureus*, *Strep. uberis*, *Strep. dysgalactiae*, *Strep. agalactiae*, *E. coli*) auf Viertelbasis in bayerischen Milchviehbetrieben zu analysieren. Besonderes Augenmerk lag dabei auf dem Zusammenhang zwischen Erregerausscheidung und dem Gesundheitsstatus des Euterviertels sowie möglichen saisonalen Effekten.

Material und Methoden

In dieser Studie wurden die nationalen Vorschriften für die Behandlung und Verwendung von Tieren eingehalten. Eine Genehmigung der Ethikkommission war nicht erforderlich, da die Entnahme von Viertelgemelksproben als nicht invasiv gilt. Der Zugang zu den Tieren wurde durch schriftliche Einwilligung der Landwirte gewährleistet und alle Informationen wurden ohne Einwände zur Verfügung gestellt.

Auswahl der Kühe

Zwischen Juli 2023 und Juli 2024 wurde in Bayern eine Querschnittsstudie auf bayerischen Milchviehbetrieben durchgeführt. Die Herden wurden mittels geschichteter Zufallsstichproben ausgewählt. Zu diesem Zweck wurde eine Liste aller bayerischen Milchviehbetriebe (N = 20.624) mit Angaben zur täglich gelieferten Milchmenge nach den folgenden Kriterien unterteilt. Betriebe mit einer täglichen Milchleistung von weniger als 200 kg (n = 2.399) wurden aus der Studie ausgeschlossen, da davon ausgegangen wurde, dass sie weniger als zehn Kühe in der Herde hatten. Die verbleibenden Betriebe (n = 18.225) wurden dann anhand der Quartile der täglich gelieferten Milchmenge in vier Gruppen (G1 bis G4) eingeteilt (G1: 201–479 kg, G2: 480–869 kg, G3: 870–1498 kg, G4: ≥ 1499 kg). Darüber hinaus wurde die Liste nach den bayerischen Regierungsbezirken unterteilt. Für die Analyse wurden einige Bezirke zusätzlich feiner differenziert oder zusammengefasst (z.B. Oberbayern in West und Ost, Ober-

, Unter- und Mittelfranken zu Franken), und die Betriebslisten wurden entsprechend angepasst, sodass in jedem der so gebildeten Teilbezirke der gleiche Prozentsatz an Herden analysiert wurde (50 Betriebe in Niederbayern, 61 in Franken (Ober-, Unter- und Mittelfranken), 54 in Schwaben, 44 in Oberbayern West, 43 in der Oberpfalz und 52 in Oberbayern Ost). Die daraus resultierenden Herdenlisten wurden mit Microsoft Excel® (2019 MSO 16.101417.20007) randomisiert und in dieser Reihenfolge telefonisch kontaktiert. Aufgrund finanzieller und logistischer Einschränkungen wurde ein Studienziel von 76 Herden pro Gruppe und Saison festgelegt (Frühjahr: März - Mai, Sommer: Juni - August, Herbst: September - November, Winter: Dezember - Februar).

Die Betriebe wurden einmalig von qualifizierten Technikern des Tiergesundheitsdienst Bayern e. V. besucht. Neben weiteren Untersuchungen wurde während einer Melkzeit oder bei Betrieben mit Melkrobotern an einem Tag im Fressgitter, das Aussehen des Vorgemelks beurteilt und aseptische Viertelgemelksproben (VGP) von allen laktierenden Kühen entnommen.

Laboranalyse

Nach der Entnahme wurden die VGP gekühlt zum Milchlabor des Bayerischen Tiergesundheitsdienstes transportiert und am selben oder am folgenden Tag gemäß den Leitlinien der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (19) untersucht.

Hierzu wurde eine Äskulin-Agarplatte mit 5 % Schafblut (Thermo Scientific™ OXOID™) geviertelt und für jeweils eine Kuh verwendet. Mit kalibrierten Ösen wurde ein Inokulum von 0,01 ml auf jedes Viertel aufgetragen. Bei Proben von Vierteln mit klinischer Mastitis wurden zusätzlich 0,05 ml auf eine ganze Agarplatte aufgetragen. War ein Viertel kurz vor der Untersuchung einer intramammären Antibiotikabehandlung unterzogen worden, wurde zusätzlich auf Sabouraud-Dextrose-Agarplatte (Thermo Scientific™ OXOID™) ausgestrichen. Die Agarplatten wurden 36 bis 48 Stunden bei einer Temperatur von 36 ± 1 °C inkubiert. Eine vorläufige Erregereinordnung fand anhand der Koloniemorphologie (Größe, Farbe, Schleimbildung und Geruch) sowie anhand der Hämolyse- und Hämotoxinzonen statt. Die phänotypische Koloniemorphologie und die deutliche Hämolyse mit Toxinzone ermöglichten die Identifizierung von *S. aureus*. Bei nicht eindeutigen Hämolysezonen wurden zusätzlich der Clumping-Faktor und die Koagulase überprüft. Bei einem negativen Ergebnis wurde die Kolonie als Nicht-Aureus Staphylokokken (NAS) klassifiziert. Zur Untersuchung und Unterscheidung von fraglichen *S. aureus*-Kolonien sowie allen identifizierten NAS wurde MALDI-TOF-MS (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionisation Time-of-Flight Mass Spectrometry) verwendet (MALDI Biotyper® Sirius, Bruker Daltonik GmbH, Hamburg, Deutschland).

Streptokokken wurden anhand ihrer Koloniemorphologie, Hämolysezone, Fähigkeit zur Spaltung von Äskulin, des CAMP-Tests (Christie, Atkins, Munch-Petersen) und ihrer

Lancefield-Gruppe klassifiziert. Bei allen Äskulin-negativen Streptokokken wurde der CAMP-Test mit einem hämolytischen *S. aureus*-Stamm durchgeführt. Dieser wurde hauptsächlich zur Unterscheidung zwischen *Strep. agalactiae* (CAMP-Test positiv) und *Strep. dysgalactiae* (CAMP-Test negativ) eingesetzt. Äskulin-positive Streptokokken (*Strep. uberis*, *Enterococcus* spp., *Lactococcus* spp.) wurden mittels Agardiffusionstest mit Penicillin und Rifampicin (Thermo Scientific™ OXOID™) sowie dem selektiven Medium Kanamycin-Äskulin-Azid (KAA-Agar, Eigenproduktion) weiter differenziert. Wenn nach wiederholter mikrobiologischer Untersuchung und MALDI-TOF keine Speziesbestimmung möglich war, wurden die Bakterien entsprechend ihrer Äskulin-Spaltung in Äskulin-positive und Äskulin-negative Streptokokken unterteilt.

Gramnegative Erreger (z. B. *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Serratia* spp.) wurden zunächst nach Größe, Farbe, Schleimbildung und Geruch klassifiziert und anschließend mittels MALDI-TOF differenziert.

Die semiquantitative Keimzahlbestimmung erfolgte auf der Grundlage von 0,01 ml Probenmaterial, welches auf den Viertelplatten verteilt wurde. Dabei wurden die koloniebildenden Einheiten in fünf Klassen eingeteilt: 1-3 KbE/0,01 ml, 4-10 KbE/0,01 ml, 11-50 KbE/0,01 ml, 51-200 KbE/0,01 ml und > 200 KbE/0,01 ml (Rasenwachstum bzw. nicht mehr zählbar).

Im Anschluss an die bakterielle Untersuchung der VGP wurde eine somatische Zellzahlbestimmung mittels Durchflusszytometrie durchgeführt (FOSS GmbH, Hamburg, Deutschland). Die Einordnung in Gesundheitszustände der Viertel erfolgte wie folgt: Gesund: VGP mit somatischer Zellzahl (SZZ) ≤ 100.000 Zellen/ml und keine erkennbaren Veränderungen am Euter oder im Sekret, subklinische Mastitis = VGP mit SZZ > 100.000 Zellen/ml, keine Veränderungen im Sekret oder am Euter, klinische Mastitis = VGP mit makroskopischen Sekretveränderungen (z. B. Flocken) und / oder Entzündungs-Symptome am Euter (z. B. Schwellungen), die bei der Probenahme im Stall notiert wurden.

Statistische Auswertung

Die statistische Analyse wurde mit SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NY, USA) durchgeführt. Die Eingabe und Vorverarbeitung der Daten erfolgten zunächst in Microsoft Excel, anschließend wurden die Datensätze in SAS importiert, bereinigt und aufbereitet. Unvollständige oder fehlerhafte Einträge wurden bei der Analyse automatisch durch das Programm ausgeschlossen.

Zur deskriptiven Auswertung der Erregerverteilung wurden die Ausscheidungsmengen laut Labor verwendet. Da die niedrigste (1-3 KbE/0,01 ml) sowie höchste Kategorie (> 200 KbE/0,01 ml) nur vereinzelt vorkamen, wurden diese bei der weiteren Auswertung der Ausscheidungsintensität mit der nächst höheren bzw. niedrigeren Gruppe in drei Kategorien

zusammengefasst (niedrig: 1-10KbE/0,01 ml; mittel: 11-50KbE/0,01 ml; hoch: > 50 KbE/0,01 ml).

Für die Analyse potenzieller Assoziationen zwischen dem Nachweis (ja/nein) sowie dem Ausscheidungsverhalten von Erregern und kategorialen Einflussfaktoren wie Jahreszeit (Frühling, Sommer, Herbst, Winter) oder Gesundheitsstatus (gesund, subklinisch, klinisch) wurde der Chisquare-Test (PROC FREQ) durchgeführt. Als Signifikanzniveau wurde $P \leq 0,05$ festgelegt.

Bei signifikanten Ergebnissen wurden weiterführende paarweise Vergleiche einzelner Ausprägungen, z.B. gesunde vs. klinische Viertel bei mittlerer vs. hoher Ausscheidung in Vierfeldertafeln (2×2) durchgeführt. Zur Berechnung der Zusammenhangsstärke wurde die Odds Ratio (OR) mit 95 %-Konfidenzintervall (95 %-KI) herangezogen. Für diese paarweisen Analysen wurde der Fisher's Exact Test verwendet, insbesondere dann, wenn kleine Fallzahlen oder ungleiche Gruppengrößen vorlagen. Bei den Erregern *E. coli* und *Strep. agalactiae* wurde grundsätzlich der Fisher's Exact Test eingesetzt, da hier die Fallzahlen insgesamt zu gering für eine valide Anwendung des Chisquare-Tests waren.

Ergebnisse

Insgesamt wurden 648 Herden telefonisch kontaktiert, von denen 47 % einer Teilnahme zustimmten. Die Teilnahmequote stieg mit zunehmender Herdengröße an: Bei den kleinsten Herden (G1) lag die Teilnahme bei 35 %, in G2 bei 40 %, in G3 bei 64 % und in G4 bei 75 %. Häufigste Gründe für eine Nichtteilnahme waren insbesondere bei kleineren Herden die Betriebsaufgabe (G1: 20 %, G2: 15 %, G3: 5 %, G4: 4 %) und ein generelles Desinteresse an Studien (G1: 8 %, G2: 6 %, G3: 2 %, G4: 0 %).

Letztlich nahmen 305 Herden mit insgesamt 14.700 laktierenden Kühen an der Studie teil. Ursprünglich war die Einbeziehung von 304 Herden vorgesehen. Aufgrund der praktischen Gegebenheiten während der Rekrutierungsphase und der begrenzten Planbarkeit des Rückmeldeverhaltens konnte eine exakte Zahl nicht gewährleistet werden, sodass eine Herde mehr als geplant in die Studie aufgenommen wurde. Die Untersuchungen verteilten sich annähernd gleichmäßig über die Jahreszeiten: 77 Herden wurden im Sommer, 76 im Frühjahr, 75 im Herbst und 77 im Winter beprobt. Auch die Verteilung über die Regierungsbezirke wurde gleichmäßig gestaltet. Die durchschnittliche Herdengröße betrug 48 Kühe, die kleinste untersuchte Herde hielt 9 Kühe und die größte untersuchte Herde 250 Kühe.

Insgesamt wurden 58.108 VGP entnommen, von denen 1,5 % ($n = 857$) aufgrund von mikrobiologischer Kontamination ausgeschlossen wurden. In 184 VGP wurden zwei unterschiedliche Mastitiserreger-Spezies identifiziert.

Aufgrund von zu geringem Probenmaterial konnte die SZZ in 3 % der VGP ($n = 1.732$) nicht im Labor bestimmt werden (*S. aureus*: 42 VGP, *Strep. uberis*: 29 VGP, *Strep. dysgalactiae*: 18 VGP, *E. coli*: 5 VGP, *Strep. agalactiae*: 4 VGP). Bei 88 % der analysierten Proben ($n = 50.625$)

konnte kein Erreger nachgewiesen werden. Auf Basis der SZZ wurden 61 % aller Proben als „gesund“ eingestuft (SZZ ≤ 100.000 Zellen/ml, keine Sekretveränderung oder Veränderungen am Euter). Während in lediglich 3 % der als gesund eingestuften VGP ein Erreger nachgewiesen werden konnte, zeigte sich bei den Proben von subklinischen Mastitiden ($n = 18.332$) ein deutlich höherer Anteil von erregerpositiven Befunden (28 %). Bei den VGP mit klinisch betroffenen Vierteln fiel der Anteil mit 67 % ($n = 338$) von 504 VGP mit klinischer Mastitis am höchsten aus. Alle klinischen Mastitiden wurden als mild oder moderat eingestuft. In der vorliegenden Studie zeigten sich Unterschiede in der Höhe der Erregerausscheidung in Abhängigkeit vom Gesundheitsstatus des betroffenen Euterviertels sowie von saisonalen Einflüssen. Die Häufigkeit und Verteilung der Erregerausscheidung über alle VGP hinweg ist in Tabelle 1 dargestellt. Dabei zeigte sich insbesondere bei *Strep. uberis*, *Strep. dysgalactiae* und *Strep. agalactiae* ein deutlicher Schwerpunkt in den mittleren Ausscheidungsklassen (11-50 KbE/0,01 ml), während die Erregerausscheidung von *S. aureus* deutlich heterogener verteilt war (Tabelle 1).

Tabelle 1: Darstellung der absoluten Häufigkeiten der Erregerausscheidung über alle untersuchten Erreger-positiven Viertelgemelksproben ($n = 6.626$), eingeteilt in fünf Ausscheidungsklassen.

Table 1: Presentation of the absolute frequencies of pathogen shedding across all pathogen-positive quarter milk samples examined ($n = 6,626$), divided into five shedding classes.

Erreger	n	Erregerausscheidung (KbE/0,01ml)				
		1-3	4-10	11-50	51-200	>200
		niedrig		mittel		hoch
<i>Staphylococcus aureus</i>	1020	196 (19 %)	158 (15 %)	449 (44 %)	211 (21 %)	6 (1 %)
<i>Streptococcus uberis</i>	1061	6 (1 %)	66 (6 %)	609 (57 %)	363 (34 %)	18 (2 %)
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	521	5 (1 %)	42 (8 %)	302 (58 %)	161 (31 %)	11 (2 %)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	99	7 (7 %)	8 (8 %)	55 (56 %)	28 (28 %)	1 (1 %)
<i>Escherichia coli</i>	69	7 (10 %)	18 (26 %)	40 (58 %)	4 (6 %)	0 (0 %)

Die Abbildung 1 veranschaulicht deskriptiv die Erregerausscheidung der ursprünglichen fünf Ausscheidungsklassen in Abhängigkeit vom Gesundheitsstatus. Hierbei zeigte sich, dass gesunde, aber mikrobiologisch positive Viertel deutlich häufiger niedrige bis mittlere Ausscheidung aller untersuchten Erreger aufwiesen, während klinisch betroffene Viertel in den hohen Keimklassen überrepräsentiert waren. Dies war insbesondere bei *Strep. uberis*, *Strep. dysgalactiae* und *S. aureus* sichtbar (Abbildung 1).

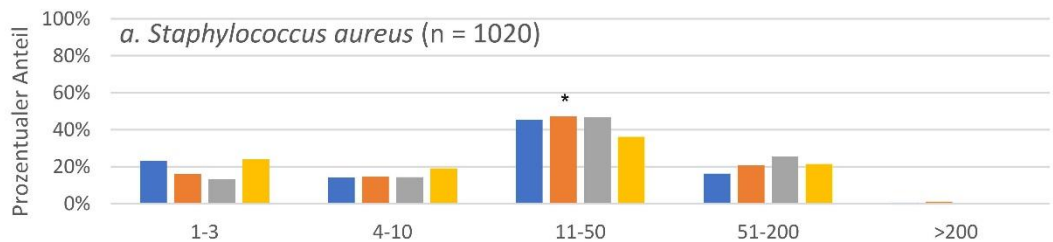


Abbildung 1 a-e: Deskriptive Darstellung der fünf ursprünglich erhobenen Ausscheidungsklassen (KbE/0,01ml) der untersuchten Mastitiserreger nach Gesundheitsstatus (gesund, subklinisch, klinisch) des Euterviertels. Angegeben ist der prozentuale Anteil pro Erreger und Status. Die Fallzahlen (n) weichen von der ursprünglich untersuchten Anzahl positiver Proben ab, da bei einem Teil der Viertelgemelksproben aufgrund unzureichenden Probenmaterials keine Zellzahlbestimmung auf Viertelbasis möglich

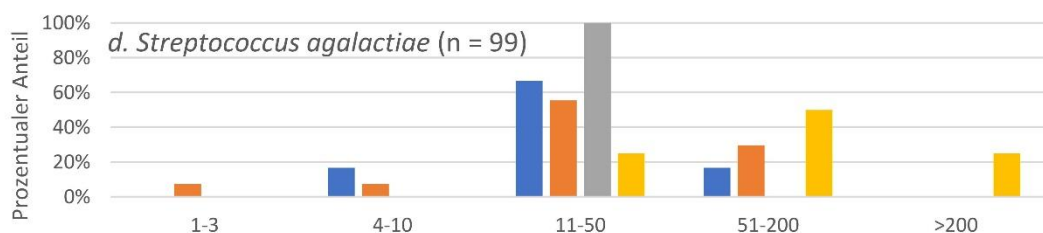
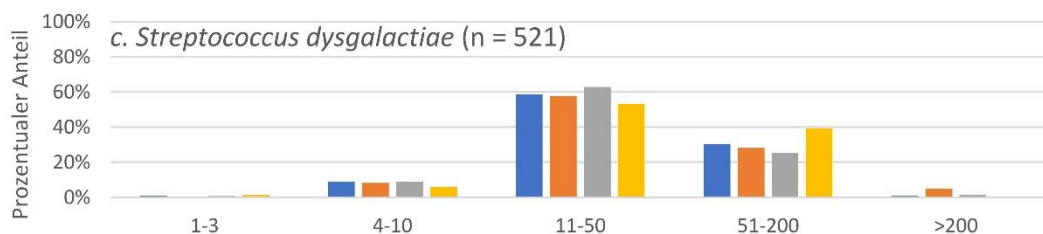
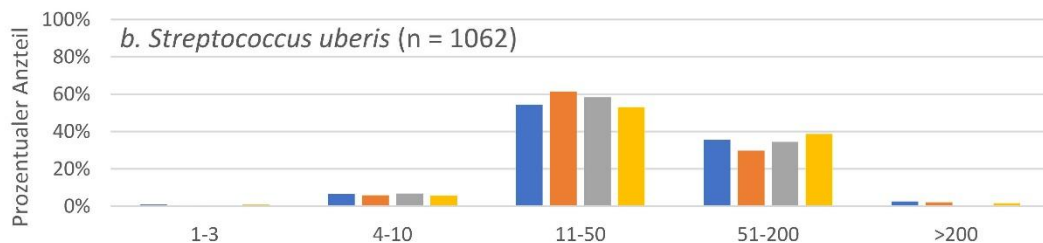
war (*S. aureus* n = 42, *Strep. uberis* n = 29, *Strep. dysgalactiae* n = 18, *E. coli* n = 5, *Strep. agalactiae* n = 4).

Figure 1 a-e: Descriptive representation of the five originally recorded shedding classes (KbE/0.01 ml) of the mastitis pathogens examined according to the health status (healthy, subclinical, clinical) of the udder quarter. The percentage per pathogen and status is indicated. The case numbers (n) differ from the number of positive samples originally examined, as it was not possible to determine the cell count on a quarter basis for some of the quarter milk samples due to insufficient sample material (*S. aureus* n = 42, *Strep. uberis* n = 29, *Strep. dysgalactiae* n = 18, *E. coli* n = 5, *Strep. agalactiae* n = 4).

Abbildung 2 zeigt deskriptiv die Erregermengen im Jahreszeitenvergleich. Während sich bei den meisten Erregern keine deutlichen saisonalen Muster erkennen ließen, zeigte sich bei *S. aureus* eine erhöhte Ausscheidung im Sommer. Dieser saisonale Effekt ließ sich auch statistisch bestätigen (Tabelle 2). Der deutliche Anstieg bei *Strep. agalactiae* im Herbst lag an einem einzigen *Strep. agalactiae* Nachweis in der Jahreszeit.



* = saisonaler Unterschied (Sommer vs. Winter; P = 0,049), wobei im Sommer eine niedrige Erregerausscheidung seltener beobachtet wurde als im Winter.



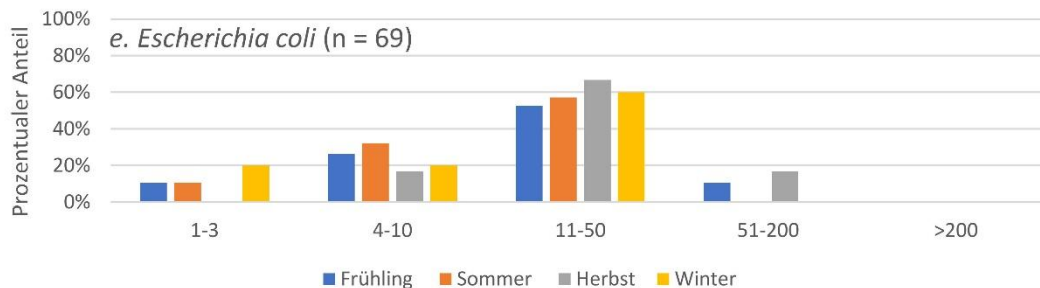


Abbildung 2 a-e: Relative Häufigkeit der Ausscheidungsmengen (KbE/0,01 ml) von fünf Mastitisserregern im Verlauf der vier Jahreszeiten. Deskriptiv dargestellt ist die prozentuale Verteilung innerhalb jeder Jahreszeit über die ursprünglich erhobenen fünf Ausscheidungsklassen (1-3, 4-10, 11-50, 51-200, > 200 KbE/0,01 ml).

Figure 2 a-e: Relative frequency of shedding levels (CFU/0.01 ml) of five mastitis pathogens over the course of four seasons. The percentage distribution within each season across the five shedding classes originally surveyed (1-3, 4-10, 11-50, 51-200, > 200 CFU/0.01 ml) is shown descriptively.

Bei *S. aureus* wiesen gesunde Viertel in mehreren Vergleichen deutlich höhere Wahrscheinlichkeiten für niedrige oder mittlere Erregerausscheidungen auf als klinisch oder subklinisch betroffene Viertel (Tabelle 2).

Tabelle 2: Ergebnisse des Fisher's Exact Tests: Unterschiede in der Erregerausscheidung in Abhängigkeit von Gesundheitsstatus und Jahreszeit. Darstellung der Odds Ratios (OR), 95 %-Konfidenzintervalle (KI) und P-Werte für die Vergleiche. In Klammern sind jeweils die verglichenen Ausscheidungskategorien angegeben: (1=niedrige Ausscheidung, 2=mittlere Ausscheidung, 3=hohe Ausscheidung).

Table 2: Results of Fisher's exact test: Differences in pathogen shedding depending on health status and season. Presentation of odds ratios (OR), 95 % confidence intervals (CI), and P-values for the comparisons. The compared shedding categories are indicated in parentheses: (1=low shedding, 2=medium shedding, 3=high shedding).

Erreger	Vergleich	OR	95 %- KI	P-Wert
Jahreszeiten				
<i>S. aureus</i> :	Sommer vs. Winter (1 vs. 2)	0,6	0,4-1	0,049
Gesundheitsstatus				
<i>S. aureus</i>	Gesund vs. Klinisch (1 vs. 2)	13	4-42	< 0,01
	Gesund vs. Klinisch (2 vs. 3)	4	2-10	< 0,01
	Klinisch vs. Subklinisch (2 vs. 3)	0,4	0,2-0,8	0,02
	Gesund vs. Subklinisch (1 vs. 3)	5	3-8	< 0,01
	Gesund vs. Subklinisch (2 vs. 3)	2	1-3	0,03
	Gesund vs. Subklinisch (1 vs. 2)	3	2-4	< 0,01
<i>Strep. uberis</i>	Gesund vs. Klinisch (2 vs. 3)	3	1-5	0,01
	Klinisch vs. Subklinisch (2 vs. 3)	0,6	0,4-0,9	0,02
<i>Strep. dysgalactiae</i>	Gesund vs. Klinisch (2 vs. 3)	8	2-31	< 0,01
	Gesund vs. Subklinisch (2 vs. 3)	4	1-10	0,02

So hatten gesunde Viertel im Vergleich zu klinisch erkrankten eine über zwölfmal höhere Wahrscheinlichkeit eine niedrige Erregerausscheidung (1-10 KbE/0,01 ml) zu zeigen (OR = 13; 95 %-KI: 4-42; P < 0,01) als eine mittlere Ausscheidung. Auch die mittlere Ausscheidung

(11-50 KbE/0,01 ml) trat bei gesunden Vierteln häufiger auf als eine hohe Ausscheidung im Vergleich zu klinischen Mastitiden (OR = 4; 95 %-KI: 2-10; $P < 0,01$). Im direkten Vergleich zwischen klinisch und subklinisch betroffenen Vierteln zeigte sich, dass klinisch erkrankte Viertel seltener mittlere statt hohe Erregerausscheidungen aufwiesen (OR = 0,4; 95 %-KI: 0,2-0,8; $P = 0,02$). Auch im Vergleich gesunder zu subklinisch betroffenen Vierteln ergaben sich Unterschiede: Gesunde Viertel zeigten deutlich häufiger eine niedrige Ausscheidung (OR = 5; 95 %-KI: 3-8; $P < 0,01$) sowie eine mittlere Ausscheidung (OR = 2; 95 %-KI: 1-3; $P = 0,03$) als subklinisch betroffene Viertel. Zudem zeigten gesunde Euter eine höhere Wahrscheinlichkeit, eine niedrige statt mittlerer Erregerausscheidung zu zeigen, verglichen mit subklinisch betroffenen Vierteln (OR = 3; 95 %-KI: 2-4; $P < 0,01$).

Bei *Strep. uberis* zeigte sich ein vergleichbares Muster (Tabelle 2). Gesunde Viertel wiesen eine höhere Wahrscheinlichkeit einer mittleren statt hohen Erregerausscheidung im Vergleich zu klinisch erkrankten Vierteln auf (OR = 3; 95 %-KI: 1-5; $P = 0,01$). Umgekehrt zeigten klinisch erkrankte Viertel im Vergleich zu subklinisch erkrankten seltener mittlere statt hoher Ausscheidung (OR = 0,6; 95 %-KI: 0,4-0,9; $P = 0,02$).

Auch bei *Strep. dysgalactiae* zeigten gesunde Viertel im Vergleich zu klinisch erkrankten eine deutlich erhöhte Wahrscheinlichkeit einer mittleren statt hohen Erregerausscheidung (OR = 8; 95 %-KI: 2-31; $P < 0,01$) (Tabelle 2). Im Vergleich zu subklinisch betroffenen Vierteln bestand ebenfalls eine höhere Wahrscheinlichkeit für gesunde Viertel, eine mittlere Erregerausscheidung zu zeigen (OR=4; 95 %-KI: 1-10, $P = 0,02$).

Ein saisonaler Effekt auf die Erregerausscheidung zeigte sich nur bei *S. aureus*: Die Wahrscheinlichkeit für eine niedrige Erregerausscheidung (verglichen mit einer mittleren) war im Sommer im Vergleich zum Winter um etwa 42 % reduziert (OR = 0,6; 95 %-KI: 0,4-1; $P = 0,049$). Konkret zeigten im Sommer 31 % der *S. aureus*-positiven Viertel eine niedrigere und 46 % eine mittlere Erregerausscheidung, während im Winter 43 % der Viertel eine niedrige und 36 % eine mittlere Ausscheidung aufwiesen. Somit wurden in den Sommermonaten höhere Erregermengen von *S. aureus* ausgeschieden als im Winter (Tabelle 2).

Für *Strep. agalactiae* zeigten sich zunächst statistische Zusammenhänge mit saisonalen oder gesundheitlichen Faktoren, die sich jedoch in den differenzierten Vierfeldervergleichen nicht bestätigten. Für *E. coli* konnten im Rahmen dieser Studie keine statistisch signifikanten Zusammenhänge festgestellt werden.

Diskussion

Die vorliegende bayernweite Querschnittstudie bietet einen guten Überblick über die Ausscheidungsmenge ausgewählter bakterieller Mastitiserreger bei laktierenden Milchkühen unter Praxisbedingungen. Sie zeichnet sich durch eine systematische, zufallsbasierte Stichprobenziehung nach Jahreszeit, Herdengröße und angepassten Regierungsbezirken aus, ein Studiendesign, das in dieser Form bislang selten realisiert wurde. Anders als

vergleichbare Arbeiten, die Tiere mit einer erhöhten somatischen Zellzahl untersuchten (10) oder sich ausschließlich auf klinisch auffällige Tiere (16) oder Erreger-spezifische Vorauswahlen (8, 12, 20) stützen, wurden hier gezielt gesamte Herden einschließlich VGP eutergesunder Kühe untersucht. Dies ermöglicht eine realitätsnahe Erhebung der Erregerausscheidung unterschiedlich gesunder Milchkühe über den Jahresverlauf und stellt eine besondere Stärke der Arbeit dar. Jedoch stellt die einmalige Beprobung auch eine Limitierung dar, da Rückschlüsse auf den zeitlichen Verlauf, die Persistenz von Infektionen oder die Dynamik der Erregerausscheidung damit nicht möglich waren. Eine weitere Limitation der vorliegenden Untersuchung besteht darin, dass die statistische Auswertung auf Probenebene erfolgte, ohne die hierarchische Struktur der Daten (Viertelebene, Kuhebene, Betriebsebene) explizit zu modellieren. Der Einsatz gemischter Modelle mit Betrieb und Kuh als Zufallseffekt wäre prinzipiell geeignet, innerhalbbetrieblichen oder tierindividuellen Clustereffekten Rechnung zu tragen. Eine solche Modellierung ist jedoch durch die ordinale Erfassung der Erregerausscheidung (semiquantitative Klassen) schwierig, da keine kontinuierlichen Rohwerte vorlagen und es in dieser Studie primär um einen Überblick auf Kuh- bzw. Viertelebene ging. Zukünftige Studien mit quantitativ erhobenen Keimzahlen könnten diese Aspekte weiterführend untersuchen. Dahingehend besteht auch ein methodischer Unterschied zu anderen Studien in der Definition und Bewertung der bakteriellen Ausscheidung. Sears et al. (1990) (8) unterteilten infizierte Viertel in sogenannte „low shedders“ ($<1.000 \text{ KbE/ml}$; $\approx 3,0 \log_{10} \text{ KbE/ml}$) und „high shedders“ ($\geq 2.000 \text{ KbE/ml}$; $\approx 3,3 \log_{10} \text{ KbE/ml}$). Eine solche Einteilung wurde in unserer Studie, ebenso wie bei Hamel et al. (2021) (10), nicht übernommen. Stattdessen erfolgte eine pragmatische Gruppierung in drei praxisnahe Klassen (niedrig: 1-10, mittel: 11-50, hoch: $> 50 \text{ KbE/0,01 ml}$), die grob mit < 1.000 , $1.000\text{-}5.000$ und $> 5.000 \text{ KbE/ml}$ korrespondieren. Die direkte Vergleichbarkeit mit Studien wie der von Sears et al. (1990) (8) ist dadurch eingeschränkt. Hamel et al. (2021) (10) wählten keinen festen Grenzwert, sondern berichteten die mittlere Ausscheidung pro Erreger auf Basis von $\log_{10} \text{ KbE/ml}$. Die höchste Erregerlast wurde für *Strep. dysgalactiae* beschrieben (bis zu $8,7\text{--}9,3 \log_{10} \text{ KbE/ml}$), während *S. aureus* deutlich geringere Werte aufwies. Ihre Untersuchung zeigte außerdem, dass bei über der Hälfte der Nachweise von *Strep. dysgalactiae* das obere Detektionslimit von 30.000 KbE/ml ($4,48 \log_{10}$) erreicht wurde, ein Wert, der unsere eigene Klassifikation in „hohe Ausscheidung“ bestätigt.

Ein zentrales Ergebnis dieser Untersuchung war, dass auch scheinbar eutergesunde Viertel relevante Mengen an Mastitisserregern ausscheiden können. Während 67 % der klinisch auffälligen Viertel Pathogen-positiv waren, betraf dies immerhin 28 % der subklinisch auffälligen und 3 % der als gesund klassifizierten Proben. Vor allem bei *S. aureus* zeigte sich, dass 12 % der positiven Nachweise lediglich eine einzelne Kolonie enthielten, unabhängig vom Gesundheitsstatus. Gemäß den Leitlinien der DVG gilt bereits der Nachweis einer Kolonie

als Infektion (19). Allerdings siedelt sich *S. aureus* zugleich auch auf der Haut an (21), sodass in diesen Fällen auch Kontamination oder transiente Besiedlung bedacht werden müssen, wobei 6 % der klinischen Fälle auch nur 1-3 KbE/0,01 ml aufwiesen. Zudem war bei über einem Drittel (37 %) der VGP von klinisch gesunden Vierteln, aber *S. aureus*-positiven Vierteln, ein Nachweis von mehr als 10 KbE/0,01 ml *S. aureus* möglich. All dies unterstreicht die Notwendigkeit der Beprobung aller Viertel einer Kuh oder eines Bestandes unabhängig vom Gesundheitszustand. Nur so können, beispielsweise bei einer Sanierung vor Umstellung auf Melkroboter, alle Kühe mit *S. aureus*-Euterinfektionen im Bestand erkannt und ggf. behandelt werden. Oder im Fall von vereinzelt Kolonien bei gesunden Vierteln braucht es weitere Diagnostik (z.B. wiederholte Beprobung nach Stressereignis (20), um eine tatsächliche Infektion zu bestätigen bevor eine Behandlung erwogen wird. Ergänzend ist zu berücksichtigen, dass neuere molekularbiologische Untersuchungen auf der Grundlage von DNA-Sequenzierungen zeigen, dass Eutersekretproben auch bei klinisch unauffälligen Tieren genetisches Material von Bakterien tragen können. Studien beschreiben dahingehend das Eutermikrobiom, dessen Zusammensetzung zwischen Kühen und zwischen Vierteln derselben Kuh variiert (22). Porcellato et al. (2020) (22) konnten ein Kernmikrobiom im Euter feststellen, welches vor allem aus *Corynebacterium* spp. und *Staphylococcus* spp. besteht, während Viertel mit reduzierter Diversität und Dominanz einzelner Familien als „dysbiotisch“ klassifiziert wurden. Eine weitere Studie zeigte außerdem, dass die mikrobielle Diversität während einer Mastitis deutlich abnimmt und sich nach Genesung wieder erhöht (23). Im Gegensatz zu diesen DNA basierten Ansätzen beruht die vorliegende Untersuchung auf klassischen kulturellen Nachweisen lebendiger Bakterien. Da molekularbiologische Verfahren auch nicht vermehrungsfähiges genetisches Material erfassen, sind die Befunde methodisch nicht direkt vergleichbar. Dennoch liefern die genannten Studien einen wichtigen Kontext, der verdeutlicht, dass pathogene Keime in klinisch unauffälligen Vierteln Teil der natürlichen mikrobiellen Flora sein können und ein Nachweis daher nicht zwangsläufig eine manifeste Infektion anzeigen muss.

Ein weiterer kritischer Punkt betrifft die intermittierende Ausscheidung von *S. aureus*, wie sie von Sears et al. (1990) (8) und Walker et al. (2011) (9) beschrieben wurde. Das einmalige Untersuchungsdesign unserer Studie erlaubt keine Aussage über die Persistenz oder Dynamik der Ausscheidung. Dennoch kann der Nachweis selbst geringer Keimmengen in eutergesunden Vierteln auf die Relevanz latenter Infektionen als Wegbereiter subklinischer Mastitiden und persistierender Infektionen deuten. Ergänzend zeigten Walker et al. (2011) (9), dass verschiedene *S. aureus*-Stämme stark divergente Ausscheidungsmuster aufweisen können. Da keine molekulare Typisierung erfolgte, bleibt unklar, ob bestimmte Stämme in der untersuchten Population oder bestimmten Herden dominieren. Aussagen zur Virulenz, Persistenz oder epidemiologischen Einordnung einzelner Isolate sind deshalb nicht möglich.

Auch *Strep. dysgalactiae* verdient besondere Beachtung. Unsere Daten zeigen, dass dieser Erreger in gesunden Vierteln überwiegend in mittlerer statt hoher Ausscheidung nachgewiesen wurde. Dies unterscheidet sich teils von den Ergebnissen einer irischen Studie, die in einem experimentellen Infektionsmodell ein Muster von „Ausscheidungs-Peaks“ kurz nach der Infektion beschreiben, und dann eine moderate Entzündungsantwort bei gleichzeitig mäßiger bakterieller Ausscheidung beobachteten (12). Dort wurden nach gezielter experimenteller Infektion mit einem bekannten *Strep. dysgalactiae*-Stamm bei vier Kühen maximale Ausscheidungswerte von bis zu $9,3 \log_{10}$ KbE/ml beobachtet. Aufgrund des gezielten Infektionsmodells und der geringen Tierzahl ist ein direkter Vergleich mit den hier unter Praxisbedingungen erhobenen Daten jedoch nur eingeschränkt möglich. Dieses Wissen verdeutlicht die Bedeutung longitudinaler Studiendesigns zur besseren Charakterisierung von Infektionsverläufen.

Bei *Strep. uberis* gab es in unserer Untersuchung keinen saisonalen Effekt, obwohl in einer anderen Studie bei natürlichen Infektionen unter kontrollierten Bedingungen eine erhöhte Ausscheidung im Sommer beobachtet werden konnte (10). Diese Diskrepanz könnte methodisch begründet sein: Während Hamel et al. (2021) (10) wiederholt Proben aus definierten Infektionen nahmen und analysierten, basiert unsere Arbeit auf einer stichprobenbasierten Bestandsaufnahme unter Praxisbedingungen. Unterschiede im Stallklima, Melkregime oder Hygienemanagement könnten den saisonalen Effekt überlagern. Auch eine andere bayerische Studie berichtete zwar von einer Häufung von *Strep. uberis*-Nachweisen im Sommer, machte jedoch keine Angaben zur Erregermenge - was einen direkten Vergleich einschränkt (24).

In der Praxis verlassen sich viele Landwirte bei der Beurteilung der Eutergesundheit vornehmlich auf Zellzahlen. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen jedoch erneut, dass dies nicht immer ausreicht: Auch bei niedriger Zellzahl ist eine relevante bakterielle Erregerausscheidung möglich, mit potenziellem (späteren) Einfluss auf die Tankmilchzellzahl, Keimzahl (25) und Infektionsdynamik im Bestand. Dies unterstreicht die Bedeutung gezielter mikrobiologischer Herdenuntersuchungen, die alle melkenden Tiere einbeziehen und nicht auf klinisch auffällige Tiere beschränkt bleiben sollten.

Fazit für die Praxis

Die Ergebnisse dieser bayernweiten Erhebung zeigen deutlich, dass sich eine alleinige Bewertung der Eutergesundheit anhand der Zellzahl als unzureichend erweist. Auch VGP von klinisch unauffälligen Tieren mit niedriger Zellzahl (<100.000 Zellen/ml) wiesen in Einzelfällen eine relevante Erregerausscheidung auf.

Dies unterstreicht die Notwendigkeit mikrobiologischer Herdenuntersuchungen, die alle laktierenden Tiere einbeziehen bzw. eine repräsentative Stichprobe dieser darstellen, insbesondere bei anhaltenden Problemen mit zu hoher Tankmilchzellzahl oder Keimzahl, aber

auch im Rahmen von Monitoring- und Sanierungsstrategien. Eine gezielte bakteriologische Diagnostik hilft, stille Infektionsherde frühzeitig zu identifizieren und trägt so zur Verbesserung der Eutergesundheit, zur Reduktion von Neuinfektionen sowie zur nachhaltigen Antibiotikaminimierung bei.

Abkürzungen

DVG = Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, E. = Escherichia, KbE = koloniebildene Einheit, NAS = Nicht-Aureus-Staphylokokken, S. = Staphylococcus, SZZ = somatische Zellzahl, Strep. = Streptococcus, VGP = Viertelgemelksproben

Interessenkonflikt:

Die Autoren bestätigen, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Autorenbeiträge:

Konzeptualisierung: U.S.S., K.K. und W.P.; Methodik: U.S.S. und K.K.; Software: U.S.S. und K.K.; Validierung: U.S.S., K.K. und W.P.; Formale Analyse: K.K. und U.S.S.; Untersuchungen: K.K. und U.S.S.; Ressourcen: U.S.S.; Datenaufbereitung: K.K. und U.S.S.; Schreiben – Originalentwurf: K.K.; Schreiben – Überarbeitung und Redaktion: K.K., U.S.S. und W.P.; Visualisierung: K.K.; Supervision: U.S.S.; Projektadministration: U.S.S.; Förderungsbeantragung: U.S.S.

Literaturverzeichnis

1. Broom DM. Effects of dairy cattle breeding and production methods on animal welfare. In, 21st World Buiatrics Congress. Punta del Este, Uruguay; 2000: 1–7
2. Seegers H, Fourichon C, Beaudeau F. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Vet Res* 2003; 34: 475–491. doi:10.1051/vetres:2003027
3. Bar D, Grohn YT, Bennett G et al. Effect of repeated episodes of generic clinical mastitis on milk yield in dairy cows. *J Dairy Sci* 2007; 90: 4643–4653. doi:10.3168/jds.2007-0145
4. Ruegg PL. A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. *J Dairy Sci* 2017; 100: 10381–10397. doi:10.3168/jds.2017-13023
5. Keefe G. Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis. *Vet Clin North Am: Food Anim Pract* 2012; 28: 203–216. doi:10.1016/j.cvfa.2012.03.010
6. Cheng WN, Han SG. Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments - a review. *Asian-Australas J Anim Sci* 2020; 33: 1699–1713. doi:10.5713/ajas.20.0156
7. Wente N, Krömker V. *Streptococcus dysgalactiae* - contagious or environmental? *Animals (Basel)* 2020; 10. doi:10.3390/ani10112185
8. Sears PM, Smith BS, English PB et al. Shedding pattern of *Staphylococcus aureus* from bovine intramammary infections. *J Dairy Sci* 1990; 73: 2785–2789. doi:10.3168/jds.S0022-0302(90)78964-3
9. Walker JB, Rajala-Schultz PJ, Walker WL et al. Variation in daily shedding patterns of *Staphylococcus aureus* in naturally occurring intramammary infections. *J Vet Diagn Invest* 2011; 23: 1114–1122. doi:10.1177/1040638711425587

10. Hamel J, Zhang Y, Wente N et al. Heat stress and cow factors affect bacteria shedding pattern from naturally infected mammary gland quarters in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2021; 104: 786–794. doi:10.3168/jds.2020-19091
11. Tassi R, McNeilly TN, Fitzpatrick JL et al. Strain-specific pathogenicity of putative host-adapted and nonadapted strains of *Streptococcus uberis* in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2013; 96: 5129–5145. doi:10.3168/jds.2013-6741
12. Maye S, Flynn J, Stanton C et al. Bovine intra-mammary challenge with *Streptococcus dysgalactiae* spp. *dysgalactiae* to explore the effect on the response of complement activity. *J Dairy Res* 2017; 84: 293–299. doi:10.1017/S0022029917000292
13. Vangroenweghe F, Rainard P, Paape M et al. Increase of *Escherichia coli* inoculum doses induces faster innate immune response in primiparous cows. *J Dairy Sci* 2004; 87: 4132–4144. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73556-0
14. Ziesch M, Krömker V. Factors influencing bacteriological cure after antibiotic therapy of clinical mastitis. *Milk Science International* 2016; 69: 7–14. doi:10.25968/MSI.2016.2
15. Fredebeul-Krein F, Schmenger A, Wente N et al. Factors associated with the severity of clinical mastitis. *Pathogens* 2022; 11. doi:10.3390/pathogens11101089
16. Krebs I, Zhang Y, Wente N et al. Severity of clinical mastitis and bacterial shedding. *Pathogens* 2023; 12. doi:10.3390/pathogens12091098
17. Walker JB, Walker WL, DeGraves FJ et al. *Staphylococcus aureus* shedding pattern throughout lactation in dairy cows with naturally occurring intramammary infection. *J Am Vet Med Assoc* 2013; 242: 1410–1418. doi:10.2460/javma.242.10.1410
18. BMEL. Visualisierung der Tabelle Rinderbestand und Rinderbestände nach Nutzungsrichtung und Rinderrassen Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft 2024. Internet: <https://www.bmel-statistik.de/landwirtschaft/tierhaltung/rinderhaltung>. Stand: 12.02.2025.
19. DVG. Leitlinien zur Labordiagnostik der Mastitis: Probenahme und mikrobiologische Untersuchung. 3., überarbeitete Auflage Aufl. Giessen, Germany: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft / Fachgruppe Milchhygiene; 2018
20. Krömker V, Friedrich J, Klocke D. Ausscheidung und Nachweis von *Staphylococcus aureus* über Milch aus infizierten Milchdrüsenvierteln Tierärztliche Praxis Großtiere/Nutztiere 2008; 36: 389–392
21. Graber HU, Bodmer M. *Staphylococcus aureus* und seine Genotypen als Mastitiserreger der Milchkuh – eine Übersicht. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 2019; 161: 611–617
22. Porcellato D, Meisal R, Bombelli A et al. A core microbiota dominates a rich microbial diversity in the bovine udder and may indicate presence of dysbiosis. *Sci Rep* 2020; 10: 21608. doi:10.1038/s41598-020-77054-6
23. Ganda EK, Bisinotto RS, Lima SF et al. Longitudinal metagenomic profiling of bovine milk to assess the impact of intramammary treatment using a third-generation cephalosporin. *Sci Rep* 2016; 6: 37565. doi:10.1038/srep37565
24. Bechtold V, Petzl W, Huber-Schlenstedt R et al. Distribution of bovine mastitis pathogens in quarter milk samples from Bavaria, Southern Germany, between 2014 and 2023 - a retrospective study. *Animals* 2024; 14: 2504. doi:10.3390/ani14172504
25. Wallace RL. Bacteria counts in raw milk. *IlliniDairyNet Quality Milk Issues Papers* 2009: Internet: https://en.engormix.com/dairy-cattle/milk-quality/bacteria-counts-raw-milk_a34456/. Stand: 20.07.2025.

V. DISKUSSION

Die vorliegende kumulative Dissertation umfasst zwei eigenständige, aber thematisch eng verknüpfte Veröffentlichungen zur Prävalenz, Ausscheidungsmenge und zu Risikofaktoren wichtiger Mastitiserreger in bayerischen Milchviehbetrieben. Beide Arbeiten basieren auf einer groß angelegten, repräsentativen Querschnittsuntersuchung. Unter Berücksichtigung der bayerischen Regierungsbezirke, der Herdengröße und der Jahreszeiten wurde eine geschichtete Zufallsstichprobe generiert. Die Regierungsbezirke wurden dabei aufgrund der unterschiedlichen Betriebsanzahlen teilweise zusammengelegt oder geteilt. So wurden Ober-, Unter- und Mittelfranken als „Frankenland“ zusammengefasst und Oberbayern in „Oberbayern West“ und „Oberbayern Ost“ geteilt. Die Herdengröße wurde anhand der Tagesmilchmenge in vier Gruppen eingeteilt (Gruppe 1: 201–479 kg, Gruppe 2: 480–869 kg, Gruppe 3: 870–1.498 kg, Gruppe 4: ≥ 1.499 kg), dabei wurden Herden mit einer Tagesmilchmenge von < 200 kg ausgeschlossen, da angenommen wurde, dass sich in diesen Betrieben < 10 laktierende Kühe befinden. Besonderes Merkmal der Studie ist, dass die Entnahme der VGP unabhängig vom klinischen Eutergesundheitsstatus erfolgte und somit subklinisch sowie latent infizierte und auch gesunde Tiere in die Erhebung eingeschlossen wurden. Ebenso fand die Untersuchung unabhängig von einer Mitgliedschaft im Landeskontrollverband (LKV) statt, wodurch auch Herden beprobt wurden, in denen möglicherweise keine tierindividuellen Daten in Bezug auf die Eutergesundheit vorlagen.

1. Limitationen der Studie

Trotz der umfangreichen Datenerhebung in 305 Milchviehherden mit 14.700 laktierenden Kühen gibt es mehrere Einschränkungen, die bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden müssen. Erstens basiert die Erhebung auf einmaligen Probennahmen, wodurch keine Rückschlüsse auf die Dynamik oder Persistenz der Infektionen möglich sind. Langfristige oder wiederholte Beprobungen könnten weiteren Aufschluss über die Erregerausscheidungen oder saisonale Schwankungen geben. Zudem kamen trotz der Stichprobengröße einige Erreger relativ selten vor und die Gewichtung der Ergebnisse sollte dies berücksichtigen.

Weiter handelt es sich bei den Analysen in Veröffentlichung 1 um Assoziationen,

die durch das querschnittliche Studiendesign bedingt sind. Daraus lassen sich keine Kausalzusammenhänge ableiten. Die Darstellung der Ergebnisse bezüglich der Risikofaktoren bewegt sich ausschließlich auf Herdenebene, individuelle Ereignisse der Kühe wurden dabei nicht erfasst.

Ein weiterer wichtiger Aspekt ist die Methodik der Erregerdiagnostik. Im Milchlabor des Tiergesundheitsdienst Bayern e.V. wird nach den Leitlinien der DVG gearbeitet, welche vornehmlich auf dem Anlegen einer Kultur beruhen (DVG, 2018). Molekulare Methoden wie PCR oder Sequenzierung wurden nicht genutzt, wodurch möglicherweise niedrige Keimzahlen oder schwer kultivierbare Erreger (wie zum Beispiel *Mycoplasma* spp.) (HOLSTEG, 2021) untererfasst bleiben könnten (NYMAN et al., 2016). Ebenso wurden keine Informationen über die verschiedenen Spezies der Isolate berücksichtigt. Diese Einschränkung ist insbesondere relevant, wenn es um die Bewertung von Spezies innerhalb der NAS-Gruppe geht, da unterschiedliche Spezies unterschiedliche Pathogenitätsprofile aufweisen können.

Außerdem wurden nur bestimmte Risikofaktoren erfasst, andere potenziell relevante Faktoren wie Umweltbedingungen oder Stallklima mussten unberücksichtigt bleiben. Eine weitere Einschränkung besteht darin, dass Herden mit einer Tagesmilchmenge unter 200 kg nicht in die Studie eingeschlossen wurden. Dadurch sind sehr kleine Betriebe in unserer Analyse nicht repräsentiert, obwohl gerade diese in Bayern noch in relevanter Zahl vorkommen (in unserem Studienzeitraum 11,6 %). Entsprechend lassen sich die Ergebnisse nicht uneingeschränkt auf alle Betriebsstrukturen übertragen, sondern gelten primär für mittelkleine bis große Milchviehbetriebe.

Schließlich ist die Studie in erster Linie stichprobenbasiert und auf Bayern fokussiert, weshalb die Ergebnisse nur bedingt auf andere Regionen Deutschlands oder Europas übertragbar sind. Unterschiede in Haltungssystemen, Betriebsgrößen und Managementpraktiken müssen bei der Übertragung der Erkenntnisse berücksichtigt werden.

2. Strukturwandel

Im Vergleich zu der von Groh et al. (2023) durchgeführten Untersuchung liefert diese Studie wertvolle Rückschlüsse auf die Entwicklung der bayerischen Milchviehbetriebe innerhalb von fünf Jahren. Wie bereits im Milchreport angedeutet ist die Zahl der milchproduzierenden Betriebe weiterhin rückläufig

(MILCHREPORT BAYERN, 2023). Auf Grundlage der Listen des Milchprüfrings (MPR) Bayern konnte ein Rückgang von 29 % aller Milchviehbetriebe dokumentiert werden (von 28.884 auf 20.508 Betriebe). Besonders ausgeprägt ist dieser Rückgang bei kleineren Betrieben mit einer Tagesmilchmenge von < 200 kg, deren Zahl um 32 % abnahm. Dies ist eine weitere Beobachtung hinsichtlich des strukturellen Wandels insbesondere zulasten kleiner Milchviehbetriebe und das innerhalb eines Zeitraums von 5 Jahren (2018 – 2023). Im Vergleich zu Groh et al. (2023) zeigte sich, dass bestimmte Daten relativ stabil geblieben sind: die durchschnittliche Herdengröße (48 Kühe, in beiden Studien ohne Herden mit einer Tagesmilchmenge < 200kg), der Anteil an Fleckviehherden (76 % im Vergleich zu eigene Daten 78 %), die Herdenleistung (7.906 kg im Vergleich zu 7.974 kg) sowie der Anteil der LKV-Betriebe (86 % im Vergleich zu 85 %). Unterschiede ergaben sich hingegen bei der Bewirtschaftungsform und den Haltungsbedingungen: Während der Anteil konventionell wirtschaftender Betriebe um 5 % zurückging (88 % im Vergleich zu 83 %), nahm die Zahl der Laufställe deutlich zu (59 % im Vergleich zu 74 %), sodass die Anbindehaltung weiter rückläufig ist. Besonders hervorzuheben ist zudem der deutliche Zuwachs an automatischen Melksystemen (AMS), deren Anteil sich von 9 % bei Groh et al. (2023) auf 21 % in der eigenen Untersuchung mehr als verdoppelte.

3. Prävalenzen

Bezüglich der scheinbaren Prävalenzen (im Folgenden als Prävalenzen bezeichnet) einzelner Mastitiserreger innerhalb Bayerns lassen sich sowohl Parallelen als auch Unterschiede zur Studie von Groh et al. (2023) erkennen. So stellte sich heraus, dass NAS nach wie vor die am häufigsten nachgewiesene Erregergruppe darstellen (von 4,4 %, auf 5,0 %) - tendenziell sogar steigend. Dass NAS hier am häufigsten in VGP nachgewiesen wurden, entspricht den Ergebnissen anderer deutschlandweiter (TENHAGEN et al., 2006; DVG, 2024) und europaweiter Studien (SAMPIMON et al., 2009; VAKKAMÄKI et al., 2017; WUYTACK et al., 2020; SMISTAD et al., 2023).

Die Prävalenzen von *Strep. agalactiae* (jeweils 0,2 %), *E. coli* (0,1 %) und *Strep. dysgalactiae* (0,9 %) blieben seit der Studie von Groh et al. (2023) weitgehend konstant. Auffällig ist hingegen ein Rückgang von *S. aureus* um 1,1 % (von 2,9 % auf 1,8 %) sowie ein deutlicher Anstieg von *Strep. uberis* von 0,9 % auf 1,9 %. In der 10-Jahresanalyse von Bechtold et al. (2024) wurde dieser Trend ebenfalls

beschrieben. Damit zeigt sich auch explizit in Bayern eine klare Verschiebung von kontagiösen hin zu umweltassoziierten Mastitiserregern.

Groh et al. (2023) konnten auf Herdenebene den Risikofaktor „Laufstallhaltung“ für *Strep. uberis* identifizieren und wir konnten im Vergleich zu Groh et al. (2023) einen deutlichen Anstieg der Laufstallhaltung feststellen. Zu dieser Beobachtung geht mit einher, dass die Anzahl von *Strep. uberis*-positiven Herden ebenfalls stark angestiegen ist (54 % im Vergleich zu 67 %). Auch wenn die Bekämpfung von kontagiösen Mastitiserregern durchaus als erfolgreich betrachtet werden kann (BECHTOLD et al., 2024), ist bei Betrachtung der Anzahl positiver Herden aufgefallen (definiert als Nachweis mindestens einer Kolonie innerhalb der Herde), dass die Anzahl von *S. aureus*-positiven Herden nahezu konstant blieb (70,4 % im Vergleich zu 69 %) (GROH et al., 2023). Die Anzahl *Strep. agalactiae*-positiver Herden nahm sogar leicht zu (3,3 % im Vergleich zu 4,0 %). Mögliche Hypothesen hierfür sind unter anderem das Unterlassen einer Milchprobenuntersuchung vor dem Zukauf neuer Tiere, die geringe Bereitschaft zur Merzung infizierter Kühe (zum Beispiel bei *S. aureus*), unzureichend konsequente Sanierung sowie ein fehlender Überblick über die im Betrieb vorherrschenden Erreger. Ein weiterer möglicher Grund könnte darin liegen, dass im Rahmen des Antibiotikaminimierungskonzepts vermehrt auf ein antibiotisches Trockenstellen verzichtet wurde. Dies könnte in betroffenen Betrieben die Ausheilung von IMI mit kontagiösen Erregern während der Trockenstehphase negativ beeinflusst haben. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um diesen Hypothesen nachzugehen.

4. Einstreu

Eine weitere zentrale Beobachtung betraf die Rolle des Einstreumaterials als Risikofaktor für IMI. In der vorliegenden Untersuchung konnte gezeigt werden, dass sämtliche Einstreumaterialien mit Strohkomponente mit einer erhöhten Prävalenz von *Strep. uberis* assoziiert waren. Damit wurde erneut beschrieben, dass organisches Einstreumaterial als Reservoir für Umweltkeime fungieren kann. Dies ist ein Zusammenhang, der bereits in zahlreichen internationalen Studien beschrieben wurde (HOGAN et al., 1989; ERICSSON UNNERSTAD et al., 2009; PATEL et al., 2019; SHERWIN et al., 2021), bei Groh et al. (2023) aber nicht für Bayern nachgewiesen wurde. Besonders interessant erscheint, dass Materialien, die eine gewisse Saugfähigkeit bzw. Durchlässigkeit aufweisen, insbesondere die Kalk-Stroh-Matratze, mit einer niedrigeren Herdenprävalenz von *S. aureus*

assoziiert waren und somit einen gewissen Schutzfaktor darstellen könnten, dies konnte auch in einer südäthiopischen Studie beobachtet werden (ABEBE et al., 2016). Ähnliche Ergebnisse zeigten sich für *Strep. dysgalactiae*, wobei Groh et al. (2023) zu vergleichbaren Schlussfolgerungen gelangte. Bemerkenswert ist, dass in dieser Studie 13 % der Betriebe keine Einstreu oder lediglich Gummimatten verwendeten und sich damit beispielsweise das Risiko für eine intramammäre Infektion mit *S. aureus* erhöhte. Diese Beobachtung sollte allerdings nicht ausschließlich im Kontext der Kontrolle kontagiöser Mastitiserreger betrachtet werden, sondern ebenso im Rahmen von Managementstrategien, die den Kuhkomfort verbessern, Stress reduzieren und damit indirekt zur Eutergesundheit beitragen können.

Letztendlich konnten im Zusammenhang mit der Einstreu also durchaus gegensätzliche Erkenntnisse im Hinblick auf die Risikofaktoren ausgemacht werden. Dies verdeutlicht die komplexen Zusammenhänge zwischen Haltung, Hygiene und Prävalenz. Gleichwohl ist hervorzuheben, dass eine einzelne Studie oder eine Prävalenzstudie nicht ausreichen, um definitive Empfehlungen abzuleiten, da Infektionsgeschehen stets multifaktoriell bedingt sind und im temporären Ablauf betrachtet werden sollten.

5. Saisonalität

In zahlreichen Studien wird berichtet, dass höhere Temperaturen oder die Sommermonate mit einem Anstieg von Umweltkeimen, insbesondere *Strep. uberis* und *E. coli*, assoziiert sein können (OLDE RIEKERINK et al., 2007; HAMEL et al., 2021; BECHTOLD et al., 2024). In unserer 1. Veröffentlichung konnte jedoch der Faktor „Jahreszeit“ nicht als Risiko ausgemacht werden. In der 2. Veröffentlichung konnte lediglich bei *S. aureus* eine geringfügige Erhöhung der Ausscheidung im Sommer im Vergleich zum Winter gezeigt werden. Diese Beobachtung unterstreicht eine wesentliche Limitation unserer Studie, da eine einmalige Beprobung lediglich eine Momentaufnahme des Bestandes erlaubt. Gleichzeitig präsentiert die Untersuchung aber auch wertvolle Informationen über die Erregerausscheidung aus unvoreingenommen untersuchten Eutervierteln in Bayern, ohne dass vorherige Einstufungen hinsichtlich Eutergesundheit oder klinischem Status vorgenommen worden waren.

6. Melken

In unserer Studie zeigte sich, dass Herden mit Melkrobotern eine höhere Prävalenz von NAS aufwiesen. Die Frage bleibt offen, ob dies darauf zurückzuführen ist, dass die Beprobung von Kühen bei Melkroboter Herden unabhängig vom Melken gezogen wurden und der Zeitpunkt bzw. Euterfüllgrad hier ggf. einen Einfluss hatte (z.B. Anfangsgemelk im Vergleich zu Endgemelk). Zudem kann auch bedeutend sein, dass das häufigere Melken im Vergleich zu konventionellen Systemen (GYGAX et al., 2007) die Beanspruchung der Strichkanäle erhöht (MAHMMOD et al., 2018). Es ist bekannt, dass NAS auf der Haut und im Strichkanal der Kuh als Kommensalen vorkommen und das Euter infizieren können, wenn der Melkvorgang nicht optimal gestaltet ist (TRAVERSARI et al., 2019; DE BUCK et al., 2021). Es sollte berücksichtigt werden, dass nicht alle nachgewiesenen IMI durch NAS als problematisch einzustufen sind. NAS werden generell als „Minor Pathogens“ eingeordnet und in unserer Studie wurden von den Nachweisen 63 % den „gesunden“ Vierteln zugeordnet ($SZZ < 100.000$ Zellen/ml) ohne Anzeichen klinischer oder subklinischer Mastitis. Eine ähnliche Beobachtung wurde auch schon auf kanadischen Milchviehbetrieben gemacht (REYHER et al., 2011), wobei hier nur beschrieben wurde, dass NAS die am häufigsten nachgewiesene Gruppe bei klinisch unauffälligen Tieren war.

Bei positiven Erregernachweisen im Zusammenhang mit subklinischen Mastitiden machten in unserer Studie NAS 41 % der Nachweise aus, bei klinischen Mastitiden 8 %. Dies verdeutlicht, dass es zunehmend schwieriger wird, NAS als homogene Gruppe zu betrachten, da unterschiedliche Spezies sehr unterschiedliche Eigenschaften aufweisen. Insbesondere, da auch über eine mögliche Schutzfunktion von NAS diskutiert wird, die das Euter vor einer Infektion mit *S. aureus* schützen (MATTHEWS et al., 1990). Allerdings gibt es auch eine Studie, die beschreibt, dass Viertel nach einer NAS-Infektion anfälliger für eine *S.-aureus*-Infektion sind (DUFOUR et al., 2012a). Weitere Studien sind daher notwendig, um NAS auch in Bayern differenziert zu analysieren. Zusätzlich bestätigte unsere Untersuchung erneut die Bedeutung der Anwendung eines Zitzendips nach dem Melken als Faktor für geringere Prävalenzen von NAS und *Strep. dysagalactiae* innerhalb der Herden. Darüber hinaus zeigt die Analyse, dass die regelmäßige Wartung der Melkanlage weiterhin von zentraler Bedeutung für die Eutergesundheit ist, auch wenn der klassische Fünf-Punkte-Plan zur Bekämpfung

kontagiöser Mastitiserreger schon über 50 Jahre alt ist (DODD et al., 1969; NEAVE et al., 1969).

7. Erregerausscheidung

Trotz der Limitationen hinsichtlich Pathogendynamiken und Persistenz konnte Veröffentlichung 2 verdeutlichen, dass auch gesunde Viertel relevante Mengen an Mastitiserregern ausscheiden können. So wiesen 37 % der VGP gesunder Viertel >10 KbE/0,01 ml *S. aureus* auf und dürfen folglich nicht als mögliche Quelle des Erregerdruckes innerhalb einer Herde ignoriert werden. Gesunde Viertel hatten zwar eine höhere Wahrscheinlichkeit für niedrige bis mittlere Ausscheidungen aller untersuchten Erreger im Vergleich zu klinisch erkrankten Vierteln (z. B. OR = 13 für niedrige *S.-aureus*-Ausscheidung im Vergleich zu klinisch; $P < 0,01$). Diese Ergebnisse unterstreichen jedoch die Notwendigkeit einer kompletten Herdenuntersuchung, insbesondere bei Sanierungsmaßnahmen *S. aureus*-positiver Herden oder vor der Umstellung auf einen Melkroboter, und dass nicht allein die SZZ in der Milch immer ein verlässlicher Indikator zum Ausschluss intramammärer Infektionen bei einzelnen Kühen sein muss.

8. Geringe Fallzahlen von *E. coli* und *Strep. agalactiae*

Obwohl die Nachweisraten vergleichsweise niedrig waren (*E. coli*: $n = 69$; *Strep. agalactiae*: $n = 99$), konnten dennoch relevante Assoziationen hergestellt werden. So zeigte sich, dass die regelmäßige Wartung der Melkanlagen, wie bereits oben unter dem Punkt „Melken“ erwähnt, mit einer geringeren Wahrscheinlichkeit einer *Strep. agalactiae*-positiven Herde verbunden war ($P = 0,04$), während unzureichend gereinigte Wassertränken ein erhöhtes Risiko darstellten.

Zudem konnte erstmals in Bayern ein Zusammenhang zwischen hörbaren „Liner slips“ (schlürfendes Geräusch durch Lufteintritt z.B. bei schlechtsitzenden Melkzeugen) während des Melkens und dem positiven Nachweis von *E. coli* auf Herdenebene beschrieben werden. Da dies trotz geringer Fallzahlen gezeigt werden konnte, unterstreicht diese Beobachtung die Relevanz optimal eingestellter und regelmäßig gewarteter Melkanlagen sowie einer guten Melkroutine für die Eutergesundheit.

9. Fazit für die Praxis

Die beiden Veröffentlichungen liefern gemeinsam ein umfassendes Bild der

Mastitisepidemiologie in Bayern und zeigen, dass eine Vielzahl von Faktoren wie Strukturwandel, Einstreu, Melkmanagement, möglicherweise saisonale Einflüsse sowie der Gesundheitsstatus einzelner Euterviertel für die Prävention und das Management von Mastitis entscheidend sind.

Bereits bekannte Risikofaktoren, wie etwa die erhöhte Herdenprävalenz von *Strep. uberis* bei bestimmten Einstreumaterialien oder die Bedeutung einer gut gewarteten Melkanlage, konnten bestätigt werden. Gleichzeitig konnten die Untersuchungen spezifische Erkenntnisse für Bayern liefern, darunter die zunehmende Nutzung von AMS, ein gleichbleibendes Niveau von *S. aureus*-positiven Herden bei sinkender VGP-Prävalenz sowie die Zunahme positiver Herden für *Strep. uberis* bei steigender Prävalenz auf Viertelebene, was auf eine Verschiebung hin zu umweltassoziierten Erregern hinweist. Die quantitative Erregerausscheidung auf Viertelebene zeigt darüber hinaus, dass auch eutergesunde Viertel relevante Mengen an Pathogenen ausscheiden können, was die Notwendigkeit einer bestandsspezifischen Untersuchung unterstreicht.

Die Studien liefern praxisrelevante Implikationen für die bayerische Milchwirtschaft. So sollten Milchprobenuntersuchungen vor Zukauf oder Herdenerweiterungen konsequent durchgeführt werden, um das Eintragen von Erregern zu vermeiden. Optimierungen im Melkmanagement, wie die konsequente Nutzung von Zitzendips und die regelmäßige Wartung der Melkanlagen, bleiben zentrale Maßnahmen. Auch die Wahl des Einstreumaterials kann die Prävalenz von Mastitiserregern beeinflussen. Dabei wird deutlich, dass kein einzelner Faktor allein ausschlaggebend ist und die Wirkung betriebsabhängig variieren kann. Eine differenzierte, individuelle Beratung ist daher unerlässlich, um Maßnahmen an die jeweiligen betrieblichen Gegebenheiten anzupassen.

Insgesamt verdeutlichen die beiden Veröffentlichungen, dass Mastitis in Bayern weiterhin ein multifaktorielles Problem darstellt, dessen Lösung eine Kombination aus Herdmanagement, Hygienemaßnahmen und gezielter Überwachung erfordert. Gleichzeitig eröffnen die Ergebnisse Perspektiven für zukünftige Forschung, insbesondere bei der Differenzierung von NAS-Spezies und zur langfristigen Beobachtung von Infektionsverläufen.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Intramammäre Infektionen (IMI) stellen eine der zentralen Herausforderungen in der Milchviehhaltung dar, da sie mit erheblichen Einbußen in Milchleistung und -qualität, erhöhten Behandlungskosten sowie Einschränkungen der Tiergesundheit und des Tierwohls verbunden sind. Trotz einer Vielzahl internationaler Studien ist die Datenlage zu IMI in Bayern, einer Region mit charakteristischen Strukturen, wie vergleichsweise kleinen Herden, einem hohen Anteil an Fleckvieh und einer zunehmenden Verbreitung von Automatisierung der Betriebe, bislang begrenzt. Ziel der vorliegenden Dissertation war es daher, die Prävalenz von Mastitiserregern auf Viertelebene sowie die quantitative Erregerausscheidung auf Viertelebene und Risikofaktoren auf Herdenebene ausgewählter Mastitiserreger in bayerischen Milchviehbetrieben systematisch zu untersuchen.

Die Arbeit umfasst zwei Veröffentlichungen, die auf einer groß angelegten Querschnittsstudie basieren. Zwischen Juli 2023 und Juli 2024 wurden 305 nach Regierungsbezirk, Herdengröße und Jahreszeit geschichtete Milchviehbetriebe zufällig ausgewählt und untersucht. Unabhängig vom klinischen Eutergesundheitsstatus wurden VGP von insgesamt 14.700 laktierenden Kühen entnommen und nach den Leitlinien der DVG mikrobiologisch untersucht. Zusätzlich erfolgte eine umfassende Untersuchung der Betriebs- und Managementdaten.

Für die Analyse wurden verschiedene statistische Verfahren eingesetzt: Mittels negativer binomialer Regression wurden Risikofaktoren für die Prävalenz innerhalb der Herden von *Strep. uberis*, *Strep. dysgalactiae*, *S. aureus* und NAS untersucht. Für *Strep. agalactiae* und *E. coli* wurden mittels logistischer Regression Risikofaktoren für das Vorliegen positiver Herden bestimmt. Darüber hinaus wurde die quantitative Erregerausscheidung für *S. aureus*, *Strep. uberis*, *Strep. dysgalactiae*, *Strep. agalactiae* und *E. coli* auf Viertelebene analysiert. NAS wurden hier nicht berücksichtigt, da es sich um eine heterogene Gruppe handelt. Die Ergebnisse verdeutlichen, dass die Prävalenzen intramammärer Infektionen in Bayern sowohl zwischen Erregern als auch zwischen Betrieben variieren. Während die Prävalenz von *S. aureus* auf Viertelebene leicht zurückging, blieb die Anzahl positiver Betriebe (mindestens ein Nachweis pro Herde) nahezu unverändert. Dagegen zeigte *Strep. uberis* eine deutliche Zunahme sowohl im Anteil positiver Herden als auch in der Prävalenz. Dies ist eine weitere Bestätigung für die seit

mehreren Jahren beobachtete Verschiebung hin zu einer Dominanz umweltassoziiierter Erreger. Etablierte Risikofaktoren wie die regelmäßige Wartung der Melkanlagen, die Beschaffenheit der Liegeflächen, die Produktionsart und Melkhygiene konnten bestätigt werden. Darüber hinaus wurde erstmals in Bayern ein Zusammenhang zwischen hörbarem Schlürfen („Liner slips“) während des Melkens und dem Auftreten von *E. coli* beschrieben. Die Analyse der quantitativen Erregerausscheidung ergab, dass auch klinisch unauffällige Viertel relevante Mengen pathogener Bakterien ausscheiden können und damit potenziell zur Weiterverbreitung innerhalb der Herde beitragen.

Zusammenfassend liefern die beiden Publikationen ein umfassendes Bild der Mastitisepidemiologie in Bayern. Sie bestätigen einerseits bereits bekannte Risikofaktoren, andererseits zeigen sie neue regionalspezifische Aspekte auf. Die Ergebnisse unterstreichen die multifaktorielle Natur intramammärer Infektionen und verdeutlichen, dass Präventionsmaßnahmen grundsätzlich betriebsspezifisch angepasst werden müssen. Gleichzeitig behalten klassische Kontrollmaßnahmen, wie sie bereits im Fünf-Punkte-Plan etabliert wurden, ihre Relevanz. Perspektivisch eröffnen die Ergebnisse weitere Forschungsfelder, insbesondere zur differenzierten Betrachtung einzelner NAS-Spezies und zur longitudinalen Erfassung von Infektionsdynamiken.

VII. SUMMARY

Intramammary infections (IMI) are one of the key challenges in dairy farming, as they are associated with significant losses in milk yield and quality, increased treatment costs, and restrictions on animal health and welfare. Despite a large number of international studies, data on IMI in Bavaria, a region with characteristic structures such as comparatively small herds, a high proportion of Simmental cattle, and increasing automation on farms, has been limited to date. The aim of this dissertation was therefore to systematically investigate the prevalence of mastitis pathogens at the quarter level, as well as quantitative pathogen shedding at the quarter level and risk factors at the herd level for selected mastitis pathogens in Bavarian dairy farms.

The work comprises two publications based on a large-scale cross-sectional study. Between July 2023 and July 2024, 305 dairy farms stratified by administrative district, herd size, and season were randomly selected and examined. Regardless of clinical udder health status, quarter milk samples were taken from a total of 14,700 lactating cows and microbiologically examined according to the guidelines of the German Veterinary Association (DVG). In addition, comprehensive farm and management data were collected.

Various statistical methods were used for the analysis: Negative binomial regression was used to investigate risk factors for the prevalence of *Strep. uberis*, *Strep. dysgalactiae*, *S. aureus*, and NAS within the herds. For *Strep. agalactiae* and *E. coli*, logistic regression was used to determine risk factors for the presence of positive herds. In addition, quantitative pathogen shedding for *S. aureus*, *Strep. uberis*, *Strep. dysgalactiae*, *Strep. agalactiae*, and *E. coli* was analyzed at the quarter level. NAS were not included here because they are a heterogeneous group. The results show that the prevalence of intramammary infections in Bavaria varies both between pathogens and between farms. While the prevalence of *S. aureus* declined slightly at the quarter level, the number of positive farms (at least one detection per herd) remained virtually unchanged. In contrast, *Strep. uberis* showed a significant increase in both the proportion of positive herds and prevalence. This is further confirmation of the shift towards a dominance of environmental pathogens that has been observed for several years. Established risk factors such as regular maintenance of milking equipment, the bedding type, the type of production (organic versus conventional), and milking hygiene were confirmed. In addition, a

correlation between audible liner slips during milking and the occurrence of *E. coli* was described for the first time in Bavaria. Analysis of quantitative pathogen shedding showed that even clinically unremarkable quarters can shed relevant amounts of bacteria and thus potentially contribute to further spread within the herd. In summary, the two publications provide a comprehensive picture of mastitis epidemiology in Bavaria. On the one hand, they confirm already known risk factors, and on the other hand, they highlight new region-specific aspects. The results underline the multifactorial nature of intramammary infections and illustrate that preventive measures must always be adapted to the specific farm. At the same time, classic control measures, as already established in the five-point plan, remain relevant. Looking ahead, the results open up further fields of research, in particular for the differentiated consideration of individual NAS species and the longitudinal recording of infection dynamics.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

- Abebe R, Hatiya H, Abera M, Megersa B, Asmare K. Bovine mastitis: prevalence, risk factors and isolation of *Staphylococcus aureus* in dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia. *BMC Vet Res* 2016; 12: 270.
- Akineden O, Hassan AA, Schneider E, Usleber E. A coagulase-negative variant of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis milk. *J Dairy Res* 2011; 78: 38-42.
- Bar D, Grohn YT, Bennett G, Gonzalez RN, Hertl JA, Schulte HF, Tauer LW, Welcome FL, Schukken YH. Effect of repeated episodes of generic clinical mastitis on milk yield in dairy cows. *J Dairy Sci* 2007; 90: 4643-53.
- Barkema HW, Schukken YH, Lam TJ, Beiboer ML, Benedictus G, Brand A. Management practices associated with the incidence rate of clinical mastitis. *J Dairy Sci* 1999; 82: 1643-54.
- Barkema HW, Schukken YH, Zadoks RN. Invited Review: The role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. *J Dairy Sci* 2006; 89: 1877-95.
- Bechtold V, Petzl W, Huber-Schlenstedt R, Sorge US. Distribution of Bovine Mastitis Pathogens in Quarter Milk Samples from Bavaria, Southern Germany, between 2014 and 2023-A Retrospective Study. *Animals* 2024; 14: 2504.
- Bertocchi L, Vitali A, Lacetera N, Nardone A, Varisco G, Bernabucci U. Seasonal variations in the composition of Holstein cow's milk and temperature-humidity index relationship. *Animal* 2014; 8: 667-74.
- BMEL. Visualisierung der Tabelle Rinderbestand und Rinderbestände nach Nutzungsrichtung und Rinderrassen Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft 2024:
<https://www.bmel-statistik.de/landwirtschaft/tierhaltung/rinderhaltung>.
12.02.2025.
- Bonestroo J, van der Voort M, Fall N, Hogeveen H, Emanuelson U, Klaas IC. Progression of different udder inflammation indicators and their episode

- length after onset of inflammation using automatic milking system sensor data. *J Dairy Sci* 2021; 104: 3458-73.
- Bouraoui R, Lahmar M, Majdoub A, Djemali M, Beleya R. The relationship of temperature-humidity index with milk production of dairy cows in a Mediterranean climate. *Animal Research* 2002; 51: 479-91.
- Breen JE, Green MJ, Bradley AJ. Quarter and cow risk factors associated with the occurrence of clinical mastitis in dairy cows in the United Kingdom. *J Dairy Sci* 2009; 92: 2551-61.
- Brooks BW, Barnum DA. Experimental Colonization of the Bovine Teat Duct with *Corynebacterium bovis* and the Effect on Milk Somatic Cell Counts. *Can J Comp Med* 1984; 48: 141-5.
- Broom DM (2000) Effects of dairy cattle breeding and production methods on animal welfare. 21st World Buiatrics Congress, 4–8 December. Punta del Este, Uruguay. 1-7
- Burvenich C, Van Merris V, Mehrzad J, Diez-Fraile A, Duchateau L. Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors. *Vet Res* 2003; 34: 521-64.
- BVL. Die Verbrauchsmengenerfassung - Antibiotikameldungen. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit:
https://www.bvl.bund.de/DE/Arbeitsbereiche/05_Tierarzneimittel/01_Aufgaben/05_AufgAntibiotikaResistenz/02ErfassungVerbrauchsmengen/ErfassungVerbrauchsmengen_node.html. 11.08.2025.
- Capuco AV, Akers RM. Mammary Involution in Dairy Animals. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 1999; 4: 137-44.
- Capurro A, Aspan A, Ericsson Unnerstad H, Persson Waller K, Artursson K. Identification of potential sources of *Staphylococcus aureus* in herds with mastitis problems. *J Dairy Sci* 2010; 93: 180-91.
- Chen YC, Orellana Rivas RM, Marins TN, Melo V, Wang Z, Garrick M, Gao J, Liu H, Bernard JK, Melendez P, Tao S. Effects of heat stress abatement on systemic and mammary inflammation in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*

2023; 106: 8017-32.

Cicconi-Hogan KM, Gamroth M, Richert R, Ruegg PL, Stiglbauer KE, Schukken YH. Risk factors associated with bulk tank standard plate count, bulk tank coliform count, and the presence of *Staphylococcus aureus* on organic and conventional dairy farms in the United States. *J Dairy Sci* 2013; 96: 7578-90.

Cobirka M, Tancin V, Slama P. Epidemiology and Classification of Mastitis. *Animals* 2020; 10: 2212.

Condas LAZ, De Buck J, Nobrega DB, Carson DA, Roy JP, Keefe GP, DeVries TJ, Middleton JR, Dufour S, Barkema HW. Distribution of non-aureus staphylococci species in udder quarters with low and high somatic cell count, and clinical mastitis. *J Dairy Sci* 2017; 100: 5613-27.

Condas LAZ, De Buck J, Nobrega DB, Carson DA, Naushad S, De Vliegher S, Zadoks RN, Middleton JR, Dufour S, Kastelic JP, Barkema HW. Prevalence of non-aureus staphylococci species causing intramammary infections in Canadian dairy herds. *J Dairy Sci* 2017a; 100: 5592-612.

Curone G, Filipe J, Cremonesi P, Trevisi E, Amadori M, Pollera C, Castiglioni B, Turin L, Tedde V, Vigo D, Moroni P, Minuti A, Bronzo V, Addis MF, Riva F. What we have lost: Mastitis resistance in Holstein Friesians and in a local cattle breed. *Res Vet Sci* 2018; 116: 88-98.

De Buck J, Ha V, Naushad S, Nobrega DB, Luby C, Middleton JR, De Vliegher S, Barkema HW. Non-aureus Staphylococci and Bovine Udder Health: Current Understanding and Knowledge Gaps. *Front Vet Sci* 2021; 8: 658031.

De Visscher A, Piepers S, Haesebrouck F, De Vliegher S. Intramammary infection with coagulase-negative staphylococci at parturition: Species-specific prevalence, risk factors, and effect on udder health. *J Dairy Sci* 2016; 99: 6457-69.

Devries TJ, Aarnoudse MG, Barkema HW, Leslie KE, von Keyserlingk MA. Associations of dairy cow behavior, barn hygiene, cow hygiene, and risk of

- elevated somatic cell count. J Dairy Sci 2012; 95: 5730-9.
- Djabri B, Bareille N, Beaudeau F, Seegers H. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. Vet Res 2002; 33: 335-57.
- DLG-Merkblatt 400 (2019) Trockenstellen von Milchvieh - Maßnahmen zur Verbesserung der Eutergesundheit in der Trockenperiode
- DLG-Merkblatt 450 (2021) Vermeidung von Hitzestress bei Milchkühen
- Dodd FH, Westgarth DR, Neave FK, Kingwill RG. Mastitis - the strategy of control. J Dairy Sci 1969; 52: 689-95.
- Dufour S, Frechette A, Barkema HW, Mussell A, Scholl DT. Invited review: effect of udder health management practices on herd somatic cell count. J Dairy Sci 2011; 94: 563-79.
- Dufour S, Dohoo IR, Barkema HW, Descoteaux L, Devries TJ, Reyher KK, Roy JP, Scholl DT. Epidemiology of coagulase-negative staphylococci intramammary infection in dairy cattle and the effect of bacteriological culture misclassification. J Dairy Sci 2012; 95: 3110-24.
- Dufour S, Dohoo IR, Barkema HW, Descoteaux L, Devries TJ, Reyher KK, Roy JP, Scholl DT. Manageable risk factors associated with the lactational incidence, elimination, and prevalence of *Staphylococcus aureus* intramammary infections in dairy cows. J Dairy Sci 2012a; 95: 1283-300.
- DVG (2018) Leitlinien zur Labordiagnostik der Mastitis: Probenahme und mikrobiologische Untersuchung, 3., überarbeitete Auflage edn. Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft / Fachgruppe Milchhygiene, Giessen, Germany
- DVG. Zur Prävalenz von Mastitiserregern in Milchproben in Deutschland - Update 2022. Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft / Fachgruppe Milchhygiene 2024: https://www.dvg.de/wp-content/uploads/2024/04/24-03-19_AG-Euter_Praevalenz-Mastitiserreger2022.pdf. 30.03.2025.
- Elghafghuf A, Dufour S, Reyher K, Dohoo I, Stryhn H. Survival analysis of clinical mastitis data using a nested frailty Cox model fit as a mixed-effects Poisson

- model. *Prev Vet Med* 2014; 117: 456-68.
- Ericsson Unnerstad H, Lindberg A, Persson Waller K, Ekman T, Artursson K, Nilsson-Ost M, Bengtsson B. Microbial aetiology of acute clinical mastitis and agent-specific risk factors. *Vet Microbiol* 2009; 137: 90-7.
- Fox L, Chester ST, Hallberg JW, Nickerson SC, Pankey JW, Weaver LD. Survey of Intramammary Infections in Dairy Heifers at Breeding Age and First Parturition. *J Dairy Sci* 1995; 78: 1619-28.
- Fox L, Besser TE, Jackson SM. Evaluation of a coagulase-negative variant of *Staphylococcus aureus* as a cause of intramammary infections in a herd of dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc* 1996; 209: 1143-6.
- Fredebeul-Krein F, Schmenger A, Wente N, Zhang Y, Kromker V. Factors Associated with the Severity of Clinical Mastitis. *Pathogens* 2022; 11
- Ginger L, Ledoux D, Bouchon M, Rautenbach I, Bagnard C, Lurier T, Foucras G, Germon P, Durand D, de Boyer des Roches A. Using behavioral observations in freestalls and at milking to improve pain detection in dairy cows after lipopolysaccharide-induced clinical mastitis. *J Dairy Sci* 2023; 106: 5606-25.
- Griffin TK, Dodd FH, Neave FK, Westgarth DR, Kingwil RG, Wilson CD. A method of diagnosing intramammary infection in dairy cows for large experiments. *J Dairy Res* 1977; 44: 25-45.
- Groh LJ, Mansfeld R, Baumgartner C, Sorge US. Mastitis pathogens in Bavaria, Southern Germany: apparent prevalence and herd-level risk factor. *Milk Science International* 2023; 76: 15-23.
- Günther J, Petzl W, Bauer I, Ponsuksili S, Zerbe H, Schuberth HJ, Brunner RM, Seyfert HM. Differentiating *Staphylococcus aureus* from *Escherichia coli* mastitis: *S. aureus* triggers unbalanced immune-dampening and host cell invasion immediately after udder infection. *Sci Rep* 2017; 7: 4811.
- Gygax L, Neuffer I, Kaufmann C, Hauser R, Wechsler B. Comparison of functional aspects in two automatic milking systems and auto-tandem milking parlors. *J Dairy Sci* 2007; 90: 4265-74.

- Hamel J, Zhang Y, Wente N, Krömker V. Heat stress and cow factors affect bacteria shedding pattern from naturally infected mammary gland quarters in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2021; 104: 786-94.
- Hazlett MJ, Little PB, Maxie MG, Barnum DA. Fatal mastitis of dairy cows: a retrospective study. *Can J Comp Med* 1984; 48: 125-9.
- Heikkilä AM, Liski E, Pyörälä S, Taponen S. Pathogen-specific production losses in bovine mastitis. *J Dairy Sci* 2018; 101: 9493-504.
- Hensen SM, Pavicic MJ, Lohuis JA, Poutrel B. Use of bovine primary mammary epithelial cells for the comparison of adherence and invasion ability of *Staphylococcus aureus* strains. *J Dairy Sci* 2000; 83: 418-29.
- Hertl JA, Schukken YH, Bar D, Bennett GJ, Gonzalez RN, Rauch BJ, Welcome FL, Tauer LW, Grohn YT. The effect of recurrent episodes of clinical mastitis caused by gram-positive and gram-negative bacteria and other organisms on mortality and culling in Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 2011; 94: 4863-77.
- Hillerton E, Booth JM (2018) The Five- Point Mastitis Control Plan- A Revisory Tutorial!. 57. Annual Meeting of the National Mastitis Council, 30 January- 2 February. Tucson, Arizona.
- Hogan JS, Smith KL, Hoblet KH, Todhunter DA, Schoenberger PS, Hueston WD, Pritchard DE, Bowman GL, Heider LE, Brockett BL, et al. Bacterial counts in bedding materials used on nine commercial dairies. *J Dairy Sci* 1989; 72: 250-8.
- Holsteg M. *Mycoplasma bovis* – Klinik, Diagnostik und Bekämpfung. *Veterinärspiegel Nutztiere & Pferde* 2021; 31: 34-9.
- Huber-Schlenstedt R, Schierling K, Gey A, Sorge US. Mastitis? TGD checkt die Erreger. *MilchPur* 2017: 18-24.
- IDF (1981) Laboratory methods for use in mastitis work
- IDF. Suggested interpretation of mastitis terminology (Revision of Bulletin of IDF No. 338/1999). Bulletin of the International Dairy Federation Federation

- ID, ed. Brussels, Belgium: International Dairy Federation 2011: https://fil-idf.org/wp-content/uploads/woocommerce_uploads/2011/03/Bulletin-of-the-IDF-No.-448_2011-Suggested-Interpretation-of-Mastitis-Terminology-revision-of-Bulletin-of-IDF-N°-338_1999-1-fdvlh1.pdf. 17.06.2025.
- IDF. Guidelines for the use and interpretation of bovine milk somatic cell counts (SCC) in dairy industry. Bulletin of the International Dairy Federation International Dairy Federation 2013: <https://shop.fil-idf.org/products/guidelines-for-the-use-and-interpretation-of-bovine-milk-somatic-cell-counts-scc-in-the-dairy-industry>. 18.06.2025.
- Jamali H, Barkema HW, Jacques M, Lavallee-Bourget EM, Malouin F, Saini V, Stryhn H, Dufour S. Invited review: Incidence, risk factors, and effects of clinical mastitis recurrence in dairy cows. *J Dairy Sci* 2018; 101: 4729-46.
- Jenkins SN, Okello E, Rossitto PV, Lehenbauer TW, Champagne J, Penedo MCT, Arruda AG, Godden S, Rapnicki P, Gorden PJ, Timms LL, Aly SS. Molecular epidemiology of coagulase-negative *Staphylococcus* species isolated at different lactation stages from dairy cattle in the United States. *PeerJ* 2019; 7: e6749.
- Jørgensen HJ, Nordstoga AB, Sviland S, Zadoks RN, Solverod L, Kvitle B, Mork T. *Streptococcus agalactiae* in the environment of bovine dairy herds--rewriting the textbooks? *Vet Microbiol* 2016; 184: 64-72.
- Kabera F, Roy JP, Afifi M, Godden S, Stryhn H, Sanchez J, Dufour S. Comparing Blanket vs. Selective Dry Cow Treatment Approaches for Elimination and Prevention of Intramammary Infections During the Dry Period: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Vet Sci* 2021; 8: 688450.
- Karslioglu Kara N, Koyuncu MA. Research on longevity, culling reasons and milk yield trait between Holstein and Simmental cows. *Mediterranean Agricultural Sciences* 2018; 31
- Keefe G. Update on Control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for Management of Mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 2012; 28: 203-16.

- Kibebew K. Bovine Mastitis A review of causes and epidemiological point of view. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* 2017; 7
- Klaas IC, Zadoks RN. An update on environmental mastitis: Challenging perceptions. *Transbound Emerg. Dis.* 2017; 65: 166-85.
- Krebs I, Zhang Y, Wente N, Leimbach S, Kromker V. Severity of Clinical Mastitis and Bacterial Shedding. *Pathogens* 2023; 12
- Krömker V, Friedrich J, Klocke D. Ausscheidung und Nachweis von *Staphylococcus aureus* über Milch aus infizierten Milchdrüsenvierteln *Tierärztliche Praxis Großtiere/Nutztiere* 2008; 36: 389-92.
- Krömker V, Leimbach S. Mastitis treatment-Reduction in antibiotic usage in dairy cows. *Reprod Domest Anim* 2017; 52 Suppl 3: 21-9.
- Leitfaden Eutergesundheit (2018) Leitfaden Eutergesundheit bei Stall- und Weidehaltung, Landwirtschaftskammer Niedersachsen
- Lundberg A, Nyman AK, Aspan A, Borjesson S, Unnerstad HE, Waller KP. Udder infections with *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, and *Streptococcus uberis* at calving in dairy herds with suboptimal udder health. *J Dairy Sci* 2016; 99: 2102-17.
- Mahmmod YS, Klaas IC, Svennesen L, Pedersen K, Ingmer H. Communications of *Staphylococcus aureus* and non-aureus *Staphylococcus* species from bovine intramammary infections and teat apex colonization. *J Dairy Sci* 2018; 101: 7322-33.
- Matos JS, White DG, Harmon RJ, Langlois BE. Isolation of *Staphylococcus aureus* from sites other than the lactating mammary gland. *J Dairy Sci* 1991; 74: 1544-9.
- Matthews KR, Harmon RJ, Smith BA. Protective effect of *Staphylococcus chromogenes* infection against *Staphylococcus aureus* infection in the lactating bovine mammary gland. *J Dairy Sci* 1990; 73: 3457-62.
- Maye S, Flynn J, Stanton C, Fitzgerald GF, Kelly PM. Bovine intra-mammary challenge with *Streptococcus dysgalactiae* spp. *Dysgalactiae* to explore the

- effect on the response of Complement activity. *J Dairy Res* 2017; 84: 293-9.
- McDonald JS. Streptococcal and Staphylococcal Mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 1984; 6
- Meçaj R, Muça G, Koleci X, Sulçe M, Turmalaj L, Zalla P, Koni A, Tafaj M. Bovine Environmental Mastitis and Their Control: An Overview. *International Journal of Agriculture and Biosciences* 2023; 12: 216-21.
- Medrano-Galarza C, Gibbons J, Wagner S, de Passille AM, Rushen J. Behavioral changes in dairy cows with mastitis. *J Dairy Sci* 2012; 95: 6994-7002.
- Mehrzaad J, Janssen D, Duchateau L, Burvenich C. Increase in *Escherichia coli* inoculum dose accelerates CD8⁺ T-cell trafficking in the primiparous bovine mammary gland. *J Dairy Sci* 2008; 91: 193-201.
- Miciński J, Maršálek M, Pogorzelska J, Vrobová A. The comparative analysis of milk performance in Czech Pied Cattle raised in the Czech Republic versus Polish Holstein-Friesian, Simmental and Czech Pied Cattle raised in Poland. *Veterinarija ir Zootechnika* 2014; 67: 75-80.
- Milcherzeugerverband B. Milchwirtschaft | Vergleich Deutschland und Bayern | 2024. <https://www.milcherzeugerverbandbayern.de/milcherzeugung>. 18.06.2025.
- Milchreport Bayern (2023) Milchreport Bayern 2023 Ergebnisse der Betriebszweigabrechnung Milchproduktion 2022/23. Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
- Morales-Ubaldo AL, Rivero-Perez N, Valladares-Carranza B, Velazquez-Ordonez V, Delgadillo-Ruiz L, Zaragoza-Bastida A. Bovine mastitis, a worldwide impact disease: Prevalence, antimicrobial resistance, and viable alternative approaches. *Vet Anim Sci* 2023; 21: 100306.
- Mullarky IK, Su C, Frieze N, Park YH, Sordillo LM. *Staphylococcus aureus* agr genotypes with enterotoxin production capabilities can resist neutrophil bactericidal activity. *Infect Immun* 2001; 69: 45-51.

- Neave FK, Dodd FH, Kingwill RG, Westgarth DR. Control of mastitis in the dairy herd by hygiene and management. *J Dairy Sci* 1969; 52: 696-707.
- Niemi RE, Vilar MJ, Dohoo IR, Hovinen M, Simojoki H, Rajala-Schultz PJ. Antibiotic dry cow therapy, somatic cell count, and milk production: Retrospective analysis of the associations in dairy herd recording data using multilevel growth models. *Prev Vet Med* 2020; 180: 105028.
- Niemi RE, Hovinen M, Vilar MJ, Simojoki H, Rajala-Schultz PJ. Dry cow therapy and early lactation udder health problems-Associations and risk factors. *Prev Vet Med* 2021; 188: 105268.
- Nitz J, Wente N, Zhang Y, Klocke D, Tho Seeth M, Kromker V. Dry Period or Early Lactation-Time of Onset and Associated Risk Factors for Intramammary Infections in Dairy Cows. *Pathogens* 2021; 10
- NMC. A Practical Look at Environmental Mastitis. National Mastitis Council 1997: <https://www.nmconline.org/wp-content/uploads/2023/06/Fact-Sheet-A-Practical-Look-at-Environmental-Mastitis-Formatted.pdf>. 30.03.2025.
- NMC (1999) Laboratory handbook on bovine mastitis. National Mastitis Council, New Prague, MN, USA
- Noorlander DO. The Milking Machine as It Relates to Mastitis. *J Food Prot* 1977; 40: 643-5.
- Nyman AK, Persson Waller K, Emanuelson U, Frossling J. Sensitivity and specificity of PCR analysis and bacteriological culture of milk samples for identification of intramammary infections in dairy cows using latent class analysis. *Prev Vet Med* 2016; 135: 123-31.
- O'Rourke D. Nutrition and udder health in dairy cows: a review. *Ir Vet J* 2009; 62 Suppl 4: S15-20.
- Olde Riekerink RG, Barkema HW, Stryhn H. The effect of season on somatic cell count and the incidence of clinical mastitis. *J Dairy Sci* 2007; 90: 1704-15.
- Patel K, Godden SM, Royster E, Crooker BA, Timmerman J, Fox L. Relationships

- among bedding materials, bedding bacteria counts, udder hygiene, milk quality, and udder health in US dairy herds. *J Dairy Sci* 2019; 102: 10213-34.
- Petersson-Wolfe CS, Mullarky IK, Jones GM. *Staphylococcus aureus* Mastitis: Cause, Detection, and Control. Virginia Cooperative Extension 2010: 1-7.
- Pfützner M, Ózsávri L. The Financial Impact of Decreased Milk Production Due to Subclinical Mastitis in German Dairy Herds. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine Istanbul University* 2017; 40: 110-5.
- Piepers S, De Meulemeester L, de Kruif A, Opsomer G, Barkema HW, De Vliegher S. Prevalence and distribution of mastitis pathogens in subclinically infected dairy cows in Flanders, Belgium. *J Dairy Res* 2007; 74: 478-83.
- Pitkälä A, Haveri M, Pyörala S, Myllys V, Honkanen-Buzalski T. Bovine mastitis in Finland 2001-prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. *J Dairy Sci* 2004; 87: 2433-41.
- Puerto MA, Shepley E, Cue RI, Warner D, Dubuc J, Vasseur E. The hidden cost of disease: I. Impact of the first incidence of mastitis on production and economic indicators of primiparous dairy cows. *J Dairy Sci* 2021; 104: 7932-43.
- Pyöralä S, Taponen S. Coagulase-negative staphylococci-emerging mastitis pathogens. *Vet Microbiol* 2009; 134: 3-8.
- Rajala-Schultz P, Nodtvedt A, Halasa T, Persson Waller K. Prudent Use of Antibiotics in Dairy Cows: The Nordic Approach to Udder Health. *Front Vet Sci* 2021; 8: 623998.
- RAST. RAST Entscheidungsbaum. Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft 2020:
https://www.lfl.bayern.de/mam/cms07/ilt/dateien/ilt_3a_rast_entscheidung_sbaum_3.pdf. 28.08.2025.
- Reyher KK, Dufour S, Barkema HW, Des Coteaux L, Devries TJ, Dohoo IR, Keefe GP, Roy JP, Scholl DT. The National Cohort of Dairy Farms--a data collection platform for mastitis research in Canada. *J Dairy Sci* 2011; 94:

1616-26.

Ruegg PL. A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. *J Dairy Sci* 2017; 100: 10381-97.

Sampimon OC, Barkema HW, Berends IM, Sol J, Lam TJ. Prevalence and herd-level risk factors for intramammary infection with coagulase-negative staphylococci in Dutch dairy herds. *Vet Microbiol* 2009; 134: 37-44.

Schmon KS (2019) Untersuchungen zur Implementierung eines kontrollierten Verfahrens zum Selektiven Trockenstellen in bayerischen Milchviehbetrieben. In: Fakultät für Veterinärmedizin. Ludwig-Maximilians-Universität München

Sears PM, Smith BS, English PB, Herer PS, Gonzalez RN. Shedding pattern of *Staphylococcus aureus* from bovine intramammary infections. *J Dairy Sci* 1990; 73: 2785-9.

Seegers H, Fourichon C, Beaudeau F. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Vet Res* 2003; 34: 475-91.

Sherwin VE, Egan SA, Green MJ, Leigh JA. Survival of *Streptococcus uberis* on bedding substrates. *Vet J* 2021; 276: 105731.

Smistad M, Bakka HC, Solverod L, Jorgensen HJ, Wolff C. Prevalence of udder pathogens in milk samples from Norwegian dairy cows recorded in a national database in 2019 and 2020. *Acta Vet Scand* 2023; 65: 19.

Smith DL, Smith T, Rude BJ, Ward SH. Short communication: comparison of the effects of heat stress on milk and component yields and somatic cell score in Holstein and Jersey cows. *J Dairy Sci* 2013; 96: 3028-33.

Sorge US, Huber-Schlenstedt R, Schierling K. Selektives Trockenstellen auf bayerischen Betrieben – eine Fallserie. *Tierärztliche Praxis Großtiere/Nutztiere* 2023; 51: 160-7.

Srithanasuwan A, Tata L, Tananupak W, Jaraja W, Suriyasathaporn W, Chuammitri P. Exploring the distinct immunological reactions of bovine neutrophils towards major and minor pathogens responsible for mastitis. *Int J Vet Sci*

Med 2023; 11: 106-20.

TAMG. Gesetz über den Verkehr mit Tierarzneimitteln und zur Durchführung unionsrechtlicher Vorschriften betreffend Tierarzneimittel (Tierarzneimittelgesetz - TAMG). Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz 2021:
<https://www.gesetzeiminternet.de/tamg/BJNR453010021.html>.17.06.2025.

Taponen S, Pyörälä S. Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis- not so different from *Staphylococcus aureus*? Vet Microbiol 2009; 134: 29-36.

Tassi R, McNeilly TN, Fitzpatrick JL, Fontaine MC, Reddick D, Ramage C, Lutton M, Schukken YH, Zadoks RN. Strain-specific pathogenicity of putative host-adapted and nonadapted strains of *Streptococcus uberis* in dairy cattle. J Dairy Sci 2013; 96: 5129-45.

Tenhagen BA, Koster G, Wallmann J, Heuwieser W. Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. J Dairy Sci 2006; 89: 2542-51.

Tergast H, Hansen H, Weber E-C (2022) Steckbriefe zur Tierhaltung in Deutschland: Milchkühe. Thünen-Institut für Betriebswirtschaft, Braunschweig. 17

Traversari J, van den Borne BHP, Dolder C, Thomann A, Perreten V, Bodmer M. Non-aureus Staphylococci Species in the Teat Canal and Milk in Four Commercial Swiss Dairy Herds. Front Vet Sci 2019; 6: 186.

Vakkamäki J, Taponen S, Heikkilä AM, Pyörälä S. Bacteriological etiology and treatment of mastitis in Finnish dairy herds. Acta Vet Scand 2017; 59: 33.

Vanderhaeghen W, Piepers S, Leroy F, Van Coillie E, Haesebrouck F, De Vliegher S. Identification, typing, ecology and epidemiology of coagulase negative staphylococci associated with ruminants. Vet J 2015; 203: 44-51.

Vangroenweghe F, Rainard P, Paape M, Duchateau L, Burvenich C. Increase of *Escherichia coli* inoculum doses induces faster innate immune response in primiparous cows. J Dairy Sci 2004; 87: 4132-44.

- Vitali A, Felici A, Lees AM, Giacinti G, Maresca C, Bernabucci U, Gaughan JB, Nardone A, Lacetera N. Heat load increases the risk of clinical mastitis in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2020; 103: 8378-87.
- Walker JB, Rajala-Schultz PJ, Walker WL, Mathews JL, Gebreyes WA, DeGraves FJ. Variation in daily shedding patterns of *Staphylococcus aureus* in naturally occurring intramammary infections. *J Vet Diagn Invest* 2011; 23: 1114-22.
- Walker JB, Walker WL, DeGraves FJ, Mathews JL, Gebreyes WA, Rajala-Schultz PJ. *Staphylococcus aureus* shedding pattern throughout lactation in dairy cows with naturally occurring intramammary infection. *J Am Vet Med Assoc* 2013; 242: 1410-8.
- Wallmann J, Bode C, Köper L, Heberer T. Abgabemengenerfassung von Antibiotika in Deutschland 2019. *Deutsches Tierärzteblatt* 2020; 68: 1102-9.
- Wellnitz O, Bruckmaier RM. The innate immune response of the bovine mammary gland to bacterial infection. *Vet J* 2012; 192: 148-52.
- Wente N, Krömker V. *Streptococcus dysgalactiae*-Contagious or Environmental? *Animals (Basel)* 2020; 10
- WHO. One Health. World Health Organization: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/one-health>. 11.08.2025.
- Wuytack A, De Visscher A, Piepers S, Boyen F, Haesebrouck F, De Vliegher S. Distribution of non-aureus staphylococci from quarter milk, teat apices, and rectal feces of dairy cows, and their virulence potential. *J Dairy Sci* 2020; 103: 10658-75.
- Zablotski Y, Knubben-Schweizer G, Hoedemaker M, Campe A, Muller K, Merle R, Dopfer D, Oehm AW. Non-linear change in body condition score over lifetime is associated with breed in dairy cows in Germany. *Vet Anim Sci* 2022; 18: 100275.
- Zadoks RN, Allore HG, Barkema HW, Sampimon OC, Wellenberg GJ, Grohn YT, Schukken YH. Cow- and quarter-level risk factors for *Streptococcus uberis*

and *Staphylococcus aureus* mastitis. *J Dairy Sci* 2001; 84: 2649-63.

Zadoks RN, Gillespie BE, Barkema HW, Sampimon OC, Oliver SP, Schukken YH. Clinical, epidemiological and molecular characteristics of *Streptococcus uberis* infections in dairy herds. *Epidemiol. Infect.* 2003; 130: 335-49.

Zadoks RN, Tikofsky LL, Boor KJ. Ribotyping of *Streptococcus uberis* from a dairy's environment, bovine feces and milk. *Veterinary Microbiology* 2005; 109: 257-65.

Zadoks RN, Fitzpatrick JL. Changing trends in mastitis. *Irish Veterinary Journal* 2009; 62: 59-70.

Zadoks RN, Middleton JR, McDougall S, Katholm J, Schukken YH. Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2011; 16: 357-72.

Ziesch M, Krömker V. Factors influencing bacteriological cure after antibiotic therapy of clinical mastitis *Milk Science International* 2016; 69: 7-14.

Zigo F, Vasil M, Ondrasovicova S, Vyrostkova J, Bujok J, Pecka-Kielb E. Maintaining Optimal Mammary Gland Health and Prevention of Mastitis. *Front Vet Sci* 2021; 8: 607311.

IX. ANHANG

1. Fragebogen

1.1. Bestandsanalyse Konventionell

LEB _____ Besuch: _____

Landwirt Name: _____

tiergesundheitsdienst bayern e.V.

Rindergesundheitsdienst
Fachabteilung Eutergesundheitsdienst
und Milchhygiene



Tierbestand (Anzahl)

Milchkühe (ges) _____ Milchkühe (tr.) _____ Rinder/Färsen _____

Kälber _____ Mastbullen _____ Zuchtbullen _____

Herdenleistung (gleitender Mittelwert, LKV-PM) Kg: _____ % Fett: _____, _____ % Eiweiss: _____, _____

Eutergesundheit	Aktuell (letzter Test)	Monat (geom. Mittel)	Vormonat (geom. Mittel)
Zellen (x 1000, MPR)	_____	_____	_____
Keime (x 1000, MPR)	_____	_____	_____
>200.000 Zellen (% LKV-PM)	_____	_____	_____
>300.000 Zellen (%), Lakt. 1, LKV-PM	_____	_____	_____
Mastitis	Subklinisch ☐ Klinisch ☐ Chronisch ☐		
Laktationsphase	Früh (<100 T) ☐ Mitte (100-200 T) ☐ Spät (>200 T) ☐		
Problemgruppe	Laktation 1 ☐ Laktation ≥ 2 ☐ Trockensteher ☐		
Sonstige Beobachtungen:	Besaugen ☐ Milchlaufenlassen (Stall) ☐ Zitzenverletzungen, >1% ☐		
Gliedmaßenscore (L) _____	Zitzenscore (L) _____	Gliedmaßenscore (TS) _____	

MELKEN (KONVENTIONELLES MELKSYSTEM)

Einmalhandschuh ☐ Anzahl Melker (gesamt, inkl. Teilzeit) _____ Anzahl Melker pro Melkzeit AM _____ PM _____ Vormelken Keino ☐ mit VMB 1 ☐ ohne VMB 2 ☐ *Blindmelken Keino ☐ Anfang 1 ☐ Ende 2 ☐ beides 3 ☐ Nebenarbeiten ☐ Automatische Melkzeugabnahme ☐ Abnahmeschwellenwert (ml, 99=unbek.) _____ Nachmelken Generell KEIN Nachmelken ☐ 0 Automatisch ☐ 1 Manuell (z.B. Gewicht an Melkzeuge) ☐ 2 Melkreihenfolge ☐ Lockfutter im Melkstand ☐ *Melkzeugposition i.O. ☐ n.beob 2 ☐ *Schlürfen (Liner slips) hörbar ☐ n.beob 2 ☐ *Unruhige Kühe (Schlagen etc.) ☐ n.beob 2 ☐ Wasseraufnahme direkt n.d. Melken mögl. ☐ Ventilator etc. im Melkstand/Vorwartehof ☐	Zitzenreinigung Keine ZR 0 ☐ <table style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th></th> <th style="text-align: center;">Trocken</th> <th style="text-align: center;">Feucht</th> <th style="text-align: center;">Desinf.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Euterlappen (>1Kuh, „einer für alle“) 1 ☐</td> <td style="text-align: center;">2 ☐</td> <td style="text-align: center;">3 ☐</td> </tr> <tr> <td>Euterpapier 4 ☐</td> <td style="text-align: center;">5 ☐</td> <td style="text-align: center;">6 ☐</td> </tr> <tr> <td>Text. Eutertuch 7 ☐</td> <td style="text-align: center;">8 ☐</td> <td style="text-align: center;">9 ☐</td> </tr> <tr> <td>Holzrolle 10 ☐</td> <td style="text-align: center;">11 ☐</td> <td style="text-align: center;">12 ☐</td> </tr> <tr> <td>Stroh/Heu 13 ☐</td> <td style="text-align: center;">14 ☐</td> <td style="text-align: center;">15 ☐</td> </tr> <tr> <td>Euterdusche (mit/ohne Nachrocknen) 16 ☐</td> <td style="text-align: center;">17 ☐</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> 18 Sonstige ZR, Anm: _____ Melkzeugzwischen-desinf. Keine ☐ 0 Autom. ☐ 1 Manuell ☐ 2 wenn MZZD: Peressigsäure ☐ 1 Dampf ☐ 2 Sonstige: _____ Zitzendip n.d. Melken Kein ☐ 0 Sprühen ☐ 1 Tauchen ☐ 2 *Ausreichende Zitzenabdeckung (>50%) ☐ n.beob 2 ☐ Dipmittel-Produkt-Nr (s. TGD-Liste) _____ Dipmittel-Produktname _____ Dipmittel-Hersteller _____ Milchfilterscore (Durchschnitt / 3MF o. aktueller, 1-3) _____ Beurteilung der Sauberkeit (1-3) _____ Anlage _____ Melkzeuge/Melkzeugaufnahme _____		Trocken	Feucht	Desinf.	Euterlappen (>1Kuh, „einer für alle“) 1 ☐	2 ☐	3 ☐	Euterpapier 4 ☐	5 ☐	6 ☐	Text. Eutertuch 7 ☐	8 ☐	9 ☐	Holzrolle 10 ☐	11 ☐	12 ☐	Stroh/Heu 13 ☐	14 ☐	15 ☐	Euterdusche (mit/ohne Nachrocknen) 16 ☐	17 ☐	
	Trocken	Feucht	Desinf.																				
Euterlappen (>1Kuh, „einer für alle“) 1 ☐	2 ☐	3 ☐																					
Euterpapier 4 ☐	5 ☐	6 ☐																					
Text. Eutertuch 7 ☐	8 ☐	9 ☐																					
Holzrolle 10 ☐	11 ☐	12 ☐																					
Stroh/Heu 13 ☐	14 ☐	15 ☐																					
Euterdusche (mit/ohne Nachrocknen) 16 ☐	17 ☐																						

*Welcher:.....

TROCKENSTELLEN (TS; %= % Kühe)		EINSTREU		L	T
Trockenstellen abrupt ☐ Melkzeit auslass. ☐ Sonst ☐		Gummimatte		☐	☐
Futterveränderung vor Trockenstellen ☐		Kalk		☐	☐
Kein Trockenstellen (Kuhzahl/Jahr) _____		Kalk/Strohmatratze		☐	☐
Euterkontrolle zum TS, % _____		Stroh/Strohmehl		☐	☐
Schalmtest zum TS, % _____		Heu		☐	☐
Milchprobe zum TS, % _____		Sägespäne		☐	☐
Nutzung von LKV Daten für STS ☐		Mist (Pferd, Kalb etc.)		☐	☐
Endlaktationstherapie (Kurzzeit-AB, % _____)		Gärs substrat (1=mit Mist, 2=rein pflanzlich)		_____	_____
Einsatz AB-Trockensteller, % _____		Sonstige Einstreu _____		☐	☐
Interner Zitzenversiegler, % _____		Liegefläche uneben		☐	☐
Homöopathie zum TS, % _____		Einstreumenge (0=keine, 1=wenig, 2=gutes Polster)		_____	_____
Bolus zum Trockenstellen*, % _____		Sauberkeit der Liegefläche (1-3)		_____	_____
ZUSÄTZL. MASSNAHMEN EUTERGESUNDHEIT		Frequenz frische Einstreu (Anz./Wo)		_____	_____
Euter abflammen/scheren ☐		Frequenz Kalk Einstreu (Anz./Wo)		_____	_____
Schwanzquaste schneiden ☐		Vermehrt Hautabschürfungen (>10%)		☐	☐
Klauenpflege (durchschn. Anz./Kuh/Jahr) _____		FÜTTERUNG		L	T
HALTUNG		Teil-TMR 1=KF am AMS, 2=KF-station, 3=manuelle Zugabe FM (inkl. Heu), 4= 1& 2, 5= 1&3, 6=2&3, 7=1 & 2 & 3		_____	_____
Anbindehaltung (sonst „Laufstall“)	☐	Voll-TMR		☐	☐
Hochbox	☐	Konventionell		☐	☐
Tiefbox	☐	Heu		☐	☐
Fress-Liegebox	☐	Grünfütter		☐	☐
Tiefstreu (z.B. Tretmist, Kompost)	☐	Mineralfütter gefüttert		☐	☐
Abkalbebucht (1=ja, 2=auch Krankenbucht) X _____		Nassfuttermittel (0=keins, 1=Biertreber frisch, 2=Biertreber siliert, 3=ZR-Feuchtschnitzel, 4=Mix, 5=sonst.)		_____	_____
Weide (1= Weide/Kurzr., 2=„Jogging“-Weide)	_____	Transitfütterung Nein ☐ Ja ☐ mit Sauren Salzen ☐		_____	_____
Laufhof	☐	Grundfütteranalyse (Frequenz pro Jahr)		_____	_____
Ventilatoren o. ähnliches gegen Hitzestress	☐	Fressgitter vorhanden		☐	☐
Korrekt liegend	☐	Füttertisch raue Oberfläche		☐	☐
Aufstehen/hinlegen unauffällig	☐	Füttertisch sauber/trocken		☐	☐
Tiere stehen in Liegebox (>10%)	☐	Frequenz frisches Futter (pro Tag)		_____	_____
Nutzung Spaltenroboter	☐	Frequenz Anschieben d Futters (x/Tag)		_____	_____
Frequenz Spaltenschieber (pro Tag)	_____	Grobsinnliche Beurteilung d. vorliegenden Futters (0=kein Futter vorl., 1=ungenügend, 2=gut)		_____	_____
Überbelegung (1=Liegepl., 2=Fress, 3=beides)	_____	Sortieren Futter (Tunnel/Lochfrass)		☐	☐
TRÄNKEN		Tränkwasser (0=Leitung, 1=geprüfter Br., 2=Brunnen)		_____	_____
Ausreichende Anzahl Tränken (mind. 10 cm/Kuh)	☐	Regelmäßige Reinigung der Tränken		☐	☐
Zufluss ausreichend (ca. 20L/min)	☐	Sauberkeit der Tränken (1-3)		_____	_____
Anzahl L T Liegeplätze _____ Fressplätze _____		Wer macht formelle Rationsberechnungen?			
		☐ Keiner ☐ Landwirt ☐ Futterberater ☐ Sonstige:			

1.2. Bestandsanalyse AMS

LEB _____ Besuch: _____

Landwirt Name: _____

tiergesundheitsdienst bayern e.V.
Rindergesundheitsdienst
Fachabteilung Eutergesundheitsdienst
und Milchhygiene 

Tierbestand (Anzahl)

Milchkühe (ges) _____ Milchkühe (tr.) _____ Rinder/Färsen _____

Kälber _____ Mastbullen _____ Zuchtbullen _____

Herdenleistung (gleitender Mittelwert, LKV-PM) Kg: _____ % Fett: _____, _____ % Eiweiss: _____, _____

Eutergesundheit	Aktuell (letzter Test)	Monat (geom. Mittel)	Vormonat (geom. Mittel)
Zellen (x 1000, MPR)	_____	_____	_____
Keime (x 1000, MPR)	_____	_____	_____
>200.000 Zellen (% LKV-PM)	_____	_____	_____
>300.000 Zellen (%), Lakt. 1, LKV-PM	_____	_____	_____
Mastitis	Subklinisch ☐ Klinisch ☐	Chronisch ☐	
Laktationsphase	Früh (<100 T) ☐ Mitte (100-200 T) ☐	Spät (>200 T) ☐	
Problemgruppe	Laktation 1 ☐ Laktation ≥ 2 ☐	Trockensteher ☐	
Sonstige Beobachtungen:	Besaugen ☐ Milchlaufenlassen (Stall) ☐	Zitzenverletzungen, >1% ☐	
Gliedmaßenscore (L)	_____	Zitzenscore (L) _____	Gliedmaßenscore (TS) _____

MELKEN (AMS)

Tierverkehr ☐ Freilo ☐ Gelenkt ☐ Selekt. gelenkt ☐ Feed First ☐	MZ-Zwischendesinf. Keine ☐ Peressigsäure ☐ Dampf ☐
AMS überall sichtbar im Stall ☐	Abnahmeschwellenwert (88=variabel, 99=unbek) _____
≤2 kg KF/Besuch als Lockfutter am AMS ☐	Unproblematisches Ansetzen d. Zitzenbecher ☐
Zugang ebenerding ☐	Laser/Kamera <u>nicht</u> sauber ☐
Wartebereich für 4-6 Kühe ☐	Unruhige Kühe im AMS (Melkzeugabtreten etc.) ☐
Selektionsbucht vorhanden ☐	Zitzenspray nach dem Melken ☐
Ausgang eine Kuhlänge geschützt ☐	Ausreichende Zitzenabdeckung (>50%) ☐
AMS beleuchtet / nachts Notbeleuchtung ☐	Dipmittel-Produkt-Nr. (s. TGD-Liste) _____
Ventilator am Roboter ☐	Dipmittel-Produktname: _____
Wasseraufnahme direkt n. d. Melken mögl ☐	Dipmittel-Hersteller: _____
Zwischenmelkzeit (mind. 6 Std) ☐	
Nachtreiben ☐ Nein ☐ Einzeltiere ☐ Gruppe ☐	Milchfilterscore (Durchschnitt / 3MF o. aktueller, 1-3) _____
ggf. Nachtreiben zu versch. Zeiten ☐	Beurteilung der Sauberkeit (1-3) _____ Anlage _____
Nachgetriebene Kühe (durchschn. %/Tag) _____	Melkzeuge & Melkzeugaufnahme _____
Misslungene Melkungen (durchschn. %/Tag) _____	

*Welcher:.....

TROCKENSTELLEN (TS; %= % Kühe)		EINSTREU		L	T
Trockenstellen abrupt? ☐ Melkzeit auslass.2? ☐ Sonst3? ☐		Gummimatte		☐	☐
Futterveränderung vor Trockenstellen ☐		Kalk		☐	☐
Kein Trockenstellen (Kuhzahl/Jahr) _____		Kalk/Strohmatratze		☐	☐
Euterkontrolle zum TS,% _____		Stroh/Strohmehl		☐	☐
Schalmtest zum TS,% _____		Heu		☐	☐
Milchprobe zum TS,% _____		Sägespäne		☐	☐
Nutzung von LKV Daten für STS ☐		Mist (Pferd, Kalb etc.)		☐	☐
Endlaktationstherapie (Kurzzeit-AB,% _____)		Gärsubstrat (1=mit Mist, 2=rein pflanzlich)		_____	_____
Einsatz AB-Trockensteller,% _____		Sonstige Einstreu _____		☐	☐
Interner Zitzenversiegler,% _____		Liegefläche uneben		☐	☐
Homöopathie zum TS,% _____		Einstreumenge (0=keine, 1=wenig, 2=gutes Polster)		_____	_____
Bolus zum Trockenstellen*, % _____		Sauberkeit der Liegefläche (1-3)		_____	_____
ZUSÄTZL. MASSNAHMEN EUTERGESUNDHEIT		Frequenz frische Einstreu (Anz./Wo)		_____	_____
Euter abflammen/scheren ☐		Frequenz Kalk Einstreu (Anz./Wo)		_____	_____
Schwanzquaste schneiden ☐		Vermehrt Hautabschürfungen (>10%)		☐	☐
Klauenpflege (durchschn. Anz/Kuh/Jahr) _____		FÜTTERUNG		L	T
HALTUNG		Teil-TMR 1=KF am AMS, 2=KF-station, 3=manuelle Zugabe FM (inkl. Heu); 4= 1& 2, 5= 1&3, 6=2&3, 7=1 & 2 & 3;		_____	_____
Anbindehaltung (sonst „Laufstall“) ☐	☐	Voll-TMR		☐	☐
Hochbox ☐	☐	Konventionell		☐	☐
Tiefbox ☐	☐	Heu		☐	☐
Fress-Liegebox ☐	☐	Grünfutter		☐	☐
Tiefstreu (z.B. Tretmist, Kompost) ☐	☐	Mineralfutter gefüttert		☐	☐
Abkalbebucht (1=ja, 2=auch Krankenbucht) ☒	X	Nassfuttermittel (0=keins, 1=Biertreber frisch, 2=Biertreber siliert, 3=ZR-Feuchtschnitzel, 4=Mix, 5=sonst.)		_____	_____
Weide (1= Weide/Kurzr., 2=„Jogging“-Weide) _____	_____	Transifütterung Nein0 ☐ Ja1 ☐ mit Sauren Salzen2 ☐		_____	_____
Laufhof ☐	☐	Grundfutteranalyse (Frequenz pro Jahr)		_____	_____
Ventilatoren o. ähnliches gegen Hitzestress ☐	☐	Fressgitter vorhanden		☐	☐
Korrekt liegend ☐	☐	Futtertisch raue Oberfläche		☐	☐
Aufstehen/hinlegen unauffällig ☐	☐	Futtertisch sauber/trocken		☐	☐
Tiere stehen in Liegebox (>10%) ☐	☐	Frequenz frisches Futter (pro Tag)		_____	_____
Nutzung Spaltenroboter ☐	☐	Frequenz Anschieben d Futters (x/Tag)		_____	_____
Frequenz Spaltenschieber (pro Tag) _____	_____	Grobsinnliche Beurteilung d. vorliegenden Futters (0=kein Futter vorl., 1=ungenügend, 2=gut)		_____	_____
Überbelegung(1=Liegepl., 2=Fress, 3=beides) _____	_____	Sortieren Futter (Tunnel/Lochfrass)		☐	☐
TRÄNKEN		Tränkwasser (0=Leitung, 1=geprüfter Br., 2=Brunnen)		_____	_____
Ausreichende Anzahl Tränken (mind. 10 cm/Kuh) ☐	☐	Regelmäßige Reinigung der Tränken		☐	☐
Zufluss ausreichend (ca. 20L/min) ☐	☐	Sauberkeit der Tränken (1-3)		_____	_____
Anzahl L T Liegeplätze _____		Wer macht formelle Rationsberechnungen?			
Fressplätze _____		☐ Keiner ☐ Landwirt ☐ Futterberater ☐ Sonstige:			

1.3. Betriebserhebungsprotokoll

LEB _____

Landwirt: _____ Besuch _____

tiergesundheitsdienst bayern e.V.
 Rindergesundheitsdienst
 Fachabteilung Eutergesundheitsdienst
 und Milchhygiene



BETRIEBSFORM / MANAGEMENT

Betriebsorganisation	Konventionell ₁ ☐ BIO ₂ ☐ Kuhgebund. Aufzucht ☐ Heumilch ☐ LKV ☐
Betriebsart	Milchviehhaltung ☐ Jungtieraufzucht ☐ Bullenmast ☐
	Marktfuchtbau ☐ Biogas ☐ Sonstiges (z.B. Urlaub auf Bauernhof) ☐
Tierzukauf (letzte 24 Mon., inkl. Kälber & Mastbullen)	☐ , ggf. Zukaufskontrolle: ja ₁ ☐ nein ₀ ☐
Tierbestand	Fleckvieh ₁ ☐ Braunvieh ₂ ☐ Gemischt ₃ ☐
	Holstein/Rotbunt ₄ ☐ Gelbvieh ₅ ☐ Sonstige ₆ ☐

MELKSYSTEM*

Hersteller	Boumatic ₁ ☐ DeLaval ₂ ☐ Flaco ₃ ☐ GEA ₄ ☐ Happel ₅ ☐ Lely ₆ ☐ Lem-FW ₇ ☐ eltec/Miele ₈ ☐ Gemischt ₉ ☐ Handm. ₁₀ ☐ Sonst. ₁₁ ☐	Anlage geprüft (ggf. s. Protokoll) ☐
		Wartungsvereinbarung ☐
		Anlagenservice bei Bedarf ₁ ☐ ≥1x/Jahr ₂ ☐
Melkstandart	Eimermelkanlage ₁ ☐ Karussell ₄ ☐ Rohrmelkanlage ₂ ☐ Swing-over ₅ ☐ Melkstand ₃ ☐ Roboter ₆ ☐	Letzter Kundendienst (MM.JJ)/.....
		Zitzengummi Gummi ₁ ☐ Silikon ₂ ☐
		Zitzengummiwechsel: Nach Bedarf ₁ ☐
Inbetriebnahme (Jahr) _____		Regelmäßig/nach Herstellerangabe ₂ ☐
Umbaumaßnahmen (Jahr) _____		Zitzengummiwechsel (nach x Monaten) _____
Abnahme durch den TGD ☐		AMS: Unters. nach Maßnahmenkatalog vor Umzug ☐
Anzahl Melkeinheiten (inkl. bei AMS)		

REINIGUNG DER MELKANLAGE*

Reinigung:	Temperatursturz ₁ ☐ Zirkulation ₅ ☐ Kochendwasser ₂ ☐ Hand ₆ ☐ Überwiegend alkalische Reinigung ₃ ☐ Wechselreinigung ₄ ☐	Temperatur im Rücklauf (>40°C) ☐
		Frequenz Milchfilterwechsel pro Tag (Anzahl)
		<u>Nur bei AMS:</u>
		Generalreinigungen/Tag (Anzahl, Soll >2)
Reinigungsmittel flüssig ₁ ☐ Pulver ₂ ☐		Außenreinigung AMS (Anz/T)/.....
Dosierung automatisch ₁ ☐ manuell ₂ ☐		Spülung nach min. Ruhezeit

Ziel der EGD Beratung: Sonstiges X Anm. Euterstudie 23/24

Wie viele Personen (auch Teilzeit) arbeiten auf dem Betrieb?

Wie viele Personen sind davon *externe* Mitarbeiter?

Welche Sensorsysteme nutzen Sie auf Ihrem Betrieb, um die Tiergesundheit bzw. das Tierverhalten zu überwachen? Hier werden NICHT die Probemelkdaten abgefragt sondern Sensoren vor Ort
Mögliche Beispiele für Sensortechnologien, die auf Betrieben eingesetzt werden.

Messung	Sensorsystem (Name)	Herstellername
Aktivität		
Wiederkauen		
Futteraufnahme		
Wasseraufnahme		
Tierortung		
Körpertemperatur		
Zellzahlen		
Leitfähigkeit		
Milchzusammensetzung		
Body Condition Scoring		
Gewicht		
Progesteronmessung		
Sonstige		

Welche Apps benutzen Sie auf Ihrem Handy für die tägliche Arbeit (Bsp. Wetter, LKV, MPR, AMS etc.)?

MA/GS:..... Datum:

X. DANKSAGUNG

Zuallererst gilt mein besonderer Dank meinem Doktorvater, Wolfram Petzl, für seine stetige Unterstützung, seine wertvollen fachlichen Anregungen sowie seine motivierenden Worte, die mir stets eine große Hilfe waren. Unsere Gespräche haben mir in entscheidenden Momenten die notwendige Orientierung gegeben.

Mein aufrichtiger Dank gilt ebenfalls Ulrike Sorge für ihre engagierte fachliche Betreuung. Ihre Begeisterung für wissenschaftliche Fragestellungen, ihre verlässliche Hilfsbereitschaft sowie ihre Unterstützung bei methodischen Herausforderungen, insbesondere im Bereich der Statistik, waren von unschätzbarem Wert.

Euch beiden, Ulrike und Wolfram, danke ich zudem ausdrücklich für die stets zeitnahe, fundierte und konstruktive Rückmeldung im gesamten Arbeitsprozess. Auf Eure Unterstützung war jederzeit Verlass.

Für die finanzielle Unterstützung der vorliegenden Studie danke ich milch.bayern e.V., der Bayerischen Tierseuchenkasse sowie dem Bayerischen Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft, Forsten und Tourismus.

Mein weiterer Dank gilt den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Tiergesundheitsdienstes Bayern e.V., Eure bayerische Geduld hat mich so einiges gelehrt. Ein großer Dank zuletzt an die teilnehmenden Landwirtinnen und Landwirten in Bayern, ohne deren Mitwirkung die Durchführung der Studie nicht möglich gewesen wäre.