

## Praxistauglichkeit von kulturellen Mastitis-Schnelltests

Karin Knapstein<sup>1</sup>, Nadine Braker<sup>1,2</sup>, Angelika Häußermann<sup>2</sup>, Eberhard Hartung<sup>2</sup>

Max-Rubner-Institut, Institut für Sicherheit und Qualität bei Milch und Fisch, Hermann Weigmann-Str. 1, 24103 Kiel, [karin.knapstein@mri.bund.de](mailto:karin.knapstein@mri.bund.de)  
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Institut für Landwirtschaftliche Verfahrenstechnik, Max-Eyth-Str. 6, 24118 Kiel

### Einleitung

Euterbehandlungen gehören zu den häufigsten Gründen für den Antibiotika-Einsatz in Milchviehbetrieben, dabei entfallen nach KUIPERS et al. (2016) fast ein Viertel auf Behandlungen von klinischen Mastitiden. Nach der EU-Leitlinie für die umsichtige Verwendung von antimikrobiellen Mitteln (2015/C 299/04) sollen Behandlungen gezielt und auf der Basis einer tierärztlichen Diagnose erfolgen. Für die Behandlung von klinischen Mastitiden wird dabei ausdrücklich die Nutzung von Schnelltests empfohlen.

Einige Untersuchungen haben gezeigt, dass der Anteil von bakteriologisch negativen Proben bei klinischen Mastitiden relativ groß ist und ein Antibiotika-Einsatz daher in diesen Fällen nicht notwendig ist. Zudem profitieren Mastitiden, die durch gramnegative Bakterien verursacht werden nicht zwangsläufig von einer antibiotischen Behandlung, sondern können bei leichtem bis mittelschwerem Verlauf mit gutem Erfolg auch mit Entzündungshemmern behandelt werden (Pinzón-Sánchez et al., 2011).

Für eine Schnelldiagnose werden inzwischen verschiedene Testsysteme kommerziell angeboten. In den eigenen Untersuchungen sollten drei Systeme mit verschiedenen Testprinzipien auf ihre Praxistauglichkeit überprüft werden.

### Material und Methode

Im Zeitraum zwischen April und März 2018 wurden von 19 Milchviehbetrieben Proben gewonnen und per Express zum Labor des Max Rubner-Instituts gesendet. Dort wurden die Proben mittels Referenzmethode nach den DVG-Leitlinien untersucht (0,1 ml auf Blutagar mit 5 % Schafblut, Bebrütung 18 h bei 35 °C; DVG, 2018). Alle Proben wurden zeitgleich auf drei kommerziellen Testsystemen jeweils nach Herstelleranweisung angesetzt und bei 35 °C bebrütet:

- mastDecide (QuIdee GmbH, Homberg): Beimpfung mit je 0,1 ml, Ablesen nach 12 h, bei negativem Testergebnis weitere Bebrütung für 2 h
- VetoRapid (Vetoquinol GmbH, Ismaning): Beimpfung jedes Testfeldes mit einer sterilen Impföse mit je 10 µl, Bebrütung 18 – 24 h
- Petrifilm™ Aerobic Count AC und Coliform Count CC (3M Deutschland GmbH, Neuss): Verdünnung der Probe 1:10, Beimpfung mit je 1 ml verdünnter Probe, Bebrütung 24 h (CC) bzw. 48 h (AC).

Zusätzlich zu 187 Proben von klinischen Mastitiden wurden 66 Proben von subklinischen Mastitiden mit einem Zellgehalt > 1 Mio/ml einbezogen. Bestimmt wurden die Sensitivität und Spezifität im Hinblick auf die Erkennung von bakteriologisch negativen Proben, grampositiven und gramnegativen Erregern. Proben mit sonstigen Erregern, Mischkulturen und kontaminierte Proben wurden von der Auswertung ausgeschlossen, da diese Ergebnisse von den Schnelltests nicht bzw. nur eingeschränkt angezeigt werden können.

## Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung mittels Referenzmethode sind in Tabelle 1 dargestellt:

**Tab. 1 Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung von Viertelgemelksproben mittels Referenzmethode**

Diagnose Referenzmethode	Anzahl	%
Kein Erregernachweis	34	14,1
Staphylococcus aureus	22	9,1
Koagulase-negative Staphylokokken	30	12,4
Streptococcus uberis	39	16,1
Streptococcus agalactiae	3	1,2
Streptococcus dysgalactiae	8	3,3
Äsculin-positive Streptokokken	12	5,0
Escherichia coli	29	12,0
Andere gramnegative <sup>1</sup>	12	4,9
Sonstige Erreger <sup>2</sup>	8	3,3
Mischkultur	10	4,1
Kontaminiert	35	14,5
<b>Gesamt</b>	<b>242</b>	<b>100,0</b>

<sup>1</sup> Klebsiella spp., Serratia spp., Citrobacter spp., Pasteurella spp., Pseudomonas spp., Proteus spp.

<sup>2</sup> Hefen, Prototheca spp., Trueperella pyogenes, Corynebakterien

Die Beurteilung der Schnelltests wird in der Praxis jeweils davon abhängen, wie sich die Erregerverteilung in dem untersuchten Probenmaterial darstellt. Der hohe Anteil an kontaminierten Proben ist hier vermutlich auf den Verzicht auf Konservierungsmittel während des Probentransportes zurückzuführen.

Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse der Schnelltests im Hinblick auf Sensitivität und Spezifität nach Erregergruppen. Korrekte Erkennung wird durch die Sensitivität ausgedrückt, die mit deutlich unter 70% beim Schnelltests mastDecide für grampositive und gramnegative Erreger sowie beim Petrifilm<sup>TM</sup> in Bezug auf bakteriologisch negative sehr niedrig war.

Die im Vergleich zur Referenzmethode geringere Spezifität entsprechend einem hohen Anteil an falsch-positiven Proben für grampositive und gramnegative Erreger könnte dadurch bedingt sein, dass die Schnelltests Erreger auch dann nachweisen, wenn die Referenz diese nicht erkennt und diese somit nur in Bezug auf die Referenz als falsch positiv bewertet werden.

Tab. 2 Vergleich der Sensitivität (SE) und Spezifität (SP) zur Erkennung von Mastitiserregern

	N	mastDecide		VetoRapid		Petrifilm™	
		SE	SP	SE	SP	SE	SP
Kein Erreger	34	88,2	77,4	70,6	87,1	50,0	90,3
Grampositiv	114	58,8	89,3	84,2	68,0	83,3	65,3
Gramnegativ	41	48,8	83,1	85,4	92,6	70,7	95,9

Gegen diese Hypothese spricht allerdings, dass alle drei Schnelltests Schwierigkeiten bei der Erkennung von Proben mit geringen Keimzahlen <200 KbE/ml hatten (nicht dargestellt). Unproblematisch ist dies bei KNS, da hier ohnehin strittig ist, wie geringe Keimzahlen zu deuten sind. Bei *E. coli* und *S. aureus* ist dies jedoch kritisch zu bewerten, zumal diese Erreger bei Mastitiden oftmals nur in geringen Keimzahlen vorliegen. Vermutlich bedingen die Selektivzusätze in den Medien eine gewisse Wachstumshemmung, die sich vor allem bei geringen Keimzahlen bzw. bei Erregern bemerkbar macht, die durch das Mastitissekret ohnehin angegriffen sind. Zu beachten ist jedoch auch, dass die Proben nicht unmittelbar nach Entnahme angesetzt wurden und die Mastitiserreger durch den Transport möglicherweise in ihrer Vitalität beeinträchtigt waren.

#### Besonderheiten der Tests

Bei dem **mastDecide** wurde bei einigen Proben eine Änderung der Diagnose durch verlängerte Inkubation festgestellt. Dabei konnte ein Umschlag von negativ auf gramnegativ oder grampositiv ebenso wie ein Umschlag von gramnegativ auf grampositiv auftreten. Während *Sc. uberis* in hohen Keimzahlen (> 2000 KbE/ml) zu 97 % korrekt angezeigt wurde, wurden nach 14 h Inkubation nur gut die Hälfte der Proben mit *S. aureus* korrekt als grampositiv identifiziert. Eine Abschätzung der Keimgehalte in der Probe ist mit diesem Test nicht möglich.

Mit dem **VetoRapid** können auch seltene Erreger wie Hefen, *Trueperella pyogenes* und Prototheken nachgewiesen werden, allerdings nur, wenn die Inkubation auf bis zu 48 h verlängert wird. Bei gramnegativen Erregern war teilweise schon nach wenigen Stunden ein Farbumschlag des entsprechenden Feldes zu beobachten, ohne dass Kolonien erkennbar waren, was für eine schnelle Diagnose von Vorteil ist. Dieser Test erlaubt zudem eine vorläufige Identifizierung der euterassozierten Erreger *S. aureus* und *Sc. agalactiae*. Auch eine Isolierung von Kolonien für weitergehende Untersuchungen bzw. einen Resistenztest ist möglich.

Beim **Petrifilm™** weist auch der AC oftmals schon nach 24 h Kolonien auf, so dass der Zeitnachteil im Vergleich zu den anderen Tests eher gering ist. Aus dem Auftreten unterschiedlicher Kolonieformen lassen sich Hinweise auf Kontaminationen ableiten, was jedoch nur von erfahrenen Untersuchern zu leisten ist.

Da für den Praxiseinsatz der Schnelltests auch die Handhabung von großer Bedeutung ist, wurden sie anhand von verschiedenen Kriterien verglichen (Tabelle 3).

**Tab. 3 Praktische Handhabung der drei Schnelltests**

	mastDecide	VetoRapid	Petrifilm
Lieferung von Zubehör	++	--	--
Kontaminationsgefahr beim Beimpfen	-	+	--
Erkennung von kontaminierten Proben	--	+	-
Zeitaufwand für Beimpfen	+	++	--
Testdauer	++	+	-
Nachweis seltener Erreger	--	+	--

++ = sehr gut, + = gut, - = schlecht, -- = sehr schlecht

Der zeitliche Vorteil der „Schnelltests“ ist gering, wenn man bedenkt, dass eine erfahrene Laborkraft auch bei der Referenzmethode schon nach 16-18 h Bebrütung auf Blutagar in der Regel eine vorläufige Diagnose stellen kann. Die Schnelligkeit wird vor allem aus dem Einsatz auf dem Milchviehbetrieb erwartet, so dass der zeitliche Aufwand für den Transport in das Untersuchungslabor eingespart wird. Allerdings könnte dieser Nachteil umgangen werden, wenn die Tests in der Praxis des Haustierarztes angesetzt werden.

### Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse von Schnelltests sind zwar leicht abzulesen, allerdings sind die Ergebnisse auf Grund der teilweise sehr eingeschränkten Diagnosemöglichkeiten vorsichtig zu bewerten. Von den drei untersuchten Testsystemen scheint der VetoRapid auf Grund der Sensitivität und Spezifität sowie der einfachen Handhabung und relativ sicheren Ablesbarkeit als Alternative zur Referenzmethode am besten geeignet, um schnell eine Behandlungsentscheidung abzusichern. Die rechtlichen Voraussetzungen für die Anwendung der Schnelltests sind im Einzelfall zu klären.

Für alle Tests einschließlich der Referenzmethode ist eine sehr gute Probenqualität erforderlich, um die korrekte Interpretation der Ergebnisse und der darauf basierenden Entscheidungen zur Antibiotika-Anwendung zu ermöglichen.

### Literatur

DVG 2018: Leitlinien zur Labordiagnostik der Mastitis - Probennahme und mikrobiologische Untersuchung, 3. überarbeitete Auflage 2018

Kuipers A, Koops WJ & Wemmenhove H (2016), Antibiotic use in dairy herds in the Netherlands from 2005 to 2012, *J. Dairy Sci.* 99:1632–1648

EU-Leitlinie für die umsichtige Verwendung von antimikrobiellen Mitteln in der Veterinärmedizin, (2015/C 299/04) Amtsblatt EU C299/7 vom 11.09.2015

Pinzón-Sánchez C, Cabrera VE & Ruegg PL (2011), Decision tree analysis of treatment strategies for mild and moderate cases of clinical mastitis occurring in early lactation, *J. Dairy Sci.* 94 :1873–1892



Wissenschaftliche Gesellschaft  
der Milcherzeugerberater e.V.

# Tagungsband

20. Jahrestagung der WGM

30. September – 02. Oktober 2019

an der Humboldt-Universität zu Berlin

Organisiert in Zusammenarbeit mit der

HUMBOLDT-UNIVERSITÄT ZU BERLIN

