Aus dem Klinischen Department für Nutztiere und Transformation von Lebensmittelsystemen

der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Klinisches Zentrum für Wiederkäuer, Kameliden und Bestandsbetreuung

(Leiter: Univ.-Prof. Dr. Thomas WITTEK, Dipl. ECBHM)

Untersuchungen zum Einsatz von durchflusszytometrisch erstellten Differenzialzellbildern in der Mastitisdiagnostik unter besonderer Berücksichtigung methodischer Aspekte

Diplomarbeit

Zur Erlangung der Würde einer

MAGISTRA MEDICINAE VETERINARIAE

der Veterinärmedizinischen Universität Wien

vorgelegt von

Magdalena Beer

Wien, im Februar 2026

Betreuer:

Univ.-Prof. Dr. med. vet. Thomas WITTEK, Dipl. ECBHM

Klinisches Zentrum für Wiederkäuer, Kameliden und Bestandsbetreuung

Klinisches Department für Nutztiere und Transformation von Lebensmittelsystemen

Betreuende Assistentin:

Dr. med. vet. Martina BAUMGARTNER

Klinisches Zentrum für Wiederkäuer, Kameliden und Bestandsbetreuung

Klinisches Department für Nutztiere und Transformation von Lebensmittelsystemen

Gutachter:

Prof. Dr. med. vet. Michael IWERSEN

Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung

LMU München

Eigenständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorgelegte Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Alle übernommenen Textstellen aus fremden Quellen wurden kenntlich markiert. Zur Sprachkorrektur wurde ChatGPT verwendet. Ich habe die entscheidenden Arbeiten selbst durchgeführt und alle zuarbeitend Tätigen mit ihrem Beitrag zur Arbeit angeführt.

Die vorliegende Arbeit wurde nicht an anderer Stelle eingereicht oder veröffentlicht.

Michelbach, Februar 2026 Magdalena Beer

Zusammenfassung

Diese Arbeit untersucht den Nutzen des Differenzialzellbildes für die Mastitisdiagnostik. Dafür wurden in acht steirischen Milchviehbetrieben Viertelgemelksproben und Einzelgemelksproben für die Bestimmung der somatischen Zellzahl und des Differenzialzellbildes gezogen. Zeitgleich wurden auch Milchproben aseptisch nach den Vorgaben der klinischen Propädeutik entnommen, um intramammäre Infektionen zu identifizieren und einen Erregernachweis zu erhalten. Die Probenentnahme erfolgte auf jedem Betrieb bei zwei aufeinanderfolgenden Kontrollterminen des Landeskontrollverbandes Steiermark. Die Proben wurden im Labor des Landeskontrollverbandes in St. Michael hinsichtlich der somatischen Zellzahl und des Differenzialzellbildes untersucht, die bakteriologische Untersuchung wurde im Milchlabor in Graz unter Verwendung validierter diagnostischer Methoden durchgeführt. Bei den positiven bakteriologischen Proben wurden folgende Mastitiserreger nachgewiesen: *Staphylococcus aureus*, Nicht-aureus-Staphylokokken, Streptokokken und coliforme Bakterien. Das Differenzialzellbild erreichte bei dem derzeit verwendeten Grenzwert von > 68,5 % , dem Anteil von polymorphkernigen Neutrophilen Granulozyten und Lymphozyten am Gesamtzellbild, eine Sensitivität von 77,5 % auf Kuh- bzw. 78,9 % auf Viertelebene gegenüber der Sensitivität der Zellzahl von 72,1 % auf Kuhebene bzw. 77,8% auf Viertelebene für die Vorhersage intramammärer Infektionen. Die Spezifität lag sowohl für die Zellzahl als auch für das Differenzialzellbild bei knapp 50 %, was als unzureichend einzustufen ist. Trotz dieser als moderat einzustufenden Vorhersagegenauigkeit bestätigte sich der Mehrwert des Differenzialzellbildes bei der Erkennung von latenten Infektionen, denn diese Mastitiden werden bei der ausschließlichen Berücksichtigung der somatischen Zellzahl nicht erfasst. Insbesondere latente Infektionen mit *Staphylococcus aureus* und Nicht-aureus-Staphylokokken werden durch die alleinige Verwendung der somatischen Zellzahl nicht in allen Fällen erkannt, während sich bereits Veränderungen im Differenzialzellbild zeigten. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass die Verwendung des Differenzialzellbildes die Detektion von Mastitiden in beschränktem Ausmaß verbessern kann. Dies bietet sowohl für das Herdenmanagement als auch für die gezieltere Behandlung einzelner Kühe bzw. betroffener Euterviertel deutliche Vorteile.

Abstract

This study examines the usefulness of differential cell counts for mastitis diagnosis. To this end, quarter milk samples and individual milk samples were taken from eight dairy farms in Styria to determine the somatic cell count and differential cell count. In addition, bacteriological samples were taken according to standardised guidelines to identify infected quarters and obtain pathogen detection. Samples were taken at each farm on two inspection dates by the Styrian Provincial Inspection Association. The samples were analysed in the laboratory of the Provincial Inspection Association in St. Michael for somatic cell count and differential cell count, and in the milk laboratory in Graz for bacteriological samples using validated diagnostic methods. The following mastitis pathogens were detected in the positive bacteriological samples: *Staphylococcus aureus, non-aureus staphylococci*, streptococci and coliform bacteria. The differential cell count achieved a sensitivity of 78.9% and a specificity of 50% at a cut-off value of 68.5% for the prediction of intramammary infections. Despite this moderate predictive accuracy, the added value of the differential cell count was confirmed, particularly in the detection of latent infections, as these mastitis cases are not detected when only the somatic cell count is considered. Infections with *Staphylococcus aureus* and *Non-Aureus Staphylococci* are not detected in all cases by using the somatic cell count alone, whereas the differential cell count better detects infections with these pathogens. The results of this study show that the use of differential cell counts can improve the detection of mastitis. When combined with somatic cell count determination, diagnostic accuracy is increased. This offers significant advantages for both herd management and more targeted treatment of individual cows or affected udder quarters.

Abkürzungsverzeichnis

BU	Bakteriologische Untersuchung
CMT	California Mastitis Test
C.	*Corynebacterium*
DSCC	Differential Somatic Cell Count
E.	*Escherichia*
IDF	International Dairy Federation
KNS	*Koagulase-negative Staphylokokken*
LKV	Landeskontrollverband
Lymph	Lymphozyten
M.	*Mycoplasma*
MAC	Makrophagen
MastDefDSCC	Mastitisdefinition auf Basis des Differenzialzellbildes
MastDefSCC	Mastitisdefinition auf Basis der somatischen Zellzahl
NAS	*Nicht Aureus Staphylokokken*
PMN	Polymorphkernige Neutrophile Granulozyten
S.	*Staphylococcus*
Sc.	*Streptococcus*
Serr.	*Serratia*
SCC	Somatische Zellzahl

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 1

2 Literaturübersicht 3

2.1 Definition der Mastitis 3

2.1.1 Mechanismen der Immunabwehr in der Milchdrüse 3

2.1.2 Klinisches Erscheinungsbild von Mastitiden 4

2.1.3 Änderung der Milchzusammensetzung 5

2.1.4 Spektrum der Mastitiserreger 6

2.2 Mastitisdiagnostik 7

2.2.1 Klinische Untersuchung 7

2.2.2 California Mastitis Test 7

2.2.3 Bakteriologische Untersuchung von Viertelgemelksproben 8

2.2.4 Messung der somatischen Zellzahl und Zelldifferenzierung 9

3 Material und Methoden 11

3.1 Betriebsbesuche und Probengewinnung 11

3.1.1 Ethikkommission 11

3.2 Probenentnahmen 11

3.2.1 California Mastitis Test 12

3.2.2 Aseptische Milchprobenentnahme für die bakteriologische Untersuchung 12

3.2.3 Entnahme von Viertel- und Einzelgemelksproben für die Zellzahlmessung 13

3.3 Labordiagnostische Auswertung 13

3.3.1 Bakteriologische Untersuchung der Viertelgemelksproben 13

3.3.2 Bestimmung der Zellzahl und des Differenzialzellbildes 14

3.4 Statistische Auswertung 14

4 Ergebnisse 16

4.1 Ergebnisse auf Kuhebene 16

4.1.1 Bakteriologische Untersuchung 16

4.1.2 Ergebnisse der Zellzahlmessung und des Differenzialzellbildes 17

4.1.3 Beurteilung des DSCC-Wertes auf Kuhebene 19

4.2 Ergebnisse auf Viertelebene 22

4.2.1 Bakteriologische Untersuchung 22

4.2.2 Ergebnisse der Zellzahlmessung und des Differenzialzellbildes 22

4.2.3 Beurteilung des DSCC-Wertes auf Viertelebene 23
4.3 ROC-Kurven und Youden-Index 26
5 Diskussion 28
5.1 Unterscheidung von gesunden und infizierten Eutervierteln 28
5.2 Zusammenhang zwischen somatischer Zellzahl und Differenzialzellbild auf Kuhebene 30
5.3 Zusammenhang zwischen somatischem Zellbild und Differenzialzellbild auf Viertelebene 31
6 Schlussfolgerung 34
7 Literatur 35
8 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis 38
Danksagung 39

1 Einleitung

Eine der teuersten und häufigsten Erkrankungen in Milchviehherden ist Mastitis, welche neben Lahmheits- und Fruchtbarkeitsproblemen zu den häufigsten Abgangsgründen von Milchkühen zählt. Wirtschaftliche Einbußen ergeben sich aus den Behandlungs- und Diagnostikkosten, dem zeitlichen und arbeitstechnischen Aufwand, dem Qualitätsverlust und der Abnahme der Milchleistung sowie dem vorzeitigen Abgang von Zuchttieren (1). Daher versucht jeder Landwirt und jede Landwirtin Mastitiden durch verschiedene Managementmaßnahmen zu vermeiden. Dazu gehören neben der hygienischen und tiergerechten Aufstallung eine ordnungsgemäß durchgeführte Melkarbeit und Melkhygiene mit einwandfrei arbeitenden Melkmaschinen (2). Zur Überprüfung von auffälligen Kühen werden der California Mastitis Test oder spezielle Vormelkbecker mit Filter eingesetzt, um erkrankte Viertel einer Kuh zu erkennen (3). Um die Eutergesundheit einer Herde im Blick zu haben, hat sich im 20. Jahrhundert die Messung der somatischen Zellzahl in der Tankmilch zur Beurteilung der Eutergesundheit auf Herdenebene und in Einzelgemelksproben für die Bewertung auf Kuhebene durchgesetzt (4, 5). Ein weiterer Parameter für die Mastitisdiagnostik ist die bakteriologische Untersuchung von unter sterilen Bedingungen entnommenen Viertelgemelksproben, da bakterielle Infektionen die häufigste Ursache von Mastitiden sind (6, 7). Daher hat sich die Kombination aus Bestimmung der Zellzahl und Erregernachweis über die bakteriologische Untersuchung als Standardmethode zur Erkennung und ätiologischen Abklärung einer Mastitis durchgesetzt (8). In den letzten Jahren wurde durch die verbesserte technische Möglichkeit der Generierung von Zelldifferenzialbildern mittels Durchflusszytometrie ein weiterer Parameter für die Bewertung der Eutergesundheit bzw. für die Charakterisierung von Mastitiden geschaffen. Das Zelldifferenzialbild (differential somatic cell count, DSCC) beschreibt den prozentuellen Anteil von polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten und Lymphozyten (PMN+Lymph) am Gesamtzellbild (PMN+Lymph+MAC) (9). Bisher wird diese Methode nicht standardmäßig genutzt, jedoch scheint sie eine gute Ergänzung besonders zur Diagnostik von subklinischen Mastitiden darzustellen (10). Mit der Auswertung des Differenzialzellbildes erhofft man sich, Mastitiden früher zu erkennen, festzustellen, in welcher Phase sich die Infektion befindet und subklinische Mastitiden zu detektieren, wenn die

Zellzahl im betroffenen Viertel noch unter 100 000 Zellen pro Milliliter liegt (11). Im Rahmen dieser Diplomarbeit soll daher der zusätzliche Nutzen des Differenzialzellbildes für die Mastitisdiagnostik evaluiert werden. Die folgenden drei Hypothesen werden dabei überprüft:

1. Differenzialzellbild gesunder Euterviertel unterscheidet sich von jenem infizierter Euterviertel
1. Es gibt einen Zusammenhang zwischen dem Differenzialzellbild und der Zellzahl im Einzelgemelk
2. Es gibt einen Zusammenhang zwischen dem Differenzialzellbild in Viertelgemelksproben und dem Zellgehalt auf Viertelebene

2 Literaturübersicht

2.1 Definition der Mastitis

Per Definitionem ist Mastitis eine Entzündung der Milchdrüse, die durch das Eindringen von Mikroorganismen oder seltener durch physikalische Stressoren bedingt wird und bei klinischem Verlauf bis zu fünf unverkennbare Entzündungszeichen Rötung, Schwellung, Wärme, Schmerz und Funktionsstörung aufweist. Bei subklinischen Verlaufsformen fehlen die klinischen Entzündungszeichen, allerdings ist die somatische Zellzahl deutlich erhöht und ein Erregernachweis verläuft positiv (2, 4). Mastitiden sind eine komplexe Erkrankung, da sie von vielen verschiedenen Erregern ausgelöst werden, auf welche das Immunsystem mit unterschiedlichen Reaktionen antwortet und die erregerspezifisch therapiert werden müssen (12). Der größte Teil der Infektionen erfolgt galaktogen, d.h. die pathogenen Mikroorganismen gelangen über den Strichkanal ins Euter (2, 4).

2.1.1 Mechanismen der Immunabwehr in der Milchdrüse

Die Milchdrüse kann die Besiedelung von pathogenen Mikroorgansimen zunächst über verschiedene anatomische-physikalische Abwehrmechanismen verhindern (13). Der Strichkanal ist die erste Barriere und Bakterien müssen diesen passieren, um in das Euter zu gelangen. Die Zitzenkanalmündung ist zwischen den Melkzeiten und in der Trockenstehzeit von einem Schließmuskel verschlossen und der Strichkanal ist mit Keratin ausgehüllt, welches durch den Gehalt an Fettsäuren und Proteinen eine bakteriostatische Wirkung hat (14, 15). Die unspezifische zelluläre und humorale immunologische Abwehr wird zum Großteil vom angeborenen Immunsystem mit Hilfe von Enzymen, Proteinen, Lipiden, Makrophagen (MAC) und polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN) übernommen. B- und T-Lymphozyten (Lymph) sind die spezifischen Zellen des erworbenen Immunsystems spielen nach bisherigen Erkenntnissen eine eher untergeordnete Rolle (16).

Bei einer Infektion überwinden Pathogene die anatomischen Barrieren des Strichkanals und steigen in die Milchzisterne und das Drüsengewebe auf, wo sie sich vermehren. Durch Zellwandkomponenten, Toxine und Enzyme des Pathogens erkennen Makrophagen und

Lymphozyten das Pathogen und binden dieses an sich, was die Produktion von Entzündungsmediatoren wie Prostaglandinen, Interleukinen, Leukotrienen, Histamin und Zytokinen anregt (12). Weitere Makrophagen werden durch die Mediatoren in das infizierte Gewebe gelockt und Chemokine werden freigesetzt, was für den Einstrom von PMN aus den Blutgefäßen sorgt. PMN produzieren antibakterielle Peptide und Defensine und eliminieren dadurch die meisten Mastitiserreger (15). Dieser Prozess sorgt gleichzeitig für die Entstehung der klassischen Entzündungsanzeichen: Vasodilatation, erhöhte Gefäßpermeabilität, Ödem, erhöhter Blutfluss, verringerte Leistung, Schmerzen und Fieber (12). Lymphozyten unterstützen die Immunabwehr und sind für die Regulation dieses Prozesses zuständig (17).

2.1.2 Klinisches Erscheinungsbild von Mastitiden

Das klinische Erscheinungsbild einer Mastitis wird durch die immunologische Reaktion mit Vernichtung des Erregers, Reparatur des Drüsengewebes und Wiederherstellung der normalen Funktion der Mamma, bedingt (2). Die Verlaufsformen variieren zeitlich von perakut zu akut bis chronisch (18). Weiters können rezidivierende Mastitiden auftreten, was bedeutet, dass eine Kuh in einer Laktation eine Mastitis entwickelt und diese nach einer symptomfreien Periode wiederkehrt, wodurch die Wahrscheinlichkeit des Abgangs dieser Kuh sich um das Dreifache erhöht (19).

Auf Basis des klinischen Verlaufes werden Mastitiden in klinisch und subklinisch unterteilt. Eine klinische Mastitis kann entweder mild als reine Sekretionsstörung - klinischer Score 1-, moderat als Sekretionsstörung mit Euterveränderungen - Score 2 - oder schwer als Sekretionsstörung mit Euterveränderungen und gestörtem Allgemeinbefinden - Score 3 - auftreten. Bei einer subklinischen Mastitis erhöht sich die Zellzahl auf über 100 000 Zellen/ml Milch, die Milchmenge geht zurück und man kann aus aseptisch entnommenen Milchproben einen Erreger isolieren, aber es kommt zu keiner klinisch erfassbaren Veränderung des Milchsekretes oder des Allgemeinbefindens (12). Der Verlauf einer Mastitis hängt stark von der den Virulenzfaktoren des Erregers und der Immunkompetenz der Kuh bzw. der Milchdrüse ab (20).

2.1.3 Änderung der Milchzusammensetzung

Jede Mastitis führt zu einigen Veränderungen in der Milchzusammensetzung (12). Diese Veränderungen werden schon seit langer Zeit als Kriterium für Milchqualität und Eutergesundheit eingesetzt (21). Bereits in subklinisch infizierten Eutervierteln nehmen die Menge an Laktose und Fett durch den Entzündungsprozess und die verminderte synthetische Aktivität des Drüsengewebes ab. Der Proteingehalt ändert sich durch den entzündlichen Prozess, wobei sich aber die verschiedenen Proteintypen unterschiedlich verhalten. Der Gehalt an Casein, des wichtigsten Milchproteins, nimmt ab, wohingegen Serumalbumin, Immunglobuline und andere Serumproteine durch die erhöhte Permeabilität der Gefäße zunehmen (12). Der pH- Wert steigt von 6,6 auf 6,9 oder noch höher durch das Vorhandensein von Blutkomponenten in der Milch an. Die elektrische Leitfähigkeit wird durch den vermehrten Einstrom von Chlorid- und Natriumionen aus dem Blut erhöht (12).

Durch die Infektion und die Entzündungsreaktion steigt die Zellzahl in der Milch an. Durch die erhöhte Gefäßpermeabilität strömen PMN nicht nur in die akut infizierten Alveolen ein, sondern reichern sich auch in Milchkanälchen, der Zisterne und in der Zitze an. Weiters kommt es in der Akutphase der Infektion durch die vermehrte Zytokinausschüttung von Leukozyten zum massiven Anstieg der PMN. Die Zellzahl bleibt bis zur Beseitigung der Bakterien und dem Einsetzen des Heilungsprozesses hoch (12). Das normale differenzierte Zellbild einer gesunden Milchdrüse besteht aus den dominierenden Makrophagen sowie Lymphozyten, PMN und Epithelzellen, wobei jedoch das Verhältnis der vorhandenen Zellen im Laufe der Laktation, der Milchfraktion und Laktationsanzahl stark variieren kann. Bei einer intramammären Infektion hingegen steigt der prozentuelle Anteil von PMN im Differenzialzellbild auf mehr als 90 % an (22). Der Hauptfaktor, der zu einer Erhöhung der somatischen Zellzahl und zu Veränderungen innerhalb des Differenzialbildes der Milchzellen führt, ist der Infektionsstatus der Mamma. Die folgenden Faktoren können zwar ebenfalls Einfluss auf eine Zellzahlerhöhung haben, sind aber von untergeordneter Bedeutung: Rasse, Alter der Kuh, Laktationsstadium, Jahreszeit, Tageszeit, Stress und Managementfaktoren. Natürlich kann die Zellzahl durch einen technischen Fehler bei Entnahme, Transport und Beprobung ebenfalls erhöht sein (23).

2.1.4 Spektrum der Mastitiserreger

Die Hauptauslöser von Mastitiden sind meist bakterielle Infektionen, seltener kommen Infektionen mit Algen, Spross- oder Schimmelpilzen vor (15). Die Mastitiserreger können nach epidemiologischen Kriterien in umweltassoziierte Pathogene, welche in der unmittelbaren tierischen Umgebung wie beispielsweise der Einstreu vorkommen und in der Zwischenmelkzeit aufgenommen werden und in kontagiöse oder kuhassoziierte Pathogene, welche besonders gut an das Überleben in der Milchdrüse angepasst sind und im Zuge des Melkvorganges über die Melkarbeit, durch Melkerhände und Melktechnik von Kuh zu Kuh übertragen werden (3). Die häufigsten umweltassoziierten Mastitiserreger sind *Escherichia (E.) coli, Serratia (Serr.) marcescens, Streptococcus (Sc.) uberis* und *Sc. dysgalactiae*. Die wichtigsten kuhassoziierten Pathogene sind *Staphylococcus (S.) aureus, Sc. agalactiae, Sc. canis, Corynebacterium (C.) bovis* und *Mycoplasma (M.) bovis* (24).

Nach Pathogenität können Mastitiserreger in Major und Minor Pathogene eingeteilt werden. Major Pathogene verursachen klinische Mastitiden mit moderaten bis schweren Verlauf und subklinische Mastitiden mit gravierenderen wirtschaftlichen Schäden. Dazu zählen beispielsweise *S. aureus, E. coli, Sc. uberis, Sc. dysgalactiae* und andere Streptokokken. Minor Pathogene dahingegen verursachen kaum klinische Mastitiden; subklinische Mastitiden gehen mit moderatem Zellzahlanstieg einher, oft kommen sie gleichzeitig als Kommensalen auf der Schleimhaut bzw. der Haut vor und sind fakultativ pathogen. In die Gruppe der Minor Pathogene fallen Nicht Aureus Staphylokokken (NAS), vormals als Koagulase-negative Staphylokokken (KNS) bezeichnet, und *C. bovis*.

Zu den selteneren, aber klinisch bedeutsamen Mastitiserregern gehören *Pseudomonas aeruginosa, Serratia marcescens, Truperella pyogenes*, Sprosspilze und Prototheken (12).

2.2 Mastitisdiagnostik

2.2.1 Klinische Untersuchung

Bei Auftreten von Mastitiden sollte man nicht nur eine spezielle Untersuchung des Euters, sondern auch einen abgekürzten allgemeinen klinischen Untersuchungsgang durchführen (25). Die Untersuchung der Milchdrüse erfolgt beim Rind immer vergleichend und durch Adspektion und Palpation. Am Beginn betrachtet man das Euter von allen Seiten, wobei man auf Symmetrie, Formveränderungen und zusätzliche Zitzen achtet. Bei der Palpation durchtastet man alle vier Viertel. Man beginnt an der Zitze mit der Besichtigung die Strichkanalöffnung, tastet dann mit einer walkenden Bewegung den Strichkanal und die Zitzenzisternenschleimhaut ab und palpiert dann den Übergang in die Drüsenzisterne. Abschließend palpiert man mit beiden Händen vergleichend das Drüsenparenchym und überprüft die Verschieblichkeit der Euterhaut. Der physiologische Befund der Untersuchung der Milchdrüse lautet: „Gesäuge/Euterviertel weich-elastisch, nicht schmerzhaft, Haut verschieblich“ (25). Anschließend werden als erste diagnostische weiterführende Untersuchungen ein California Mastitis Test (CMT) und eine aseptische Entnahme einer Viertelgemelksproben für eine bakteriologische Untersuchung (BU) durchgeführt. Darauf können noch weitere spezifische bakteriologische, zytologische oder chemische Untersuchungen folgen (25).

2.2.2 California Mastitis Test

Der CMT macht eine Erhöhung der Zellzahl sichtbar, welche für eine Euterentzündung spricht, und ist besonders wichtig für die Detektion von subklinischen Mastitiden. Jede der vier Schalen wird mit Milch aus einem der vier Vierteln gefüllt, ohne dass die Zitze davor eine spezielle Vorbereitung benötigt, da Fremdkörper wie Stroh oder Schmutz die Reaktion nicht verfälschen. Die Testflüssigkeit enthält einen anionischen Detergens und einen Indikator. Das anionische Detergens sorgt für die Freisetzung von DNS aus den vorhandenen Zellen, was zu einer Viskositätsveränderung bei erhöhter Zellzahl führt. Der Indikator zeigt pH-Wert Veränderungen der Milch an. Physiologische Milch ist flüssig mit einem pH-Wert von 6,6 und enthält weniger als 100 000 Zellen/ml.

Die Tabelle 1 zeigt den Zusammenhang zwischen der Viskosität des Schalm-Milchgemisches, der semiquantitativen Beurteilung, negativ bis +++, und dem Zellgehalt im Viertelgemelk. In Milch gesunder Euterviertel ist das Milch-Schalm-Gemisch purpurfarben. Zu einer intensiven Purpurfärbung kommt es, wenn der pH-Wert erhöht ist, durch beispielsweise eine Mastitis, Kolostrum und bei altmelkenden Kühen. Bei einem erniedrigten pH-Wert unter 5,2 verfärbt der Indikator die Probe gelb, was z. B. von laktoseabbauenden Bakterien verursacht wird. Bei der pH-Wert- Bestimmung ist aber immer die Gebrauchsanweisung des Herstellers zu beachten (25). Da dies ein einfach durchzuführender diagnostischer Test ist nutzen ihn Landwirt*innen selbstständig (2).

Tab. 1: *Schema zur Beurteilung und Auswertung des CMT*

Testbild	**Beurteilung**	**Geschätzter Zellgehalt pro ml Milch**
flüssig	-	<150 000 Zellen
ggr. Schlieren	(+)	100 000-250 000 Zellen
hgr. Schlieren	+	200 000-700 000 Zellen
Gelbildung	++	500 000-1 500 000 Zellen
Gelbildung und Propf	+++	>1 000 000 Zellen

2.2.3 Bakteriologische Untersuchung von Viertelgemelksproben

Voraussetzung für die bakteriologische Untersuchung einer Milchprobe ist die aseptische Gewinnung einer Viertelgemelksprobe. Idealerweise werden dafür alle vier Euterviertel beprobt oder zumindest das betroffene Viertel. Die korrekte Durchführung erfordert die konsequente Einhaltung der hygienischen Standards, um eine Verunreinigung der Probe zu verhindern. Dafür hält man sich am besten an die von Baumgartner und Wittek (2018) beschriebene Entnahmetechnik (25).

Bei der bakteriologischen Untersuchung von Milchproben werden sterile Ösen, ein Inkubator mit 37 °C und Universalnährboden als Nährmedium, meist Columbia-Agar mit Schafblut, benötigt. Im Labor werden die Viertelgemelksproben nach standardisierten Richtlinien aufgearbeitet (26).

2.2.4 Messung der somatischen Zellzahl und Zelldifferenzierung

Die Zellzahl kann durch direkte oder indirekte Messmethoden bestimmt werden. Zu den indirekten Verfahren zählt beispielsweise der California Mastitis Test (7). Zu den direkten Methoden gehören mikroskopische Ausstriche und die Erfassung in Zählkammern sowie fluoreszenzoptische Verfahren. Das fluoreszenzoptische Verfahren wird als Routineuntersuchung mit Hilfe von speziellen Geräten wie dem Fossomatic™ in vielen Molkereien und in den Laboren des Landeskontrollverbandes (LKV) genützt. Dabei wird die Milchprobe mit einem Fluoreszenzfarbstoff eingefärbt und durch Durchflusszytometrie ausgezählt. In der Viertelgemelksprobe ist eine Zellzahl von unter 100 000 Zellen/ml physiologisch und in der Tankmilch, der Sammelmilch aller laktierenden Tiere eines Bestandes, soll der Wert für gute Qualität nicht über 200 000 Zellen pro ml liegen (21).

Die Zellzahlmessung stellt eine kostengünstige Qualitätsüberprüfung von Rohmilch dar, ist aber auch eine weitverbreitete Technik zur Erkennung von Mastitiden (4). Durch die Landeskontrollverbände und die Molkereien gibt es Zellzahlüberprüfungen sowohl auf Kuh- als auch auf Herdenebene in regelmäßigen Abständen und diese Aufzeichnungen reichen viele Jahre zurück. Die regelmäßige Kontrolle der somatischen Zellzahl in der Tankmilch und die Einführung als Qualitätsmerkmal für Rohmilch in den neunziger Jahren sorgte für eine Senkung der Zellzahl in der angelieferten Milch (27, 28). Die Zellzahl wird daher als zentrales Kriterium der Eutergesundheit und der Milchqualität angesehen und ist in der Erzeuger-Rahmenbedingungen-Verordnung (2019) verankert (27).

Die Differenzierung der verschiedenen Zellfraktionen in der Milch ist eine neuere Technik der Mastitisdiagnostik, welche noch nicht routinemäßig von den Molkereien und Kontrollverbänden genutzt wird (29). Bisher wurde diese Technik nicht routinemäßig verwendet, sondern fand nur in der Forschung Anwendung. So waren bisherige Untersuchungen kosten- und arbeitsintensiv, da kein Analysegerät mit ausreichend hoher Durchlaufzahl verfügbar war (30). Die Bestimmung der verschieden Zellen in der Milch kann bisher direkt durch mikroskopische Ausstriche und Zählkammern erfolgen oder indirekt durch fluoreszenzoptische Verfahren, wobei die Zellkerne mit einem spezifischen Farbstoff gefärbt und per Durchflusszytometrie ausgezählt werden (22, 31). Beide Methoden weisen jedoch spezifische Nachteile auf. Die Mikroskopie ist zeitaufwändig und schlecht wiederholbar,

während es den Durchflusszytometern bislang an Genauigkeit und hoher Durchflussrate mangelte (30). Dies hat sich aber durch die neuere Technik, wie sie beispielsweise im neuen Fossomatic™ 7DC (Foss A/S, Hillerød, Dänemark) vorhanden ist, geändert. Der Fossomatic™ 7DC wertet SCC und DSCC aus, schafft bis zu 600 Proben pro Stunde und erfüllt die Standards zur Wiederholbarkeit (29, 30).

Das Differenzialzellbild (DSCC) zeigt Veränderungen der relativen Zellzusammensetzung von Lymphozyten, Makrophagen und PMN an. Dies wird als Prozentanteil von Lymphozyten und Neutrophilen am gesamten somatischen Zellbild definiert (22, 31, 32). Der Anteil der Makrophagen kann durch 100 % - DSCC ermittelt werden (11). In einem gesunden Viertel sind die dominierenden Zellen Makrophagen, daher ist der DSCC-Wert niedrig. In einem von Mastitis betroffenen Viertel aber dominieren durch die Immunreaktion die polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten, wodurch sich der DSCC-Wert über den Cut-Off-Bereich erhöht (31, 33). Ein definierter DSCC-Wert bis wann ein Euter als gesund beziehungsweise ab wann als krank anzusehen ist wurde noch nicht eindeutig festgelegt: In der Literatur schwanken die Werte zwischen 50 % und 70 % (10, 22, 31, 32). Die Auswertung des DSCC ist bei Zellzahlen unter 50 000 Zellen/ml eingeschränkt und liefert in diesem Bereich kein verwertbares Ergebnis des DSCC. Da man bei Tieren mit so geringer Zellzahl von gesunden Tieren ausgeht, sollte die Detektion von subklinischen Mastitiden ab 50 000 Zellen/ml begonnen werden (8, 11, 31).

Im Rahmen dieser Diplomarbeit sollte untersucht werden, ob die Messung des Differenzialzellbildes in der Milch einen Mehrwert für die Erkennung infizierter Euterviertel bringt. Dafür wurde die Zellzahl und das Differenzialzellbild sowohl in Viertelgemelksproben als auch in Einzelgemelksproben gemessen. Zeitgleich wurde auch eine BU in aseptisch gewonnenen Viertelgemelksproben durchgeführt, um den Eutergesundheitsstatus auf Kuh- und Tierebene definieren zu können.

3 Material und Methoden

3.1 Betriebsbesuche und Probengewinnung

Die Betriebsbesuche mit anschließender Probenentnahme fanden von Anfang Jänner 2023 bis Ende April 2023 in der Steiermark statt. Die Betriebe wurden aufgrund eines erhöhten Mastitisrisikos und von Vorbefunden von *S. aureus* in den eingeschickten Proben ausgewählt. Die acht Betriebe nahmen freiwillig und aus eigenem Interesse an der Studie teil, da auch die Landwirt*innen die Ergebnisse aus den Probenentnahmen erhielten. Es wurden sechs Betriebe zweimal im Abstand von 40 Tagen und zwei Betriebe einmal zeitgleich mit dem Landeskontrollverband Steiermark bei der monatlichen Milchleistungsüberprüfung beprobt. Einmal fand die Probenentnahme bei der Morgenmelkung und einmal bei der Abendmelkung statt. Sieben der acht Betriebe waren Laufstallbetriebe mit Melkstand, ein Betrieb hielt die Kühe in Anbindehaltung mit Rohrmelkanlage.

3.1.1 Ethikkommission

Die Beprobung der Tiere auf den acht steirischen Betrieben wurde der Ethikkommission der Veterinärmedizinischen Universität gemeldet und genehmigt.

3.2 Probenentnahmen

Bei beiden Betriebsbesuchen auf den Betrieben wurden bei jeder laktierenden Kuh folgende Proben genommen:

- Durchführung eines California Mastitis Tests
- Aseptische Entnahme von Viertelgemelksproben für die bakteriologische Untersuchung
- Entnahme von Viertelgemelksproben für die Messung von Zellzahl und Differenzialzellbild
- Entnahme einer Einzelgemelksprobe für die Messung von Zellzahl und Differenzialzellbild

Betraten die Kühe den Melkstand wurde zunächst ein CMT gemacht und das Ergebnis notiert. Dann wurden die Zitzen durch das Melkpersonal gereinigt und vorgemolken. Darauf folgte die Desinfektion der Strichkanalmündungen und die aseptische Entnahme von Viertelgemelksproben für die BU sowie für die Messung der somatischen Zellzahl und die Bestimmung des Differenzialzellbildes. Unmittelbar danach wurden die Melkbecher angehängt und die Tiere entsprechend der täglichen Melkroutine gemolken. Die Einzelgemelksprobe wurde am Ende jeder Melkung aus dem Gesamtgemelk aller vier Euterviertel in ein 50 ml Probenröhrchen abgefüllt. Insgesamt verlängerten wir durch unsere Probennahme die Melkzeit um durchschnittlich 30-45 Minuten. Bei jedem Betrieb wurde die beschriebene Reihenfolge der Beprobung eingehalten.

3.2.1 California Mastitis Test

Für die Durchführung eines Schalmtests wird die Milch aus den einzelnen Vierteln händisch in je eine der vier Schalen gemolken. Dann wird aus den Schalen die überschüssige Milch bis zur Markierung verworfen und im Verhältnis 1:1 die Testflüssigkeit hinzugefügt. Danach wurde jede Schale während des Schwenkens von Milch mit Testflüssigkeit beurteilt und die Viskositätsveränderung beobachtet. Das Ergebnis jedes Viertels der Kuh wurde entweder als negativ (-), schwach positiv (+), positiv (++) oder stark positiv (+++) nach den in Tabelle 1 beschriebenen Kriterien notiert.

3.2.2 Aseptische Milchprobenentnahme für die bakteriologische Untersuchung

Vor jedem Betriebsbesuch wurden die sterilen Probenröhrchen mit Viertel und Kuhnummer aus dem LKV-Daten versehen. Im Betrieb wurde nach der Reinigung und dem Vormelken die Strichkanalöffnung aller vier Viertel mit einem alkoholgetränkten Wattetupfer mit drehenden Bewegungen desinfiziert, wobei mit der vom Probennehmer entferntesten hinteren Zitze begonnen wurde. Die Entnahme der Milchprobe erfolgte in umgekehrter Reihenfolge durch Melkung eines Milchstrahles in die vorbereiteten sterilen Proberöhrchen. Diese wurden bis zur Abholung durch einen Kurierdienst im Kühlschrank bei 4 bis 8 °C gelagert. Der Kurierdienst verbrachte die Proben meist noch am selben Tag in das Labor des Steirischen Eutergesundheitsdienstes in Graz.

3.2.3 Entnahme von Viertel- und Einzelgemelksproben für die Zellzahlmessung

Die Entnahme der Viertelgemelksproben erfolgte nach der Probenentnahme für die bakteriologische Untersuchung. Dafür wurden mit Barcode versehenene 50 ml Probenröhrchen des Kontrollverbandes benötigt. Vor jeder Melkung wurde dieser gescannt, sodass alle Probenröhrchen dem jeweiligen Euterviertel und Tier zugeordnet werden konnten. Alle Röhrchen wurden mit ungefähr 20 ml Milch befüllt.

Die Einzelgemelksprobe war eine Sammelmilchprobe aus der gesamten ermolkenen Milch jeder einzelnen Kuh. Im Rahmen der Milchleistungsüberprüfung wird dafür ein Messzylinder in das Melksystem integriert. Aus dieser Probe wurden 20 ml Milch zur Bestimmung der Milchinhaltsstoffe, der somatischen Zellzahl und des Differenzialzellbildes in standardisierte, mit Barcodes versehene Proberöhrchen abgefüllt.

Alle Proben wurden dann in einem Aufbewahrungskorb gesammelt und in das Qualitätslabor St. Michael in der Obersteiermark gebracht, wo die Milchinhaltsstoffe, die Zellzahl und das Differenzialzellbild bestimmt wurden.

3.3 Labordiagnostische Auswertung

3.3.1 Bakteriologische Untersuchung der Viertelgemelksproben

Die bakteriologische Auswertung der Proben wurde im Labor des Steirischen Eutergesundheitsdienstes in Graz gemacht. Das Labor hat die BU entsprechend den Vorschriften des National Mastitis Council (NMC, 2017) durchgeführt. Dafür wurden die Viertelgemelksproben auf Columbia Agar mit 5 % Schafblut mäanderförmig ausplattiert. Die Befundung erfolgte nach 24 und 48 Stunden Inkubation bei 37 °C anhand der Kolonienmorphologie und des Hämolyse-Verhaltens sowie mithilfe einfacher biochemischer Tests, wie dem Katalase-Test zur Bestätigung von Katalase-negativen Kokken, dem KOH-Test zur Identifikation von gramnegativen Bakterien, der Lancefield-Serogruppierung bei Streptokokken, sowie dem Koagulasetest zur Differenzierung von *S. aureus* und NAS.

3.3.2 Bestimmung der Zellzahl und des Differenzialzellbildes

Die Zellzahlmessung und die Erstellung des Differenzialzellbildes wurden im Qualitätslabor St. Michael in der Obersteiermark, welches die Milchproben des Landeskontrollverbandes Steiermark auswertet, durchgeführt. Die Milchproben werden im ersten Schritt erwärmt, danach werden die Stoppel von den Flaschen entfernt. Mit einem Rührwerk wird die Probe vermischt. Dann gelangen die Milchproben in den Fossomatic™ 7DC (Foss A/S, Hillerød, Dänemark), wo sie im Verhältnis 1:3,2 mit dem DC-Reagenz vermischt werden, welches im Verhältnis 1:10 aus einem DC-Farbstoff Acridin-Orange und dem DC-Verdünnungsmittel besteht. Die Probe wird eine Minute bei 40 °C inkubiert, kurz gevortext und dann im Durchflusszytometer differenziert. Für die Differenzierung wird als Lichtquelle eine LED-Laserstrahl genutzt. Die Fluoreszenzsignale jeder Zelle werden an den Detektoren gemessen. Alle fluoreszierenden Zellen werden mittels eines Forward- und eines Side Scatters anhand ihrer Größe und Granularität identifiziert. Die Ergebnisse aus dem Durchflusszytometer werden von einer Software analysiert. Für die Bestimmung der Zellzahl wurde ein festes Volumen von 50 µl Milch analysiert (31). Der Fossomatic™ 7DC (Foss A/S, Hillerød, Dänemark) hat eine Analysekapazität von 200 Proben pro Stunde.

3.4 Statistische Auswertung

Für die statistische Aufarbeitung der Arbeit wurde die Software von Microsoft Excel 2022 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) und SPSS Statistics 29.0 (IBM, Amonk, NY, USA) verwendet. Die Untersuchungsergebnisse wurden zunächst deskriptiv ausgewertet. Dies umfasst den Anteil an BU-positiven Tieren sowie das Erregerspektrum in den Betrieben auf Kuhebene sowie auf Viertelgemelksebene. Zur Festlegung des Eutergesundheitsstatus auf Tier- bzw. Viertelebene wurde in Anlehnung an die Mastitisdefinition der International Dairy Federation (IDF) ein CUT-off-Wert der Zellzahl von 100 000 Zellen/ml zur Unterscheidung von eutergesund und euterkrank herangezogen. Die angewandte Mastitisdefinition (MastDefSCC) berücksichtigt nicht nur die somatische Zellzahl, sondern auch die Ergebnisse der BU, wie in Tabelle 2 ersichtlich ist. Als Grenzwert für die Mastitisdefinition des Differenzialzellbildes (MastDefDSCC) wurde ein DSCC von >68,5 % basierend auf den Untersuchungen von Zecconi et al. (2019) angewandt, siehe Tabelle 3. Die Vierfeldertafeln auf

Basis von Zellzahl und Erregernachweis, siehe Tabelle 2, wurde als Referenzwert für die Bestimmung der Sensitivität und Spezifität des Differenzialzellbildes zur Detektion von infizierten, BU-positiven Tieren herangezogen. Die Berechnungen erfolgten auf Basis der in Tabelle 4 dargestellten Formeln. Um die Qualität des DSCC Klassifikators zu berechnen, wurde eine ROC-Kurve erstellt. Für jeden DSCC-Wert wurden auf der y-Achse die Richtig-Positiv-Rate und auf x-Achse die Falsch-Positiv-Rate aufgetragen. Durch die Berechnung des Youden-Indexes wurde der optimale DSCC Klassifikator ermittelt. Zur Darstellung und Berechnung wurde der dekadische Logarithmus der somatischen Zellzahl herangezogen und auf Normalverteilung überprüft.

Tab. 2: Mastitisdefinition auf Grundlage der somatischen Zellzahl und der Ergebnisse der BU

MastDefSCC	**Zellzahl**	**BU**
Eutergesund	≤ 100 000/ml	negativ
Latent infiziert	≤ 100 000/ml	positiv
Sekretionsstörung	>100 000/ml	negativ
Subklinische Mastitis	>100 000/ml	positiv

Tab. 3: *Mastitisdefinition auf Basis des Differenzialzellbildes (Zecconi et al. 2019)*

MastDefDSCC	**DSCC**
Eutergesund	≤ 68,5 %
Euterkrank	> 68,5 %

Tab. 4: *Definition und Abkürzungen für die verwendeten statistischen Maße zur Bewertung der Zuverlässigkeit des DSCC*

Parameter	**Abkürzung**	**Definition**
Sensitivität	Sen.	Richtig Positive (RP)/RP+Falsch Negative (FN)
Spezifität	Spez.	Richtig Negative (NP)/NP+Falsch Positive (FP)

4 Ergebnisse

Diese Arbeit beschäftigt sich vorrangig mit dem Differenzialzellbild, dem somatischen Zellbild und den daraus erstellten Mastitisdefinitionen. Ergänzend werden auch die Resultate der bakteriologischen Untersuchung dargestellt. Die Ergebnisse wurden in die Kapitel Kuhebene und Viertelebene unterteilt.

Durchschnittlich wurden 27 Kühe pro Melkung pro Betrieb beprobt, wobei der kleinste Betriebe 20, der größte 37 laktierende Kühe hatte. Die mittlere Milchleistung lag bei 26,8 Litern Milch mit durchschnittlich 3,6 % Eiweiß, 4,2 % Fett und einer Zellzahl von 123 000 Zellen/ml. Insgesamt wurden 425 Einzelgemelke entnommen, der Großteil der Kühe wurde zweimal im Abstand von 40 Tagen beprobt.

Im Labor des Steirische Eutergesundheitsdienstes in Graz wurden 1653 Viertelgemelksproben bakteriologisch untersucht. Die Analyse von SCC und DSCC wurde anhand von 425 Einzelgemelks- und 1653 Viertelgemelksproben durchgeführt, sodass insgesamt 2078 Proben ausgewertet werden konnten. Zwei Kühe auf Kuhebene und zehn Kühe auf Viertelebene mussten aufgrund von fehlenden Zellzahlergebnissen aus unserer Auswertung ausgeschlossen werden.

4.1 Ergebnisse auf Kuhebene

4.1.1 Bakteriologische Untersuchung

Die Ergebnisse auf Kuhebene entstehen durch die Summierung der Ergebnisse sämtlicher Viertel der jeweiligen Kuh und sind in Abbildung 1 dargestellt. Demnach bedeutet ein negatives Ergebnis, dass jedes Viertel negativ getestet wurde. Positive Ergebnisse wurden in Gruppen nach dem jeweiligen Mastitiserreger unterschieden. Für mit zwei Pathogenen belastete Kühe wurden Doppelgruppen z.B. NAS/Strep erstellt. Eine intramammäre Infektion mit mehr als zwei unterschiedlichen Mastitiserregern wurde in keiner Probe festgestellt. Insgesamt waren 265 Kühe in der bakteriologischen Untersuchung negativ. Wie in Abbildung 1 ersichtlich ist, waren der Großteil der positiv getesteten Tiere mit NAS (80 Kühe) oder *S. aureus* (49 Kühe) infiziert. Streptokokken wurden bei 18 Kühen nachgewiesen, Coliforme bei 4 Tieren. Bei einer Kuh wurden *S. aureus* und Streptokokken bei zwei Kühen *S. aureus* und NAS nachgewiesen.

Bei vier Kühen ergab die BU sowohl eine intramammäre Infektion mit NAS als auch mit Streptokokken.

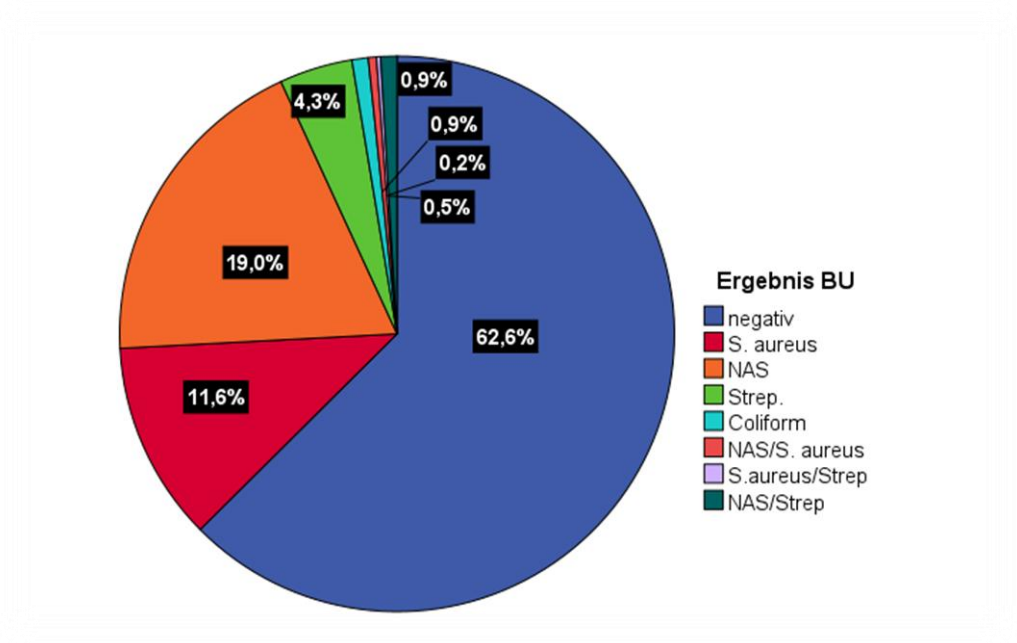


Abb. 1: *Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung von 423 Kühen: Prozentuelle Verteilung der BU negativen Tiere, bzw. der Kühe mit Nachweis der jeweiligen Mastitiserreger*

4.1.2 Ergebnisse der Zellzahlmessung und des Differenzialzellbildes

Auf Einzeltierebene lagen 423 Zellzahlmesswerte der Milchleistungsprüfung vor. In sechs Betrieben wurden alle laktierenden Tiere an zwei aufeinanderfolgenden LKV-Kontrollen im Abstand von 40 Tagen untersucht. In den zwei Betrieben K_H und K_R erfolgte nur ein Betriebsbesuch. Die Überprüfung der Zellzahlmesswerte auf Normalverteilung mittels Kolomirnov-Smirnov Test ergab, dass keine Normalverteilung vorlag, auch dann nicht, wenn die logarithmierten Zahlenwerte herangezogen wurden. Daher werden die Ergebnisse der Zellzahlmessungen innerhalb der Betriebe grafisch als Boxplots in Abbildung 2 dargestellt. Jeder Boxplot fasst die logarithmierten Zellzahlmesswerte am jeweiligen Tag des Betriebsbesuches zusammen. Es wird deutlich sichtbar, dass der Großteil der Tiere im Mittel eine Zellzahl von weniger als 100 000 Zellen/ml hatte. In Abbildung 2 markiert die

durchgehende Parallele zur x-Achse eine Zellzahl von 100 000 Zellen/ml, die strichlierte Linie einer Zellzahl von 1 Million Zellen/ml.

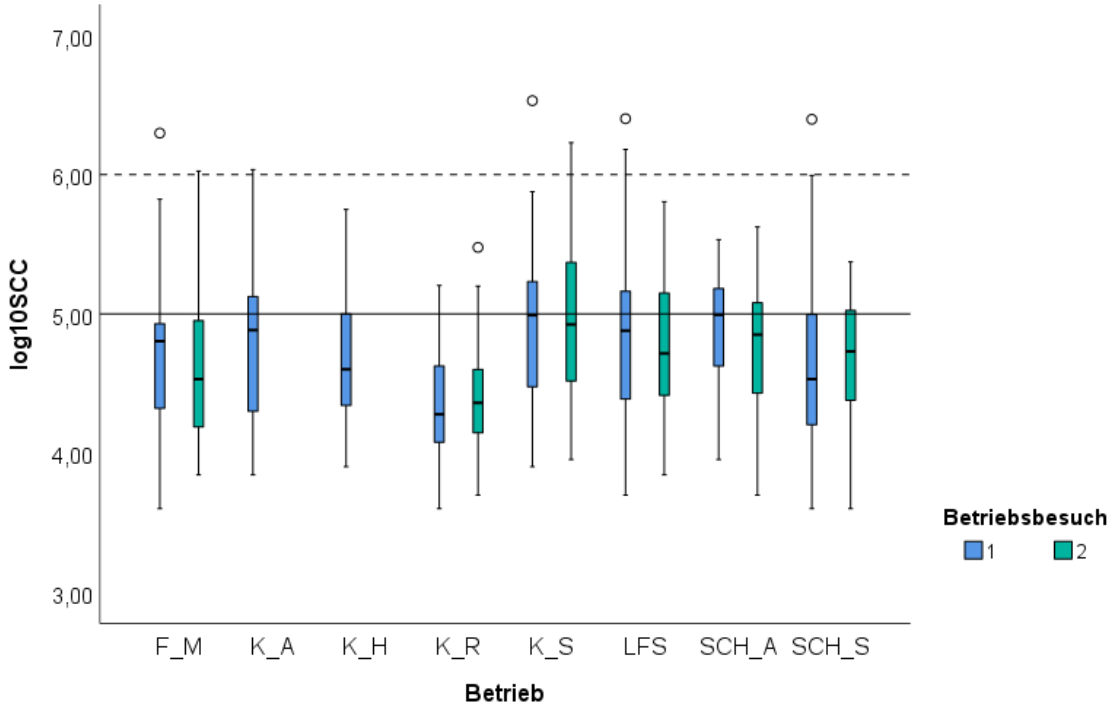


Abb. 2: Zusammenfassung der Ergebnisse der Einzeltierzellzahlen innerhalb der 8 Betriebe und an den jeweiligen Zeitpunkten der Betriebsbesuche

Die Auswertung der Mastitisdefinition auf Basis der Einzeltierzellzahl bei der Milchleistungsprüfung von 423 Kühen und der BU ist in Tabelle 5 ersichtlich. Gemäß der MastDefSCC wurden 51,5 % der Kühe als eutergesund eingestuft, bei 18,9 % der Kühe wurde eine subklinische Mastitis festgestellt.

Tab. 5: Verteilung der Mastitisdefinition auf Basis von Zellzahl und BU der 423 beprobten Kühe

MastDefSCC	**Zellzahl**	**BU**	**Kühe (n)**	**Kühe (%)**
Eutergesund	≤ 100 000/ml	Negativ	218	51,5 %
Latent infiziert	≤ 100 000/ml	Positiv	78	18,4 %
Sekretionsstörung	>100 000/ml	Negativ	74	11,1 %
Subklinische Mastitis	>100 000/ml	Positiv	80	18,9 %
Gesamt			423	100 %

In Tabelle 6 wird die Verteilung von eutergesunden bzw. euterkranken Tieren allein auf Basis des DSCC-Wertes von 199 Tieren aufgelistet. Die hohe Anzahl fehlender Proben ergibt sich aus der Tatsache, dass, wie im Kapitel 2 Messung der somatischen Zellzahl und Zelldifferenzierung beschrieben, bei Proben mit einer Zellenzahl unter 50 000 Zellen/ml keine Differenzierung erfasst wird.

Tab. 6: *Auflistung der eutergesunden bzw. -kranken Kühe aufgrund des DSCC-Wertes*

MastDefDSCC	**DSCC**	**Kühe (n)**	**Kühe (%)**
Eutergesund	≤ 68,5 %	68	34,2 %
Euterkrank	> 68,5 %	131	65,8 %
Gesamt		199	100 %

4.1.3 Beurteilung des DSCC-Wertes auf Kuhebene

Für die weitere Analyse der Ergebnisse wurden ausschließlich die 199 Kühe mit DSCC-Ergebnis berücksichtigt. Die Ergebnisse des DSCC und SCC wurden den Ergebnissen der BU gegenübergestellt und mittels Vierfeldertafel ausgewertet. Aus den Vierfeldertafeln wurden die Sensitivität und die Spezifitäten ermittelt. Um eine strukturierte Auswertung zu gewährleisten, wurde ein CUT-Off-Wert von 100 000 Zellen/ml für eutergesund angewandt. Zusätzlich erfolgte eine grafische Aufbereitung der DSCC- und SCC-Ergebnisse, um die Verteilung zu veranschaulichen.

In der Vierfeldertafel aus SCC und BU sieht man, dass die Zellzahl allein nicht alle BU-positiven Tiere als euterkrank erkennt. Von 111 BU- positiven Tieren wurden 80 durch die SCC erfasst, dies führt zu einer Sensitivität von 72,1 %. Von den 88 BU-negativen Tieren wurden 41 Tiere korrekt als eutergesund identifiziert, daraus ergibt sich eine Spezifität von 46,6 %. Dies ist ersichtlich in Tabelle 7.

Tab. 7: *Vierfeldertafel aus somatischer Zellzahl und BU-Ergebnis auf Kuhebene*

	BU negativ	**BU positiv**	**Gesamt**
SCC eutergesund	41	31	72
SCC euterkrank	47	80	127
Gesamt	88	111	199

Die Vierfeldertafel in Tabelle 8, basierend auf DSCC und BU zeigt, dass das Differenzialzellbild 86 von 111 BU-positiven Tieren als euterkrank detektierte. Dies entspricht einer Sensitivität von 77,5 %. Von den 88 BU-negativen Tieren wurden 41 Tiere korrekt als eutergesund identifiziert, daraus ergibt sich eine Spezifität von 48,9 %.

Tab. 8: *Vierfeldertafel aus Differenzialzellbild und BU auf Kuhebene*

	BU negativ	**BU positiv**	**Gesamt**
DSCC eutergesund	43	25	68
DSCC euterkrank	45	86	131
Gesamt	88	111	199

Für die folgenden Verteilungsdarstellungen in den Abbildungen 3 und 4 wurden auf der x-Achse die logarithmierte Zellzahl mit dem Grenzwert fünf entsprechend 100 000 Zellen pro ml und auf der y-Achse der gemessene prozentuelle DSCC-Wert mit dem Grenzwert 68,5 % aufgetragen. In Abbildung 3 sind die einzelnen Punkte der Mastitisdefinition MastDefSCC entsprechend farblich markiert. Dabei ist erkennbar, dass latent infizierte Tiere häufig über dem Grenzwert des Differenzialzellbildes liegen und damit über den DSCC-Wert detektierbar werden. Auch Tiere mit einer Sekretionsstörung oder einer subklinischen Mastitis treten vermehrt über dem Grenzwert des DSCC auf. In Abbildung 8 sind die Ergebnisse aus den bakteriologischen Untersuchungen abgebildet. Im Bereich unterhalb beider Grenzwerte wurden vereinzelt Mastitiserreger nachgewiesen, wobei es sich dabei vorrangig um *S. aureus* und NAS handelt. Unterhalb des SCC-Grenzwertes von fünf fanden sich hauptsächlich NAS und *S. aureus*, während sich unterhalb des DSCC-Grenzwertes von 68,5 % neben NAS und *S. aureus* auch Streptokokken nachweisen ließen.

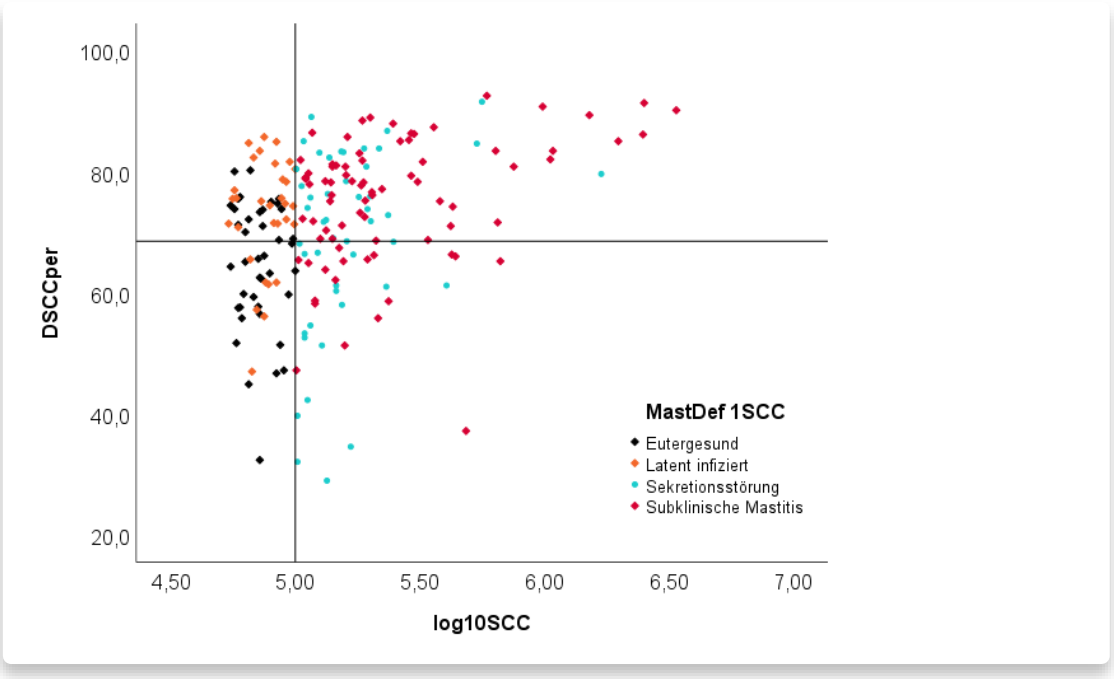


Abb. 3: *Grafische Darstellung der Verteilung von DSCC und SCC unter Berücksichtigung der Ergebnisse der MastitisdefinitionSCC auf Kuhebene*

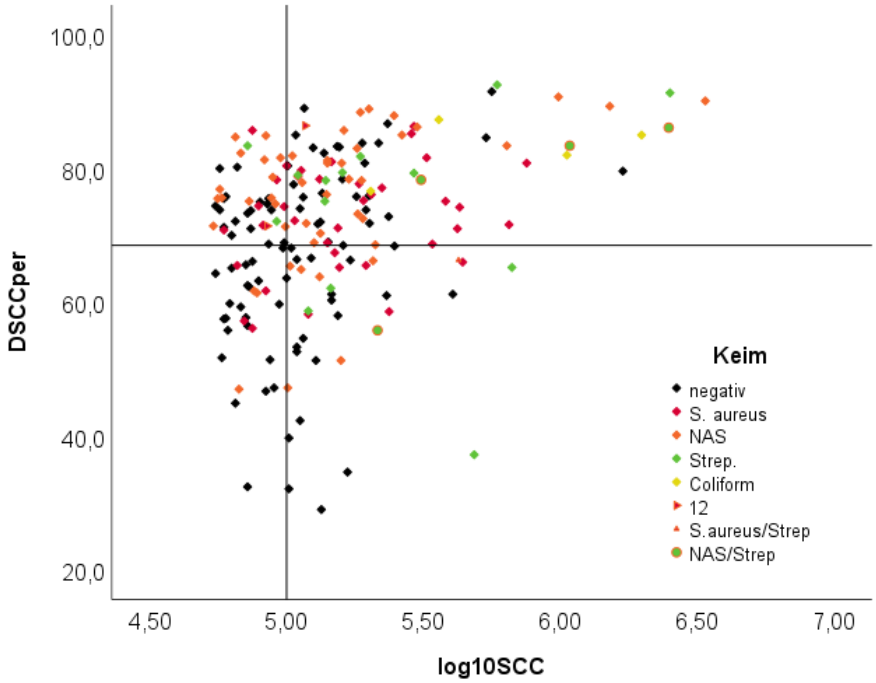


Abb. 4: *Grafische Darstellung der Verteilung von DSCC und SCC unter Berücksichtigung der BU-Ergebnisse auf Kuhebene*

4.2 Ergebnisse auf Viertelebene

4.2.1 Bakteriologische Untersuchung

Insgesamt wurden 1643 Untersuchungsbefunde in die Auswertung einbezogen, die prozentuelle Verteilung der Untersuchungsbefunde ist in Abbildung 5 dargestellt. Die bakteriologischen Untersuchungen auf Viertelebene ergaben 1422 BU negative Euterviertel. Die dominierenden Mastitispathogene waren *S. aureus* mit n=79 und NAS mit n=108 infizierten Vierteln. Darüber hinaus wurden vereinzelt auch noch Streptokokken und Coliforme nachgewiesen.

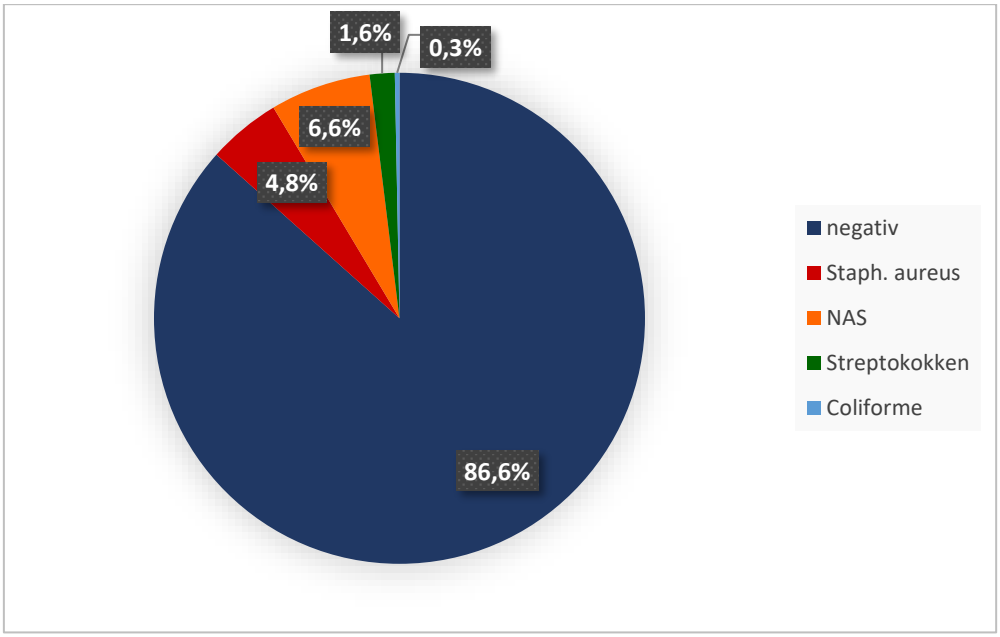


Abb. 5: *Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung auf Viertelebene*

4.2.2 Ergebnisse der Zellzahlmessung und des Differenzialzellbildes

Auf Viertelebene lagen 1643 Zellzahlmesswerte vor. Nach der MastDefSCC wurden 76,6 % der Euterviertel als eutergesund klassifiziert. 6,1 % wurden als latent infiziert, 7,2 % als subklinische Mastitiden und 9,8 % als Sekretionsstörung eingestuft (siehe dazu Tabelle 9).

Die Verteilung der DSCC-Werte wird in Tabelle 10 nur mit den 476 ausgewerteten Proben dargestellt. Die hohe Anzahl fehlender Proben ergibt sich aus der Tatsache, dass wiederum Proben mit einer Zellzahl von weniger als 50 000 Zellen/ml nicht in die Auswertung einbezogen wurden.

Tab. 9: *Ergebnisse der Mastitisdefinition aus SCC und bakteriologischen Proben auf Viertelebene*

MastDefSCC	**Zellzahl**	**BU**	**Viertel (n)**	**Viertel (%)**
Eutergesund	≤ 100 000/ml	negativ	1261	76,6
Latent infiziert	≤ 100 000/ml	positiv	101	6,1
Sekretionsstörung	>100 000/ml	negativ	162	9,8
Subklinische Mastitis	>100 000/ml	positiv	**119**	**7,2**
Gesamt			1643	100

Tab. 10: *Auflistung der eutergesunden bzw. -kranken Kühe aufgrund des DSCC-Wertes*

MastDefDSCC	**DSCC**	**Viertel (n)**	**Viertel (%)**
Eutergesund	≤ 68,5 %	194	40,8 %
Euterkrank	> 68,5 %	282	59,2 %
Gesamt		**476**	**100 %**

4.2.3 Beurteilung des DSCC-Wertes auf Viertelebene

Für die weitere Verarbeitung wurden ausschließlich Viertelproben berücksichtigt, für die auch ein DSCC-Ergebnis vorlag. Zur Bestimmung von Sensitivität und Spezifität wurden wiederum Vierfeldertafeln erstellt, in denen die Ergebnisse der BU jeweils den Ergebnissen von SCC bzw. DSCC gegenübergestellt wurden. Um eine eindeutige Auswertung zu gewährleisten, wurde ein CUT-Off-Wert von 100 000 Zellen/ml für eutergesund angewandt. Zusätzlich erfolgte eine grafische Darstellung von SCC und DSCC.

Die Vierfeldertafel zu SCC und BU veranschaulicht, dass von 152 bakteriologisch positiven Vierteln 118 anhand der SCC als euterkrank erkannt wurden, was zu einer Sensitivität von 77,6 % führt. Von 324 negativen Vierteln wurden 163 korrekt als eutergesund erkannt, woraus sich eine Spezifität 50,3 % ergibt, siehe Tabelle 11.

Tab. 11: *Vierfeldertafel aus SCC und BU auf Viertelebene*

	BU negativ	**BU positiv**	**Gesamt**
SCC eutergesund	163	34	197
SCC euterkrank	161	118	279
Gesamt	324	152	476

Die Vierfeldertafel in Tabelle 12 aus DSCC und BU zeigt, dass 120 Viertel der 152 bakteriologisch positiven Proben durch das DSCC korrekt als euterkrank erkannt wurde. Daraus ergibt sich eine Sensitivität von 78,9 %. Von den 324 BU-negativen Vierteln wurden 162 richtig als eutergesund erkannt, was einer Spezifität von 50 % entspricht.

Tab. 12: *Vierfeldertafel aus DSCC und BU auf Viertelebene*

	BU negativ	**BU positiv**	**Gesamt**
DSCC eutergesund	162	32	194
DSCC euterkrank	162	120	282
Gesamt	324	152	476

Für die folgende Verteilungsdarstellungen wurde auf der x-Achse die logarithmierten SCC-Werte mit dem Grenzwert fünf, dies entspricht einer Zellzahl von 100 000 Zellen/ml, und auf der y-Achse die prozentuellen DSCC-Werte mit dem Grenzwert 68,5 % aufgetragen.

In Abbildung 6 ist die Verteilung der Mastitisdefinitionen MastDefSCC innerhalb des Streudiagrammes farblich dargestellt. Dabei zeigt sich, dass der Großteil der latent infizierten Kühe oberhalb des Grenzwertes des Differenzialzellbildes liegen und damit über die DSCC-Werte erkannt werden können, auch wenn die Zellzahl noch im Normbereich liegt. Tiere mit einer subklinischen Mastitis befinden sich hauptsächlich über dem Grenzwert des DSCC. Allerdings sind auch einige subklinisch infizierte Euterviertel sichtbar, in welchen sich keine Auswirkung der Infektion auf das Differenzialzellbild darstellen lässt. Euterviertel mit Sekretionsstörungen liegen fast gleichmäßig verteilt über bzw. unter dem Grenzwert von Grenzwert von 68,5 %.

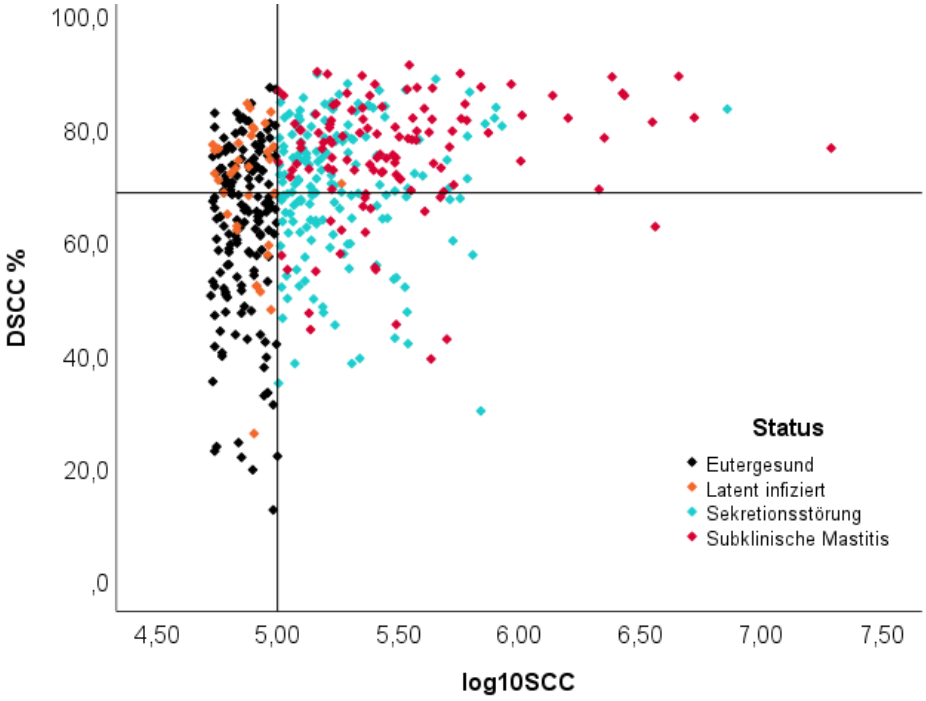


Abb. 6: *Grafische Darstellung der Verteilung von DSCC und SCC auf die MastitisdefinitionSCC auf Viertelebene*

In Abbildung 7 sind die Ergebnisse aus den bakteriologischen Untersuchungen im Streudiagramm farblich dargestellt. Im Bereich unterhalb des DSCC-Grenzwertes werden auch vereinzelt Infektionen mit Mastitiserregern sichtbar, wobei neben NAS als minor pathogen auch vereinzelt *S. aureus* und *Streptokokken* in diesem Segment detektiert werden.

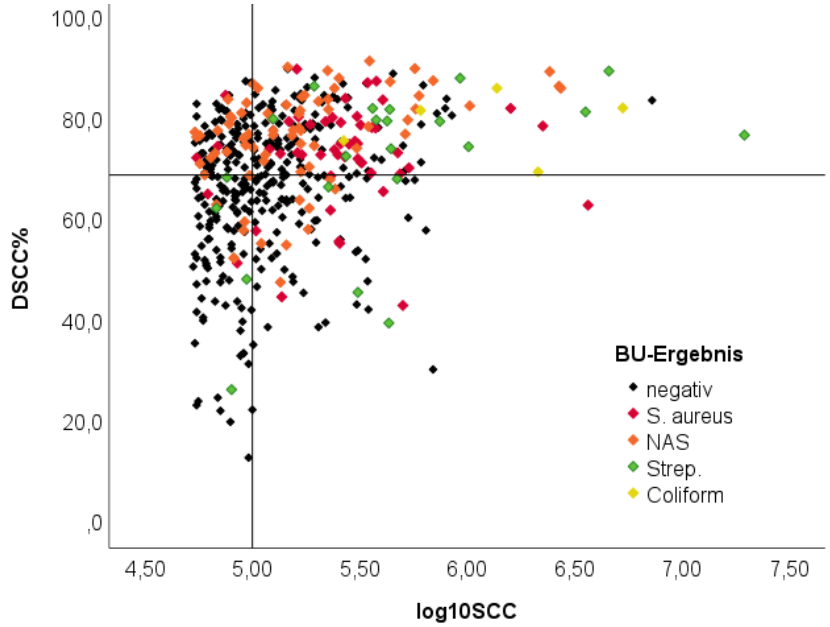


Abb. 7: Grafische Darstellung der Verteilung der BU-Ergebnisse auf DSCC und SCC auf Viertelebene

4.3 ROC-Kurven und Youden-Index

Zur Bestimmung des optimalen Grenzwertes mit der höchsten Sensitivität und Spezifität wurden ROC-Kurven erstellt und der Youden-Index berechnet. In diese Analyse flossen nur die Proben mit gemessenem DSCC-Wert ein. Dies dient auch zur grafischen Darstellung der Sensitivität und Spezifität. Auf der y-Achse ist die Sensitivität gegen die Falsch-positiv-Rate der Spezifität für jeden Messwert aufgetragen.

Auf Kuhebene ist der höchste Youden-Index mit 0,298 bei einem DSCC von 76 % errechenbar. Dies entspricht einer mäßigen Zuverlässigkeit. Der angenommene Cut-Off-Wert von 68,5 % erreichte einen Youden-Index von 0,263. Die ROC-Kurve in Abbildung 8 zeigt eine moderate Unterscheidungsfähigkeit zwischen eutergesund und euterkrank durch den DSCC-Wert. Auf Viertelebene zeigt sich der höchste Youden-Index mit 0,318 bei einem DSCC von 71,7 %. Dies entspricht einer mäßigen Zuverlässigkeit. Der gewählte Grenzwert von 68,5 % entspricht einen Youden-Index von 0,28. In Abbildung 9 ist die ROC-Kurve auf Viertelebene wiedergegeben, welche zeigt, dass bei hoher Sensitivität die Falsch-Positiv Rate ebenfalls hoch wird, was die Gesamtaussagkraft des DSCC-Wertes mindert.

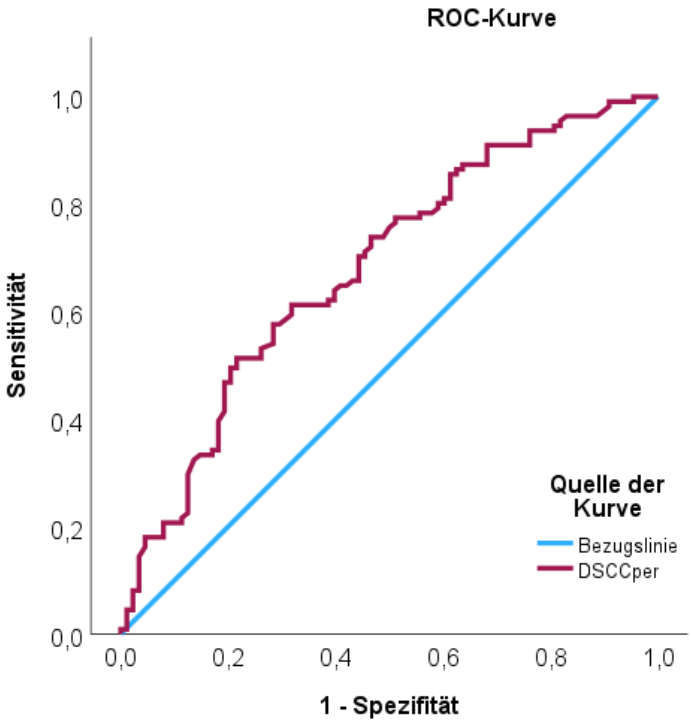


Abb. 8: ROC-Kurve auf Kuhebene

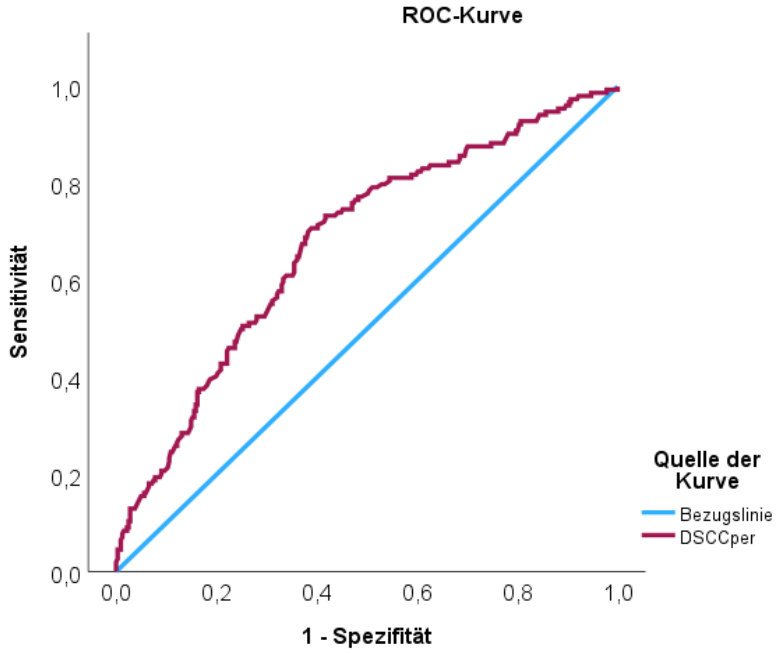


Abb. 9: ROC-Kurve auf Viertelebene

5 Diskussion

Das Differenzialzellbild ist durch den technischen Fortschritt zunehmend einfacher in der Praxis anwendbar und mittlerweile nicht mehr ausschließlich der Forschung vorbehalten. Moderne Analysegeräte in den Milchlabors ermöglichen neben der Bestimmung der somatischen Zellzahl auch die Differenzierung der Zellarten, was die einen zusätzlichen Indikator für eine Entzündungsgeschehen entsprechen sollte. Insbesondere für Betriebe, die an der Milchleistungsüberprüfung durch den Landeskontrollverband teilnehmen und ihre Kühe regelmäßig beproben lassen, stellt das Differenzialzellbild einen ergänzenden Parameter zur Beurteilung der Eutergesundheit dar. Trotz dieser technologischen Fortschritte liegen bislang nur wenige Studien zum Einsatz des DSCC unter Praxisbedingungen vor. Ziel dieser Arbeit war es daher, zu untersuchen, ob das Differenzialzellbild die Erkennung von Mastitiden auf Kuh- und Viertelebene verbessern kann und somit künftig als zusätzlicher Parameter zur Einschätzung der Eutergesundheit der Herden oder der einzelnen Kuh eingesetzt werden kann. Die zugrunde liegende Untersuchung wurde als Feldstudie auf acht Milchviehbetrieben in der Steiermark durchgeführt.

5.1 Unterscheidung von gesunden und infizierten Eutervierteln

Für ein effektives Eutergesundheitsmanagement ist es unerlässlich, gesunde von infizierten Eutervierteln zu unterscheiden. Diese Unterscheidung trägt einerseits zur Förderung des Tierwohls bei, indem Infektionen frühzeitig erkannt und gezielt behandelt werden können. Andererseits hat sie eine hohe Relevanz für die betriebswirtschaftliche Effizienz, da Produktionsverluste minimiert und unnötige Tierverluste vermieden werden. Darüber hinaus leistet eine gezielte Diagnostik und Therapie einen wichtigen Beitrag zur Reduktion des Antibiotikaeinsatzes im Sinne des One-Health-Konzepts (18, 23, 24, 33). Bei der Interpretation der Ergebnisse muss man bedenken, dass Kühe mit Zellzahlwerten unter 50 000 Zellen/ml nicht erfasst werden können. Man spricht jedoch bei Proben mit einer so niedrigen Zellzahl in der Regel von gesunden Eutervierteln (31). Bei den Viertelgemelksproben zeigt sich das DSCC eine höhere Erkennung von infizierten Vierteln, Sensitivität, als von gesunden Vierteln, Spezifität. Die Sensitivität und Spezifität lagen in unserer Studie mit dem gewählten DSCC-Grenzwert von 68,5 % bei 78,9 % und 50 %. Vergleicht man die Sensitivität und Spezifität des

DSCC-Wertes mit jener der Zellzahl allein, so sind die Unterschiede minimal, was daran liegt, dass auch der Zellzahlwert auf Viertelebene mit 77,6 % eine relativ gute Sensitivität erzielt und die Spezifität zur Erkennung BU negativer Euterviertel bei beiden Parametern Zellzahl und DSCC relativ niedrig ist. Auf Kuhebene konnten etwas bessere Werte bezüglich Sensitivität von DSCC gegenüber der Zellzahl allein ermittelt werden, 77,5 % gegenüber 72,1 %. In unserer Studie liegt die Spezifität des DSCC-Wertes deutlich unter jenem anderer Studien, während die Sensitivität vergleichbar ist. Zecconi et al. (2019) veröffentlichten eine in Italien durchgeführte Feldstudie mit vier Milchviehherden aus der Lombardei. In dieser Arbeit wird bei dem Grenzwert von 68,5 % eine Sensitivität von 81,6 % und eine Spezifität von 76,3 % präsentiert (30). Ähnliche Ergebnisse wurden auch von Schwarz et al. (2020) präsentiert: Dort wurde ein Grenzwert von 60 % verwendet, wobei die Sensitivität 84,6 % und die Spezifität 67,3 % betrugen. Es zeigt sich, dass mit steigendem Grenzwert die Sensitivität kontinuierlich zunimmt, während die Spezifität entsprechend abnimmt (34). In der Studie von Pilla et al. (2013) wurden ei einem Grenzwert von 49,5 % die höchsten Werte für Sensitivität und Spezifität von 75,7 % und 92,3 % erreicht (22). Allerdings waren in der kleinen Studienpopulation 16 Kühe mit 37 positiven Eutervierteln durch *S. aureus* und Prothotheken, was die Ermittlung der 26 negativen Euterviertel und die hohe Spezifität erklären könnte. Unsere Ergebnisse zeigten im Vergleich zu anderen Studien eine geringere diagnostische Aussagekraft, vor allem, was Spezifität betrifft. Weiterhin deuten all diese Ergebnisse darauf hin, dass der Grenzwert entscheidend für die diagnostische Aussagekraft des DSCC ist. Daher ist es essenziell, für den Einsatz des DSCC in der Forschung, aber auch im Herdenmanagement, einen standardisierten Grenzwert festzulegen.

Des Weiteren zeigt der Vergleich unserer Ergebnisse zur somatischen Zellzahl und zum Differenzialzellbild, dass beide Parameter eine höhere Sensitivität als Spezifität aufweisen. Somit eignen sie sich grundsätzlich zur Detektion von Mastitiden, insbesondere von subklinischen Mastitiden. Darüber hinaus deutet unsere Analyse darauf hin, dass das DSCC im Vergleich zur SCC eine etwas höhere diagnostische Aussagekraft besitzt – ein Befund, der auch in anderen Studien beschrieben wird. So berichtet beispielsweise Kirkeby et al. (2020), dass trotz intensiver Forschung an der SCC weder die Sensitivität noch die Spezifität der Schwellenwerte als optimal gelten (35). Die SCC ist eine praktische und einfache Methode, um die Eutergesundheit im Blick zu haben. Ihr Genauigkeit kommt aber nicht an die

mikrobiologische Untersuchung von Milchproben heran (30). Dennoch hat sich die SCC als eine grundlegende Methode der Mastitisdiagnostik durchgesetzt. Unsere Studie zeigt, dass die Zellzahl auf Viertelebene gemessen, eine höhere Sensitivität zur Detektion infizierter Euterviertel aufweist. Mit Hilfe des DSCC kann man diese Aussagekraft auf Viertelebene kaum verbessern, zieht man jedoch Einzelgemelksproben wie bei der Milchleistungsprüfung zur Detektion von infizierten Tieren heran, zeigt sich, dass der DSCC-Wert die Sensitivität und damit die Diagnostik verbessern kann, was zu einem gezielteren Eutergesundheitsmanagement führen kann. Sowohl SCC als auch DSCC zeigen für sich genommen eine begrenzte diagnostische Aussagekraft. Die Kombination von DSCC und SCC kann die Genauigkeit der Werte verbessern und die Unterscheidung von kranken und gesunden Eutervierteln wird dadurch erleichtert.

5.2 Zusammenhang zwischen somatischer Zellzahl und Differenzialzellbild auf Kuhebene

In der Regel geht eine Infektion des Euters mit einer Erhöhung sowohl der somatischen Zellzahl als auch des Differenzialzellbildes einher, da beide Parameter immunologische Reaktionen im Euter widerspiegeln. Bei einer Mastitis kommt es zu einem Anstieg von PMN in der Milch aufgrund der immunologischen Reaktion im Euter, wodurch SCC sowie DSCC ansteigen und somit als Indikatoren für das Vorliegen einer Mastitis herangezogen werden können (11). Somit liegt die Annahme eines funktionalen Zusammenhangs zwischen SCC und DSCC nahe. Dies wird auch in der Forschung zunehmend thematisiert. Es hat sich herausgestellt, dass neben der Bestimmung der Zellzahl auch die Differenzierung der Zellen sinnvoll ist, um den Gesundheitsstatus des Euters besser zu überwachen. Bereits bei einem geringen Anstieg der SCC kann das DSCC einen zusätzlichen Hinweis auf eine Infektion liefern. Damm et al. sehen im Differenzialzellbild einen komplementierenden Faktor zur etablierten somatischen Zellzahlmessung (31).

Unsere Untersuchung bestätigte diesen vermuteten Zusammenhang: Auf Kuhebene zeigte sich ein positiver Zusammenhang zwischen SCC und DSCC – mit steigender Zellzahl stieg auch der DSCC-Wert. Der Großteil der subklinisch und latent infizierten Tiere, die mit Hilfe der

bakteriologischen Untersuchungen identifiziert wurden, wies erhöhte DSCC-Werte auf. Besonders hervorzuheben sind die latent infizierten Kühe. Diese wiesen eine Zellzahl von unter 100 000 Zellen/ml auf und wurden anhand der SCC als gesund eingestuft. Dennoch tragen sie einen bakteriellen Erreger und können durch das DSCC als auffällig identifiziert werden. Darüber hinaus konnten auch Kühe mit einer Sekretionsstörung erkannt werden. Eine Sekretionsstörung geht mit einem erhöhten SCC einher, ist jedoch bakteriologisch negativ. Die Zellzahlerhöhung ist nicht zwingend auf eine Immunreaktion zurückzuführen, sondern auch andere Zelltypen wie Epithelzellen oder Makrophagen zu einem Anstieg führen können. Den positiven Effekt des DSCC beschrieben auch Kirkeby et al. (2020), denn die SCC und DSCC korrelieren in ihren Anstiegen bei Infekten. Die DSCC aber macht es möglich mehr Infekte zu erkennen, insbesondere die Infekte, welche eine niedrige SCC aufweisen (35). Schwarz et al. (2023) gehen in ihrer Untersuchung einen Schritt weiter und zeigen, dass Kühe mit unauffälliger somatischer Zellzahl, jedoch erhöhtem DSCC-Wert, als potenziell infizierte Tiere identifiziert werden können. Durch die zusätzliche Berücksichtigung des DSCC lassen sich somit subklinische Infektionen früher erkennen, was zur Optimierung des Herdenmanagements beitragen kann (10). Insgesamt zeigen unsere Ergebnisse, dass die zusätzliche Bestimmung des DSCC die frühzeitige Erkennung von subklinischen Mastitiden mit einer Zellzahl unter 100 000 Zellen/ml verbessern kann. Dies stellt einen entscheidenden Vorteil für die gezielte Behandlung sowie im präventiven Herdenmanagement dar.

5.3 Zusammenhang zwischen somatischem Zellbild und Differenzialzellbild auf Viertelebene

Aufbauend auf dem nachgewiesenen Zusammenhang zwischen SCC und DSCC auf Kuhebene, stellt sich nun die Frage ob und in welchem Ausmaß dieser Zusammenhang auch auf Viertelebene besteht. Auf Viertelebene könnte der Zusammenhang deutlicher sein als auf Kuhebene, da ein einzelnes infiziertes Viertel nicht von drei gesunden Vierteln durch eine Verdünnung der Zellen maskiert werden kann. Studien wie die von Pilla et al. (2013) zeigen, dass das DSCC infizierte Viertel mit niedrigen SCC als krank erfassen kann, wobei es stabilere Ergebnisse als die SCC liefert (22). Schwarz et al. (2020) heben in ihrer Studie nochmal besonders hervor, dass das DSCC durch die neuen Milchanalysesysteme automatisch messbar,

schnell verfügbar und kostengünstiger als die bakteriologische Untersuchung ist. Das DSCC kann daher eine entscheidende Rolle bei der Entscheidung über Behandlungswürdigkeit und bei der Erkennung von subklinischen Mastitiden spielen (34).

In unserer Untersuchung wurden auf Viertelebene latente und subklinische Infektion zuverlässiger erkannt als auf Kuhebene, nur einige wenige infizierte Viertel blieben unerkannt. Dabei ist der Effekt im direkten Vergleich mit der Zellzahl auf Viertelebene stärker als auf Tierebene, weil die auch Sensitivität der Zellzahl im Viertelgemelk zur Detektion infizierter Euterviertel deutlich höher ist als auf Tierebene. Auch auf Viertelebene sind die latent infizierten Viertel hervorzuheben, da diese von der SCC nicht erkannt werden. Ein Teil der Sekretionsstörungen wurde wie auf Kuhebene aufgrund von immunologischen Prozessen erkannt. Ähnlich zu unseren Ergebnissen fanden Wall et al. (2018) in ihrer Studie heraus, dass eine hohe SCC in Kombination mit einem hohen DSCC auf eine akute Infektion hinweist, wohingegen eine hohe SCC in Kombination mit niedrigen DSCC auf die Heilungsphase hindeutet (11). Die Viertel könnten bei Pilla et al. (2012) in akute und chronische Mastitiden kategorisiert werden und so die Entscheidungen über Behandlungswürdigkeit erleichtern (17). Daraus lässt sich schließen, dass das DSCC auf Viertelebene verlässlicher ist als auf Kuhebene und hier eine tragende Rolle im Eutergesundheitsmanagement einnehmen kann. Mögliche praktische Anwendungen im Herdenmanagement könnten die forcierte Behandlung von einzelnen Vierteln oder selektives Trockenstellen mit antibiotischen Euterinjektoren auf Viertelebene sein.

Im Rahmen unserer Studie konnten wir auch die Ergebnisse von SCC und DSCC in Bezug auf die verschiedenen gefundenen Mastitiserreger in den Vierteln differenziert betrachten. Dabei zeigte sich, dass bei der Verwendung des SCC mit einem Grenzwert von 100 000 Zellen/ml einige Infektionen mit *S. aureus* und NAS nicht erkannt werden. Hingegen wurden bei erhöhten DSCC-Werten häufig NAS und *S. aureus* nachgewiesen, selbst wenn die SCC noch im unauffälligen Bereich lag. Die DSCC erkannte natürlich auch die anderen beiden gefunden Mastitispathogene *E. coli* und Streptokokken, aber diese waren nicht ursächlich für latente Infektionen. Dies spricht dafür, dass der DSCC auf manche Pathogene sensitiver reagiert, was ein weiterer Hinweis auf den diagnostischen Nutzen des DSCC ist. Unsere Befunde stimmen in Teilen mit der Studie von Gussmann et al. (2020) überein, in welcher *S. aureus* und

Sc. agalactiae durch die DSCC früher erkannt wurden (32). Auch Kirkeby et al. (2020) berichten von einem deutlichen Anstieg von SCC und DSCC bei Mastitiden mit *S. aureus* und Streptokokken. Bei NAS hingegen kam es nur zu einem moderaten Anstieg des DSCC, was auf die mit dem Keim einhergehenden latenten Infektionen zurückgeführt wird (35). Bei Halasa und Kirkeby (2020) wurden besonders hohe Werte des DSCC bei Infektionen mit *S. aureus* gefunden (36). Dies steht im Gegensatz zu unseren Ergebnissen, denn wir konnten keine signifikant höheren DSCC-Werte für *S. aureus* feststellen. Vielmehr konnten alle Mastitiserreger hohe Werte des DSCC erzielen. Gesamt betrachtet verdeutlichen unsere Ergebnisse, dass das DSCC auch auf Ebene der Erreger einen diagnostischen Wert besitzt und besonders zur frühzeitigen Erkennung von latenten Infektionen beitragen kann. Weiterer Untersuchungsbedarf besteht dazu, wie sich chronische Infektionen im DSCC-Wert widerspiegeln, wie sich einzelne Mastitiserreger auf das Differenzialzellbild auswirken und wie sich die niedrige Spezifität des DSCC-Wertes aber auch der Zellzahl erklären lässt.

6 Schlussfolgerung

Ziel dieser Arbeit war es herauszufinden inwieweit das DSCC einen Mehrwert für die Mastitisdiagnostik bringt und wie SCC und DSCC zusammenhängen. Die von uns aufgestellten Hypothesen konnten belegt werden. Das DSCC erweist sich als vorteilhaft für die Erkennung von latent und subklinisch infizierten Kühen bzw. Vierteln. Allein besitzt das DSCC nur eine moderate diagnostische Aussagekraft, aber durch die kombinierte Anwendung von DSCC mit SCC kann die diagnostische Genauigkeit gesteigert werden. Dies zeigte sich auf Kuhebene stärker als auf Viertelebene, da bei Letzterem auch die Zellzahl allein eine hohe Sensitivität zur Erkennung infizierter Viertel besitzt. Dies kann zu einem verbesserten Herdenmanagement und einer gezielteren Ausmerzung von Kühen führen. Für Betriebe, die Teil des LKVs sind, besteht über die monatlich gezogenen Proben, die in Labors mit der modernsten Auswertetechnik untersucht werden, ein einfacher und kostengünstiger Zugang zum DSCC. Dennoch benötigt es in Zukunft noch weiterer Forschung, die die Herden über eine ganze Laktation beprobt, um den Verlauf des DSCC zu analysieren und chronische Kühe in ihrem Verlauf besser zu erkennen.

7 Literatur

1. Halasa T, Huijps K, Østerås, O.and Hogeveen, H. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: a review. The veterinary quarterly. 2007; 29:1, 18-31 2007:18–31. doi: 10.1080/01652176.2007.9695224.
2. Jarrett JA. Mastitis in dairy cows. Veterinary Clinics of North America: Large Animal Practice-Vol. 3, No.2. 1984; 447–54. doi: 10.1016/s0196-9846(17)30139-8.
3. Jones, T. and Ohnstad, I. Milking procedures recommended for the control of bovine mastitis. In Practice No. 9 2002; 502–11. doi: 10.1136/inpract.24.9.502.
4. Hueston, W.D., Heider, L.E., Harvey, W.R. and Smith, K.L. The Use of High Somatic Cell Count Prevalence in Epidemiologic Investigations of Mastitis Control Practices. Preventive Veterinary Medicine, 4. 1987; 447-461 1987.
5. Wilson D. J., Das H. H., Gonzales R. N. and Sears, P. M. Association between management practices, dairy herd characteristics, and somatic cell count of bulk tank milk. JAVMA, Vol 210, No, 10. 1997.
6. Sears PM, Smith BS, English PB, Herer, P.S. and Gonzalez, R.N. Shedding Pattern of Staphylococcus aureus from Bovine Intramammary Infections. Journal of Dairy Science Vol. 73, No. 10. 1990; 2785–9.
7. Omore AO, McDermott J.J., Arimi SM, Kyule M.N., Ouma D. A longitudinal study of milk somatic cell counts and bacterial culture from cows on smallholder dairy farms in Kiambu District, Kenya. Preventive Veterinary Medicine 29. 1996; 77-89 1996.
8. Schwarz D, Diesterbeck US, Failing K, König S, Brügemann K, Zschöck M et al. Somatic cell counts and bacteriological status in quarter foremilk samples of cows in Hesse, Germany--a longitudinal study. Journal of Dairy Science Vol. 93 No. 12. 2010; 5716–28. doi: 10.3168/jds.2010-3223.
9. Östensson K., Hageltorn M. and Aström G. Differential Cell Counting in Fraction-Collected Milk from Dairy Cows. Acta vet. scand. 1988; 29 1988:493–500.
10. Schwarz D, Kleinhans S, Witzel G, Stückler P, Reith, F. and Danø, S. Usefulness of the total and differential somatic cell count based udder health group concept for evaluating herd management practices and udder health in dairy herds. Preventive Veterinary Medicine 218. 2023; 105977 2023. doi: 10.1016/j.prevetmed.2023.105977.
11. Wall SK, Wellnitz O, Bruckmaier, R. M. and Schwarz, D. Differential somatic cell count in milk before, during, and after lipopolysaccharide- and lipoteichoic-acid-induced mastitis in dairy cows. Journal of Dairy Science Vol. 101 No. 6 2018; 5362–73. doi: 10.3168/jds.2017-14152.
12. Harmon RJ. Physiology of Mastitis and Factors Affecting Somatic Cell Counts1. Journal of Dairy Science Vol. 77. No. 7. 1994; 2103–12.
13. König HE, Hrsg. Anatomie der Haustiere: Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis. 7., aktualisierte und erweiterte Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2019.

14. Bellof G, Granz S. Tierproduktion. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2019.

15. Oviedo-Boyso J, Valdez-Alarcón JJ, Cajero-Juárez M, Ochoa-Zarzosa A, López-Meza JE, Bravo-Patiño A et al. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. J Infect. 2007; 54(4):399–409. doi: 10.1016/j.jinf.2006.06.010.

16. Engelhardt W von, Breves G, Diener M, Gäbel G. Physiologie der Haustiere. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2015.

17. Pilla R, Schwarz D, König, S. and Piccinini, R. Microscopic differential cell counting to identify inflammatory reactions in dairy cow quarter milk samples. Journal of Dairy Science Vol. 95 No. 8. 2012 4410–20. 2012; doi: 10.3168/jds.2012-5331.

18. Wellnitz, O. and Bruckmaier, R. M. The innate immune response of the bovine mammary gland to bacterial infection. The Veterinary Journal 192. 2012; 148–152 2012:148–52. doi: 10.1016/j.tvjl.2011.09.013.

19. Grieger A-S, Zoche-Golob V, Paduch J-H, Hoedemaker, M. and Krömker, V. Rezidivierende klinische Mastitiden bei Milchkühen – Bedeutung und Ursachen. Tierärztliche Praxis. 2014; 42 (G) 2014:156–62.

20. Oliveira L, Langoni H, Hulland, C. and Ruegg, P. L. Minimum inhibitory concentrations of Staphylococcus aureus recovered from clinical and subclinical cases of bovine mastitis. Journal of Dairy Science Vol. 95 No. 4. 2012; (4):1913–20. doi: 10.3168/jds.2011-4938.

21. Moritz A. Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. Stuttgart: Schattauer GmbH; 2014.

22. Pilla R, Malvisi M, Snel GGM, Schwarz D, König S, Czerny, C-P. and Piccinini, R. Differential cell count as an alternative method to diagnose dairy cow mastitis. Journal of Dairy Science Vol. 96 No. 3. 2013; 1653–60. doi: 10.3168/jds.2012-6298.

23. Reneau JK. Effective Use of Dairy Herd Improvement Somatic Cell Counts in Mastitis Control. Journal of Dairy Science Vol. 69, No. 6. 1986;1708–20.

24. Dufour S, Labrie J, Jacques M. The Mastitis Pathogens Culture Collection. Microbiology resource announcements Volume 8 Issue 15. 2019; doi: 10.1128/MRA.00133-19.

25. Baumgartner W, Wittek T. Klinische Propädeutik der Haus- und Heimtiere. 9. Stuttgart: Enke Verlag; 2018.

26. Shotts EB, Leard AT. Microbiologic aspects of mastitis diagnosis. Vet Clin North Am Large Anim Pract 1984; 6(2):247–55. 1984; doi: 10.1016/s0196-9846(17)30020-4.

27. Gesamtfassung_Erzeuger-Rahmenbedingungen-Verordnung; 2019.

28. Bradley A. Bovine mastitis: an evolving disease. Vet J. 2002; 164(2):116–28. doi: 10.1053/tvjl.2002.0724.

29. o.A. Fossomatic 7DC 2012. Verfügbar unter: https://www.fossanalytics.com/de-de/products/fossomatic-7-dc.

30. Zecconi A, Vairani D, Cipolla M, Rizzi N, Zanini L. Assessment of subclinical mastitis diagnostic accuracy by differential cell count in individual cow milk. Italian Journal of Animal Science 2019; 18(1):460–5. 2019; doi: 10.1080/1828051X.2018.1533391.

31. Damm M, Holm C, Blaabjerg M, Bro, M. N. and Schwarz, D. Differential somatic cell count-A novel method for routine mastitis screening in the frame of Dairy Herd Improvement testing programs. Journal of Dairy Science Vol. 100 No. 6, 2017 (6):4926–40. 2017; doi: 10.3168/jds.2016-12409.

32. Gussmann M, Kirkeby C, Schwarz D, Farre M, Halasa T. A simulation study to investigate the added value in using differential somatic cell count as an additional indicator for udder health management in dairy herds. Prev Vet Med 2020 182:105090. 2020; doi: 10.1016/j.prevetmed.2020.105090.

33. Bradley A, Green M. Use and interpretation of somatic cell count data in dairy cows. In Practice 2005, 27(6):310–5. 2005; doi: 10.1136/inpract.27.6.310.

34. Schwarz D, Santschi DE, Durocher J, Lefebvre DM. Evaluation of the new differential somatic cell count parameter as a rapid and inexpensive supplementary tool for udder health management through regular milk recording. Prev Vet Med; 2020; Verfügbar unter: 10.1016/j.prevetmed2020105079.

35. Kirkeby C, Toft N, Schwarz D, Farre M, Nielsen SS, Zervens L et al. Differential somatic cell count as an additional indicator for intramammary infections in dairy cows. Journal of Dairy Science Vol. 103 No. 2, 2020:1759–75. 2020; doi: 10.3168/jds.2019-16523.

36. Halasa, T and Kirkeby, C. Differential Somatic Cell Count: Value for Udder Health Management. Frontiers in veterinary science December 2020 Volume 7 Article 609055 2020; doi: 10.3389/fvets.2020.609055.

8 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abb. 1: Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung von 423 Kühen: Prozentuelle Verteilung der BU negativen Tiere, bzw. der Kühe mit Nachweis der jeweiligen Mastitiserreger 17
Abb. 2: Zusammenfassung der Ergebnisse der Einzeltierzellzahlen innerhalb der 8 Betriebe und an den jeweiligen Zeitpunkten der Betriebsbesuche 18
Abb. 3: Grafische Darstellung der Verteilung von DSCC und SCC unter Berücksichtigung der Ergebnisse der MastitisdefinitionSCC auf Kuhebene 21
Abb. 4: Grafische Darstellung der Verteilung von DSCC und SCC unter Berücksichtigung der BU-Ergebnisse auf Kuhebene 21
Abb. 5: Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung auf Viertelebene 22
Abb. 6: Grafische Darstellung der Verteilung von DSCC und SCC auf die MastitisdefinitionSCC auf Viertelebene 25
Abb. 7: Grafische Darstellung der Verteilung der BU-Ergebnisse auf DSCC und SCC auf Viertelebene 26
Abb. 8: ROC-Kurve auf Kuhebene 27
Abb. 9: ROC-Kurve auf Viertelebene 27

Tab. 1: Schema zur Beurteilung und Auswertung des CMT ---------- 8
Tab. 2: Mastitisdefinition auf Grundlage der somatischen Zellzahl und der Ergebnisse der BU ---------- 15
Tab. 3: Mastitisdefinition auf Basis des Differenzialzellbildes (Zecconi et al. 2019) --------- 15
Tab. 4: Definition und Abkürzungen für die verwendeten statistischen Maße zur Bewertung der Zuverlässigkeit des DSCC ---------- 15
Tab. 5: Verteilung der Mastitisdefinition auf Basis von Zellzahl und BU der 423 beprobten Kühe ---------- 18
Tab. 6: Auflistung der eutergesunden bzw. -kranken Kühe aufgrund des DSCC-Wertes ----- 19
Tab. 7: Vierfeldertafel aus somatischer Zellzahl und BU-Ergebnis auf Kuhebene ---------- 20
Tab. 8: Vierfeldertafel aus Differenzialzellbild und BU auf Kuhebene ---------- 20
Tab. 9: Ergebnisse der Mastitisdefinition aus SCC und bakteriologischen Proben auf Viertelebene ---------- 23
Tab. 10: Auflistung der eutergesunden bzw. -kranken Kühe aufgrund des DSCC-Wertes --- 23
Tab. 11: Vierfeldertafel aus SCC und BU auf Viertelebene ---------- 24
Tab. 12: Vierfeldertafel aus DSCC und BU auf Viertelebene ---------- 24

Danksagung

Ohne die tatkräftige Unterstützung aller beteiligten Personen wäre es mir nicht möglich gewesen, diese Arbeit zu verfassen, dafür möchte ich mich bei allen herzlich bedanken.

Ein besonders großer Dank gilt daher meiner Betreuerin **Dr. med. vet. Martina Baumgartner**. Für die großartige fachliche Betreuung dieser Arbeit, diese damals sehr spontane Möglichkeit Teil dieses Forschungsprojektes zu sein, die vielen Stunden Zeit, die in diese Arbeit geflossen sind, sowie die freundlichen Gespräche im Büro und bei den Diensten im Stall. Ebenso danke ich **Mag. med. vet. Dora Zacharov**. Die Ziehung der Proben war gemeinsam immer spannend und spaßig trotz der oft frühen Morgenstunden. Mein Dank gilt auch **Univ. Prof. med. vet. Thomas Wittek, Dipl. ECBHM** für formellen und fachlichen Verbesserungen der Arbeit. Darüber hinaus möchte ich mich auch bei den Mitarbeitern des LKVs und **Herrn Reith** für die Unterstützung durch den Landeskontrollverband Steiermark bedanken. Ein herzlicher Dank gilt auch den acht Familien der beprobten Betriebe, die uns immer herzlich empfangen und kulinarisch versorgt haben.

Von Herzen danke ich meiner Familie: meinen Eltern **Edith** und **Josef**, meinen Großeltern **Adelgunde** und **Johann** sowie meinen Brüdern **Mathias**, **Marcel** und **Marvin**. Ohne euren Glauben an meinen Kindheitstraum und eure uneingeschränkte Unterstützung wäre es mir nicht möglich gewesen, dieses Studium zu ergreifen. Ebenso standen mir meine Schwiegereltern **Marietta** und **Holger** stets mit Rat und Tat zur Seite. Ein besonderer Dank gilt auch meinem Mann **Bernhard** und meiner Tochter **Thea** – meine zwei besten Ablenkungen vom Stress – für eure Geduld und seelische Unterstützung.

Ein großer Dank gilt auch meinen Freundinnen: **Melissa, Anne, Victoria und Sabrina.** Von Fremden zu Kommilitoninnen zu Freundinnen zu Familie. Das beschreibt unsere Freundschaft am besten**.** Danke für die intensiven Lernstunden, die durchgestanden Prüfungen, die durchzechten Nächte, die langen Klinikdienste und die vielen Lacher in den harten Zeiten.