

1 Einleitung 1

2 Literaturübersicht 2

2.1 Mastitis der Rinder 2

2.1.1 Ursachen 3

2.1.2 Verlaufsformen und klinisches Bild 4

2.1.3 Mastitis als Bestandsproblem 5

2.2 Mastitiserreger 6

2.2.1 Umweltmastitiserreger 7

2.2.2 Kontagiöse Mastitiserreger 7

2.2.3 Minor-pathogene Mastitiserreger 9

2.3 S. aureus als Mastitiserreger 9

2.3.1 Taxonomie und genetische Untersuchungen 11

2.3.2 Bedeutung und Folgen von S. aureus im Bestand 23

2.3.3 Prophylaktische Maßnahmen 26

2.3.4 Therapiemöglichkeiten der S. aureus-Mastitis 27

2.3.4.1 Chemotherapeutika zur Therapie von S.aureus-Mastitiden 28

2.3.4.2 Einsatz von Schutzimpfungen gegen S.aureus-Mastitiden 30

3 Tiere, Material und Methoden 37

3.1 Versuchsbetrieb 37

3.1.1 Aktueller Status der Eutergesundheit und Klinik im Bestand 38

3.1.2 Historie bisher erfolgter Bestandssanierung 38

3.2 Erarbeitung eines Sanierungskonzeptes im Versuchsbetrieb 39

3.2.1 Entfernung therapieresistenter Tiere 40

3.3 Entnahme der Viertelgemelksproben 40

3.4 Entnahme von Umweltproben 40

3.5 Zytobakteriologische Untersuchung der Viertelgemelksproben 41

3.5.1 Vergleich unterschiedlicher Ausstrichverfahren 43

3.6 Bakteriologische Untersuchung der Umweltproben 43

3.7 Konservierung der S. aureus-Isolate 44

3.8 Auswahl weiterer in Hessen isolierter boviner S. aureus-Stämme 44

3.9 Phänotypische Identifizierung von S. aureus 45

3.9.1 Wachstum auf Blutagar 45

3.9.2 Nachweis der Plasma-Koagulase 46

3.9.3 Untersuchung mittels VITEK2 46

3.10 Genotypische Identifizierung des S. aureus 47

3.10.1 Polymerasekettenreaktion (PCR) 47

3.10.1.1	DNA-Präparation	47
3.10.1.2	Durchführung der PCR	47
3.10.1.3	Agarosegelelektrophorese.....	48
3.10.1.4	Ethidiumbromidfärbung	48
3.10.1.5	Untersuchung auf das Thernonuklease-Gen (nuc).....	48
3.10.1.6	Untersuchung auf das Koagulasegen (coa)	49
3.10.1.7	Untersuchung auf das Protein-A-Gen (IgG-bindende Region)	49
3.10.1.8	Untersuchung auf das Protein-A-Gen (Xr-Region)	50
3.10.1.9	Untersuchung auf das Protein-A-Gen (Xr-Region) für das spa-Typing	50
3.10.1.10	Untersuchung auf das mecA-Gen.....	50
3.10.2	Makrorestriktionsanalyse der chromosomalen DNA mittels Pulsfeldgelelektrophorese (Pfge).....	51
3.10.2.1	Präparation und Restriktionsverdau der Gesamtzell-DNA	51
3.10.2.2	Pulsfeldgelelektrophorese	52
3.10.2.3	Ethidiumbromidfärbung	53
3.10.2.4	Auswertung der Pfge-Muster	53
3.11	Staphylokokken-Protein-A (spa)-Typisierung	53
3.11.1	Vorbereitung der Amplifikate	53
3.11.2	Auswertung der Sequenzen	53
4	Ergebnisse	55
4.1	Viertelgemelksproben	55
4.1.1	Vergleich der verschiedenen Ausstrichverfahren.....	55
4.2	Umweltproben	57
4.3	Identifizierung des S. aureus	58
4.3.1	Phänotypische Identifizierung	58
4.3.1.1	Koagulasetests.....	58
4.3.1.2	Bestätigung durch VITEK2.....	58
4.3.2	Genotypische Identifizierung	59
4.3.2.1	PCR-Auswertung.....	59
4.3.2.2	Makrorestriktionsanalyse	61
4.3.2.3	spa-Typisierung aus dem Sanierungsbetrieb.....	66
4.3.2.4	spa-Typisierung aus weiteren in Hessen isolierten bovinen S. aureus- Stämmen	67
4.3.2.5	Zusammenfassung der genotypischen Untersuchungsergebnisse aus dem Sanierungsbetrieb.....	70
4.4	Anwendung des Sanierungskonzeptes.....	71
4.5	Entwicklung des Gesamtbestandes.....	71

5	Diskussion.....	73
5.1	S. aureus-Identifizierung	73
5.1.1	Phänotypische Verfahren.....	73
5.1.2	genotypische Verfahren.....	74
5.2	S. aureus-Differenzierung.....	74
5.3	Schlussfolgerung für den Gesamtbestand	78
6	Zusammenfassung	81
7	Summary	83
8	Literaturverzeichnis.....	85
9	Anhang	96
9.1	Tabellenverzeichnis	96
9.2	Abbildungsverzeichnis.....	96
9.3	Zuordnung der Tiere zu Pflege-Typen und Kodierung im Dendrogramm (Tabelle)	97
9.4	Verwendete Chemikalien und Geräte.....	99
10	Danksagung.....	102