

Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft



GUMPENSTEIN

Federal Research Institute for Agriculture in Alpine Regions

**Institut für
Pflanzenbau und
Kulturlandschaft**

Abteilung Grünland

Abschlussbericht

BAL 992216

Titel des Projektes:

Einfluss von Futterkonservierung und Melkhygiene auf den Gehalt an Listerien und Clostridien in der Rohmilch



Projektleiter:

Dr. Erich M. Pötsch

Stichworte:

Listerien, Clostridien, Grassilage, Rohmilch

Laufzeit:

1999 - 2001

Folgende Projektpartner haben neben der BAL Gumpenstein entscheidend an der erfolgreichen Durchführung dieses Forschungsprojektes mitgewirkt:

Steirischer Rindergesundheitsdienst, Fachabteilung für das Veterinärwesen des Landes Steiermark mit Univ.-Prof. Dr. Josef Köfer, Univ.-Doz. Dr. Armin Deutz und Dr. Peter Pless

Bundesamt für Agrarbiologie, Linz mit Dr. Andreas Adler

Bundesanstalt für Alpenländische Milchwirtschaft mit Dr. Frieda Eliskases-Lechner

Dr. Walter Obritzhauser, Tierarzt in Parschlug sowie Dr. Gerolf Giselbrecht, Tierarzt in Irnding

Den oben angeführten Institutionen und Personen sei an dieser Stelle für die konstruktive Zusammenarbeit und gute Kooperation herzlichst gedankt!

„Einfluß von Futterkonservierung und Melkhygiene auf den Gehalt an Listerien und Clostridien in der Rohmilch“

Dr. Erich M. Pötsch, Abteilung Grünland der BAL Gumpenstein

1. Einleitung und Problemstellung

Durch den steigenden Trend zur Direktvermarktung von Milch – europaweit hält Österreich mit rund 370.000 t/Jahr hinter Frankreich die höchste Direktvermarkterquote für Milch und Milchprodukte – kam es in den letzten Jahren auch zu einem erhöhten Konsum von Rohmilch und Rohmilchprodukten. Diese unterliegen keiner Pasteurisierung oder einem vergleichbar wirksamen, keimreduzierenden Verfahren, wodurch dem Auftreten humanpathogener Keime (z.B. *enterotoxinbildende Staphylokokken*, *Campylobacter jejuni/coli/lari*, *Salmonellen* sowie *Listeria monocytogenes*) verstärkte Aufmerksamkeit geschenkt werden muß (DEUTZ u.a., 1997). Insgesamt überwiegen dabei Berichte von Krankheitsausbrüchen durch den Konsum von Kuhmilch (BRANDL, 1997), es finden sich aber auch eine Reihe von Fällen, hervorgerufen durch den Konsum von Schaf- und Ziegenmilch (AZADIAN u.a., 1989; HARRIS u.a., 1986).

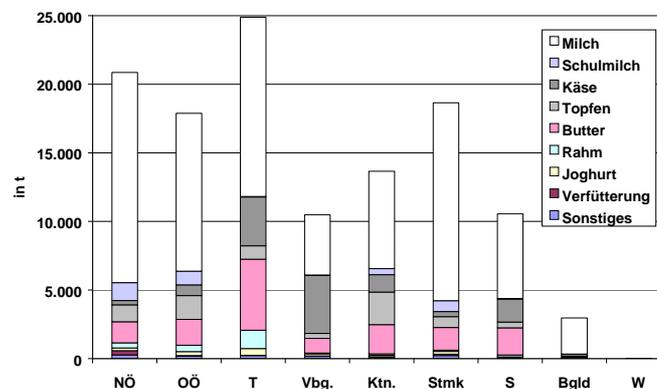


Abbildung 1: Direktvermarktung von Milch- und Milchprodukten in Österreich (AMA, 1999)

1.1 Bedeutung und Vorkommen von Listerien

Listerien treten in derzeit sechs bekannten Arten auf – neben *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. welshmeri* und *L. grayi* ist dabei *Listeria monocytogenes* als Verursacher der sogenannten Listeriose wohl die bekannteste aber auch gefährlichste Art dieser weit verbreiteten Bakteriengattung (SEELIGER, 1989; DEUTZ und KUTTIN, 1990; MC DONALD et al., 1991; SANAA u.a., 1993; PLESS und DEUTZ, 1997; DEUTZ u.a., 1998). Bei der Listeriose handelt es sich um eine Zoonose, also eine von Tieren auf den Menschen übertragbare Infektionskrankheit, wobei im Falle der Listeriose neben dem Rind auch Schaf, Ziege, Schwein, Huhn und Nager als Überträger auftreten können.

Die Symptome der Listeriose ähneln jener von Grippe bzw. Gehirnhautentzündung – der Erreger kann auch von infizierten Schwangeren auf das Ungeborene übertragen werden (20-faches Risiko!), wobei im Falle einer Infektion mit einer Letalität von 50% gerechnet werden muß. Besonders gefährdet und als Risikogruppe gelten Kinder, alte sowie immungeschwächte Menschen. Immer wieder sorgt die Listeriose für Schlagzeilen – so wurden 1992 in Frankreich 279 Erkrankungen mit 63 Todesfällen, 1999 ebenfalls in Frankreich 24 Erkrankungen mit 7 Todesfällen und in den USA in den letzten Jahren insgesamt 1850 Erkrankungen mit insgesamt 425 Todesfällen dokumentiert.

Durch seine Bedeutung als humanpathogener Keim stellt *Listeria monocytogenes* natürlich auch für milch- und fleischverarbeitende Betriebe ein beachtliches Risikopotential (externer Eintrag in den Produktionsprozeß) dar, des weiteren können *Listerien* aber auch als Indikator für den Hygienestatus im landwirtschaftlichen Betrieb (Futter-, Stall- und Melkhygiene) betrachtet werden.

1.2 Steckbrief und Charakteristik von Listerien

Bei den *Listerien* handelt es sich um gram-positive Stäbchenbakterien, die sich im Gegensatz zu den Clostridien aber nicht in eine Dauerform (Spore) verwandeln können und somit durch Pasteurisation (15 Sekunden bei 72 °C) abgetötet werden. *Listerien* wachsen sowohl mit als auch ohne Sauerstoff und gelten als psychrotroph – das heißt sie wachsen und vermehren sich bei Temperaturen von 3°C bis 45°C. *Listerien* sind ausdauernde und weit verbreitete Organismen, die mehrere Monate in feuchten Böden überleben und auch Frostperioden unbeschadet überstehen. Sie weisen einen großen Toleranzbereich im pH-Wert auf (4,6 bis 9,5) und wachsen noch in 20%-iger NaCl-Lösung!



Bilder (A. Adler): Listeriennachweis an der BA Linz - Listerienkolonien

Listerien sind anspruchslose Keime, die bei Haus- und Wildtieren sowie in der Umwelt weit verbreitet sind (SEELIGER, 1989; MCDONALD et al., 1991). Trotz häufiger Exposition werden aber Infektionen bei Milchvieh vergleichsweise selten nachgewiesen. Ein direkter Listerieneintrag in die Rohmilch durch infizierte Kühe ist auch bei Verfütterung minderwertiger Silagen in der Regel nicht gegeben (SLADE et al., 1989), die Kontamination der Rohmilch mit Listerien erfolgt vielmehr vor allem aus dem Umfeld (SEELIGER, 1989; MCDONALD et al. 1991). In diesem Zusammenhang spielen Fütterungs- und Haltungsbedingungen eine Rolle, wobei hier bisher der Qualität von Silagen, sowie der Stall- und Melkhygiene eine ganz besondere Bedeutung beigemessen wird.

1.3 Landwirtschaftlicher Zyklus von Listerien (und Clostridien)

Clostridien werden zumeist aus dem Boden durch verschmutztes Erntegut in den Betrieb eingetragen und können nach der Magen-Darm-Passage durch Schmutzpartikel in die Milch gelangen. Clostridien sporen in der Käseemilch können Spätblähungen und Geschmacksbeeinträchtigungen im Schnittkäse verursachen. Der Clostridien sporengelalt der Milch stellt daher ein wichtiges Qualitätskriterium für Rohmilch dar.

Das Auftreten von *Listerien* im landwirtschaftlichen Kreislauf ähnelt jenem von *Clostridien*. Beide Keimgruppen zählen nicht zur originären mikrobiellen Epiphytenflora frischer Grünlandpflanzen. Da sie im Boden jedoch in hohen Zahlen überall verbreitet sind, gelangen sie über die konservierte Pflanze in den Futterkreislauf und somit in den Stall und zum Tier.

Listerienhaltige Futtermittel führen durchwegs zu einem positiven Listeriennachweis im Kot der Tiere (SKOVGAARD and MORGEN, 1988). Auch aufgrund einer lokalen Besiedelung ihres Intestinaltraktes können ansonsten symptomfreie gesunde Milchkühe (Dauerausscheider, carrier) Listerien in großer Zahl im Kot ausscheiden (SLADE et al. 1989). Kontaminierte Silage und vor allem fäkale Verunreinigungen werden somit bisher vielfach als Hauptinfektionsquelle für die Kontamination der Rohmilch mit Listerien angesehen.

Über den ausgeschiedenen Kot und den in weiterer Folge auf die Felder rückgeführten Wirtschaftsdünger wird schließlich ein möglicher Infektionskreislauf geschlossen. Über die Milch (sowohl *Listerien* als auch *Clostridien*) und über das Fleisch (*Listerien*) kann nun in weiterer Folge auch der Eintrag in die menschliche Nahrungskette sowie in den Bereich der Lebensmittelherstellung erfolgen, wobei letzteres bei den *Listerien* auch über unterschiedliche Vektoren (Insekten, Vögel, Mensch) direkt vom Boden, Stall oder Wirtschaftsdünger möglich ist.

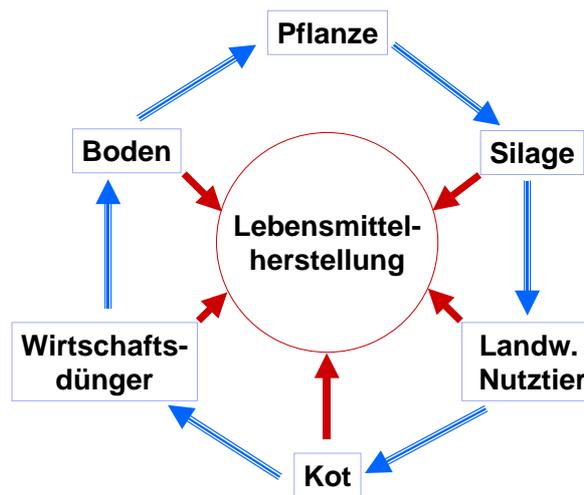


Abbildung 2: **Landwirtschaftlicher Zyklus von Listerien (und Clostridien)**

2. Material und Methoden

Die unter Punkt 1 dargestellte Einleitung und Problemstellung führte zum Forschungsprojekt „Einfluß der Futterkonservierung und Melkhygiene auf den Gehalt an *Listerien* und *Clostridien* in der Rohmilch“ der BAL Gumpenstein (BAL 992216), das seit 1999 gemeinsam mit dem Bundesamt für Agrarbiologie in Linz, der Bundesanstalt für Alpenländische Milchwirtschaft in Rotholz, dem Steirischen Rindergesundheitsdienst und der Österreichischen Arbeitsgemeinschaft für Grünland und Futterbau durchgeführt wurde. Insgesamt wurden dabei 19 steirische Milchviehbetriebe (10 im Mittleren Ennstal und 9 im Müürztal) in mehreren Durchgängen umfassend befragt und beprobt (siehe Anhang 7.1). Dabei handelt es sich um 3 Biobetriebe und 16 konventionelle Betriebe, von der Erwerbsform sind 14 im Vollerwerb, 4 im Nebenerwerb und 1 im Zuerwerb geführt. 8 der untersuchten Betriebe liefern die Milch, abgesehen vom Eigenbedarf, ausschließlich an die Molkerei, 11 versorgen mit bis zu 35 l Milch/Tag auch Direktabnehmer, 2 davon mittels Milchautomat am Betrieb.

| Kuhanzahl | Landw. Nutzfläche (LN) | GVE/ha LN | Ø A-Quote | Ø D-Quote |
|-----------|------------------------|-----------|----------------|-------------|
| Ø 18 | Ø 30,3 ha | Ø 1,3 | 85.095 l | 8.700 l |
| min. 8 | min. 11 ha | min. 0,7 | min. 30.300 l | min. 0 |
| max. 37 | max. 75 ha | max. 1,9 | max. 245.000 l | max. 36.000 |

Tabelle 1: **Betriebskennndaten der untersuchten Milchviehbetriebe**

Bei den untersuchten Betrieben handelt es sich im österreichischen Vergleich (Ø 9,8 Milchkühe und Ø 36.000 l A-Quote/Betrieb) von der Betriebsgröße her betrachtet, im Durchschnitt um eher größere Betriebe (Tabelle 1). Die Auswahl der Betriebe erfolgte unter anderem nach Kriterien des Haltungssystems (12 Betriebe mit Anbindehaltung, 7 Betriebe mit Laufstallhaltung – davon 1 x Tiefstreusystem, 3 x Tretmistsystem und 3 x Liegeboxensystem) sowie des Melksystems (4 Betriebe mit Standeimer, 9 mit Rohrmelkanlage und 6 mit Melkstand).

2.1 Neben der Erfassung des aktuellen Hygienemanagements wie Eutergesundheitsstatus und Vorbeugemaßnahmen, melktechnische Ausstattung und Melkarbeit, innerbetriebliche Hygiene, Milchtransport und –lagerung, Stallhaltung und Stallhygiene, Düngung und Grünlandmanagement sowie Fütterung und Silagebereitung wurden umfangreiche Beprobungen von Grassilage, Kot, Einstreumaterial, Tankmilch, Milchfilter, Spül- und Reinigungslösung durchgeführt. Aus den ersten Erkenntnissen abgeleitet, wurden in weiterer Folge auch Heu, Grummet, betriebsexterne Futtermittel (Krafftfutter) sowie frische Einstreumaterialien untersucht.

Neben der mikrobiologischen Untersuchung auf *Listeria species*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridia species*, *Clostridium tyrobutyricum* (besondere Bedeutung als Käseerschädling) wurden insbesondere die Grassilagen, die bis dato als Haupteintragsquellen von Listerien galten, hinsichtlich Futterqualität und Gärqualität untersucht.

Für die Untersuchung auf Listerien wurden Ansatzmengen von 25 g bei Milch, Silage, Heu und Mischfutter, 10 g bei Einstreu und 1 g bei Kot nach Anreicherung in ½ Fraser-Bouillon und Fraser-

Bouillon mit einer Öse auf Oxford-Agar und Palcam-Agar ausgestrichen und inkubiert (gem. ÖNORM EN ISO 11290-1). Die Bestätigung verdächtiger Kolonien erfolgte anhand der Morphologie, Katalasereaktion und mittels ELISA. Für die Listerienquantifizierung wurde bei positiven Nachweisen das zwischenzeitlich bei 4°C gelagerte Probenmaterial auch einer Titerbestimmung unterzogen. Die Bestimmung der Clostridiensporen wurde in Anlehnung an die von JONSSON (1990) beschriebene Methode in RCM-Medium, supplementiert mit D-Cycloserin und Neutralrot, durchgeführt (ADLER, 1993, 1999; BUCHGRABER et al., 1996). Der Nachweis von *Clostridium tyrobutyricum*-Sporen in Milch, Silagen, Einstreu und Rinderkot erfolgte in modifizierter Tyrobutyricum-Bouillon (JONSSON, 1990; BUCHGRABER et al., 1996).

2.2 Im Rahmen eines 1999 durchgeführten Silierversuches an der BAL Gumpenstein wurde untersucht, wie weit listerienkontaminiertes Erdmaterial, das dem Grünlandfutter im Zuge der Silierung zugesetzt wurde, zu einem positiven Listerienachweis in der fertigen Grassilage führt. Der Silierversuch wurde mit einem Grünlandmischbestand (54% Gräser, 34% Kräuter, 12% Leguminosen) beim dritten Aufwuchs durchgeführt, wobei das Futter in zwei Anwelkgraden (30%, 47%) jeweils ohne und mit künstlichem Erdzusatz siliert wurde. Neben der Ermittlung der Rohnährstoffgehalte, der Verdaulichkeit der organischen Masse sowie des Energiegehaltes wurden die Silagen nach der Auslagerung auf den Besatz an Listerien untersucht.

2.3 Im Jahr 2001 wurde hinsichtlich der Evaluierung unterschiedlicher Euterhygieneprogramme eine weitere Versuchsserie direkt an der BAL Gumpenstein durchgeführt. Dabei wurden an jeweils drei Tieren der Gumpensteiner Milchkuhherde insgesamt 4 unterschiedliche Euterreinigungsverfahren angewendet und an zwei Terminen intensive Beprobungen der Zitzenoberfläche durchgeführt. Die Zitzenoberflächen wurden hinsichtlich mikrobiologischer Parameter wie Gesamtkeimzahl (Gesamtkeimzahl auf Blutagar) und Hygieneindikatorkeime (aerobe mesophile Gesamtkeimzahl (Plate-Count-Agar), Enterobacteriaceae (VRBD-Agar), E. coli (Coli ID – Serie I, E. coli Flourocult-Agar – Serie II, Plattenguss), Staphylokokken (Baird-Parker-RPF), Enterokokken (CATC), Streptokokken auf Blutagar, Staphylokokken auf Blutagar) untersucht.

Folgende Reinigungsverfahren für die Zitzen wurden angewendet und untersucht:

- a) Reinigung mit Tensidschaum (P3 Oxyform)
- b) feuchte Reinigung mit Desinficin CI getränktem Hygienepapier
- c) nasse Reinigung mit im Wasser getränktem Hygienepapier und Nachtrocknen mit Küchenrolle
- d) trockene Reinigung mit Holzwolle

Die Beprobung der Zitzenoberfläche erfolgte mit einem angefeuchteten (5 ml sterile NaCl-Lösung) Gazetupfer, sowie nachfolgend mit einem frischen trockenen Tupfer (Nass-Trocken-Tupfertechnik) Als Vorbereitung zur Beprobung des Euters/Zitzen erfolgte die Rasur der Haare im Bereich der Zitzenbasis, bei der Beprobung selbst wurde ein „Schutzschild“ verwendet, um eine Verunreinigungen der Proben von Hautpartien proximal der Zitze zu vermeiden. Die Vermessung der Zitzen und die Berechnung der Zitzenoberfläche erfolgte an der BAL-Gumpenstein.

Die Durchführung der Untersuchungen erfolgte in zwei Untersuchungsserien:

Serie I:

Zur Beprobung wurde nur eine Euterseite gereinigt: RV und RH blieben ungereinigt, LV und LH wurden hingegen gereinigt.

Beprobungsablauf: vor der Reinigung – RH
 nach der Reinigung – LH
 nach der Melkung (ungereinigt) – RV
 nach der Melkung (gereinigt) - LV

Serie II:

Im Gegensatz zur Serie 1 erfolgte die Probenahme an zwei ungereinigten und zwei gereinigten Zitzen (nach dem Melken wurde nicht beprobt) – Verdoppelung der Vergleichsproben. Zur Beprobung wurde wiederum nur eine Euterseite gereinigt: RV und RH bleiben ungereinigt, LV und LH werden gereinigt

Beprobungsablauf: vor der Reinigung – RV, RH
 nach der Reinigung – LV, LH

In Serie II erfolgte zusätzlich eine Beprobung von drei Liegeflächen im Bereich des Euters mit Hilfe der Nass-Trockentupfertechnik (100 cm²).

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Listerien in Grassilagen

Auf den 19 Milchviehbetrieben wurden insgesamt 63 Grassilagen beprobt, 9 (=14%) waren *Listeria sp.* positiv, in einer Grassilage (=2%) konnte *L. monocytogenes* nachgewiesen werden (PÖTSCH u.a., 2001). Ein Risiko für die Listerienkontamination von Rohmilch stellen listerienhaltige Silagen insoweit dar, als mit ihnen Listerien in den Stallraum gelangen. Von dort kann durch Sekundärkontaminationen ein eventueller Listerieneintrag in die Rohmilch erfolgen.

Der Zusammenhang zwischen dem pH-Wert, als wichtiger Parameter für die Gärqualität und dem Auftreten von *Listerien* zeigte einen mit $\bar{\varnothing}$ 5,5 Einheiten signifikant höheren pH-Wert bei den *Listeria* positiven gegenüber $\bar{\varnothing}$ 4,8 bei den *Listeria* negativen Grassilagen (Abbildung 3). Mit einer einzigen Ausnahme lagen alle *Listeria* positiven Silagen im optimalen pH-Wertbereich für Listerien (4,6 – 9,5), allerdings trifft dies auch für etwa 2/3 aller *Listeria* negativen Proben zu. Das unterschiedliche Niveau der pH-Werte in den beiden Gruppen korrespondiert aber durchaus mit den entsprechenden TM-Gehalten von $\bar{\varnothing}$ 34,8% bzw. $\bar{\varnothing}$ 39,1%. Die an Hand des ÖAG-Schlüssels durchgeführte Sinnenprüfung der Grassilage zeigte eine um 1,1 Einheiten bessere Benotung (Maximalnote = 1) der *Listeria* negativen ($\bar{\varnothing}$ 2,1) gegenüber den *Listeria* positiven ($\bar{\varnothing}$ 3,2) Silagen.

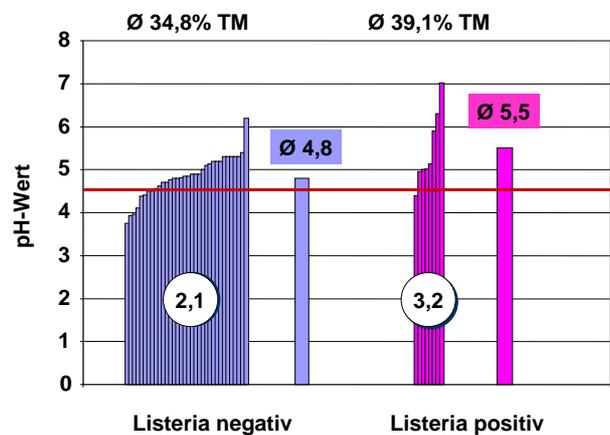


Abbildung 3: Zusammenhang zwischen dem pH-Wert von Grassilagen und dem Auftreten von Clostridien

Für die Praxis lassen sich daraus folgende Empfehlungen resp. Forderungen ableiten:

- möglichst gute und rasche Absäuerung der Silage (pH-Wert < 4,6 um den Optimalbereich der *Listerien* zu unterschreiten) durch saubere, rechtzeitige Ernte, rasche Befüllung, gute Verdichtung und sorgfältige Abdeckung der Silos
- Anwelkgrad zwischen 30 und maximal 40% TM anstreben – unter 30% TM besteht ein höheres Risiko für Sickersaft- und Gärverluste sowie eine stärkere Gefahr durch *Clostridien*, bei Anwelkgraden von > 40% TM steigt hingegen das Risiko für Hefen, Schimmelpilze und *Listerien*.

3.2 Listerien in Heu, Grummet, Kraftfutter und Einstreu

18% der in den Betrieben untersuchten Heu- bzw. Grummetproben (n=28) brachten einen positiven Listeriennachweis, darunter einen *L. monocytogenes* Befund. Verglichen mit der Anzahl der untersuchten Grassilagen (n=63) scheint also – im Gegensatz zur aktuellen Literatur zur Listerienproblematik - getrocknetes Grundfutter eine nicht zu vernachlässigende Eintragsquelle für *Listerien* in den landwirtschaftlichen Betrieb zu sein. Eigene Untersuchungen zeigen, dass *Listerien* in beachtlicher Menge auch an frischem Gras bzw. Siliergut auftreten, somit dürfte wohl auch deren Aufnahme bei der Beweidung eine gewisse Rolle spielen. Zusätzlich muß aber auch ein innerbetrieblicher Infektionszyklus, der ausgehend von verschmutztem Futter über den ausgeschiedenen Kot und den in weiterer Folge auf die Felder rückgeführten Wirtschaftsdünger führt, in Betracht gezogen werden.

| | Anzahl n | <i>Listeria species</i> Positiv | <i>Listeria monocytogenes</i> positiv |
|----------------------------|-------------|------------------------------------|--|
| Grassilage | 63 | 9 (14%) | 1 (2%) |
| Heu + Grummet | 28 | 5 (18%) | 1 (4%) |
| Krafftutter | 21 | 7 (33%) | 0 |
| Einstreumaterial gebraucht | 57 | 48 (84%) | 9 (16%) |
| Einstreumaterial frisch | 38 | 27 (71%) | 2 (5%) |

Tabelle 1: Qualitativer Listeriennachweis in unterschiedlichen Futtermitteln und Einstreumaterialien

Überraschend war der mit 33%! unerwartet hohe Anteil der *Listeria* positiven Krafftutterproben, der doch einige Fragen im Zusammenhang mit der Qualität und dem Hygienestatus von externen Betriebsmitteln aufwirft. Besonders für intensive Betriebe mit hohen Milchleistungen und den dazu eingesetzten steigenden Mengen an Krafftutter scheint hier Vorsicht geboten.

Die starke Kontamination der gebrauchten Einstreu (direkt von der Liegefläche entnommen) war nicht unerwartet, ist dieser Bereich doch insbesondere bei stärkerer Verschmutzung ein idealer Nährboden (Feuchtigkeit, Kotreste) für *Listerien* und andere Keime (Tabelle 2). Aufgrund der positiven Nachweise im Trockenfutter (Heu und Grummet) wurde in weiterer Folge auch frisches, ungebrauchtes Einstreumaterial (nicht im Stall sondern direkt vom Lagerraum entnommen) beprobt und untersucht. 71%! aller frischen Einstreuproben (n=38) waren *Listeria* positiv, 5% wiesen *L. monocytogenes* auf.

| sauber | sauber – mäßig verschmutzt | mäßig verschmutzt | mäßig – stark verschmutzt | stark verschmutzt |
|--------|----------------------------|-------------------|---------------------------|-------------------|
| 7 | 2 | 2 | 3 | 5 |

Tabelle 2: Optische Beurteilung des Verschmutzungsgrades der Liegefläche in den untersuchten Betrieben

Als Einstreumaterialien wurden in den untersuchten Betrieben vor allem Langstroh (7 Betriebe), gehäckseltes Stroh (6 Betriebe), gemahlene Stroh (1 Betrieb), Sägemehl (5x) sowie jeweils auf einem Betrieb Schilfstreu bzw. altes Heu eingesetzt (auf einigen Betrieben wurden auch mehrere unterschiedliche Einstreumaterialien verwendet). Jedenfalls stellt die Einstreu für viele absolute Grünlandbetriebe neben dem Krafftutter ein weiteres externes Betriebsmittel und somit hinsichtlich des Listerieneintrages ein zusätzliches Risikopotential dar.

Für die Praxis lassen sich diesbezüglich folgende Empfehlungen resp. Forderungen ableiten:

- Einsatz von qualitativ und hygienisch einwandfreiem Krafftutter (allerdings schwer kontrollierbar)
- Einsatz von sauberen, hygienisch einwandfreien Einstreumaterialien – saubere Stand- und Liegeflächen
- Verbesserung im Bereich der Stallhygiene (Fliegenbekämpfung!)

3.3 *Listerien in Kot, Milchfilter und Rohmilch*

Bei den untersuchten Kotproben handelt es sich jeweils um Mischproben von 10 % der Milchkühe im Betrieb bzw. von mindestens 3 Tieren. Die in *Tabelle 3* dargestellten Ergebnisse zeigen bei knapp der Hälfte aller Kotproben einen positiven Listeriennachweis, ein Viertel enthielten *L. monocytogenes*. Hier muß natürlich berücksichtigt werden, dass es im Kot zu einem gewissen Konzentrationseffekt und dadurch auch zu einer leichteren Nachweisbarkeit kommt. Tatsache ist jedoch, dass damit in sehr vielen Betrieben einerseits der Kreislauf hin zum Wirtschaftsdünger und in weiterer Folge zum Boden geschlossen wird und andererseits ein beachtlicher Keimdruck im Bereich Liegefläche – Euteroberfläche – Milch besteht.

Wie weit nun tatsächlich eine Kontamination der Milch erfolgt, hängt natürlich sehr stark von der Euter- und Melkhygiene, also vom Landwirt selbst ab. Als „Flaschenhals“ kann in gewisser Weise der Milchfilter als letzte Barriere vor dem Milchtank gesehen werden, obwohl dieser hinsichtlich seiner Porengröße keine Bakterienfilterfunktion hat. Allerdings kommt es im Milchfilter durch den Rückhalt von Schmutzteilchen und großvolumigen Milchinhaltsstoffen auch zu einer verstärkten Anlagerung von Keimen. Knapp 40% aller Milchfilter waren *Listeria* sp. positiv, 18% wiesen *L. monocytogenes* auf.

| | Anzahl n | <i>Listeria species</i> positiv | <i>Listeria monocytogenes</i> positiv |
|------------------------|----------|------------------------------------|--|
| Kot (Mischprobe) | 57 | 28 (49%) | 14 (25%) |
| Milchfilter | 76 | 29 (38%) | 14 (18%) |
| Milch (Tankmilchprobe) | 57 | 8 (14%) | 3 (5%) |

Tabelle 3: **Qualitativer Listeriennachweis in Kot, Milchfilter und Milch**

In der Milch (=Tankmilchprobe) selbst wurde in 14% aller Proben *Listerien*, in 5% *L. monocytogenes* nachgewiesen. Hier ist allerdings zu beachten, dass es in der Tankmilch zu einem Verdünnungseffekt kommt.

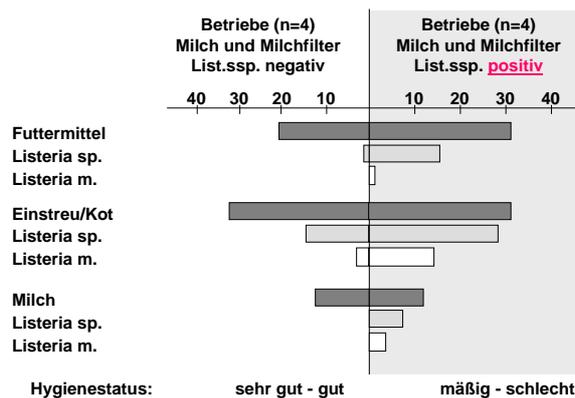


Abbildung 4: **Betriebsgruppenspezifische Kontamination und Belastung durch Listerien**

In *Abbildung 4* ist das Listerienbelastungspotential von jeweils 4 Betrieben mit einem sehr guten bis guten Hygienestatus sowie von 4 Betrieben mit einem mäßigen bis schlechten Hygienestatus dargestellt. Dabei zeigt sich, dass Problembetriebe im Bereich Futtermittel – Einstreu - Kot ein beachtliches Listerienpotential „aufbauen“ und mangels entsprechender Hygienemaßnahmen (Stall – Euter – Melkung) schließlich auch in der Milch einen hohen Keimdruck zeigen. Auch in den hygienisch guten Betrieben besteht ein gewisses Keimpotential in Einstreu und Kot, allerdings greift hier das Hygieneprogramm und verhindert eine Kontamination der Milch. Listerienhaltige Futtermittel führen durchwegs zu positiven Listeriennachweisen im Kot (SKOVGAARD and MORGEN, 1988), Listerien können sich in der Folge aber auch im Darmbereich von ansonsten gesundem Milchvieh festsetzen und werden dann in hohen Zahlen im Kot ausgeschieden (SLADE et al., 1989). Im Zuge örtlicher Infektionszyklen oder nach fäkalen Verunreinigungen können die Keime dann auf sämtliche Betriebsmittel übertragen werden, wie auch am Beispiel *Listeria*-kontaminierter Futter-Pellets abzulesen ist (ADLER et al., 2000). Als Folge mangelnder Melkhygiene können Listerien schließlich fakultativ auch in die Rohmilch eingebracht werden.

| Verschmutzungsgrad | sauber | sauber – mäßig verschmutzt | mäßig verschmutzt | mäßig – stark verschmutzt | stark verschmutzt |
|--------------------|--------|-------------------------------|----------------------|------------------------------|----------------------|
| Tiere | 5 | 6 | 2 | 3 | 3 |
| Euter | 7 | 3 | 3 | 5 | 1 |

Tabelle 4: **Optische Beurteilung des allgemeinen Verschmutzungsgrades der Tiere sowie des Euters vor Beginn der Melkarbeit in den untersuchten Betrieben**

Insgesamt zeigte sich, dass nur auf wenigen Betrieben die Tiere vor der Melkarbeit einen stärkeren Verschmutzungsgrad aufwiesen, jedoch auf knapp der Hälfte aller untersuchten Betriebe die Euter vor der Melkarbeit als mäßig bis stark verschmutzt beurteilt wurden (Tabelle 4). Der Reinigung des Euters resp. der Zitzen kommt daher eine ganz besondere Bedeutung zu.

In den untersuchten Betrieben wurden sowohl Vollhygieneprogramme (4) als auch Teilhygieneprogramme angewendet. Neben der Verwendung von Einmalpapier (11x) wurde Zitzentauchen (8x) und in einem Fall ein Zitzenspray eingesetzt, auf acht Betrieben wurden einzelne Maßnahmen auch kombiniert.

Auf 9 Betrieben wurden die Zitzen und die Euterhaut nach der Reinigung vor dem Anstecken des Melkzeuges mit Einmalpapier getrocknet. In 14 Betrieben erfolgte eine Vorgemelkprüfung (6 x auf die

Handfläche oder auf den Boden, 8x in den Vormelkbecher), die restlichen Betriebe führten keinerlei Beurteilung des Vorgemelkes durch!

Die durchschnittliche Melkzeit in den untersuchten Betrieben lag zwischen 35 und 90 Minuten, wobei in dieser Zeit zwischen 70 und 380 l Milch ermolken wurden. Die ermolkene Milchmenge/Minute Melkzeit betrug 0,39 – 1,71 l je Melkzeug. Die Filtrierung der Milch erfolgte mittels Filterpatrone im langen Milchschauch (8 Betriebe), mittels Filterpatrone im Tankeinlauf (6 Betriebe) bzw. per Scheibenfilter (5 Betriebe). Die voreingestellte Temperatur bei der Milchkühlung reichte von 3,9°C bis 6°C, die im Tank gemessene Temperatur betrug $\bar{\varnothing}$ 8,5°C (nach 15 Minuten) und variierte zwischen 2,5°C (nach 60 Minuten) und 15,6°C (nach 20 Minuten). Die Mindestfüllmenge von 10% des Tankvolumens wurde in allen untersuchten Fällen erreicht.

Die Reinigung von Melkzeug und Melkgeschirr erfolgte händisch (2x), händisch in Kombination mit Spülautomat (8x), per Spülautomat (3x) sowie auf 6 Betrieben mittels vollautomatischer Reinigung. Die Häufigkeit einer sauren Reinigung erstreckte sich von 1x pro Woche bis 2x täglich. Der allgemein bauliche Zustand sowie auch der hygienische Zustand der jeweiligen Milchkammern konnte als überwiegend gut beurteilt werden.

Empfehlung resp. Forderung an die Praxis:

- Einhaltung bester Stall-, Euter- und Melkhygiene!

3.3 Zusammenhang zwischen dem Auftreten von *Listerien* und *Clostridien* in Grassilagen

Während *Listerien* vor allem aus gesundheitlicher Sicht (Human- und Tiergesundheit) zu beachten sind, können *Clostridien* im Bereich der Verarbeitungstechnologie von Milch große Probleme bereiten – bekanntestes Beispiel sind die gefürchteten Spätblähungen in der Produktion von Hartkäse. Die im vorliegenden Projekt beprobten Grassilagen wurden daher unter anderem auch auf ihren Gehalt an *Clostridien species* sowie *Clostridium tyrobutyricum* untersucht. *Abbildung 5* zeigt die Verteilung der Clostridiensporengehalte mit einem arithmetischen Mittelwert von 76.000 und einem Median von 4.300 Sporen/g Silage. Als Orientierungswert, der zur Erzielung einer guten Silagequalität nicht überschritten werden sollte, gelten 10.000 Clostridiensporen/g Silage - 65 % aller untersuchten Silagen lagen unter diesem Grenzwert.

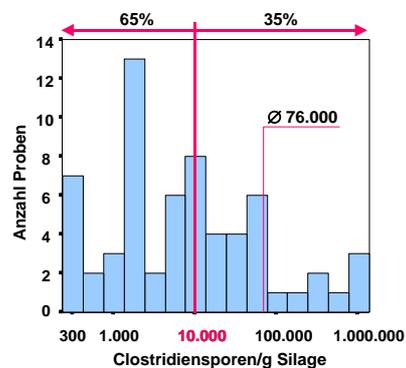


Abbildung 5: Gehalt an Clostridiensporen in den untersuchten Grassilagen

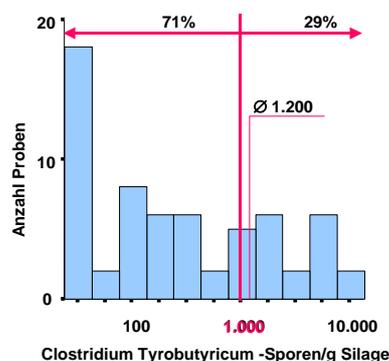


Abbildung 6: Gehalt an Sporen von *Clostridium tyrobutyricum* in den untersuchten Grassilagen

Abbildung 6 zeigt die Verteilung der Gehalte an *C. tyrobutyricum*, für die ein Orientierungswert von maximal etwa 1000 Sporen je g Silage bester Qualität angenommen werden kann – mehr als 70 % aller untersuchten Silagen wiesen geringere Gehalte auf. Die Ergebnisse der Clostridienuntersuchung bestätigt somit Erfahrungen aus dem Steirischen Silageprojekt sowie weitere Praxisuntersuchungen, wonach etwa ein Drittel aller Grassilagen eine mäßige bis schlechte Qualität aufweisen.

In Tabelle 4 sind die Gehalte von Clostridiensporen und von *C. tyrobutyricum*-Sporen in den Grassilagen, untergliedert in *Listerien* positive und *Listerien* negative Proben dargestellt. Daraus ist ersichtlich, dass sowohl bei den Gesamtdaten (alle bisherigen Beprobungen) als auch bei den Daten der letzten Beprobung (mit einem sehr hohen Anteil an *Listeria* positiven Befunden) eine negativ korrelierte Beziehung zwischen *Listerien* und *Clostridien* besteht. Dies erklärt sich durchaus mit den unterschiedlichen Lebens- und Wachstumsansprüchen dieser beiden Keimgruppen. Hervorzuheben ist dabei insbesondere der durchschnittlich etwas höhere Trockenmassegehalt *Listeria* positiver Grassilagen, der wie auch andere Untersuchungen zeigen, tendenziell zu niedrigeren Clostridiengehalten führt.

| | <i>Listeria</i> spp. positiv | <i>Listeria</i> spp. negativ |
|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| <i>Summe aller Beprobungen:</i> | | |
| Clostridiensporen/g FM | Ø 9.500 | Ø 87.200 |
| Cl. tyrobutyricum/g FM | Ø 810 | Ø 1.200 |
| | | |
| <i>Letzte Beprobung:</i> | | |
| Clostridiensporen/g FM | Ø 3.500 | Ø 28.600 |
| Cl. tyrobutyricum/g FM | Ø < 100 | Ø 540 |

Tabelle 4: Zusammenhang zwischen dem Auftreten von *Listerien* und *Clostridien* in Grassilagen

Der unter 2.2 angeführte Silierversuch an der BAL Gumpenstein (S-40) brachte die in Tabelle 5 zusammengefasste Ergebnisse. Das Ausgangsmaterial für die Grassilage wurde in je einer Serie der beiden Anwelkvarianten mit einem künstlichen Erdzusatz versehen, wobei sich diese Behandlung in einer deutlichen Anhebung des Rohaschegehaltes von 16,0 auf 21,5% in der TM bzw. von 14,3 auf 17,8% in der TM niederschlug. Diese künstlich herbeigeführte Futtermittelverschmutzung mit listerienkontaminiertem Erdreich, zeigte auch eine entsprechende negative Auswirkung im Energiegehalt des Futters (-22% in der niedrigen bzw. – 6% in der höheren Anwelkstufe).

Obwohl neben dem Erdreich auch das Futter von zwei der insgesamt vier Versuchsvarianten einen positiven *Listerien*befund aufwies, konnten nach der Auslagerung (nach knapp 2,5 Monaten) keine *Listerien* in den einzelnen Silagen nachgewiesen werden. Ausschlaggebend für dieses trotz Versuchsergebnis scheinen einerseits die optimalen Silierringbedingungen (beste Verdichtung und sicherer, luftdichter Abschluss), der rechtzeitige Erntezeitpunkt des Futters (Rohfasergehalt < 25% in der TM) sowie die trotz des z.T. hohen Anwelkgrades gute Absäuerung (pH-Wert zwischen 4,5 und 4,8) zu sein. Dieses Ergebnis bestätigt aber auch die im Vergleich zu anderen Eintragsquellen offensichtlich relativ geringe Gefahr und Bedeutung des *Listerien*eintrages über Grassilagen.

| | Anwelksilage (30% TM) | | Anwelksilage (47% TM) | |
|-----------------------|-----------------------|---------------|-----------------------|------------------|
| | ohne Erdzusatz | mit Erdzusatz | ohne Erdzusatz | mit Erdzusatz |
| TM | 29,7 | 31,0 | 46,1 | 47,5 |
| Rohasche (TM) | 16,0 | 21,5 | 14,3 | 17,8 |
| Rohfaser (TM) | 22,8 | 22,1 | 24,9 | 23,3 |
| Rohfett (TM) | 2,1 | 1,7 | 2,0 | 1,9 |
| N-freie Extrakte (TM) | 43,7 | 40,3 | 43,5 | 42,1 |
| pH-Wert | 4,6 | 4,7 | 4,8 | 4,8 |
| Milchsäure (TM) | 0,83 | 0,72 | 1,04 | 1,18 |
| Essigsäure (TM) | 0,16 | 0,11 | 0,26 | 0,28 |
| Buttersäure (TM) | 0,46 | 0,53 | 0,23 | 0,23 |
| Fliegpunkte | 31 | 29 | 48 | 49 |
| Benotung | 4 (mäßig) | 4 (mäßig) | 3 (befriedigend) | 3 (befriedigend) |

Tabelle 5: Nährstoffgehalt sowie Silierringkennwerte von Grassilagen aus dem Silierversuch S-40

3.4 Clostridiengehalte in unterschiedlichen Beprobungsmaterialien

Tabelle 4 beinhaltet die relativen Anteile jener Proben, welche einen angenommenen Orientierungswert von etwa 10.000 Clostridensporen/g bzw. von etwa 1.000 *C. tyrobutyricum*-Sporen/g überschritten. Auch hier ist eine gewisse, jedoch nicht überraschende Konzentration im Bereich der gebrauchten Einstreu sowie beim Kot erkennbar – getrocknetes Grundfutter und frisches Einstreumaterial haben für die *Clostridien* im Gegensatz zu den *Listerien* keine Bedeutung als Eintragsquelle (Tabelle 6).

Clostridien werden zumeist aus dem Boden durch verschmutztes Erntegut in den Betrieb eingetragen und können nach der Magen-Darm-Passage schließlich infolge mangelnder Euter- und Melkhygiene durch Schmutzpartikel in die Milch gelangen.

| Probenmaterial: | <i>Clostridium</i> spp. > 10.000 Sporen/g | <i>C. tyrobutyricum</i> > 1000 Sporen/g |
|--|--|--|
| Grassilage | 35% | 27% |
| Heu, Grummet, Kraftfutter | - | - |
| Einstreumaterial, gebraucht | 58% | 42% |
| Einstreumaterial, frisch | - | - |
| Kot | 68% | 79% |
| Milch (Sporen/ml) | Ø 8,2 (37% > 6,0) | Ø 2,0 (0% > 6,0) |
| Käseerschädliche Clostridien in der Milch: Ø 11,5/ml (35% > 6,0 Sporen/ml) | | |

Tabelle 6: **Clostridien in unterschiedlichen Beprobungsmaterialien**

37% aller untersuchten Milchproben wiesen einen Gehalt von > 6,0 Clostridien/ml Milch auf, für *Cl. tyrobutyricum* wurde dieser Wert in keiner einzigen Probe überschritten. Hingegen wiesen 35% der untersuchten Milchproben einen Gehalt von > 6,0 käseerschädlichen Clostridien/ml auf.

Empfehlung für die Praxis:

- Optimierung der Futterkonservierung (Einhaltung der elementaren Silierregeln!)
- Sauberkeit im Stallbereich (keine Verfütterung und Lagerung von verdorbenen Silagen im Stall, saubere Liegeflächen)
- Optimale Hygiene im Bereich der Melkarbeit!

3.5 Wirksamkeit gängiger Euterreinigungs- und Desinfektionsverfahren

Die häufigen Listeriennachweise in Kot, Einstreu frisch und gebraucht verdeutlichen sehr eindrucksvoll die Bedeutung einer ordnungsgemäßen Stall- und Melkhygiene. So konnten mit einer Ausnahme in jenen Betrieben mit Listeriennachweisen in Milch und Milchfiltern laut Erhebungsbogen auch Hygienemängel im Stall und bei der Milchgewinnung festgestellt werden.

Eine bedeutende Hygienemaßnahme stellt daher die Zitzenreinigung und -desinfektion dar. Im Zuge des Projektes wurde daher auch die Wirkung gängiger Reinigungs- und Desinfektionsverfahren getestet.

Die Untersuchungsergebnisse sind in den Tabellen 7-9 dargestellt. Aufgrund der in Testserie I ermittelten Ergebnisse (Untersuchung der Zitze eine Euterhälfte vor und nach dem Reinigen bzw. Untersuchung einer ungereinigten und gereinigten Zitze der anderen Euterhälfte nach dem Melken) beschränkte sich in der Serie II die Untersuchung der ungereinigten und gereinigten Zitzen vor dem Melken um mit Hilfe einer höheren Anzahl an Vergleichswerten eine bessere Aussage über die Wirkung der einzelnen Reinigungs- und Desinfektionsverfahren treffen zu können.

Um einen Vergleich der einzelnen Reinigungs- und Desinfektionsverfahren anstellen zu können, wurden daher in Serie I drei Testkühe je angewendetem Verfahren, das sind je Testverfahren drei Vergleichsuntersuchungen (linke hintere Zitze ungereinigt, rechte hintere Zitze gereinigt), und in Serie II drei Testkühe je angewendetem Verfahren und jeweils einer Euterhälfte (linke hintere und linke vordere Zitze ungereinigt; rechte hintere und rechte vordere Zitze gereinigt) mit je 6 Vergleichsproben in die Berechnungen einbezogen. So gibt es für die Beurteilung der Desinfektionswirkung der vier getesteten Reinigungs- und Desinfektionsverfahren insgesamt neun Vergleichswerte.

Für die Berechnung der Reduktionsraten wurden die Keimzahlen logarithmiert und für die verwendeten Reinigungs- und Desinfektionsverfahren der Mittelwert bzw. Medianwert bestimmt.

Tabelle 7: Darstellung der Mittelwerte der Reduktionsraten (log) betreffend die Parameter aerobe mesophile Gesamtkeimzahl auf Plate-Count-Agar sowie die Gesamtkeimzahl auf Blutagar (n=9)

| | Tensidschaum P3 Oxyform | Desinficin Cl | Nass-Trockenreinigung | Holzwohle |
|--|-------------------------|---------------|-----------------------|-----------|
| Gesamtkeimzahl (Plate-Count-Agar) in log | 0,51 | 0,84 | 0,88 | 0,48 |
| Gesamtkeimzahl (Blutagar) in log KbE/cm ² | 0,78 | 0,93 | 1,10 | 0,69 |

Tabelle 8: Darstellung der Medianwerte (log) der Reduktionsraten betreffend die Parameter aerobe mesophile Gesamtkeimzahl auf Plate-Count-Agar sowie die Gesamtkeimzahl auf Blutagar (n=9)

| | Tensidschaum P3 Oxyform | Desinficin Cl | Nass-Trockenreinigung | Holzwohle |
|--|-------------------------|---------------|-----------------------|-----------|
| Gesamtkeimzahl (Plate-Count-Agar) in log | 0,52 | 0,86 | 0,95 | 0,29 |
| Gesamtkeimzahl (Blutagar) in log KbE/cm ² | 0,83 | 0,90 | 0,94 | 0,69 |

Für die Berechnung der Mittelwerte bzw. Medianwerte der Reduktionsraten der Keime auf den Zitzenoberflächen wurde nur die Gesamtkeimzahl herangezogen, da bei den Hygieneindikatorkeimen (Enterobacteriaceae, E. coli, Staphylokokken und Enterokokken) ein Großteil der Werte unter der Nachweisgrenze für die einzelnen Bestimmungsverfahren lagen.

Vergleichend zu den Untersuchungen der Zitzenoberfläche wurden in Untersuchungsserie II auch die Liegeflächen der Rinder im Bereich des Euters untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 9: Keimgehalt der Liegefläche im Bereich der Kuheuter (log KbE/cm²)

| Probe | GKZ | Eb | E. coli | St.a. (Eigelb) | Ek |
|-------|------|------|---------|----------------|------|
| I | 5,68 | 1,48 | 1,30 | 4,00 | 2,08 |
| II | 6,51 | 3,38 | 3,70 | 4,78 | 2,78 |
| III | 6,60 | 3,51 | 4,00 | 4,78 | 3,04 |

GKZ – aerobe mesophile Gesamtkeimzahl, PCA, 30°C, 3 d/cm² Liegefläche

Eb - Enterobacteriaceae, VRBD, 30°C, 2d/cm² Liegefläche

E. coli - Coli ID, 37°C, 1d/cm² Liegefläche

St.a.- Staphylococcus aureus, BP, RPF, 37°C 2d/cm² Liegefläche

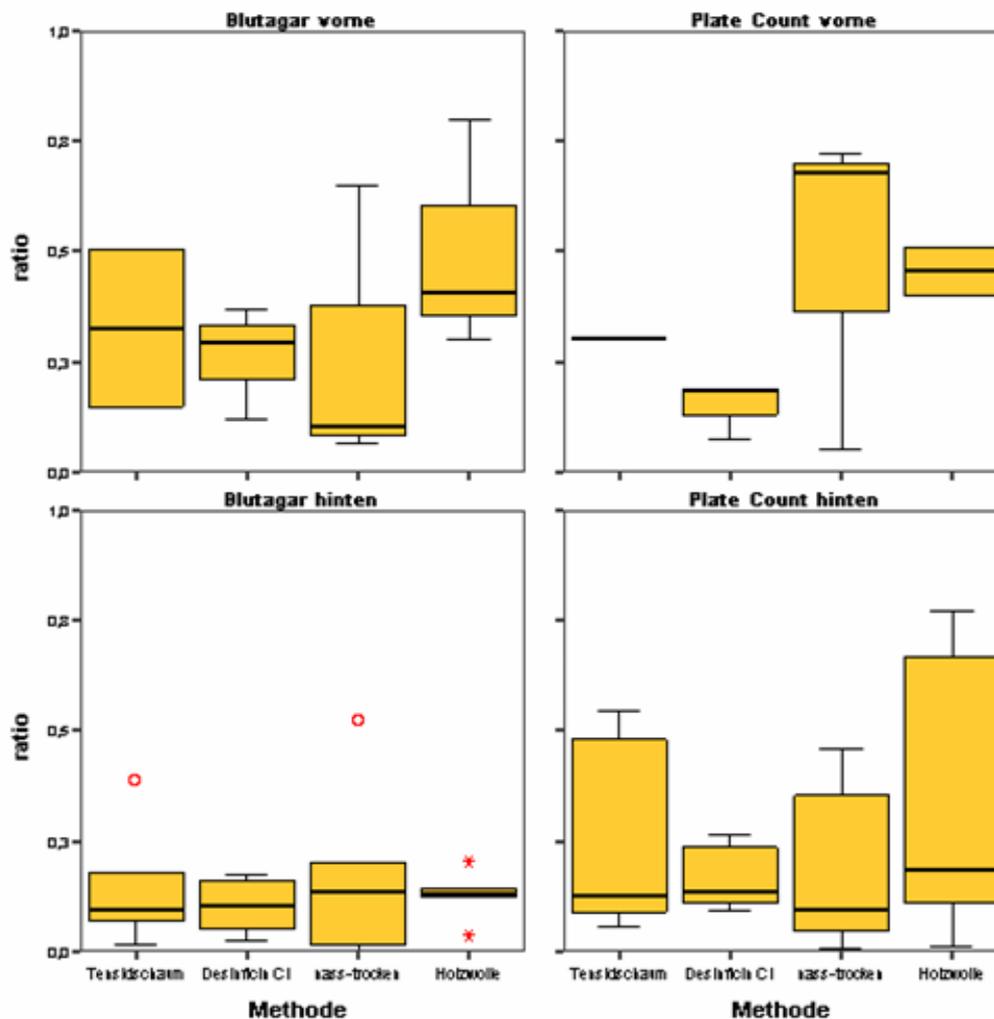
Ek- Enterokokken, CATC, 37°C, 2d/cm² Liegefläche

Für die nachfolgende Datenauswertung wurde die Desinfektionswirkung von 4 verschiedenen Reinigungsmethoden bei Rindereutern verglichen, wobei als Messvariable die Keimzahl vor und nach der Reinigung diente. Für die Messung dieser Keimzahlen standen 2 unterschiedliche Messmethoden zur Verfügung. Weiters wurde noch die Lage der gereinigten Zitzen (vorne – hinten) aufgrund des unterschiedlichen Keimbesatzes berücksichtigt. Als interessierende Zielgröße wurde das Verhältnis von Keimzahl nach und vor der Reinigung betrachtet (Ratio). Bei ordnungsgemäßer Messung sollte dieses Verhältnis immer kleiner oder gleich 1 sein. Messpaare, die diese Bedingung nicht erfüllten, wurden ausgeschieden, sodass von den ursprünglich 72 Werten 66 für die Datenauswertung verwendet wurden.

Die inhaltlich interessierenden Fragen sind, ob erstens zwischen den Reinigungsmethoden signifikante Unterschiede festzustellen sind und zweitens, welchen Einfluss die Messmethode hat. Aus statistischer Sicht ist für Signifikanztests ein wesentlich größerer Stichprobenumfang für die jeweiligen Faktorkombinationen erforderlich, als in dieser Erstuntersuchung gegeben ist. Aufgrund der natürlich

vorhandenen Streuung bei den Messwerten sind bei einem derart kleinen Umfang kaum Signifikanzaussagen möglich bzw. mit einer sehr hohen Irrtumswahrscheinlichkeit behaftet.

Abbildung 7: Lageunterschiede zwischen den Keimzahlverhältnissen (Ratios) mittels graphischer Boxplot-Analyse



Bei der Interpretation der Boxplot-Diagramme ist auf die sehr niedrigen Fallzahlen hinzuweisen (max. 6). Unter Berücksichtigung dieser Einschränkung lässt sich folgendes festhalten:

- Die mittlere Reinigungswirkung ist bei den hinteren Zitzen – d.h. höherer Keimbesatz – stärker als vorne. Damit spielt das Ausgangsniveau beim Keimbesatz eine offensichtliche Rolle.
- Bei den hinteren Zitzen lassen sich keine Unterschiede zwischen den Reinigungsmethoden erkennen. Im Gegenzug sind sie bei den vorderen Zitzen sehr ausgeprägt, allerdings weist hier je nach Messmethode im einen Fall (Blutagar) die Nass-Trocken-Methode im Vergleich zur Holzwolle eine stärkere Reinigungskraft auf, bei der Messung mittels Plate Count ist es genau umgekehrt.

In einer Regressionsanalyse wurde die statistische Erklärungskraft von Reinigungsmethode, Zitzenlage sowie absolutes Keimzahlniveau für das Keimzahlverhältnis untersucht. Ohne Darstellung der numerischen Ergebnisse sei festgehalten, dass kein statistisch signifikanter Einfluss der Reinigungsmethode festgestellt werden konnte. Hingegen gibt es sehr wohl Hinweise auf den relevanten Einfluss der Zitzenlage bzw. des absoluten Keimbesatzes.

Für eine verallgemeinerbare Aussage über die Wirkung der verschiedenen Reinigungsmethoden ist allerdings eine deutliche Erhöhung der Fallzahlen sowie ein standardisiertes Datenerhebungsverfahren erforderlich.

4. Zusammenfassung

Die Ergebnisse des Forschungsprojektes „Einfluß der Futterkonservierung und Melkhygiene auf den Gehalt an *Listerien* und *Clostridien* in der Rohmilch“ zeigen ein beachtliches (Kontaminations-) Potential an den beiden Keimgruppen in den untersuchten Betrieben. Im Bereich der *Listerien* muß neben der Grassilage auch dem getrockneten Grundfutter und den frischen Einstreumaterialien erhöhte Aufmerksamkeit als Eintragsquelle in den landwirtschaftlichen Betrieb sowie im Zusammenhang mit innererbetrieblichen Infektionszyklen beigemessen werden. Entscheidend ist letztlich aber die Hygiene im Stall- und vor allem im Melkbereich, um eine Kontamination der Milch zu verhindern.

5. Summary

In the framework of a research project, the influence of silage quality and milking hygiene on the *Listeria* content of raw milk was analysed in 19 dairy farms in two, climatically diverse regions of the province Styria, Austria. Sampling, which was carried out in three test series, included tank milk, milk filters, grass and maize silage, concentrates, both fresh and used bedding material and excrements. The analysis of tank milk for *Listeria* was positive in 7 cases (12%), with *L. monocytogenes* being identified in 3 cases (5%). The percentage of positive *L. monocytogenes* samples in milk filters was clearly higher (16%). The high proportion of positive samples found in used bedding material and, above all, in excrements shows that the hygienic conditions in the cowshed as such and during the milking play an absolutely decisive role in reducing or altogether avoiding *Listeria* contamination. On the other hand, silage appears to be a minor problem, although silage-borne *Listeria* can spread very rapidly within the farms affected, due to local infection cycles.

6. Literatur

- ADLER, A. (1993): Zur Beurteilung der mikrobiellen Qualität von Silagen. IAG – Sektion Futtermittelmikrobiologie, Proceedings, Berlin, 43-57
- ADLER, A. (1999): Discussion of an EFMO method for microbiological analysis and interpretation of silage quality. European Feed Microbiology Organisation, Proceedings, Leipzig, 8-12
- ADLER, A., P. PLESS, R. RESCH and E. M. PÖTSCH (2000): Silage quality and incidence of *Listeria* spp. in raw milk. European Feed Microbiology Organisation, Proceedings, Bonn, 15-20
- AZADIAN, B.S., G.T. FINNERTY and A.D. PEARSON (1989): Cheese-borne *Listeria meningitis* in immunocompetent Patient. *Lancet* 1, 322-323
- BRANDL, E. (1997): Rohmilchkonsum – Risikobewertung, Risikominimierung. Ber. des TGD-Intensivseminares „30 Jahre Steirischer Eutergesundheitsdienst“, 81-90
- BUCHGRABER, K., R. RESCH und A. ADLER (1996): Einfluß des Nutzungszeitpunktes bei der Silierung von Grünlandfutter. Veröff. der BAL Gumpenstein 27, 1-38
- DEUTZ, A. und E.S. KUTTIN (1990): Über eine sichere und einfache mikroskopische Nachweismethode von Pilzen und Algen in Milchproben. *Wien tierärztl. Mschr.* 77, 213-215
- DEUTZ, A., P. PLESS und J. KÖFER (1997): Untersuchungen von Rohmilch auf humanpathogene Keime mit einem automatisierten ELISA-System. Ber. 38. DVG-Arbeitstagung, Garmisch-Partenkirchen, 615-620
- FEDIO, W.M., and H. JACKSON (1992): On the Origin of *Listeria monocytogenes* in raw bulk-tank milk. *Int. Dairy J.* 2, 197-208.
- HARRIS, N.V., T. KIMBALL, N.S. WEISS and C.M. NOLEN (1986): Dairy products, produce and other nonfoods as possible sources of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* enteritis. *J. Food. Protect.* 49, 347-351
- JONSSON, A. (1990): Enumeration and confirmation of *Clostridium tyrobutyricum* in silages using neutral red, D-cycloserine, and lactatdehydrogenase activity. *J. Dairy Sci.* 73, 719-725
- McDONALD, P., A.R. HENDERSON and S.J.E. HERON (1991): The biochemistry of silage. 2nd ed., Chalcombe Publications, Marlow, Bucks.
- ÖNORM EN ISO 11290-1:1996 Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln. Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von *Listeria monocytogenes*. Teil 1: Nachweisverfahren.
- MC DONALD, P., A.R. HENDERSON and S.J.E. HERON (1991): The biochemistry of silage. 2nd ed., Chalcombe Publications, Marlow, Bucks
- PLESS, P. und A. DEUTZ (1997): Untersuchungen von Rohmilch auf humanpathogene Keime. Ber. des TGD-Intensivseminares „30 Jahre Steirischer Eutergesundheitsdienst“, 73-80
- PLESS, P., DEUTZ, A., KÖFER, J., PÖTSCH, E.M. und W. OBRITZHAUSER (1999): Einfluss der Silagequalität und der Melkhygiene auf den Listeriengehalt in Rohmilch. 40. DVG-Arbeitstagung - Lebensmittelhygiene, vom 29. September bis 1. Oktober, Garmisch-Partenkirchen, S. 272-277.
- POETSCH, E.M., A. ADLER, P. PLESS, A. DEUTZ und W. OBRITZHAUSER (2001): Zum Auftreten von *Listerien* in Steirische Milchviehbetrieben. Bericht ALVA-Tagung „Landwirtschaftliche Qualitätsprodukte – Basis für hochwertige Nahrungsmittel“. Wolfpassing, 125-126
- SANAA, M., B. POUTREL, J.L. MENARD and F. SERIEYS (1993): Risk factors associated with contamination of raw milk by *Listeria monocytogenes* in dairy farms. *J. Dairy Sci.* 76: 2891-2898
- SEELIGER, H.P.R. (1989): *Listeria monocytogenes*. *Forum Mikrobiologie* 6, 300-304

SKOVGAARD, N. and C.-A. MORGEN (1989): Detection of *Listeria* spp. in faeces from animals, in feeds, and in raw foods of animal origin. Int. J. Food Microbiol. 6, 229-242
SLADE, P.J., E.C. FISTROVICI and D.L. COLLINS-THOMPSON (1989): Persistence at source of *Listeria* spp. in raw milk. Int. J. Food Microbiol. 9, 197-203

7. Anhang

7.1 Checkliste für die Betriebserhebungen des Hygienemanagements in Milcherzeugerbetrieben

....., am/...../.....
(Ort) (Tag/Monat/Jahr)

| | | | |
|-------------------------------|------------------------|----------------|--|
| Name des Tierbesitzers: _____ | | | |
| Adresse: _____ | | | |
| PLZ: _____ | Ort: _____ | Telefon: _____ | |
| Liefer-Nr.: _____ | Bestands-Nr.: ST | LKV-Nr.: _____ | |

Betriebsspiegel:

- Jahresniederschlag <600 600-1000 >1000mm
 Jahrestemperatur in °C <6 6-8 >8
 Vegetationsdauer in Tagen <180 180-235 >235
 Betriebsform Vollerwerb Nebenerwerb Zuerwerb
 Wirtschaftsweise konventionell organisch/biologisch sonstiges
 Vermarktung Direktvermarktung Milchautomat nur Molkerei

Anmerkungen:

Betriebsgröße _____ ha landwirtschaftliche Nutzfläche _____ ha
 Ackerland _____ ha Ackergrünland _____ ha
 Dauergrünland _____ ha Dauerwiesen _____ ha Dauerweiden _____ ha

Herdenstatus:

Anzahl Kühe gesamt: Rasse: FV, BV, SB GVE gesamt:
 Milchkontingent A-Quote: kg / Jahr Milchkontingent D-Quote: kg / Jahr

Keimzahl- und Zellzahl-Monatsübersicht über die letzten 12 Monate:

| Monat/Jahr | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| Keimzahl in Tausend | | | | | | | | | | | | |
| Zellzahl in Tausend | | | | | | | | | | | | |
| Liefermenge | | | | | | | | | | | | |

in kg

1. Eutergesundheitsstatus und -vorbeugemaßnahmen:

Hygieneprogramm: nein Euterlappen
Vollhygieneprogramm
Teilhygieneprogramm
Einmalpapier Zitzentauchen Vormelkbecher
Präparat zur Euterreinigung: Konzentration: %
Präparat zum Zitzentauchen: Konzentration: %
Dosierung mit Messbecher Stammlösung cirka
Ersatz alter Tauchlösung alle Tage.
Bemerkungen:

2. Überprüfung der Melkmaschine:

Melkanlagentyp: Baujahr: _____ Firmenbezeichnung: _____
Eimermelkanlage Standeimer Hängeeimer
Rohrmelkanlage Melkleitung hoch verlegt max. Höhe cm
Melkleitung tief verlegt
Melkstand
Fischgrätstand Tandemstand Side by Side
Anzahl Melkzeuge: _____ Stichleitung Ringleitung
Länge der Milchleitung (ca.): m
Niveauunterschiede in der Milchleitung ja nein
Anzahl der Milchschröser: _____
Dimension der Milchleitung (innen): mmØ
Material der Milchleitung Plexiglas Nirosta

Melkzeuge:

Type: _____
Reinigungs- und Funktionszustand der Gummiteile in Ordnung
Zitzengummis ja nein Anm. _____
kurze Milchschräuche ja nein Anm. _____
lange Milchschräuche ja nein Anm. _____
letzter Wechsel der Gummiteile:
Luftinlass am Sammelstück vorhanden nicht vorhanden
frei nicht frei
Reinigungszustand der Sammelstücke innen in Ordnung

ja nein Anm. _____

Volumen des Sammelstückes: ml
ID kurzer Milchschauch: mm
ID Einlauf Sammelstück: mm
ID Auslauf Sammelstück: mm
ID langer Milchschauch: mm
ID Einlauf Melkleitung: mm
ID Einlauf Milcheimer: mm

Pulsatoren: Type: _____

pneumatisch elektronisch

Milcheimer: Volumen: Liter

technischer Zustand (Gummidichtung, Eloxierung, Kalkablagerungen) in Ordnung

ja nein Anm. _____

Reinigungszustand in Ordnung ja nein Anm. _____

Milchleitung: Reinigungszustand in Ordnung ja nein Anm. _____

Milchschlösser sauber ja nein Anm. _____

Letzte Melkmaschinenüberprüfung am: durch:

3. Melkarbeit:

Sind die Tiere vor Beginn der Melkarbeit:

sauber mäßig verschmutzt stark verschmutzt

Sind Euter vor Beginn der Melkarbeit:

sauber mäßig verschmutzt stark verschmutzt

Die **Reinigung** stark verschmutzter Euter vor dem Melken erfolgt:

nicht mit Euterlappen mit Einmalpapier

mit Stroh mit

naß feucht trocken

Zitzen und Euterhaut werden vor dem Anstecken des Melkzeuges getrocknet:

ja nein

Wenn ja, mit Einmalpapier Euterlappen

Wird das **Vorgemelk** auf Flocken geprüft: ja nein
 Handfläche Vormelkbecher sonstiges Gefäß
 das Vorgemelk wird auf den Boden gemolken
 Das Melkzeug wird zwischendesinfiziert: ja nein
 Heißwasser °C Sonstiges:

Melken:

Durchschnittliche Dauer der Melkarbeit / Melkzeit: min.
 Durchschnittliche Melkzeit / Kuh / Melkzeug: min.
 ermolkene Gesamtmilchmenge / Melkzeit: Liter.
 ermolkene Milchmenge / min. Melkzeit / Melkzeug: Liter.

4. Innerbetriebliche Milchhygiene, Milchtransport und Lagerung:

Baulicher Zustand der Milchammer:

Milchammer vorhanden nicht vorhanden
 allgemeiner baulicher Zustand gut mittel schlecht
 allgemeiner hygienischer Zustand gut mittel schlecht
 Handwaschgelegenheit vorhanden nicht vorhanden
 Warmwasser in Milchammer vorhanden °C nicht vorhanden
 Warmwasserbereitung Boiler Wärmerückgewinnung

Reinigung von Melkzeug und Melkgeschirr:

händisch Spülautomat
 automatische Reinigung Geräte in Ordnung
 Härtegrad des Reinigungswassers: °deutscher Härte
 Temperatur des Reinigungswassers (händisch und Melkzeugspüler): °C
 Einwirkzeit: min
 Reinigungsmittel:
 Produkt alkalisch _____: % Soll: %
 Produkt sauer _____: % Soll: %
 Temperatur Reinigungswasser-Rücklauf (Automat): °C
 Häufigkeit saurer Reinigung: x / Woche
 Entnahmestutzen der Reinigungsmittelkanister in Ordnung ja nein
 Leitfähigkeitsmessung: Vorspülwasser mS
 Reinigungswasser mS
 Nachspülwasser mS

innerbetrieblicher Milchtransport (Ausnahme Rohmelkanlagen und Melkstände):

Entleerung des Eimers erfolgt direkt in den Milchtank

in ein Transportgefäß (Eimer, Kanne)

Milchfiltrierung: Filterpatrone im langen Milchslauch

Scheibenfilter

Filterpatrone im Tankeinlauf

Milchkühlung: Kannendrehkühler Kühler für Kannen

Eiswasserkühlung für Kannen

Tauchkühler Volumen: Liter

Kühltank Volumen: Liter

Milchabholung-täglich, um Uhr

voreingestellte Kühltemperatur: °C

gemessene Milchtemperatur im Tank: °C min nach Ende des

Melkens

Mindestfüllmenge (10% des Tankvolumens) wird erreicht ja nein

Vorkühlung erfolgt mit Tauchkühler in Kannen ja nein

5. Stallhaltung, Stallhygiene:

allgemeiner **baulicher Zustand:** gut mäßig schlecht

Anbindehaltung: Standlänge: cm Standbreite: cm

Trennbügel Halsrahmen

Grabnerkette Sonstige _____

Laufstall: Tiefstreu Tretmist

Liegeboxen Freß-Liegeboxen

Bodenbelag: Wärmebeton Holz

Gummimatte Sonstige _____

Entmistung: Kotplatte Gitterrost/Schwemmist

Schubstange Spaltenboden

Kuherzieher vorhanden: ja nein

Montage in Ordnung: ja nein cm hinter Barrensockel

in Funktion: dauernd sporadisch

Einstreu: Langstroh gehäckseltes Stroh gemahlene Stroh

Sägemehl Hobelspäne Schilfstreu

Sonstiges:

Liegefläche sauber mäßig verschmutzt stark verschmutzt

Stand-Liegeboxsauberhaltung: gut mäßig schlecht

Stallkalkung: jährlich unregelmäßige Intervalle

letzte Kalkung:

Beleuchtung: natürlich: ausreichend nicht ausreichend

künstlich: ausreichend nicht ausreichend

Belüftung: ausreichend nicht ausreichend

6. Ungezieferbekämpfung:

Fliegenbekämpfung im Stall: planmäßig sporadisch nein

Fliegenbekämpfung auf der Weide: Ohrmarken Pour On nein

7. Fütterung:

Fütterungshäufigkeit: 2x täglich 3x täglich ad libitum

Ganztagesweide Nachtweide 2 x-iger Weideaustrieb

Futternvorlage vor dem Melken: ja nein

Futternvorlage nach dem Melken: ja nein

Futterreihenfolge: Heu Silage/Grünfutter Kraftfutter TMR

Silage/Grünfutter Kraftfutter Silage/Grünfutter

Kraftfutter Heu

Kraftfuttermenge/Gabe: 1 x täglich 2 x täglich > 2 x täglich

maximale Kraftfuttermenge/Gabe: bis 2kg >2kg

Leistungsbezogener Kraftfuttereinsatz: ja nein

Trennung in laktierende und trockenstehende Tiere: ja nein

Eigene Ration für trockenstehende Tiere: ja nein

Erhebung des Grundfuttermehrs: ja nein

Berechnung des Ausgleichskraftfutters: ja nein

Berechnung der Mineralstoffergänzung: ja nein

8. Silagebereitung:

Erntezeitpunkt: rechtzeitig mittel spät

TM-Gehalt: < 30% 30-40% > 40%

Schnitthöhe: < 5 cm 5-7 cm > 7 cm

Verschmutzung : keine/gering mittel hoch

Nacherwärmung: keine gering stark

| | | | | | | | |
|---|-------------|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Geruch: | aromatisch | <input type="checkbox"/> | nach Buttersäure | <input type="checkbox"/> | hefig | <input type="checkbox"/> | |
| | | | nach Essigsäure | <input type="checkbox"/> | nach Schimmel | <input type="checkbox"/> | |
| Silage vom: | 1. Aufwuchs | <input type="checkbox"/> | 2. oder Folgeaufwuchs | <input type="checkbox"/> | | | |
| Silage von: | Dauerwiese | <input type="checkbox"/> | Feldfutter | <input type="checkbox"/> | | | |
| Ausreichend Zeit zur Verdichtung: | | ja <input type="checkbox"/> | nein | <input type="checkbox"/> | | | |
| Zeitdauer der Befüllung: | max. 1 Tag | <input type="checkbox"/> | 2 Tage | <input type="checkbox"/> | > 2 Tage | <input type="checkbox"/> | |
| Luftdichter Abschluß: | | ja <input type="checkbox"/> | nein | <input type="checkbox"/> | | | |
| Kontrolle der Abdeckung auf Schäden: | | ja <input type="checkbox"/> | nein | <input type="checkbox"/> | | | |
| Ø tägliche Entnahmetiefe im Hochsilo in cm: | | < 10 | <input type="checkbox"/> | 10-15 | <input type="checkbox"/> | >15 | <input type="checkbox"/> |
| Ø Vortrieb in cm/Woche im Fahrsilo: | Winter: | < 70 | <input type="checkbox"/> | 70-100 | <input type="checkbox"/> | >100 | <input type="checkbox"/> |
| | Sommer: | < 100 | <input type="checkbox"/> | 100-140 | <input type="checkbox"/> | >140 | <input type="checkbox"/> |
| Ø Verweildauer im Stall: | | < 3 Tage | <input type="checkbox"/> | 3-6 Tage | <input type="checkbox"/> | > 6 Tage | <input type="checkbox"/> |
| Lagerung von Siloballen: | | am Hof | <input type="checkbox"/> | am Feld | <input type="checkbox"/> | | |
| Stapelung von Siloballen: | | stehend | <input type="checkbox"/> | liegend | <input type="checkbox"/> | | |
| Regelmäßige Kontrolle auf Schäden: | | ja | <input type="checkbox"/> | nein | <input type="checkbox"/> | | |

9. Düngung:

GVE-Besatz/ha: _____

Düngerformen: Festmist Gülle Mineraldünger Kompost Klärschlamm

Gülle bei der Ausbringung: homogen entmischt verdünnt unverdünnt

Stallmist bei der Ausbringung: frisch speckig verrottet

Kompost bei der Ausbringung: < 2x gewendet 2x gewendet

Werden die Wirtschaftsdünger auf allen Flächen verteilt: ja nein

Wird jeder Aufwuchs gedüngt: ja nein

Wie rasch wird nach der Nutzung gedüngt: 1-2 Tage 3-7 Tage >7 Tage

Wie groß ist der Abstand zwischen letzter Düngung und Nutzung: > 3 Wochen < 3 Wochen

Verteilgenauigkeit auf den Flächen: gut schlecht

Gülle in m³/ha und Aufwuchs 15-20 > 20

Jauche in m³/ha und Aufwuchs 15-20 > 20

Stallmist in t/ha und Aufwuchs 15-20 > 20

Kompost in t/ha und Aufwuchs 15-20 > 20

10. Grünlandpflege:

Abschleppen von Grünlandflächen: ja nein

Weidepflege (Koppelputzen, Düngerverteilung): ja nein

Nachsaat von Bestandeslücken: ja nein

Grünlanderneuerung: ja nein

wenn ja, mittels: Übersaat Nachsaat (umbruchlos) mit Pflug/Fräsumbruch

11. Anmerkungen: _____