

Die Zellzahl in der Milch als Grundlage zur Sanierung von Mastitis-Problembetrieben

Petra Winter^{1*}

Milch als gesundes Lebensmittel muss von eutergesunden Tieren stammen. Die Erkrankung des Euters ist daher nach wie vor die wichtigste Ursache für wirtschaftliche Verluste. Neben den unmittelbaren direkten Kosten, wie keine Milchablieferung, Behandlungskosten, vermehrter Arbeitsaufwand sind die Kosten, die sich erst zu einem späteren Zeitpunkt bemerkbar machen, weit beträchtlicher.

Um finanzielle Verluste, bedingt durch eine verminderte Milchleistung und Produktionsausfälle bei der Milchverarbeitung, so gering wie möglich zu halten, sind der Erhaltung und Überwachung der Eutergesundheit sowie der frühzeitigen Erkennung von Eutergesundheitsstörungen die größte Aufmerksamkeit zu schenken. Nur durch das zeitgerechte Erkennen subklinisch infizierter Tiere ist eine effiziente Unterbrechung der Erregerverschleppung in einem Bestand möglich.

Zusammensetzung der Zellzahl

Milchzellen sind somatische Zellen, deren Anzahl und Differenzialzellbild in gesunden Drüsenkomplexen von physiologischen Einflussgrößen wie Rasse und Lakationsstadium bestimmt werden.

Die Zellzahl setzt sich aus Makrophagen, Lymphozyten, Polymorphkernigen Neutrophilen Granulozyten (PMN) und Epithelzellen zusammen. Die Verteilung dieser Zellen ist abhängig von der Eutergesundheit (*Tabelle 1*).

Makrophagen sind die dominierenden Zellen in der gesunden laktierenden Milchdrüse. Der Anteil an PMN in nicht infizierten Eutervierteln beträgt 12-26 %. Gegen Ende der Laktation steigt der Prozentsatz an PMN an, der Anteil an Lymphozyten sinkt. Zellen mit apoptotischen Eigenschaften sind ebenfalls vorhanden, der Prozentsatz ist bei Kühen in der Früh-laktation höher. Die Milch enthält bis zu 2 % abgestoßene Epithelzellen, die mit einem anti-human Zytokeratin als Marker detektiert werden können.

Die Differenzierung der Milchzellen lässt Rückschlüsse auf den Gesundheitszustand der Milchdrüse und auf die Dauer der Infektion zu.

Die Funktion der Milchzellen

Die Gesamtzahl und Aktivität der Leukozytenpopulationen in der Milchdrüse bestimmen die

Art und Dauer intramammärer Infektionen. Permanente und neu eingewanderte Leukozyten setzen sich aus neutrophilen Granulozyten, Makrophagen und Lymphozyten zusammen (*Tabelle 2*).

Die Phagozyten, bestehend aus Polymorphkernigen, Neutrophilen Granulozyten (Mikrophagen) und Makrophagen, verdauen und töten Mastitiserreger.

Polymorphkernige Neutrophile Granulozyten (PMN) sind mit einer durchschnittlichen Lebensfähigkeit von einigen Stunden kurzlebig und sehr effizient im Erkennen, Verdauen und Abtöten von Mikroorganismen. PMN sind nicht spezifische Leukozyten, die in der Frühphase einer Mastitis bis zu 90 % zu finden sind. Während einer Mastitis

Tabelle 1: Milchzellen in Milch und Mastitismilch

Zellen	Verteilung in %		
	Gesunde Milch < 100.000/ml	100 - 400.000/ml	Mastitismilch > 400.000/ml
SCC			
PMN	12	63	87
Lymphozyten	28	11	9
Makrophagen	58	25	3
Epithelzellen	2	1	1

Tabelle 2: Übersicht über zelluläre Abwehrfaktoren in der Milchdrüse

Faktor	Biologische Funktion
Neutrophile	Phagozytose und intrazelluläre Abtötung von Bakterien Sekretion antibakterieller Faktoren
Makrophagen	Phagozytose und intrazelluläre Abtötung von Bakterien Antigen Präsentation in Verbindung mit MHC
Natürliche Killerzellen	Nicht immune Lymphozyten Sekretion antibakterieller Proteine nach Aktivierung
T-Lymphozyten	
CD4+ (T Helfer Zellen)	Produktion von immunoregulatorischen Zytokinen nach Erkennung von Antigenen Gedächtniszellen nach Antigenerkennung
CD8+ (T zytotoxischen Zellen)	Lysis der veränderten oder geschädigten Zellen Produktion von Zytokinen, die gewisse Leukozytenfunktionen niederregulieren
Gamma-delta T Lymphozyten	Biologische Rolle zur Zeit spekulativ
B-Lymphozyten	
Reifen B Zellen	Weisen membran-gebundene Antikörpermoleküle auf, um die Antigenpräsentation zu erleichtern Gedächtniszellen im Anschluß an Antigen-Interaktionen
Plasmazellen	Begrenzt differenzierte B-Lymphozyten, die Antikörper gegen ein spezifisches Antigen synthetisieren und sezernieren

¹ AGES, Institut für Veterinärmedizinische Untersuchungen, Robert Koch Gasse 17, A-2340 MÖDLING

* Ansprechpartner: Ao.Univ.Prof. Dr. Petra Winter, E-mail: petra.winter@ages.at

ist eine Linksverschiebung zu Jungstadien zu beobachten und die Lebensfähigkeit der PMN ist deutlich erhöht.

Bei einer Bakterienexposition oder anderen aktivierenden Faktoren können die Neutrophilen eine Vielzahl an Zytokinen synthetisieren und sezernieren.

PMN reagieren auf entzündliche Signale, da Membranrezeptoren chemische Moleküle erkennen, die die Migration der PMN steuern wie Interleukin 8, Interferon gamma und Komplement C5a. Die PMN wandern aus dem Blut in die Milchdrüse als Infektionsort, und zwar direkt in das Lumen der Alveolen, Milchgänge und Zisterne. Dort fungieren sie als professionelle Killer, wobei ihre Verteidigungsfunktion verstärkt wird, sobald die PMN aus dem Blut in die Milchdrüse kommen. Am Ort der Infektion wird ihre Funktion durch lokale Entzündungsmediatoren reguliert. Sobald PMN am Infektionsort ankommen, kommen sie mit einer Flüssigkeit bestehend aus verschiedenen Mediatoren (Chemokine und Zytokine) in Kontakt, die durch bereits vorhandene Zellen produziert werden.

PMN verdauen die Erreger, indem sie die Erreger phagozytieren. Jede Phagozytose geschieht durch die Bildung von Phagosomen, in die reaktive Sauerstoffmoleküle und proteolytische Enzyme sezerniert werden.

Nach der Bereinigung der Infektion sinken die Zytokin-konzentrationen, was zur Induktion der Apoptose der PMN führt. Dieser Prozess wird durch die Anwesenheit von lokalen Wachstumsfaktoren beschleunigt. Apoptotische PMN werden durch Makrophagen entsorgt. Zu diesem Zeitpunkt beginnt die somatische Zellzahl in der Milch zu sinken.

Ein Zustrom von PMN in die Milchdrüse auf einem niedrigen Niveau erfolgt ständig im Zuge der Immunüberwachung. Diese kontinuierliche Migration von Phagozyten gewährleistet eine stete Erneuerung der zellulären Komponenten des nicht spezifischen Immunsystems.

Makrophagen sind die dominierenden Zellen in der gesunden laktierenden Milchdrüse und sind zu einem hohen Prozentsatz in der Zisternenmilch zu finden. Die langlebigen (durchschnittlich 2 Monate) Makrophagen fungieren als Wächter gegen eindringende Bakterien, setzen chemoattraktive Substanzen frei, die einen schnellen Einstrom von PMN zur Folge haben. Ansässige Makrophagen können sich auch in aktivierte Makrophagen differenzieren, die dann viele intrazelluläre Bakterien abtöten können. Aktivierte Makrophagen setzen Prostaglandine, Leukotriene und Zytokine frei, die den lokalen Entzündungsprozess steigern.

Lymphozyten stellen eine Schlüsselrolle in der Abwehr der Milchdrüse dar, wo sie eine stabile Phase der Induktion versus Suppression der Immunantwort aufrechterhalten.

Die **Epithelzellen** in der Milchdrüse spielen zu Beginn einer intramammären Infektion eine wichtige Rolle bei der Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten aus dem Blut in die Milchdrüse. Durch die Adhäsion der Bakterien an den Epithelzellen bzw. die Interaktion der Bakterientoxine mit den Epithelzellen wird die Synthese von TNF- α , IL-6 und IL-8 gestartet.

Die Zellzahl einer eutergesunden Kuh

Die Zellzahl einer eutergesunden Kuh zeigt über die Laktation gesehen einen konstanten Verlauf mit Erhöhungen nach dem Abkalben und vor dem Trockenstellen. Je nach

Alter, Rasse, Leistung liegt der physiologische Zellgehalt zwischen 50.000 und 150.000 Zellen/ml.

Als Grenzwerte für gesunde Euter gelten im Gesamtgemelk einer Kuh Zellgehalte bis zu 100.000 Zellen/ml, während in der Tankmilch Zellgehalte bis zu 250.000 Zellen/ml als gesund eingestuft werden. Die Bestimmung fixer Zellzahl-grenzwerte für das Einzeltier ist auf Grund unterschiedlicher Einflussfaktoren nicht möglich.

Anhand der Übersicht der monatlichen Zellzahlergebnisse einer Kuh bzw. aller Kühe einer Milchviehherde lassen sich dynamische Infektionsgeschehen erkennen. Erstmalige Zellzahlanstiege über 200.000 Zellen/ml weisen auf eine stattgefunden Infektion hin, immer wiederkehrende Überschreitungen auf das Vorliegen einer chronischen Infektion. Je nach ursächlich beteiligten Mastitisserregern können charakteristische Zellzahlverläufe festgestellt werden.

Je nach Anzahl der erkrankten Euterviertel und dem Ausmaß des entzündlichen Prozesses ergeben sich in der Mischung des Gesamtgemelkes unterschiedlich hohe Zellgehalte. Der Zellzahlwert von 100.000 Zellen/ml wird bereits bei einem klinisch erkrankten Euterviertel überschritten. Die individuelle Kuhzellzahl lässt keine Rückschlüsse auf die Anzahl der infizierten Viertel und auf die Art der Infektion zu. Der Zellgehalt in der Milch eines neuinfizierten Viertels ist im Gesamtgemelk durch drei gesunde Euterviertel verdünnt (*Tabelle 3*). Dadurch ist der Zellgehalt des Gesamtgemelkes oft nicht auffällig erhöht. Eine zusätzliche Abklärung der Eutergesundheit mit dem California Mastitis Test und mit der bakteriologischen Milchuntersuchung (BU) ist empfehlenswert.

Tabelle 3: Interpretation der individuellen Kuhzellzahl

Individuelle Kuhzellzahl	Eutergesundheitsstatus
unter 150.000 Zellen/ml	Keine Infektion vorliegend
151.000 – 250.000 Zellen/ml	Sekretionsstörung, subklinische Infektion wahrscheinlich
über 250.000 Zellen/ml	Infektion vorliegend

Bei der Interpretation der individuellen Kuhzellzahl sind folgende Faktoren zu beachten, die zu einem Anstieg der Zellzahl führen:

- Zwischenmelkzeiten < 6 h und > 12 h (wechselnde Melkintervalle)
- sehr geringe Milchleistung (sollte mind. 5 kg pro Tag betragen)
- unmittelbar vor dem Trockenstellen und bis zu 5 Tagen p.p. (keine Aussagekraft)
- Vorliegen einer subklinischen Infektion

Die Zellzahl eines Einzeltieres sollte unbedingt über eine gewisse Zeitachse betrachtet werden. Einzelwerte könnten auch durch momentane Stresssituationen beeinflusst sein. Nicht mastitisbedingte Veränderungen der individuellen Kuhzellzahl sind immer auf allen Vierteln annähernd gleich.

Mit Hilfe der individuellen Kuhzellzahl bzw. dem Verlauf können folgende Fragestellungen besser abgeklärt werden:

- **Selektion der Tiere für bakteriologische Untersuchungen**
Tiere mit hohen Zellzahlen

- Selektion der Tiere, die aus dem Bestand entfernt werden müssen**
 Tiere mit hohen Zellzahlen über einen längeren Zeitraum (eine Laktation)
 Die Entscheidung zur Schlachtung sollte nie nur auf Grund eines Zellzahlwertes basieren.
- Aufstellen einer Melkreihenfolge**
 Tiere mit hohen Zellzahlen sollten immer zuletzt gemolken werden
 Extra Melkplatz oder Melkzeug für Tiere mit hohen Zellahlen
- Therapieentscheidungen**
 Tiere mit hohen Zellzahlen können frühzeitig trocken-gestellt werden
 Behandlung bei BU-positivem Befund, besonders zum Trockenstellen
- Kontrolle der Therapieerfolge**
 Die Zellzahlen erfolgreich therapierter Tiere sinken und liegen unter 150.000 Zellen/ml
 Tiere mit hoher Zellzahl vor dem Trockenstellen sollen nach dem Abkalben wieder Zellzahlen unter 100.000 Zellen/ml aufweisen

Analyse der Zellzahl auf Herdenebene

Für die Interpretation der Eutergesundheit auf Herdenebene stehen dem Landwirt und dem Tierarzt die Zellzahl der Tankmilch sowie die monatlich erhobenen Einzeltierzellzahlen zur Verfügung. Verschiedene Zellzahlwerte geben Hinweise auf eine Störung der Eutergesundheit in der Herde:

- Tankmilchzellzahl: Zellgehalt der Milch, die an die Molke-
 rei abgeliefert wird
- Herdensammelmilchzellzahl: Mittelwert aller Einzelkuh-
 zellzahlen einer Herde
- Theoretische Herdensammelmilch-
 zellzahl: Zellzahl, die aus den Einzel-
 kuhzellzahlen und der Milchleistung
 errechnet wird
- Einzelkuhzellzahlen: monatliche ermit-
 telte Zellgehalt der Einzeltiere

Die Tankmilchzellzahl sowie die Zellzahl der Herdensammelmilch dienen als Mo-
 nitoringsystem für die Eutergesundheit
 eines Bestandes, wenn der zeitliche
 Verlauf bei der Beurteilung mit berück-
 sichtigt wird. Plötzliche Anstiege dieser
 Zellzahlen lassen auf ein hochkontagiöses
 Geschehen im Bestand schließen.

Die **Tankmilchzellzahl** lässt nur Rück-
 schlüsse auf die Eutergesundheit der
 gesamten Herde zu, wenn die Milch aller
 laktierenden Tiere abgeliefert wird. Für
 die Beurteilung der Eutergesundheit von
 Betrieben mit klinisch erkrankten Tieren
 ist sie nicht geeignet, da die Milch dieser
 Tiere nicht verkehrsfähig ist und sie daher
 nicht in den Tank gemolken werden. Ein
 Anstieg der Tankmilchzellzahl in diesen
 Betrieben ist als Hinweis auf ein ver-

mehrtes Vorkommen von subklinischen Mastitiden der in
 den Tank gemolkenen Tiere zu werten.

Der Anstieg der Tankmilchzellzahl geht mit einer Beein-
 trächtigung der Milchleistung und der Milchqualität auf
 Grund der vorliegenden subklinischen Mastitiden einher.

Die Toleranzgrenze der **Herdensammelmilchzellzahl**
 für eine eutergesunde Herde liegt bei 150.000 Zellen/ml.
 Dabei ist ein gewisser Anteil subklinisch erkrankter Tiere
 berücksichtigt sowie ein Anteil altmelkender Tiere.

**Für die Interpretation des Zellgehalts ist die Art der
 Probe wichtig. Es gibt Unterschiede zwischen Zister-
 nenmilch und Alveolarmilch.**

Zisternenmilch: Milch, die sich zwischen den Melkzeiten in
 der Drüsenzisterne ansammelt und passiv abfließt (bis zu
 30 % abhängig von Anzahl der Melkungen); hoher Anteil
 an Makrophagen.

Alveolarmilch: Milch, die während des Melkvorganges
 durch die Oxytocinwirkung aus den Alveolen in die Zisterne
 gepresst wird (bis zu 80 %); hoher Anteil an PMN.

Zur Beurteilung der Herde können die Kühe anhand des
 Zellzahlverlaufs in verschiedene Gruppen zusammengefasst
 werden und entsprechende Maßnahmen ergriffen werden
 (Tabelle 4).

Weil die Eutergesundheit ein dynamisches Geschehen ist, ist
 immer mit dem Auftreten von infizierten Tieren zu rechnen.
 In einer eutergesunden Herde liegen bei 2/3 der Kühe die
 individuelle Kuhzellzahl (ISCC) unter 100.000 Zellen/ml
 und bei maximal 2 % über 400.000 Zellen/ml. Der ISCC
 kann auch zur Überprüfung des Trockenstellprogrammes
 eingesetzt werden. Zur Überprüfung der Trockenperiode
 sollten die individuelle Kuhzellzahl vor dem Trockenstel-
 len mit den Zellzahlen nach der Abkalbung verglichen
 werden.

Tabelle 4: Einteilung der Herde anhand des Zellzahlverlaufs

Gruppe		Definition	Maßnahmen
Tiere mit hoher Zellzahl (>200.000 Zellen/ml)	Neue Überschreiter	Kühe bei denen ein erstmaliger Zellzahl- anstieg in der Laktation zu verzeichnen ist	Durchführung einer BU
	Frischmelkende Überschreiter	Kühe bei denen die erste Zellzahlmessung in der Laktation einen Zellzahlanstieg aufwies	Durchführung einer BU. Beachtung der Trocken- stehperiode und der Abkalbung. Einleitung einer Therapie
	Wiederholte Überschreiter	Kühe mit bereits zwei Überschreitungen in der Laktation	Beachtung der Erregerverschleppung. Therapie zum Trockenstellen
Tiere mit niedriger Zellzahl (< 200.000 Zellen/ml)	Chronische Überschreiter	Kühe mit mindestens zwei aufeinanderfol- genden Überschreitungen	Ausscheiden aus dem Bestand
	Frischmelker	erste Zellzahlmessung in der Laktation mit niedrigen Zellzahlen	-
	Geheilte Kühe	eine niedrige Zellzahl folgt einer Überschreitung	-
	Nicht infizierte Kühe	niedrige Zellzahlen bei mindestens zwei aufeinanderfolgenden Messungen	-

Tabelle 5: Sensitivität (SE) und Spezifität (SP) für die verschiedenen Modelle der Zellzahlbeurteilung bei Betrachtung der Modelldaten (Mod.) und der Validierungsdaten (Val.)

Rasse	Zellzahl > 200.000		Logistische Regression				CART			
	SE	SP	SE		SP		SE		SP	
	Mod.	Mod.	Val.	Mod.	Val.	Mod.	Val.	Mod.	Val.	
SI	46,6%	88,7%	72,4%	84,4%	72,6%	71,3%	68,6%	77,5%	70,5%	68,3%
BS	58,3%	83,0%	81,3%	82,7%	70,4%	57,7%	77,7%	71,4%	70,3%	78,1%
HF	55,2%	80,8%	70,7%	78,8%	69,9%	66,0%	68,6%	87,0%	69,1%	66,7%
Ges.	49,9%	86,9%	73,4%	82,1%	72,0%	67,1%	69,9%	79,0%	70,3%	70,2%

Folgende Gruppen können basierend auf den Zellzahlergebnissen (vor dem Trockenstellen/post partum) definiert werden:

ISCC nieder-nieder: nicht infizierte Kühe blieben nicht infiziert

ISCC nieder-hoch: eine Infektion während der Trockenperiode liegt vor

ISCC hoch-nieder: eine Infektion wurde während der Trockenperiode eliminiert

ISCC hoch-hoch: eine infizierte Kuh blieb infiziert

Die monatliche Zellzahl als Hilfe zur Detektion von subklinischen Infektionen

Im Rahmen eines Forschungsprojektes wurde versucht die monatlichen Einzeltierzellzahlen für die Früherkennung mastitisverdächtiger Tiere zu verwenden. Normalerweise wird eine Zellzahl von 200.000 Zellen/ml als Grenze zwischen gesund und infiziert empfohlen.

Mittels Untersuchung von 10.038 Datensätzen konnten rassespezifische Faktoren detektiert werden, die die Zellzahl beeinflussen. Ein Datensatz bestand aus einem bakteriologischen Untersuchungsergebnis von Viertelgemelksproben und den dazugehörigen LKV Daten der letzten 6 Monate.

Für jede Rasse wurde ein eigenes logistisches Regressionsmodell mit verschiedenen, zur Erklärung wesentlichen Variablen erstellt. Für das Fleckvieh konnten die Variablen Zellzahl der zwei vergangenen Monate, die Laktationsperiode, die Laktationstage und der Harnstoffgehalt der Milch festgestellt werden. Bei der Rasse HF entfällt der Harnstoffgehalt, während bei den Braunviehkühen die Milchleistung dazu kommt.

Das zweite Modell, basierend auf einer CART Analyse, berücksichtigt ebenso die verschiedenen Rassen, wobei diese nach unterschiedlichen Merkmalen in Gruppen unterteilt wurden. Beim Fleckvieh entstanden zwei Untergruppen mit dem Augenmerk auf das Laktationsalter. Die Rasse Braunvieh wurde durch Beachtung der Laktationstage gemeinsam mit der Milchleistung in drei Gruppen gesplittet und die Rasse HF wurden nur in Hinsicht der Milchleistung dreigeteilt.

Die Sensitivität und die Spezifität dieser Modelle gemeinsam mit der fixen Betrachtung der Zellzahl für alle Rassen sind in *Tabelle 5* angeführt.

Tabelle 5 zeigt daher die Überlegenheit des Regressionsmodells gegenüber dem CART-Modell in Bezug auf Sensitivität und Spezifität. Beachtenswert ist außerdem, dass beide Modelle zu einer höheren Sensitivität führen, als dies bei einem fixen Grenzwert von 200.000 Zellen/ml der Fall ist.

Bei einer Bewertung der vorhandenen LKV-Datensätze ergibt sich anhand des logistischen Regressionsmodells folgendes Bild (*Tabelle 6*). In der Zellzahlgruppe 50-100.000 werden 16,6 % der Tiere als mastitisverdächtig ausgewiesen, die bei einer fixen Betrachtung als eutergesund eingestuft werden. In der Gruppe von 100.000-150.000 Zellen/ml beträgt der Anteil mastitisverdächtiger Tiere bereits 47,9 %. Bei einmaliger Verwarnung werden dementsprechende höhere Prozentsätze mastitisverdächtiger Tiere ausgewiesen.

Diese Beurteilung der Zellzahl ermöglicht dem Landwirt und dem Tierarzt ein schnelles und frühes erkennen mastitisverdächtiger Tiere, die dann mit weiteren Untersuchungen wie bakteriologische Viertelgemelksuntersuchung bestätigt werden sollen.

Tabelle 6: Darstellung der Häufigkeit verdächtiger Tiere bei einmaliger bzw. zweimaliger Verwarnung auf Basis des logistischen Regressionsmodells

Zellzahlgruppe	Anzahl Tiere	Anzahl Tiere (1 x auffällig)	%	Anzahl Tiere (2 x auffällig)	%
<50	146.249	4.011	2,7	1.780	1,2
50 < 100	106.597	32.416	30,4	17.692	16,6
100 < 150	57.269	46.540	81,3	27.437	47,9
150 < 200	34.540	33.181	96,1	21.118	61,1
200 < 250	22.287	22.018	98,8	14.834	66,6
250 < 300	15.244	15.161	99,5	10.429	68,4
300 < 350	10.653	10.625	99,7	7.408	69,5
350 < 400	8.024	8.017	99,9	5.514	68,7
≥ 400	46.178	46.166	100	31.333	67,9

Das konsequente Einhalten eines Euterhygieneprogrammes sowie die Aufzeichnungen über durchgeführte Maßnahmen und Behandlungen sind für die Eutergesundheit eines größeren Bestandes unbedingt erforderlich. Nur ein vom Landwirt und Tierarzt getragenes Eutergesundheitskonzept, das in regelmäßigen Abständen überprüft wird, führt zum langfristigen Erfolg und garantiert die Produktion qualitativ hochwertiger Milch mit eutergesunden Kühen.