

Nachweis des kontagiösen Subtypes von *Staphylokokkus aureus* (Genotyp B) in Betriebstankmilch und dessen klinische Anwendung

Renate Boss¹, J. Naskova², A. Steiner¹, H.U. Graber¹

¹Wiederkäuerklinik, Vetsuisse-Fakultät, Universität Bern, CH-3012 Bern, ²Agroscope Liebefeld-Posieux, CH-3003 Bern

Schlüsselwörter

Staph. aureus, Mastitis, Tankmilch, Genotyp, PCR

Problemstellung und Zielsetzung

1) Entwicklung und Evaluierung eines neuen quantitativen real-time PCR (qPCR) Tests für den Nachweis des Mastitis-assoziierten, kontagiösen *Staphylokokkus aureus* Genotyp B (GTB), basierend auf drei dafür spezifischen Zielsequenzen. 2) Evaluation der Anwendung dieses Tests an Betriebstankmilchproben (BTM).

Material und Methoden

Bakterielle DNA-Proben, Enterotoxigen- und Leukotoxigen-Proben (total n = 124) wurden verwendet, um den Test nach OIE Richtlinien zu evaluieren. Die verwendete bakterielle DNA stammt von folgenden euterrelevanten Bakterien: *Staph. aureus* Genotyp B (n = 33), *Staph. aureus* Genotyp C (GTC; n = 18), *Staph. aureus* mit andern Genotypen (GTOG; n = 20), CNS (n = 35), weitere Bakterien (Streptokokken, *E. coli*, *E. faecalis*; n = 10).

Weiter wurden 90 simulierte und 33 echte BTM aus der Region Bern/Schwarzenburg untersucht.

Ergebnisse und Bedeutung

Der Test ist hoch spezifisch und sensitiv für *Staph. aureus* GTB und zeigt zudem eine gute Reproduzierbarkeit. Sowohl alle GTB-positiven wie auch alle GTB-negativen simulierten BTM (total n = 90) konnten korrekt identifiziert werden. Zudem erlaubt der Test, 1 GTB-positive Kuh aus 138 Kühen einer Herde zu detektieren. Eine log-lineare Abhängigkeit (R = 0.812) der qPCR-Resultate zur Herdenprävalenz von *Staph. aureus* GTB konnte gezeigt werden.

Von den 33 echten BTM waren mit der qPCR nach Graber et al. (2007) fünf Proben positiv für *Staph. aureus* (*nuc*-Gen Nachweis). Eine dieser fünf Proben war mit der neu entwickelten GTB-qPCR positiv für diesen Genotyp, was mit einer nachträglichen Untersuchung der Probe mit Bakteriologie und Genotypisierung bestätigt wurde.

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, dass eine Reduzierung des Tests auf die Zielsequenz lukEB (GTB-spezifische Punktmutation innerhalb des Leukotoxin E-Gens) zwar zu einer geringeren Spezifität (93%) führt, aber aus ökonomischen Überlegungen in Betracht gezogen werden kann. Der ebenfalls häufig vorkommenden Genotyp C wird auch vom vereinfachten Test korrekt ausgeschlossen, allenfalls können andere, selten vorkommende Genotypen ein falsch positives Testergebnis ergeben.

Intramammäre Infektionen durch *Staph. aureus* Genotyp B verursachen in der Schweiz hohe finanzielle Einbussen durch Behandlungen, Milchverluste, Ausmerzungen, Remontierungen und Tierarztkosten. Ein entsprechendes Sanierungs- und Monitoringprogramm, basierend auf dem hier beschriebenen Test und unter BTM-Verwendung, könnte in Zukunft diese Verluste wie auch den Einsatz von Antibiotika massiv reduzieren, indem das Problem auf Herdenbasis angegangen werden kann. Die hohe Sensitivität des Tests erlaubt eine Früherkennung des Erregers in der Herde, also wenn erst wenige Kühe betroffen sind.

Publikationen, Poster und Präsentationen

Boss, R.; Steiner, A.; Graber, H.U.; Naskova, J. (2010) Mastitis diagnostics: Quantitative PCR for *Staphylococcus aureus* genotype B in bulk tank milk. (Dissertation)

Projekt 1.08.14

Projektdauer April 2008 – Dezember 2009