

HUMBOLDT-UNIVERSITÄT ZU BERLIN

Lebenswissenschaftliche Fakultät



**„Untersuchung verschiedener Pasteurisationsverfahren
zur Aufbereitung von Sperrmilch“**

Masterarbeit im Lehramtsstudiengang:
Master of Education (M. Ed.)
Land- und Gartenbauwissenschaft

vorgelegt von: Niemeyer, Peter

Betreuung:

Prof. Dr. Anke Römer

Dr. Manfred Krockner

Albrecht Daniel Thaer-Institut,
Fachgebiet Tierhaltungssysteme und Verfahrenstechnik

Berlin, den 19. August 2015

Inhaltsverzeichnis

Tabellen- und Abbildungsverzeichnis.....	iii
1. Einleitung und Zielstellung	1
2. Wissensstand.....	3
2.1 Die Bedeutung von Sperrmilch in der Kälberaufzucht	3
2.2 Mastitis.....	5
2.3 Kuhassoziierte Mastitiserreger.....	7
2.3.1 Staphylococcus aureus	7
2.3.2 Äskulin-negative Streptokokken.....	8
2.3.2.1 Streptococcus agalactiae.....	9
2.3.2.2 Streptococcus dysgalactiae	10
2.4 Umweltassoziierte Mastitiserreger.....	11
2.4.1 Koagulase-negative Staphylokokken.....	11
2.4.2 Äskulin-positive Streptokokken.....	13
2.4.2.1 Streptococcus uberis	13
2.4.2.2 Enterococcus spp.	14
2.4.3 Enterobakterien (Coliforme)	15
2.4.4 Pseudomonas aeruginosa	17
2.5 Pasteurisationsverfahren	18
2.5.1 Langzeitpasteurisation (LTLT-Verfahren).....	20
2.5.2 Kurzzeitpasteurisation (HTST-Verfahren).....	22
3. Material und Methoden.....	22
3.1 Betriebsübersicht und Tiermaterial	22
3.2 Verwendete Pasteure.....	23
3.2.1 MaxiSteam III	24
3.2.2 Milchtaxi	24
3.3 Versuchsaufbau	25
3.4 Bakteriologisch-analytische Untersuchungen.....	27
3.4.1 Bestimmung der Gesamtkeimzahl	27
3.4.2 Bakteriologische Laboranalyseverfahren.....	27
3.5 Weitere Messgeräte zur Erfassung des Ressourcenverbrauchs	28
3.6 Statistische und betriebswirtschaftliche Analysen.....	29

4. Ergebnisse	30
4.1 Verfahrensspezifische Ergebnisse zur Gesamtkeimbelastung	30
4.2 Verfahrensspezifische Ergebnisse zur Keimreduktion	31
4.2.1 Kuhassozierte Mastitiserreger	31
4.2.2 Umweltassozierte Mastitiserreger	32
4.2.3 Sonstige nicht-pathogene Keime	33
4.3 Verfahrensspezifische Ressourcenverbräuche	34
4.3.1 Verfahrensspezifische Stromverbräuche	34
4.3.2 Verfahrensspezifische Wasserverbräuche	35
4.3.3 Verfahrensspezifische Zeitbedarfe	35
4.4 Verfahrensspezifische Kosten für Strom und Wasser	36
5. Diskussion	37
5.1 Gesamtkeimbelastung und verfahrensspezifische Keimreduktion ..	37
5.1.1 Kuhassozierte Mastitiserreger	39
5.1.2 Umweltassozierte Mastitiserreger	41
5.1.3 Sonstige nicht-pathogene Keime	43
5.2 Ressourcenverbräuche und Kosten	44
6. Schlussfolgerungen und Empfehlungen für den Testbetrieb	46
7. Zusammenfassung	49
8. Literaturverzeichnis	50

Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabellen:

- Tab. 1 - Einteilung relevanter Mastitiserreger (angelehnt an KRÖMKER, 2007)
- Tab. 2 - Untersuchungsergebnisse zur Beteiligung kuh- und umweltassoziierter Erreger an klinischen Mastitisfällen in Großbritannien (angelehnt an BLOWEY & EDMONDSON, 2010)
- Tab. 3 - Temperatur vs. Einwirkdauer von Pasteurisationsverfahren (angelehnt an PARTRIDGE, 2009)
- Tab. 4 - Bakterienzahlen (log K_{bE}/ml) in Milch vor und nach der Pasteurisation und im Tränkeeimer vor der Vertränkung an Kälber (angelehnt an ELIZONDO-SALAZAR et al., 2010)
- Tab. 5 - Geplante und realisierte Stichprobennahme der vorliegenden Untersuchung
- Tab. 6 - Angewandte bakteriologische Differenzierungs- und Identifizierungstests
- Tab. 7 - Verfahrensspezifische Reduzierung der Gesamtkeimzahlen
- Tab. 8 - Verfahrensspezifische Effektivität in der Eliminierung kuhassoziierter Mastitiserreger
- Tab. 9 - Verfahrensspezifische Effektivität in der Eliminierung umweltassoziierter Mastitiserreger
- Tab. 10 - Verfahrensspezifische Effektivität in der Eliminierung sonstiger nicht-pathogener Keime
- Tab. 11 - Verfahrensspezifische Stromverbräuche pro Durchgang und Tag
- Tab. 12 - Verfahrensspezifische Wasserverbräuche pro Durchgang und Tag
- Tab. 13 - Verfahrensspezifische Zeitbedarfe pro Durchgang und Tag
- Tab. 14 - Betriebs- und verfahrensspezifische Strom-, Wasser- und Gesamtkosten für die Pasteurisation von Sperrmilch pro Durchgang, Tag und Jahr

Abbildungen:

- Abb. 1 - Grundaufbau des LTLT-Pasteurs | Quelle: www.foodnetworksolution.com
- Abb. 2 - MaxiSteam III von Förster-Technik[®] | Quelle: www.foerster-technik.de
- Abb. 3 - Milchtaxi der Firma Holm & Laue[®] | Quelle: www.leadstone.com

Danksagungen:

Mein besonderer Dank gilt meinen Gutachtern und Dozenten Frau Prof. Dr. Anke Römer und Herrn Dr. Manfred Krockner aus dem Fachgebiet „Tierhaltungssysteme“ der Humboldt-Universität zu Berlin. Ohne Ihr außerordentliches Engagement sowie die theoretisch-erschöpfende und dennoch praxisnahe Gestaltung Ihrer Lehrveranstaltungen wäre diese Arbeit nicht entstanden.

Weiterhin bin ich den Geschäftsführern und Mitarbeitern der Agrargenossenschaft Ranzig e.G., sowohl für die Bereitstellung der benötigten Pasteure als auch für deren gesamte Unterstützung und Geduld, während und auch außerhalb der Datenerhebung, zu Dank verpflichtet.

Ich danke der Firma Förster-Technik[®] und im Besonderen den Herrschaften Martin und Michael Förster für deren tatkräftige Unterstützung und Begleitung sowie für den technischen Beistand während der mehrtägigen Datenerhebung im Testbetrieb.

Abschließend bedanke ich mich ausdrücklich bei Herrn Dr. Christian Fidelak und seinem Team vom Mastitislabor bovicare GmbH für die eifrige und unermüdliche Unterstützung bei der Konzeptionierung des Probennahmeverfahrens, für die umfangreichen, zum Teil außerplanmäßigen, Analysen sowie für deren Interesse an der Bearbeitung der vorliegenden Fragestellung.

1. Einleitung und Zielstellung

Bei der Mastitis des Rindes handelt es sich um eine der verbreitetsten und gleichzeitig verlustreichsten Eutererkrankung bei Milchkühen aus intensiver Milchproduktion (WOLTER et al., 2002). Mastitiden werden vornehmlich durch bakterielle Erreger, die sowohl kuh- als auch umweltassoziiert auftreten können, und bei hohem Keimdruck ausgelöst. Die bakterielle Kontamination des Eutergewebes führt zu klinischen oder subklinischen Mastitiden, zu temporären oder permanenten Milchminderleistungen sowie zur Nekrose des befallenen Gewebes. Infolgedessen ist die hygienische Wertigkeit der Rohmilch mastitiskranker Tiere derart stark beeinträchtigt, dass für sie eine Ablieferungssperre an Produzenten der Humanernährung ausgesprochen wurde (vgl. MILCHVERORDNUNG, 2004), weshalb diese kontaminierte Rohmilch inzwischen auch als Sperrmilch bezeichnet wird.

In Milchviehtrieben mit eigener Reproduktion wird Sperrmilch häufig nicht verworfen, sondern an die eigenen Aufzucht-kälber vertränkt (vgl. STABEL et al., 2004). Hierbei handelt es sich um ein besonders ökonomisches Verfahren, da auf den Zukauf von Aufzucht-futtermitteln verzichtet werden kann. Hinzu kommt, dass die Nährstoffzusammensetzung der Sperrmilch häufig hochwertiger ist als in vielen Milchaustauschern (vgl. BLOME et al., 2003).

Allerdings kann unbehandelte Sperrmilch, aufgrund ihrer mikrobiologischen Kontamination, auch zum Überträger folgenschwerer Krankheiten für die immunschwachen Kälber werden. Um dieses Risiko zu reduzieren, werden auf Milchviehbetrieben seit geraumer Zeit unterschiedliche On-Farm-Pasteure zur Aufbereitung der Sperrmilch implementiert (ELIZONDO-SALAZAR et al, 2013; STABEL et al., 2004).

Verwendete Pasteure können auf Grundlage ihrer jeweiligen Arbeitsweise sowie ihrer Temperatur-Zeit-Konstellation dem Kurzzeit-Pasteurisationsverfahren (HTST) oder dem Langzeit-Pasteurisationsverfahren (LTLT) zugeordnet werden. Durch die Erhitzung der Sperrmilch sollen die enthaltenen, hohen Keimbelastungen auf ein tolerierbares Maß reduziert werden. Die vollständige Abtötung pathogener Keime, wie bei der Sterilisation, ist erwünscht, kann bisher jedoch nicht erwartet werden (vgl. ELIZONDO-SALAZAR et al., 2013; GODDEN, 2007).

Hintergrund dieser Untersuchung ist die Neu- und Weiterentwicklung des HTST-Pasteurs „MaxiSteam III“ der Firma Förster-Technik®. Mit einem neuartigen, auf ein-

strömendem Dampf basierenden, Erhitzungsverfahren wird hier kontinuierlich durchfließende Sperrmilch pasteurisiert. Die Agrargenossenschaft Ranzig e.G. in Brandenburg verwendet bereits den MaxiSteam III für die Aufbereitung anfallender Sperrmilch. Ein zuvor verwendeter, voll funktionsfähiger LTLT-Pasteur ist ebenfalls auf dem Betrieb vorhanden. Es galt herauszufinden, wie effektiv der MaxiSteam III, im Vergleich zum LTLT-Pasteur, Keime in Sperrmilch reduzieren kann und in welchem Kosten-Nutzen-Verhältnis das Ergebnis zum Ressourcenverbrauch steht.

Zielstellung

Aus vorliegender Literatur zur Kontamination von Rohmilch mit Mastitiseimen und deren Reduzierung durch Pasteurisation, können zunächst folgende Kernaussagen extrahiert werden:

- a) Umweltassoziierte Keime haben gegenüber kuhassoziierten Keimen an Relevanz im Mastitisgeschehen zugenommen.
- b) Pasteurisation kann hohe Keimbelastungen in Sperrmilch reduzieren, diese jedoch nicht sterilisieren.
- c) Das HTST-Pasteurisationsverfahren ist aufgrund höherer Temperaturen und einer mengenunabhängigen Arbeitsweise effektiver und ressourcenschonender als das LTLT-Pasteurisationsverfahren.

Anhand dieser Grundannahmen und den daraus resultierenden Schwierigkeiten bei der Produktion einer verträkungswürdigen Sperrmilch, sollen folgende Leitfragen anhand der vorliegenden Untersuchung beantwortet werden:

1. Inwiefern können bisherige Ergebnisse zur Effektivität des HTST-Pasteurisationsverfahrens durch den MaxiSteam III unter praxisüblichen Bedingungen reproduziert werden?
2. Wie effektiv, im Vergleich zum LTLT-Pasteurisationsverfahren, reduziert der MaxiSteam III Mastitiseime in Sperrmilch?
3. Existieren zwischen den Pasteurisationsverfahren wahrnehmbare Unterschiede im Strom-, Wasser- und Zeitverbrauch und somit in den Kosten pro Anwendung?

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit soll es sein, anhand der gewonnenen Ergebnisse entsprechende Schlussfolgerungen und Empfehlungen für das Sperrmilch-Management des Testbetriebes abzuleiten.

2. Wissensstand

Das vorliegende Kapitel gibt einen themenumfassenden Überblick zum Anfall und Umgang mit mastitisbedingter Sperrmilch. Einsteigend mit der ökologischen und ökonomischen Bedeutung von Sperrmilch als Futtermittel, werden darüber hinaus untersuchungsrelevante, tier- und umweltassoziierte Mastitiserreger problemspezifisch betrachtet. Auf Grundlage dieser Informationen werden am Ende dieses Kapitels zwei gängige On-Farm-Pasteurisationsverfahren zur gezielten Keimreduzierung erläutert.

2.1 Die Bedeutung von Sperrmilch in der Kälberaufzucht

In allen Milchvieh- und Milchwirtschaftsbetrieben fällt Milch an, die aufgrund ihrer Bestandteile oder ihrer Zusammensetzung nicht verkauft werden darf, sondern verworfen werden muss (ELIZONDO-SALAZAR et al., 2013). Diese Milch wird als Sperrmilch bezeichnet. Ausgangspunkt für das Entstehen von Sperrmilch kann die bei Milchkühen auftretende Eutererkrankung Mastitis sein. Sperrmilch gilt als nicht vermarktungsfähig und wird definiert als die Rohmilch der Kühe, die aufgrund von Krankheiten wie Mastitis, hohen Zell- und bakteriellen Erregerzahlen (SELIM & CULLOR, 1997), Antibiotikabehandlungen oder in Form von Transitmilch, nicht in den Lebensmittelkreislauf für die Humanernährung eingebracht werden darf (JAMES & SCOTT, 2006; SCOTT, 2006). Laut ELIZONDO-SALAZAR et al. (2013) ist die mikrobielle Belastung gesperrter Rohmilch ein multifaktorielles Produkt aus:

- der mikrobiellen Ausgangsbelastung der Rohmilch vor dem Melken
- Sauberkeitsdefiziten der Melkgerätschaften
- der Sauberkeit der Rückhaltemöglichkeiten (i.d.R. Tanks) zur Vertränkung
- der Lagerungszeit zwischen Melken und Vertränkung
- der Lagerungstemperatur
- der Ausgesetzttheit des Gemelks gegenüber Umweltkeimen
- dem Ergebnis keimreduzierender Prozesse wie der Pasteurisation

Gemäß einer Studie von BLOSSER (1979), bewegt sich die Menge an produzierter, mastitisbedingter Sperrmilch pro Kuh und Jahr zwischen 22 und 62 kg. Quantifiziert man die daraus resultierenden, wirtschaftlichen Verluste für den Betrieb aufgrund verworfener Milch, antibiotischer Behandlungen, verringerter Milchleistungen sowie erhöhter Abgangsraten, dann belaufen sich diese pro Mastitisfall auf etwa 208 € (MÜLLER-HOLTKAMP, 2007 nach RESZLER, 2004). Auch BLOSSER (1979) und JÄGER (2006)

betonen – neben den umweltrelevanten Problemen – die mastitisbedingten, wirtschaftlichen Verluste und fügen die steigenden Opportunitätskosten, aufgrund des höheren, tierspezifischen Arbeitsaufwands, hinzu.

In vielen Betrieben wird anfallende Sperrmilch nicht entsorgt, sondern aufgrund ihrer hochwertigen Nährstoffzusammensetzung an die Aufzuchtkälber vertränkt. Diese Prozedur galt lange Zeit als ökonomisch sinnvoll und wurde trotz des hochpathogenen Potentials über Jahre hinweg, zulasten der Kälbergesundheit, betrieben (ELIZONDO-SALAZAR et al., 2013; SCOTT, 2006; STABEL et al., 2004). Die größte Gefahr der Sperrmilchvertränkung liegt in der Übertragung pathogener Keime auf das immunschwache Kalb, woraus später Färsenmastitiden und sogar blinde Euterviertel resultieren können (ELIZONDO-SALAZAR et al., 2013).

Mit dem Auftreten der ersten On-Farm-Pasteure fand ein Umdenken im Sperrmilch-Management statt. Mit pathogenen Keimen kontaminierte Sperrmilch musste nicht mehr entsorgt oder unbehandelt vertränkt werden, sondern konnte als vollwertiges, nahezu keimfreies Futtermittel in der Kälberaufzucht eingesetzt werden. Neben den ökonomischen Vorteilen zeichnen sich pasteurisierte Milchfuttermittel durch die optimale Zusammensetzung ihrer festen Bestandteile und ihre hohe biologische Wertigkeit aus (JAMES & SCOTT, 2006; KEHOE et al., 2007), was sich positiv auf den Gesundheitsstatus der Kälber auswirkt. Allerdings zeigen Ergebnisse von JAMALUDDIN et al. (1996), dass mit pasteurisierter Milch gefütterte Kälber häufiger an Kälberdiarrhö und enzootischer Bronchopneumonie erkranken als nicht mit pasteurisierter Milch gefütterte Kälber. Weiterhin ergänzen die Autoren jedoch, dass sich der Gesundheitsstatus nach dem Absetzen häufig umkehrt (ebd.), sodass bei mit pasteurisierter Milch getränkten Kälbern höhere Tagesgewichtszunahmen ($\bar{\emptyset}$ 0,47 kg/d) als bei mit nicht-pasteurisierter Milch getränkten Kälbern ($\bar{\emptyset}$ 0,35 kg/d) gewogen werden konnten (GODDEN et al., 2005). Aus diesen Ergebnissen leiten JAMALUDDIN et al. (1996) ab, dass Kälber, besonders in den ersten drei Monaten nach dem Absetzen, von der Vertränkung der pasteurisierten Milch profitieren. Zumindest gegenüber konventionellen Milchaustauschern, deren Qualität wiederum stark vom jeweiligen Proteingehalt anhängig ist (vgl. BLOME et al., 2003), konnte sich pasteurisierte Sperrmilch als flüssiges Aufzuchtfuttermittel behaupten.

Doch die Pasteurisation von Sperrmilch ist kein Garant für die vollständige Eliminierung und unterbundene Verbreitung mastitiserregender Bakterien. Einige Erreger zeigen zunehmende Resistenzen gegenüber hinzugegebenen antimikrobiellen Substanzen, an-

dere sind aufgrund ihrer Morphologie und Physiologie an entsprechende Widrigkeiten ihrer Umgebungen angepasst, daher durch Pasteurisation nicht eliminierbar und somit in der Lage, unterschiedliche Formen der Mastitis auszulösen.

2.2 Mastitis

Mastitis ist eine Multifaktorenkrankheit, die durch die Interaktion von Mensch, Tier und Umwelt, in der Anwesenheit pathogener Keime, übertragen werden kann und in dessen Folge entzündliche Reaktionen des Milchdrüsengewebes hervorruft (BLOWEY & EDMONDSON, 2010; KRÖMKER, 2007; PETZL, 2010; RIFFON et al., 2001). Sie gehört zu den häufigsten Erkrankungen in Milchviehbetrieben (JÄGER, 2006).

Eine einfach Unterscheidung unter klinischen Gesichtspunkten ist die Aufteilung in die sichtbare und/oder tastbare „klinische Mastitis“ und in die, nur durch Labordiagnose zu bestimmende, „subklinische Mastitis“ (JÄGER, 2006; PETZL, 2010). Subklinische Mastitiden gehen mit eher geringeren Erregerzahlen in Rohmilch von etwa 10^4 Kbe/ml einher, wohingegen bei klinischen Mastitiden Erregerzahlen bis zu 10^8 Kbe/ml gemessen wurden (ZANGERL, 2007). Phänologisch deuten Anzeichen wie Flocken und Fibrin Klumpen im Vorgemelk auf eine Infektion hin (JÄGER, 2006; KRÖMKER, 2007). Die gemolkene Milch kann zusätzlich Spuren von Blut, Schleim und Eiter aufweisen und ist ab diesem Zeitpunkt für die weitere Verarbeitung in der Humanernährung gesperrt.

Das mastitiserregende Keimspektrum ist vielfältig. Eine mögliche Einteilung erfolgt, wie in Tabelle 1 dargestellt, anhand der Unterscheidung in kuh- und umweltassoziierte Mastitiserreger (BLOWEY & EDMONDSON, 2010; KRÖMKER, 2007; MÜLLER-HOLTKAMP, 2007; PETZL, 2010; RIFFON et al., 2001).

Tabelle 1 - Einteilung relevanter Mastitiserreger (angelehnt an KRÖMKER, 2007)

Kuhassoziierte Mastitiserreger	Umweltassoziierte Mastitiserreger	Sonstige Mastitiserreger
Staphylococcus aureus	Streptococcus uberis	Koagulase-negative Staphylok.
Streptococcus agalactiae	Enterococcus spp.	Selten:
Streptococcus dysgalactiae	Coliforme Keime	• Mycoplasmen
Sonstige Streptokokken	Klebsiellen	• Hefen
• G-Streptokokken		• Algen
• L-Strepokokken		

In den letzten Jahrzehnten kam es durch vorbeugende Maßnahmen, wie z. B. Zitzendesinfektion sowie durch verbesserte, tierwohlorientiertere Haltungsformen, zu einer deutlichen Verschiebung des Mastitiserreger-Spektrums in Richtung der umweltassoziierten Erreger und dort insbesondere der opportunistischen Hautbesiedler (KRÖMKER, 2007). BLOWEY & EDMONDSON (2010) bestätigen diese Tendenz und quantifizieren den Rückgang kuhassoziiertter Mastitiseime, wie in Tabelle 2 dargestellt, zugunsten der umweltassoziierten Mastitiseime am Beispiel von Großbritannien.

Tabelle 2 - Untersuchungsergebnisse zur Beteiligung kuh- und umweltassoziiertter Erreger an klinischen Mastitisfällen in Großbritannien (angelehnt an BLOWEY & EDMONDSON, 2010)

Klinische Mastitis-Fälle in %			
Spezies	1968	1995	2007
Staphylococcus aureus	37,5	15,4	3,3
Streptococcus agalactiae	3,0	0	0
Streptococcus dysgalactiae	20,1	10,8	1,5
Coliforme Keime	5,4	26,0	19,8
Streptococcus uberis	17,7	32,0	23,5
sonstige Keime	16,3	15,8	0

Als hervorstechend bewerten die Autoren den Anstieg und die Dominanz auftretender Streptococcus uberis-Infektionen und erklären diese, ähnlich wie KRÖMKER (2007), mit dem starken Rückgang kuhassoziiertter Keime. Dieses Phänomen ist bedeutsam, da einige Streptokokken-Arten, besonders bei gemeinsamer Anwesenheit, sowohl kuh- als auch umweltassoziiert agieren (BLOWEY & EDMONDSON, 2010) und damit maßgeblich das Erscheinungsbild sowie den Verlauf der Erkrankung bestimmen können (JÄGER, 2006). Dennoch ist die tatsächliche Infektion des Tieres auch von dessen konstitutioneller Immun- und Abwehrbeschaffenheit z. B. der lokalen Keimeintrittspforten abhängig. Aus diesem Grund treten Mastitiden bevorzugt bei abwehrschwachen Tieren, bei mangelhaften Haltungs- und Fütterungsbedingungen sowie bei Milchkühen zu Beginn und zum Ende der Trockensteherphase auf (KRÖMKER, 2007).

Welche epidemiologischen Eigenschaften den einzelnen Mastitiserregern zugrunde liegen, wird im weiteren Verlauf dieses Kapitels am Beispiel der untersuchungsrelevanten Mastitiserreger abgebildet und in den Kontext der Milchvieh- und Kälberhaltung sowie der erregerspezifischen Bekämpfungsmaßnahmen eingeordnet.

2.3 Kuhassozierte Mastitiserreger

Kuhassozierte Mastitiserreger stammen aus euterkranken Milchdrüsenvierteln und werden über Vektoren wie Melkerhände, Zitzengummis und durch die Milch selbst von Tier zu Tier übertragen (BLOWEY & EDMONDSON, 2010; KRÖMKER, 2007; RIFFON et al., 2001). Sie besiedeln zunächst die Zitzenspitzen und wachsen innerhalb von ein bis drei Tagen durch den Strichkanal (BLOWEY & EDMONDSON, 2010). Kuhassozierte Mastitiserreger sind gut an das Überleben im Euter adaptiert und bilden daher das Hauptreservoir für Neuinfektionen (PETZL, 2010).

2.3.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) ist ein Vertreter der Gattung *Staphylococcus* und zählt zu den koagulierenden, Katalase-positiven, fakultativ anaeroben Kokken (Jäger, 2006; WINTER, 2008; ZANGERL, 2007). Das Auftreten von *S. aureus* lässt sich phänologisch anhand der goldgelblich bis grau erscheinenden, glatten Koagulationen nachweisen (GILMOUR & ROWE, 1990; ZANGERL, 2007).

S. aureus zählt zu den eurypotenten Bakterien. Sie sind in der Lage, sich bei Temperaturen zwischen 10 - 48 °C, optimaler Weise bei 30 - 37 °C, zu vermehren (GILMOUR & ROWE, 1990). Sie tolerieren dabei pH-Werte von 4 - 10 (ZANGERL, 2007). Aufgrund dieses weiten Toleranzbereichs kann *S. aureus* auch im Darm eines Wirts überleben, wird bei Rindern jedoch häufiger in der Nasenpartie nachgewiesen (GILMOUR & ROWE, 1990; JÄGER, 2006).

Trotz der hohen Kontagiosität wird *S. aureus* auch indirekt über Schmierinfektionen, durch beispielsweise ungenügend gereinigte Melkerhände, auf alle euterassozierten Gerätschaften im Melkstand übertragen (BRAMLEY & MCKINNON, 1990; JÄGER, 2006; KRÖMKER, 2007; ZANGERL, 2007). Zusätzlich spielt die Übertragung von *S. aureus* über Aerosole der Luft eine Rolle: MATOS et al. (1991) konnten in 50 % der analysierten Luftproben, aus Melkständen in Problembetrieben, *S. aureus* nachweisen.

In einer Studie von KUDINHA & SIMANGO (2002) wurde *S. aureus* als häufigst auftretender Erreger (34,2 %) subklinischer Mastitiden isoliert und in Zusammenhang mit Erregerabkapselung und Abszessbildung gebracht (KRÖMKER, 2007). *S. aureus* besiedelt zunächst die Region rund um die Zitzenspitzen (GILMOUR & ROWE, 1990) und dringt anschließend aktiv in die raue Euter- und Zitzenhaut der Kühe ein (KRÖMKER, 2007;

WINTER, 2008), löst hämorrhagisch-nekrotisierende, akute Mastitiden aus (JÄGER, 2006) und/oder „bildet tiefe Infektionsherde“ (KRÖMKER, 2007, S. 57). Nach einer Infektion mit *S. aureus* erfolgen Erregerausscheidungen in die Milch bis zu 10^8 KbE/ml, gewöhnlich liegen diese jedoch bei 10^4 KbE/ml (ZANGERL, 2007). Neben dem mastitiserregenden Potential liegt die hauptsächliche Pathogenität von *S. aureus* in der Bildung von hitzestabilen Proteinen, den Enterotoxinen (GILMOUR & ROWE, 1990; ZANGERL, 2007). Von ihnen geht speziell in der Kälberernährung eine große Gefahr aus, da sie bereits 2 - 6 h nach der Nahrungsaufnahme zu akutem Kälberdurchfall führen können (GILMOUR & ROWE, 1990). Da *S. aureus* häufig und anhaltend in Rohmilch vorzufinden ist, repräsentiert diese das wichtigste Reservoir für Staphylokokken (ZANGERL, 2007).

Der weite Toleranzbereich erschwert milchwirtschaftlichen Betrieben die Kontrolle über *S. aureus*. Selbst in gekühlten Milchprodukten ist *S. aureus* bei 5 °C in der Lage weiter zu wachsen und – wenn auch stark reduziert – Stoffwechsel zu betreiben (ZALL, 1990). Wohingegen *S. aureus* in hohen Temperaturbereichen, beispielsweise bei durchgeführter Pasteurisation, keine Überlebensfähigkeit zugesprochen wird (MUIR, 1990). JORGENSEN et al. (2006) konnten diese Befunde anhand eigener Ergebnisse replizieren. Auch TERPSTRA et al. (2007) wiesen, trotz einer sehr hohen Ausgangskontamination von $2,5 \times 10^7$ KbE/ml, nach der Anwendung des HTST-Pasteurisationsverfahrens (siehe Kapitel 2.5.2), keine *S. aureus*-Aktivität mehr nach. Es muss an dieser Stelle jedoch betont werden, dass sowohl durch Pasteurisation als auch durch Abkochen die durch *S. aureus* gebildeten Enterotoxine nicht abgetötet werden (BONE et al., 1989; JÄGER, 2006). Daher birgt mit *S. aureus* belastete Milch – selbst nach dem Erhitzen – noch gesundheitliche Risiken für das Kalb, auch wenn der Erreger selbst nicht mehr nachweisbar ist.

2.3.2 Äskulin-negative Streptokokken

Äskulin-negative Streptokokken werden in der mikrobiologischen Diagnostik u. a. an der ausbleibenden Schwarzfärbung der Äskulin-Bouillon nach Eisen(III)-chlorid-Zugabe identifiziert. Besonders die Erreger *Streptococcus agalactiae* und *Streptococcus dysgalactiae* werden wiederholt mit Euterentzündungen in Verbindung gebracht und als pathogene Erreger nachgewiesen (JÄGER, 2006).

2.3.2.1 Streptococcus agalactiae

Streptococcus agalactiae (Strep. agal.) galt lange Zeit als Haupterreger hochkontagiöser, eitriger Euterkrankheiten und wurde bereits in allen Ländern mit intensiver Milchwirtschaft nachgewiesen (KEEFE, 1997; KRÖMKER, 2007). Es handelt sich bei Strep. agal. um einen fakultativ anaeroben, Gram-positiven Schleimhautparasiten, der i. d. R. in Kettenform auftritt (HAHN et al., 2005). Besonders häufig sind beim Rind die Schleimhäute des Urogenital- und des Intestinaltraktes (BRAMLEY & MCKINNON, 1990; HAHN et al., 2005) sowie die Milchdrüse befallen (KEEFE, 1997; KRÖMKER, 2007).

Durch den Strichkanal eingedrungen, heftet sich Strep. agal. an die Epithelzellen der Milchzisterne an und bewirkt deren Absterben aufgrund frei werdender, toxischer Substanzen zerfallener Streptokokken sowie durch die produzierte Milchsäure (JÄGER, 2006). Diese Kaskade führt u. U. zu einer um 35 % reduzierten Milchleistung (WENDT, 1998) sowie zur Atrophie betroffener Viertel (JÄGER, 2006; SELBITZ, 2007). Im Euter beginnend, breitet sich der Erreger in Richtung der höher gelegenen Milchgänge und Alveolen aus.

Strep. agal.-Mastitiden „nehmen meist einen subklinischen und kronischen Verlauf“ (JÄGER, 2006, S. 14). Neben exsudativ-eitrigen Entzündungsprozessen zeigt ein infiziertes Tier Anzeichen eines gestörten Allgemeinbefindens (SELBITZ, 2007). Zu diesem Zeitpunkt treten bereits erste Eiterflocken sowie eine deutlich sichtbare gelbliche Verfärbung des Anfangsgemelks auf (JÄGER, 2006).

Übertragen wird Strep. agal. vorrangig über Schmierinfektionen durch beispielsweise kontaminierte Hände, insbesondere bei Melkern (BRAMLEY & MCKINNON, 1990; HAHN et al., 2005), aber auch in der Herde durch befallene Einstreu (KRÖMKER, 2007) sowie durch gegenseitiges Besaugen (SELBITZ, 2007). KEEFE (1997) beziffert entsprechende Herdenprävalenzen mit 11 - 47 %. Weiterhin resümiert JÄGER (2006), dass Kühe mit hohen Laktationsleistungen höhere Infektionsprävalenzen besitzen, als Tiere mit geringeren Mengen.

Besonders eindringlich betont SELBITZ (2007) den Stellenwert der Melkhygiene, sowohl zur Prophylaxe als auch für die auf lange Sicht vollständige Eliminierung der Streptokokken-Mastitis im Bestand. Jedoch sollten dazu spezielle, antibakterielle Präparate für die Umsetzung der Hygienemaßnahmen verwendet werden, da Strep. agal. selbst bei pH-Werten < 5 noch überlebensfähig ist. YANG et al. (2012) berichten diesbezüglich

sogar von einer Überlebensfähigkeit bei pH 4,3. Um die Vermehrung von *Strep. agal.* in nicht stark ansäuerbaren Umgebungen wie Rohmilch zu vermeiden, sollte diese sofort nach dem Melken heruntergekühlt werden.

KEEFE (1997) berichtet in diesem Zusammenhang Ergebnisse einer breit angelegten Studie, in der sich *Strep. agal.*-Erreger sowohl im Melksystem als auch im Milchtank nicht vermehrt haben, solange die Temperatur $< 27\text{ °C}$ betrug. GILMOUR & ROWE (1990) quantifizieren die untere Temperaturgrenze für Wachstum auf 10 °C . Die optimale Wachstumstemperatur von *Strep. agal.* liegt bei 37 °C (ebd.) und somit bei Körpertemperatur der meisten warmblütigen Wirtsorganismen. Im oberen Temperaturbereich kann die Verbreitung der, durch die Milch ausgeschiedenen, Erreger durch entsprechende Wärmebehandlungen unterbunden werden. GILMOUR & ROWE (1990) limitieren die obere Temperaturgrenze für *Strep. agal.*-Wachstum bei 45 °C . Anhand einer Studie von TERPSTRA et al. (2007) wurde gezeigt, dass durch Pasteurisation der Milch im HTST-Verfahren, selbst bei hohen Ausgangskonzentrationen von $3,8 \times 10^6$ KBE/ml, bereits nach einer Heißhaltezeit von 16 s bei 72 °C keine *Strep. agal.*-Erreger mehr nachweisbar waren. JORGENSEN et al. (2006) berichten ebenfalls von einer signifikanten Reduktion von *Strep. agal.* durch On-Farm-Pasteure.

2.3.2.2 *Streptococcus dysgalactiae*

Streptococcus dysgalactiae (*Strep. dysgal.*), als weiterer Vertreter der Äskulin-negativen Streptokokken, tritt als pathogenes Bakterium vorwiegend bei Rindern auf (JÄGER, 2006; SELBITZ, 2007). Seinem Namen nach ist es für die Verminderung oder den Verlust der Milchsekretion verantwortlich (GARVIE et al., 1983). Dieser Erreger ist selten auf gesunder als vielmehr auf lädierter Zitzenhaut (BLOWEY & EDMONDSON, 2010; TIMONEY et al., 1988), in den Schleimhäuten der Tonsillen sowie im Urogenitaltrakt zu finden (GARVIE et al, 1983; JÄGER, 2006 zit. nach PHILPOT, 1975). Etwa 90 % aller *Strep. dysgal.*-Infektionen verlaufen akut klinisch und sind besonders schmerzvoll (JÄGER, 2006; TIMONEY et al., 1988). Subklinisch ist eine starke Erhöhung der somatischen Zellzahlen wahrzunehmen. Das austretende Sekret ist zumeist gelblich verfärbt und eitrig (TIMONEY et al., 1988).

Aufgrund des vereinzelt Auftretens im Bestand, wird *Strep. dysgal.* eine geringe Kontagiosität zugeschrieben. Dennoch scheint das Medium Milch ein relevanter Vektor für die Erregerübertragung zu sein. In diesem Zusammenhang indizierten Ergebnisse von

WANG et al. (1999), dass *Strep. dysgal.* in der Lage ist, bis zu fünf Monate in der infizierten Milchdrüse zu überleben und während des Melkens auf andere Tiere, bei entsprechender Disposition, übertragen wird. In einer methodisch ähnlich angelegten Studie isolierten BASEGGIO et al. (1997) genotypisch identische *Strep. dysgal.*-Stämme aus Herden unterschiedlicher Betriebe und schlussfolgerten daraus, dass herdenübergreifende, dominante Stämme in jedem betrieblichen Bestand existieren und *Strep. dysgal.* somit als kuh- und auch als umweltassoziiertes Erreger einzustufen ist (BLOWEY & EDMONDSON, 2010; CALVINHO et al., 1998; JÄGER, 2006). Die Theorie des herdenübergreifenden Genotyps erhärtet sich wenn man bedenkt, dass *Strep. dysgal.*-Erreger im Sommer auch über den Vektor *Hydrotea irritans*, einer Fliegen-Spezies, übertragen wird (BLOWEY & EDMONDSON, 2010).

Auf niedrige pH-Werte (< 4,7 - 5) reagiert *Strep. dysgal.* empfindlich (GARVIE et al., 1983; TIMONEY et al., 1988). Auch ab einem pH-Wert von > 9,6 konnte keine Aktivität mehr nachgewiesen werden (ebd.). Der Präferenzbereich von *Strep. dysgal.* für den ökologischen Faktor Temperatur liegt zwischen 10 - 45 °C (GARVIE et al., 1983). Die optimale Wachstumstemperatur liegt laut GILMOUR & ROWE (1990) bei 37 °C. Diese eingeschränkte Hitzeverträglichkeit legt den Verdacht nahe, dass *Strep. dysgal.* durch entsprechende Erhitzungsverfahren der kontaminierten Rohmilch zuverlässig eliminiert werden kann. Dieser Verdacht lässt sich jedoch aufgrund mangelnden Datenmaterials zu Pasteurisationsversuchen mit entsprechenden *Strep. dysgal.*-Erregern nicht profund bestätigen.

2.4 Umweltassoziierte Mastitiserreger

Umweltassoziierte Mastitiserreger stammen aus der unmittelbaren Tierumwelt. Dazu zählen u. a. kontaminiertes Einstreumaterial sowie alle mit abgesetzten Kot in Berührung kommenden Stallutensilien (JÄGER, 2006; PETZL, 2010). Diese Erreger werden vermehrt bei besonders hohem Keimdruck aufgenommen (KRÖMKER, 2007) und gelangen beim Melken, häufig durch den Rückfluss der Milch, in den Strichkanal (BLOWEY & EDMONDSON, 2010). Dort angesiedelt, lösen umweltassoziierte Mastitiserreger i. d. R. akute Mastitiden aus (PETZL, 2010).

2.4.1 Koagulase-negative Staphylokokken

Die Koagulase-negativen Staphylokokken (KNS) zählen per klassischer Einteilung zu den umweltassoziierten Mastitiserregern, können u. U. aber auch den kuhassoziierten

Mastitiserregern zugeschrieben werden (JÄGER, 2006). Sie haben ihr Reservoir in Wunden, in der infizierten Milchdrüse und generell auf der Haut des Tieres (BARTH et al., 2011; KRÖMKER, 2007). In ihrer Funktion als opportunistische Hautbesiedler stellen sie demnach eine permanente Gefahr für die potentielle Kolonisation der Zitzenspitzen und Strichkanäle dar (KUDINHA & SIMANGO, 2002). Studienergebnisse zeigen, dass KNS mit 33,2 % als zweithäufigste Erreger subklinischer und sogar als häufigste Ursache klinischer Mastitiden isoliert wurden (ebd.).

Laut JÄGER (2006) werden aktuell 25 Spezies des Genus *Staphylococcus* zu den KNS gezählt. Besonders häufig wurden die drei KNS-Spezies *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus epidermis* und *Staphylococcus hominis* als Erreger klinischer und subklinischer Mastitiden isoliert (KUDINHA & SIMANGO, 2002). In der direkten Tierumwelt konnten MATOS et al. (1991) *Staphylococcus xylosus* als dominante KNS-Spezies (90 %) in allen Materialien und besonders im frischen Stroh nachweisen. KNS werden vornehmlich beim Milchentzug übertragen (KRÖMKER, 2007). In diesem Zusammenhang erkannten KUDINHA & SIMANGO (2002), dass einige KNS auf menschlicher Haut überleben können und z. B. durch Melkerhände von Tier zu Tier übertragen werden können.

Die Pathogenität der KNS ist noch nicht abschließend geklärt. Trotz des hohen Keimdrucks zählen KNS zu den minorpathogenen Keimen, die nur bei entsprechender Disposition (vgl. KAYSER & BÖTTGER, 2014) milde Euterentzündungen hervorrufen (JÄGER, 2006). KUDINHA & SIMANGO (2002) schlussfolgern hingegen aus eigenen Untersuchungsergebnissen, dass die KNS-Pathogenität wesentlich höher ist als gemeinhin angenommen. Wohingegen SOBIRAJ et al. (1997) den KNS nahezu jegliche Pathogenität in Bezug auf Mastitis absprechen.

Unterhalb von 15 °C sind die meisten KNS nicht mehr vermehrungsfähig. Diesbezüglich liegt das Temperaturoptimum zwischen 30 - 37 °C (GILMOUR & ROWE, 1990). Oberhalb von 45 °C wird ihre Aktivität zunehmend eingeschränkt (ebd.). In einem umfangreichen Pasteurisationsversuch von ELIZONDO-SALAZAR et al. (2010) wurde gezeigt, dass sowohl mit dem Langzeit- als auch mit dem Kurzzeit-Pasteurisationsverfahren unterschiedlich hohe KNS-Ausgangskeimbelastungen erheblich reduziert werden konnten. JORGENSEN et al. (2006) reproduzierten diese Ergebnisse in einer eigenen Untersuchung und schlussfolgerten, dass On-Farm-Pasteure sehr effizient Staphylokokken in Rohmilch eliminieren können.

2.4.2 Äskulin-positive Streptokokken

Äskulin-positive Streptokokken zeichnen sich durch ihre Fähigkeit aus, in entsprechenden Nachweisverfahren zugegebenes Äskulin mikrobiell zu spalten und folglich abzubauen. Zu ihnen zählen die nachfolgend ausführlich dargestellten Streptokokken *Streptococcus uberis* sowie die Enterokokken.

2.4.2.1 *Streptococcus uberis*

Bei *Streptococcus uberis* (*Strep. uberis*) handelt es sich um ein Gram-positives Bakterium, das bevorzugt in Paar- und/oder Kettenform auftritt. In der Milchviehhaltung spielt *Strep. uberis* eine zentrale Rolle, da dieser Erreger bedeutsam an der Entstehung katarrhalisch-klinischer Mastitiden sowie an anderen Schleimhautentzündungen, beispielsweise der Endometritis, beteiligt ist (JÄGER, 2006). *Strep. uberis*-Kolonien sind von Biofilmen umgeben (GILMOUR & ROWE, 1990), die sich im Kolonisierungsprozess verkapseln, in infizierten Eutern persistieren und dadurch chronische Infektionen der Drüsenzellen hervorzurufen (KRÖMKER et al., 2014).

Strep. uberis zählt zu den ubiquitären, umweltassoziierten Mastitiserregern, die das Eutergewebe sowie Haut, Lippen und den Respirationstrakt des Tieres befallen können (BRAMLEY & MCKINNON, 1990; GILMOUR & ROWE, 1990; KRÖMKER et al., 2014), jedoch vorwiegend in Rohmilch aus infizierten Eutervierteln mit bis zu 10^7 KbE/ml nachgewiesen (LEIGH, 1999) und somit häufig als kuhassoziiert betrachtet wurden. TODHUNTER et al. (1995) kannten dieses Phänomen des umwelt- und tierassoziierten Auftretens bereits aus eigenen Ergebnissen und ergänzen diesbezüglich, dass *Strep. uberis* zu nahezu gleichen Anteilen sowohl in Laktations- als auch in Trockenstehphasen aus infizierten Eutervierteln isoliert wurden. Studienergebnisse von WANG et al. (1999) und PHUEKTES et al. (2001) indizieren außerdem, dass vielzählige *Strep. uberis*-Stämme in der Lage sind Mastitiden auszulösen und diese häufiger über Umweltkontakte, als über bereits infiziertes Milchdrüsengewebe, in intakte Euterviertel eindringen.

Die Verbreitung von *Strep. uberis* wird als Kaskade beschrieben, die nach der Kolonisation der Schleimhäute des Wirtstieres, über den Speichel durch Belecken der Umwelt indirekt, aber auch direkt, auf andere Tiere verteilt wird (KRÖMKER et al., 2014). Die Übertragung durch das Melken halten WANG et al. (1999) hingegen für unwahrscheinlich, da in untersuchten Tierbeständen keine Erreger mit gleichem Restriktionsmuster identifiziert werden konnten. Zusätzlich erkannten die Autoren, dass Kühe während

einer Laktationsphase zwei und mehr *Strep. uberis*-Infektionen aufgrund der hohen Virulenz erleiden können und diese, mit einem Anteil von 60 - 80 %, die am stärksten auftretende, kuhmilchassoziierte Streptokokken-Spezies ist (ebd.). Dennoch scheint einer bloßen Besiedelung der Zitzenspitze nicht automatisch eine Infektion zu folgen, weshalb laut JÄGER (2006, S. 24) „die Vorkommenshäufigkeit von *S. uberis* [...] in keinem direkten Verhältnis zum Infektionsrisiko“ steht. LEIGH (1999) hingegen hebt noch einmal die Besiedlung der Zitzenspitzen als konstanten Kontaminationspfad hervor und verweist in diesem Zusammenhang auf die hohe Virulenz während der Trockensteherphasen.

In einem breit angelegten Versuch zum Wachstum von *Strep. uberis* unter sich ändernden Umgebungstemperaturen, konnten DOGAN & BOOR (2004) kein Wachstum bei Temperaturen $< 7\text{ °C}$ erkennen. Der optimale Temperaturbereich für Wachstum liegt zwischen $35 - 37\text{ °C}$ (GILMOUR & ROWE, 1990). KRÖMKER et al. (2014) ergänzen die limitierende, obere Temperaturgrenze von 45 °C und sprechen von einer vollständigen Inaktivierung nach dem Erhitzen auf 60 °C für 30 min, was dem Langzeit-Pasteurisationsverfahren entspricht. JORGENSEN et al. (2006) zeigten, dass On-Farm-Pasteure Streptokokken-Ausgangskeimbelastungen von $1,7 \times 10^5$ KBE/ml zuverlässig auf < 10 KBE/ml reduzieren können. Und auch ELIZONDO-SALAZAR et al. (2010) berichteten von der erfolgreichen Streptokokken-Reduktion nach hoher Ausgangskeimbelastung in 98 % aller Proben.

2.4.2.2 Enterococcus spp. (Enterokokken)

Dem Wortursprung nach handelt es sich bei Enterokokken um Darm und Eingeweide besiedelnde Bakterien (GILMOUR & ROWE, 1990), die in ihrer ursprünglichen Taxonomie den Streptokokken der Lancefield-Gruppe D zugeordnet wurden (ZANGERL, 2007), sich jedoch im Zellaufbau von diesen unterscheiden (JÄGER, 2006). Über ausgeschiedenen Kot gelangen Enterokokken in den Boden und können anschließend häufig in der direkten Umwelt des Tieres nachgewiesen werden. Enterokokken sind laut ZANGERL (2007) und JÄGER (2006) auch rohmilchassoziiert. Über den direkten Kontakt der Tiere mit ihrer Umwelt und/oder dem Menschen während des Melkprozesses, können Enterokokken zielgerichtet in die Milchdrüse eindringen (MCAULEY et al., 2012), dort für längere Zeit persistieren und sowohl klinische als auch subklinische Mastitiden auslösen (JÄGER, 2006). Enterokokkenassoziierte Mastitiden treten jedoch eher in Einzelfällen auf.

Als milchwirtschaftlich relevanteste Enterokokken-Vertreter nennt ZANGERL (2007) *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* und *Enterococcus durans*. JÄGER (2006) ergänzt in diesem Zusammenhang noch *Enterococcus avium* als häufig aus Rohmilch isolierten Erreger. Einige Vertreter dienen als Anzeiger fäkaler Verunreinigungen (GILMOUR & ROWE, 1990). Gegenüber den Coliformen Keimen (siehe Kapitel 2.4.3) sind Enterokokken weniger pH-empfindlich und dienen somit als Hygieneanzeiger in angesäuerten Milchprodukten (ZANGERL, 2007). Für die Kälberernährung ist jedoch die Belastung der Tränkmilch nur von geringer Relevanz, da Enterokokken keine Vektoren für Kälberkrankheiten darstellen (JORGENSEN et al., 2006). Die eigentliche Pathogenität resultiert aus der Fähigkeit der Enterokokken, durch Decarboxylase von Aminosäuren, biogene Amine herzustellen und entsprechende Folgeerkrankungen auszulösen, die jedoch für die vorliegende Arbeit nicht von Relevanz sind.

Die optimale Wachstumstemperatur der Enterokokken liegt bei 37 °C (GILMOUR & ROWE, 1990). Sie gelten als relativ hitzeresistent und können Temperatureinwirkungen von 65 °C für 30 min problemlos überstehen (ZANGERL, 2007). MCAULEY et al. (2012) untersuchten die unterschiedlichen Hitzeresistenzen einzelner Enterokokken-Spezies und kamen zu dem Ergebnis, dass im Langzeit-Pasteurisationsverfahren eine Ausgangskonzentration von 10^7 KbE/ml um lediglich $0,5 \log_{10}$ KbE/ml reduziert wird. Wo hingegen im Kurzzeit-Pasteurisationsverfahren, bei gleicher Ausgangskonzentration, eine Reduktion um $3,5 \log_{10}$ KbE/ml erfolgte (ebd.). In einem Pasteurisationsversuch mit unterschiedlichen On-Farm-Pasteuren von JORGENSEN et al. (2006) konnten hohe Ausgangskeimbelastungen von $1,8 \times 10^5$ KbE/ml durch Pasteurisation weitaus umfassender reduziert werden. GIMÉNEZ-PEREIRA (2005) bestätigt diese Tendenz und berichtet eigene Untersuchungsergebnisse, wonach die Konzentration milchwirtschaftlich relevanter Enterokokken bei einwirkenden Temperaturen von 72 °C und einer Einwirkdauer von 14,7 s unterhalb der Nachweisgrenze von 1 KbE/ml lag.

2.4.3 Enterobakterien (Coliforme)

Enterobakterien gehören zur Familie der Enterobacteriaceae und werden im Kontext von Mastitiden den umweltassoziierten Erregern zugeordnet (JÄGER, 2006). Bei ihnen handelt es sich um stäbchenförmige, aerobe bis fakultativ anaerobe, Gram-negative Bakterien. Einige Vertreter werden auch als Coliforme Keime (kurz: Coliforme) bezeichnet. Sie stellen jedoch keine eigene Gruppe im taxonomischen Sinne dar. Vielmehr wurden sie aufgrund des EU-Hygienerechts von den Enterobakterien sondiert und als

Hygieneanzeiger für die Beurteilung der Produktionshygiene verwendet (ZANGERL, 2007). Bisher bekannte Coliforme-Genera sind *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Kluyvera* sowie die Laktose-positiven Stämme *Hafnia alvei* und *Serratia proteamaculans* (GILMOUR & ROWE, 1990; ZANGERL, 2007). Coliforme sind proteo- und lipolytisch aktiv und können, bevorzugt zwischen 30 - 37 °C, Laktose zu Gas und/oder Säure abbauen (GILMOUR & ROWE, 1990; ZANGERL, 2007). Aufgrund dieser Fähigkeit sind sie optimal an die Gegebenheiten der Milch angepasst.

Coliforme haben nur geringe Ernährungsansprüche und können an ungenügend gereinigten Oberflächen überleben und sich vermehren. Enterobakterien und speziell Coliforme gelten als ubiquitär und treten besonders häufig in Darm, Kot, Boden, auf Pflanzen und sogar im Wasser auf (GILMOUR & ROWE, 1990; ROLLE, 2007; ZANGERL, 2007). JÄGER (2006) ergänzt in diesem Zusammenhang auch die potentielle Gefahr der Euterbesiedlung und Infektion durch fäkal kontaminierte Einstreu. Aber auch in Rohmilch werden Coliforme häufig nachgewiesen (ZANGERL, 2007).

Eine Sonderstellung innerhalb der Enterobakterien nimmt der Darmkeim *Escherichia Coli* (*E. coli*) ein, da dieser laut JÄGER (2006) Haupterreger der sog. Coli-Mastitis ist. *E. coli* kann selbst bei niedrigen Temperaturen von 3 - 10 °C stoffwechselaktiv sein und sich im pH-Bereich von 4,6 - 9,5 vermehren (ZANGERL, 2007). Die wesentliche Virulenz von *E. coli* liegt in der Produktion hitzestabiler Endo- und Enterotoxine, die neben der Mastitis zahlreiche weitere Krankheitsprozesse initiieren (GILMOUR & ROWE, 1990; JÄGER, 2006; ROLLE, 2007; ZANGERL, 2007). Die Symptome der Coli-Mastitiden werden von JÄGER (2006) als bösartig und akut verlaufend beschrieben, wobei Infektionen häufig nur bei Einzeltieren und selten herdenübergreifend auftreten. Ohne entsprechende Therapie endet die Coli-Mastitis letal oder führt aufgrund der eintretenden Milchdrüsen- und Gewebe-Nekrotisierung zum vollständigen Funktionsverlust des betroffenen Viertels (ebd.).

Alle Coliformen reagieren jedoch recht empfindlich auf hohe Umgebungstemperaturen und werden ab 60 °C (ROLLE, 2007), respektive durch Pasteurisation, zuverlässig abgetötet (GILMOUR & ROWE, 1990; ZANGERL, 2007). Ergebnisse aus Pasteurisationsversuchen von JORGENSEN et al. (2006) an Rohmilch zeigten, dass selbst erhöhte Ausgangs-keimbelastungen an Coliformen von $8,2 \times 10^4$ KbE/ml durch On-Farm-Pasteurisation auf einen Wert < 10 KbE/ml und somit um 99,6 % reduziert werden können. Auch ELIZONDO-SALAZAR et al. (2010) konnten in 80 % ihrer Proben eine Reduktion der

Coliformen auf < 10 KbE/ml, bei Ausgangskeimbelastungen von bis zu $4,7 \times 10^5$ KbE/ml, nachweisen.

Ihr Vorkommen in Milchprodukten nach der Pasteurisation liegt demnach in einer Rekontamination, zum Beispiel über kontaminierte Gerätschaften im Melkbereich, begründet (BRAMLEY & MCKINNON, 1990; ZANGERL, 2007). Über diesen Weg gelangt auch *E. coli* bei bereits pasteurisierter Tränkmilch in das Kalb. Bisher existieren jedoch noch keine gut etablierten Grenzwerte für Coliforme in Tränkmilch. MCGUIRK (2003) empfiehlt jedoch eine Zielstellung von 0 KbE/ml. Für die Infektion mit dem besonders pathogenen *E. coli*-Stamm Enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC), reicht bereits eine aufgenommene Dosis von 10 - 100 Keimen, andere Stämme hingegen lösen erst ab einer aufgenommenen Dosis von 10^6 - 10^{10} Keimen entsprechende Erkrankungen aus (ZANGERL, 2007). Auf die Vertränkung coliformhaltiger Milch sollte demnach verzichtet werden, da diese in der Folge zu einer erhöhten Endotoxinbelastung und somit zu einer Bakteriämie des immunschwachen Kalbes (MOORE et al., 2009) oder schwerer Diarrhö führen kann, woran unbehandelte Tiere häufig verenden (ROLLE, 2007).

2.4.4 Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonaden gehören zu den aeroben, Gram-negativen Bakterien, die sich über polare Geißeln aktiv fortbewegen (MAYR, 2007). Sie gelten als ubiquitär und kommen im Wasser (HAHN, 2013; HEIZMANN, 1999; MAYR, 2007), im Boden (GILMOUR & ROWE, 1990; LUGTENBERG et al., 2001) und an ungenügend gereinigten Milchgeräten vor (ZANGERL, 2007). Ihre Ernährungsansprüche sind bescheiden und daher vielseitig (GILMOUR & ROWE, 1990). Eine milchwirtschaftlich und tiergesundheitlich relevante Pseudomonaden-Spezies ist *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), da sie laut GILMOUR & ROWE (1990) immer wieder mit Mastitiden, besonders nach zuvor erfolgter Antibiotikabehandlung (MAYR, 2007) sowie mit erheblichen Durchfall- und Atemwegserkrankungen assoziiert wird (ZANGERL, 2007).

Nach Erkenntnissen von HEIZMANN (1999) und MAYR (2007) lassen sich sowohl im Kolon eines Organismus als auch an respiratorischen und genitalen Schleimhäuten (GILMOUR & ROWE, 1990; HAHN, 2013) geringe *P. aeruginosa*-Keimzahlen nachweisen. Dieser Umstand verweist darauf, dass nicht alle Infektionen exogenen Ursprungs sind und endogene Infektionen, nach Aufnahme kontaminierter Nahrungsmittel (HAHN, 2013), als ebenso wahrscheinlich einzustufen sind. Die Übertragung von *Pseudomonas*

verläuft über direkte Maßnahmen am Tier zum Beispiel über Melkgeräte und Melkerhände, aber auch von Tier zu Tier über gemeinsam genutzte Vorrichtungen wie beispielsweise Tränkebecken (ebd.). Besonders prädisponiert für *P. aeruginosa*-Infektionen sind Organismen, die bereits abwehrgeschwächt sind sowie neonatale Organismen (ebd.).

Im Gegensatz zu anderen mastitisassoziierten Bakterienstämmen gelten Pseudomonaden als psychotroph, womit ihr stoffwechselaktives Auftreten, insbesondere in gekühlter Rohmilch, erklärbar wird (ZANGERL, 2007). Unterhalb von 4 °C ist jedoch kein Wachstum mehr erkennbar (GILMOUR & ROWE, 1990). Ihre optimale Wachstumstemperatur beträgt 37 °C (ebd.) und ermöglicht Generationszeiten von gerade einmal 20 min, weshalb *P. aeruginosa* auch als schnellwachsendes Bakterium bezeichnet wird (HAHN, 2013). Mit 41 °C ist die obere Wärmeverträglichkeit für Wachstum definiert (GILMOUR & ROWE, 1990). Keimzahlen in Milchprodukten von $> 10^5$ KbE/ml gelten als hoch, können jedoch durch Pasteurisation umfassend reduziert werden (ZANGERL, 2007). SHARMA et al. (2014) zeigten in eigenen Versuchen zum Pulsed-Electric-Field-Konservierungsverfahren, dass der Stoffwechsel von *P. aeruginosa*, trotz hoher Ausgangskeimbelastungen von 10^8 KbE/ml, bereits bei 50 °C vollständig inaktiviert wurde. *P. aeruginosa* reagiert zudem sehr empfindlich auf pH-Werte < 6 (ZANGERL, 2007). MAYR (2007) verweist dennoch explizit auch auf deren potentielle Resistenzen gegenüber vieler Desinfektionsmittel und charakterisiert *P. aeruginosa* als eine der gefährlichsten Infektionsursachen trotz erhöhten hygienischen Aufwands.

2.5 Pasteurisationsverfahren

Die ersten Pasteurisationsversuche gehen auf den französischen Chemiker und Mikrobiologen Louis Pasteur (1822 - 1895) zurück, der Wein durch Erhitzen auf 100 °C von Mikroorganismen befreite und somit länger haltbar machte. Seitdem werden als Pasteurisationsverfahren jene Erwärmungsverfahren flüssiger Lebensmittel bezeichnet, die verderbniserregende und pathogene Mikroorganismen eliminieren bzw. unerwünschte Enzymtätigkeiten inaktivieren (ELIZONDO-SALAZAR et al., 2013; FRISTER, 2007; GODDEN, 2007; JAMES & SCOTT, 2006; PARTRIDGE, 2009; ZANGERL, 2007), jedoch qualitative Merkmale weitgehend unbeeinflusst zu lassen. Durch die meist nur kurzzeitige Erwärmung verlängert sich weiterhin die Haltbarkeit des Produkts. Besonders in der Milchwirtschaft ist die Pasteurisation von Rohmilch und Sperrmilch ein probates Verfahren, um Kälbern ein kostengünstiges, vollwertiges, und weitgehend apathogenes

Aufzuchtfuttermittel bereitzustellen (ELIZONDO-SALAZAR et al., 2010; ELIZONDO-SALAZAR et al., 2013).

Dazu werden Pasteurisationsverfahren sowohl nach der Behandlungstemperatur als auch nach deren Einwirkdauer auf die zu pasteurisierende Flüssigkeit in Langzeit- und Kurzzeit-Pasteurisationsverfahren unterschieden (vgl. Tabelle 3).

Tabelle 3 - Temperatur vs. Einwirkdauer von Pasteurisationsverfahren (angelehnt an PARTRIDGE, 2009)

Temperatur	Zeit	Verfahren	Trivial-Bezeichnung
63 °C	30 min	Langzeit-Pasteurisation	LTLT (Low Temperature, Long Time)
72 °C	15 s	Kurzzeit-Pasteurisation	HTST (High Temperature, Short Time)
89 °C	1 s		
90 °C	0,5 s		
94 °C	0,1 s		
96 °C	0,05 s		
100 °C	0,01 s		

Pasteurisation soll Ausgangskeimbelastungen in Sperrmilch auf $< 2 \times 10^4$ KBE/ml im Makrokoloniezählverfahren sowie auf eine Alkaline-Phosphatase-Aktivität von < 500 mU/ml reduzieren (GODDEN, 2007; JAMES & SCOTT, 2006) bzw. deren Nachweisverfahren negativ ausfallen lassen (FRISTER, 2007, ZANGERL, 2007). Die Pasteurisation entspricht nicht der Sterilisation (ELIZONDO-SALAZAR et al., 2013; GODDEN, 2007), weshalb im Anschluss i. d. R. noch Kolonie-bildende-Einheiten, zumeist hitzetoleranter Bakterien, in der Milch vorhanden sind. Dennoch können, abhängig vom durchgeführten Verfahren, etwa 95 bis > 99 % der rohmilchassoziierten Bakterien durch Pasteurisierung abgetötet werden (ZANGERL, 2007). Die in Tabelle 4 dargestellten Untersuchungsergebnisse von ELIZONDO-SALAZAR et al. (2010) bestätigen diese Tendenz und zeigen, dass die Pasteurisation von Sperrmilch etwa 90 % der vorhandenen mastitiserregenden Keime, auf ein für die Verträglichkeit tolerierbares Maß, reduziert. Wie der Tabelle 4 ebenfalls zu entnehmen ist, kann im Anschluss an den Pasteurisationsprozess von raschen Rekontaminationen der Milch aufgrund hoher Umweltkeimbelastungen berichtet werden (ELIZONDO-SALAZAR et al., 2010), wie sie am Beispiel der Tränkeemmer gemessen wurden. Rekontaminationskeime treten in Abhängigkeit von der gewählten Lagerungsform nach dem Pasteurisieren auf und sind in der Hauptsache psychotrophe Keime, die sich selbst in gekühlter Milch stetig vermehren (ZANGERL, 2007).

Tabelle 4 - Bakterienzahlen (log KbE/ml) in Milch vor und nach der Pasteurisation und im Tränkeimer vor der Vertränkung an Kälber (angelehnt an ELIZONDO-SALAZAR et al., 2010)

	Vorher ¹	Nachher ¹	Tränkeimer ²	SEM
Standard Plattenzählverfahren	4,29	1,98	3,71	0,23
Umweltassoziierte Streptokokken	3,34	1,04	2,54	0,44
Koagulase-negative Staphylokokken	2,46	0,76	2,35	0,37
Coliforme Keime	2,14	0,45	1,57	0,19
Noncoliforme Keime	1,52	0,12	1,84	0,33

Anmerkungen: ¹n = 147.; ²n = 129.

Weiterhin weist GODDEN (2007) darauf hin, dass bei sehr hohen Ausgangskonzentrationen pathogener Bakterien von $> 10^6$ KbE/ml, eine Vielzahl nicht nur hitzeresistenter Mikroorganismen den Pasteurisationsprozess überleben wird.

2.5.1 Langzeitpasteurisation (LTLT-Pasteurisationsverfahren)

Die rudimentärste Form der Pasteurisation ist das Langzeit-Pasteurisationsverfahren, wie es in seinem Grundaufbau und seiner Arbeitsweise in Abbildung 1 dargestellt ist.

Bei diesem Verfahren kann eine, durch die Tankgröße limitierte, Portion an Rohmilch pasteurisiert werden. Aufgrund der Zeit-Temperatur-Konstellation wird das Langzeit-Pasteurisationsverfahren weiterhin auch als Low-Temperature, Long-Time-Verfahren (LTLT-Pasteurisationsverfahren) bezeichnet. Im Tank eines LTLT-Pasteurs wird die entsprechende Menge Milch auf Temperaturen von 61 - 63 °C, bei einer

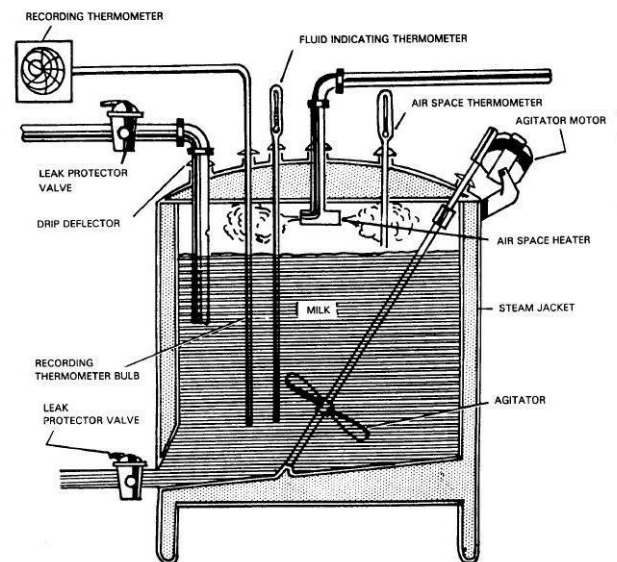


Abbildung 1 - Grundaufbau des LTLT-Pasteurs

Heißhaltezeit von 30 - 45 min, erhitzt (ELIZONDO-SALAZAR et al., 2013; GODDEN, 2007; PARTRIDGE, 2009; SCOTT, 2006). Der Tank besitzt einen doppelwandigen Aufbau und Boden, in deren Zwischenräumen spiralartig angelegte Heiz- und Kühlleitungen, häufig auch mit Wärmetauscherfunktion (PARTRIDGE, 2009), verlaufen. Durch das jeweilige Zirkulationsmittel wird die im Kessel befindliche Flüssigkeit erhitzt und anschließend

für eine sofortige Vertränkung oder Lagerung auf etwa 38 - 43 °C, respektive 8 °C, abgekühlt (GODDEN, 2007; PARTRIDGE, 2009). Der Tank muss am oberen Ende durch einen Deckel verschlossen sein, um die Milch vor Umweltkeimen, Staub, Aerosolen und somit vor einer Rekontamination zu schützen (ebd.). Das integrierte Rührwerk ist u. a. für das Gelingen eines einwandfreien Produkts entscheidend, da es einerseits eine gleichmäßige Temperatureinwirkung auf die Milch gewährleistet und andererseits die konzentrierte Ansammlung des Milchfetts sowie die Schaumbildung an der Milchoberfläche unterdrückt (JAMES & SCOTT, 2006). Dies ist von Bedeutung, da Milchschaum die Wärme wesentlich schlechter leitet als der flüssige Anteil der Milch und zudem Mikroorganismen verhilft, den Pasteurisationsprozess zu überstehen (CHANDAN, 1997; GODDEN, 2007). Bei einigen LTLT-Pasteuren wird zusätzlich heißer Dampf in die Luftschicht über der Milch eingelassen, um temperaturstabilere Keime gezielt abzutöten (STEELE, 2000). Der Pasteurisationsprozess sowie die Temperaturüberwachung geschehen anhand eingebauter Thermometer und verlaufen prozessrechnergesteuert.

Vorteile der LTLT-Pasteure sehen Hersteller und Anwender in der unkomplizierten und autonomen Steuerung anhand spezifischer Pasteurisationsprogramme sowie der einfachen Reinigung des Tanks. Haidn (2010) betont zusätzlich die verhältnismäßig geringen Anschaffungskosten. Im Zuge stetiger Weiterentwicklungen sind viele neuartige LTLT-Pasteure mobil einsetzbar. Dieser Umstand ermöglicht die sofortige Befüllung der Tränkeimer im Kälberstall nach erfolgter Pasteurisation – ohne zwischenzeitliche Öffnung und Umfüllung des Tanks – sodass das Rekontaminationspotential minimiert wird.

Als Nachteilig am Batch-Pasteur sehen Elizondo-Salazar et al. (2013) und Haidn (2010) nach wie vor das starre Verhältnis aus Milchmenge und Zeit sowie die daraus resultierenden hohen Energiekosten. Sehr große Mengen benötigen sehr viel Zeit, bis die benötigte Temperatur erreicht wird und ein verträgliches Produkt zur Verfügung steht (Haidn, 2010). Weiterhin wird gleichzeitig die Entwicklung hitzeresistenter Bakterien vorangetrieben, weshalb sich, nicht zuletzt deshalb, die gründliche Reinigung aller beteiligten Teile schwieriger gestaltet als es die Hersteller proklamieren (Elizondo-Salazar et al., 2013; Godden, 2007).

2.5.2 Kurzzeitpasteurisation (HTST-Pasteurisationsverfahren)

Beim Kurzzeit-Pasteurisationsverfahren handelt es sich um ein kontinuierliches Durchflussverfahren, in dem die zu pasteurisierende Milch nur für kurze Zeit hohen Temperaturen ausgesetzt wird. Aus dem englischen abgeleitet, wird dieses Verfahren auch als High-Temperature, Short-Time Verfahren (HTST-Pasteurisationsverfahren) bezeichnet (ELIZONDO-SALAZAR et al., 2013; GODDEN, 2007) und unterscheidet sich grundlegend vom LTLT-Verfahren. Im HTST-Verfahren zirkuliert die zu pasteurisierende Rohmilch durch ein Netzwerk erhitzter Spulen und wird zwischen 15 - 30 s auf etwa 72 °C erhitzt (ELIZONDO-SALAZAR et al., 2007; FRISTER, 2007; GODDEN, 2007; ZANGERL, 2007). Im weiteren Verlauf der Zirkulation wird die Milch durch das Gegenstrom-Prinzip im Wärmetauscher zügig auf etwa 43 °C abgekühlt (GODDEN, 2007). Dadurch erhält sie einerseits ihre präferierte Temperatur für die unmittelbare Vertränkung und stellt andererseits die abgegebene Wärmeenergie dem Erhitzungsprozess nachzirkulierender Milch zur Verfügung (ELIZONDO-SALAZAR et al., 2013). Das HTST-Verfahren verarbeitet die zu pasteurisierende Milch kontinuierlich und, unabhängig von der anfallenden Menge, deutlich schneller als der LTLT-Pasteur, was wiederum Energie einspart (ebd.). Neuartige Systeme besitzen bereits integrierte, vollautomatische Reinigungsprogramme (GODDEN, 2007), die auf alkalischen und sauren Lösungen basieren und den Reinigungsverfahren von Melkanlagen gleichkommen (ELIZONDO-SALAZAR et al., 2013).

3. Material und Methoden

Im vorliegenden Kapitel werden die, für die vorliegende Untersuchung relevanten, Parameter zum Testbetrieb, zum Tiermaterial, zum Versuchsaufbau sowie zu den verwendeten Messgeräten dargestellt.

3.1 Betriebsübersicht und Tiermaterial

Als Testbetrieb für die vorliegende Untersuchung erklärte sich die Agrargenossenschaft Ranzig e.G., mit Sitz in Süd-Brandenburg, bereit. Der Tierbestand in der Milchviehhaltung umfasst etwa 650 Milchkühe der Rasse Deutsche Holstein. Alle Tiere stammen aus eigener Reproduktion und Aufzucht.

Die vorherrschenden Betriebsabläufe und Haltungskonstellationen ermöglichten keine Beprobung ausschließlich mastitiskranker Milchkühe, sondern nur von Tieren aus soge-

nannten Sperrgruppen. Diese Tiere werden gemeinsam gemolken, jedoch in separaten Gruppen gehalten. Daher setzte sich die Sperrmilch der Test-Tiergruppe sowohl aus Milch mastitiskranker, aber auch frischlaktierender oder anderweitig erkrankter Milchkühe zusammen. Dennoch stellte die Anzahl der mastitiskranken Tiere den größten Anteil der Test-Tiergruppe. Aufgrund von Neuerkrankungen, abgeschlossenen medizinischen Therapien, aber auch aufgrund von Neugeburten, veränderte sich die Tierkonstellation der Test-Tiergruppe täglich.

Trotz hygienischer Sorgfalt im gesamten Aufzucht-, Haltungs- und Produktionsprozess sind Mastitiden und Kälberdurchfälle die vorherrschenden Krankheiten im Betrieb. Eine im Vorfeld durchgeführte bakteriologische Analyse der Sperrmilch zur Qualifizierung des vorzufindenden Keimpektrums, ließ beachtliche Kontaminationsgrade mit unterschiedlichen Mastitiserregern erkennen. Aufgrund des hohen Keimdrucks im Betrieb, aber auch um anfallende Sperrmilch nicht verwerfen zu müssen, wird diese bereits standardmäßig mit dem HTST-Pasteur „MaxiSteam III“ der Firma Förster-Technik[®] (siehe Kapitel 3.2.1) pasteurisiert und anschließend an die betriebseigenen Aufzuchtkälber vertränkt. Zusätzlich ist der Betrieb im Besitz des LTLT-Pasteurs „Milchtaxi“ der Firma Holm & Laue[®] (siehe Kapitel 3.2.2). Das Milchtaxi wird jedoch nicht mehr für die Pasteurisation, sondern lediglich zum warmhalten pasteurisierter Milch aus dem Förster-Pasteur sowie für die mobile Befüllung der Tränkeeimer, verwendet.

Zusammenfassend lässt sich für diesen Abschnitt bereits festhalten, dass, aufgrund der vorliegenden Ausgangsfaktoren, der ausgewählte Testbetrieb als besonders geeignet eingestuft wurde, um die unterschiedlichen Pasteurisationsverfahren hinsichtlich ihrer Effektivität in der Keimreduzierung sowie im Verbrauch der betriebsrelevanten Ressourcen Wasser, Strom und Zeit vergleichend gegenüberzustellen. Sowohl die technischen Besonderheiten als auch Leistungsdaten beider Pasteure werden nachfolgend vertiefend vorgestellt.

3.2 Verwendete Pasteure

Stellvertretend für das HTST-Pasteurisationsverfahren wurde der „MaxiSteam III“ der Firma Förster-Technik[®] verwendet. Für das LTLT-Pasteurisationsverfahren wurde das „Milchtaxi“ der Firma Holm & Laue[®] gebraucht. Beide Pasteure werden im weiteren Verlauf in ihrer Funktionsweise erläutert.

3.2.1 MaxiSteam III

Grundlegend arbeitet der MaxiSteam III, wie er in Abbildung 2 dargestellt ist, im Continuous-Flow-Verfahren. Dementsprechend wird Rohmilch kontinuierlich bei 73 °C, mit einer Heißhaltezeit von ≥ 15 s, pasteurisiert. Die Besonderheit des MaxiSteam III liegt in der Verwendung von Dampf als wärmeübertragendes Medium. Zunächst wird vollautomatisch, kontinuierlich und im Gegenstromprinzip Sperrmilch aus dem Sperrmilchtank am Kühler entlangeleitet, in den Injektionsbehälter gepumpt und



Abbildung 2 - MaxiSteam III von Förster-Technik®

dort bei 4 - 6 bar Dampfdruck, über einströmenden Dampf, auf die Zieltemperatur erwärmt. Wird diese nicht unmittelbar erreicht, wird die Pumpenleistung und somit die Durchflussgeschwindigkeit der Milch durch Pulsweitenmodulation verringert. Bei erreichter Zieltemperatur wird die Milch nach einer Heißhaltezeit von 20 - 25 s durch den Kühler abgeleitet. In diesem wird im Wärmetauscher-Prinzip die Wärmeenergie der bereits pasteurisierten Milch zurückgewonnen und für die Vorerwärmung der noch zu pasteurisierenden Rohmilch wiederverwendet. Gleichzeitig wird durch den Wärmeenergieentzug die bereits pasteurisierte Tränkmilch auf 40 - 45 °C abgekühlt und zur Endlagerung in einen entsprechenden Tränkmilchtank abgeleitet. Alle ablaufenden Prozesse verlaufen prozessrechnergesteuert und können durch den Anwender gemäß eigener Präferenzen angepasst bzw. programmiert werden. Der MaxiSteam III besitzt eine interne, sowohl alkalisch als auch saure, Reinigungsfunktion und ist zusätzlich in der Lage, die pasteurisierte Milch vollautomatisch auf den gewünschten pH-Wert anzusäuern. Die Durchsatzleistung dieses Pasteurs gibt Förster-Technik® mit 200 - 240 l/h an. Die für die Erhitzung des Wassers notwendige Heizleistung des MaxiSteam III beträgt 9,0 kW. Der jeweilige Frischwasserverbrauch ist abhängig von der zu pasteurisierenden Portionsgröße und wurde bisher durch Förster-Technik® nicht hinreichend quantifiziert.

3.2.2 Milchtaxi

Bei dem verwendeten Milchtaxi der Firma Holm & Laue® (siehe Abbildung 3) handelt es sich um einen mobilen LTLT-Pasteur mit einem nutzbaren Tankvolumen von 220 l, der Sperrmilch auf 63 °C erhitzt und diese nach 30 min Heißhaltezeit abkühlt. Durch die Tankgröße begrenzt, können nur bestimmte Portionsgrößen pasteurisiert werden.

Über integrierte, prozessrechnergestützte Programme und Temperatursensoren pasteurisiert das Milchtaxi weitgehend autonom. Bestimmte Prozessparameter wie beispielsweise die Zieltemperatur sind jedoch programmierbar. Der Vorteil des Milchtaxis, gegenüber sehr einfachen LTLT-Pasteuren, besteht in der mobilen Einsetzbarkeit durch den elektrischen Fahrentrieb und somit in der direkten Befüllbarkeit der Tränkeeimer. Die Reinigung erfolgt durch halbautomatische Reinigungsprogramme sowie per Hand. In die-



Abbildung 3 - Milchtaxi der Firma Holm & Laue®

sem Pasteur wird die benötigte Wärme über erhitztes, zirkulierendes Wasser über die Kesselwand an die Milch abgegeben. Die Heizleistung des Milchtaxis beträgt 6,5 kW. Das turnusmäßig einsetzende, integrierte Bodenrührwerk sorgt für eine Umwälzung der Milch und somit für eine gleichmäßige Wärmeverteilung innerhalb des Kessels. Nach dem Pasteurisationsprozess wird die Milch im Kessel durch nachlaufend kaltes Frischwasser zwischen den Kesselwänden sowie durch ständiges Umwälzen abgekühlt. Die dazu benötigte Menge an Frischwasser hängt sowohl von dessen Temperatur als auch vom gewählten Programm ab. Jedoch wurden zum absoluten Wasserverbrauch durch Holm & Laue® keine Angaben gemacht.

3.3 Versuchsaufbau

Die Datenerhebung erfolgte an drei aufeinanderfolgenden Tagen im April 2015 in der Milchviehanlage der Agrargenossenschaft Ranzig e.G. Alle Tiergruppen werden täglich am frühen Vormittag und am Abend gemolken. Um Keimübertragungen zu vermeiden, wird die Sperrgruppe jeweils als letzte Gruppe gemolken. Die zu pasteurisierende Referenzmenge von 200 l Sperrmilch wurde direkt aus dem Melkkarussell in den Sperrmilchtank, respektive in den Tank des LTLT-Pasteurs, abgeleitet. Überschüssige Mengen wurden in einem separaten Tank aufgefangen und anderweitig weiterverarbeitet.

Für die vorliegende Untersuchung wurden insgesamt sechs Stichproben an sechs aufeinanderfolgenden Melkdurchgängen erhoben. Geplant war, die Probennahme an den Pasteuren jeweils im Wechsel nach ein bis zwei Durchgängen durchzuführen, damit beide Pasteure Sperrmilchproben aus annähernd identischen Sperrgruppenkonstellationen pasteurisieren können und somit eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse vorliegt. Aufgrund unvorhergesehener technischer Probleme am Stromspeicher des

Milchtaxis, konnte die geplante Reihenfolge der Stichprobennahme nicht eingehalten werden, weshalb lediglich zwei Stichproben am Milchtaxi und vier Stichproben am MaxiSteam III entnommen wurden. Sowohl die geplanten als auch die tatsächlich realisierten Stichprobennahmen können der Tabelle 5 entnommen werden.

Tabelle 5 - Geplante und realisierte Stichprobennahme der vorliegenden Untersuchung

Datum	T	Messzeitpunkt	Geplante Stichprobennahme	Anzahl Proben*	Realisierte Stichprobennahme	Anzahl Proben*	
27.4.15	1	Vormittag	Präpasteurisation	3	Milchtaxi	3	
			Postpasteurisation	3		3	
	2	Abend	Präpasteurisation	MaxiSteam III	3	MaxiSteam III	3
			Postpasteurisation		3		3
28.4.15	3	Vormittag	Präpasteurisation	3	MaxiSteam III	3	
			Postpasteurisation	3		3	
	4	Abend	Präpasteurisation	Milchtaxi	3	MaxiSteam III	3
			Postpasteurisation		3		3
29.4.15	5	Vormittag	Präpasteurisation	3	Milchtaxi	3	
			Postpasteurisation	3		3	
	6	Abend	Präpasteurisation	MaxiSteam III	3	Milchtaxi	3
			Postpasteurisation		3		3

Anmerkungen: T = Durchgang; * jeweils 1 Probe für bakteriologische Untersuchung, 1 Rückstellprobe für bakteriologische Untersuchung, 1 Probe für Gesamtkeimzahluntersuchung

Wie Tabelle 5 ebenfalls zu entnehmen ist, bestand jeder Durchgang aus zwei Messzeitpunkten, wobei die Proben des ersten Messzeitpunktes (Präpasteurisation) immer die bakterielle Ausgangskontamination der Rohmilch erfassten. Unmittelbar nach der Befüllung des jeweiligen Sperrmilchtanks wurden Proben aus dem oberen Drittel des Tanks gezogen. Dieser wurde nach der Probennahme umgehend wieder abgedeckt, damit keine umweltassoziierten Keime von der Milchoberfläche mitaufgezogen und/oder zusätzlich eingebracht wurden. Am zweiten Messzeitpunkt (Postpasteurisation) wurden die Proben zur Keimgehaltsbestimmung der Milch unmittelbar nach erfolgter Pasteurisation gezogen. Diese wurden beim Milchtaxi, nach vorangegangener Betätigung des Rührwerks, erneut aus dem oberen Drittel des Milchtanks entnommen. Die Probennahme beim MaxiSteam III erfolgte aus einem zuvor abgeleiteten Sammelgemisch am Ausgang des Pasteurs.

Alle Messzeitpunkte wurden dreifach beprobt. Zwei Probenröhrchen dienten der bakteriologischen Untersuchung im Mastitislabor, wobei es sich bei einer Probe um eine Rückstellprobe handelte. Ein jeweils drittes Probenröhrchen war mit dem Konservierungsmittel Azediol ausgekleidet und diente speziell zur Bestimmung der Gesamtkeim-

zahl. Alle Proben eines Messzeitpunktes wurden mittels steriler 20 ml-Einmalspritze entnommen und für die bakteriologische Untersuchung in sterile 13 ml-Probenröhrchen sowie für die Gesamtkeimzahlbestimmung in sterile 50 ml-Probenröhrchen überführt.

Während der gesamten Untersuchung wurden alle gezogenen Proben lichtgeschützt bei 4 °C im Kühlschrank gelagert. Der Probentransport in die jeweiligen Labore erfolgte in einer aktiv gekühlten und thermoisolierten Transportbox, sodass die Kühlkette bis zuletzt nicht unterbrochen wurde. Die sich daran anschließenden bakteriologisch-analytischen Untersuchungen werden im nachfolgenden Abschnitt dieses Kapitels vorgestellt.

3.4 Bakteriologisch-analytische Untersuchungen

Alle Sperrmilchproben wurden zunächst einer Gesamtkeimzahluntersuchung unterzogen. Im weiteren Vorgehen und in Anlehnung an die bakteriologischen Befunde der Voruntersuchung wurde im Mastitislabor auf die bakteriellen Erreger *S. aureus*, *Strep. agal.*, *Strep. dysgal.*, *Strep. uberis*, KNS, Enterokokken, Coliforme und *P. aeruginosa* getestet und deren Häufigkeit in der Probe quantifiziert.

3.4.1 Bestimmung der Gesamtkeimzahl

Die Bestimmung der Gesamtkeimzahl in den Sperrmilchproben aller Messzeitpunkte erfolgte durch das Milchlabor des Landeskontrollverbandes Berlin-Brandenburg. Die dort angewandte Untersuchungsmethode „BactoScan-FC“ basiert auf dem Verfahren der Durchflusszytometrie (LKV-NRW, 2015). Im BactoScan-FC-Verfahren wird die Milchprobe zunächst homogenisiert und die nun einzeln vorliegenden Bakterien entsprechend ihrer spezifischen DNS mit der fluoreszierenden Farbreagenz Ethidiumbromid angefärbt (ebd.). Mit einem Laser bestrahlt, werden die von den Bakterien reflektierten Lichtimpulse gezählt und in die Maßeinheit Partikel/ml umgerechnet. Das Ergebnis wurde anschließend, anhand einer Tabelle, in die üblich angegebene Maßeinheit KbE/ml überführt werden (ebd.).

3.4.2 Bakteriologische Laboranalyseverfahren

Die nachfolgenden Darstellungen zu den durchgeführten bakteriologischen Untersuchungen basieren auf den Standarduntersuchungsverfahren in der Milchprüfung und wurden, gemäß der geltenden Standardarbeitsanweisungen für die jeweiligen Analyseverfahren, von dem Mastitislabor „bovicare GmbH“ durchgeführt.

Zunächst wurde jede Sperrmilchprobe auf einer zimmerwarmen Blut-Äskulin-Agarplatte ausgestrichen und anschließend für 24 h bei einer Temperatur von 37 °C im Brutschrank inkubiert. Nach dem Bebrüten wurden die gewachsenen Kolonien gemäß ihrer Kolonie-Morphologie beurteilt und nach Form, Farbe, Oberfläche, Hämolyseverhalten sowie nach Geruch und Konsistenz beschrieben. Anhand dieser Merkmale erfolgte die Zuordnung zu der entsprechenden Bakterienfamilie. Durch weitere Differenzierungs- und Identifizierungstests, wie sie in Tabelle 6 dargestellt sind, erfolgte die einwandfreie Bestimmung des pathogenen Bakteriums und auch sonstiger nicht-pathogener Keime.

Tabelle 6 - Angewandte bakteriologische Differenzierungs- und Identifizierungstests

Bakterienfamilie	Spezies	Differenzierungstests	Identifizierungstests
Streptokokken		Katalase-Test: negativ Gram-Färbung: positiv	Latex-Agglutinationstest positiv bei:
	Strep. agal.	CAMP-Test: positiv	Serovar B
	Strep. dysgal.	CAMP-Test: negativ	Serovar C
	Strep. uberis	CAMP-Test: positiv	Serovar E
Enterokokken		CAMP-Test: negativ NaCl-Bouillon: positiv	Latex-Agglutinationstest positiv bei: Serovar D
Staphylokokken		Katalase-Test: positiv Gram-Färbung: positiv	
	KNS S. aureus		BD BBL-Plasma-Koagulase-Test: negativ BD BBL-Plasma-Koagulase-Test: positiv
Enterobakterien	Coliforme	Gram-Färbung: negativ Oxidase-Test: negativ	
Pseudomonaden		Gram-Färbung: negativ	McConkey-Agar Nr. 3 (48h)
	P. aeruginosa	Oxidase-Test: positiv	Bactident [®] -Oxidase

Durch Auszählen der wachsenden Kolonien auf der Agarplatte wurde der Kontaminationsgrad jeder Sperrmilchprobe ermittelt. Bei besonders starker Kontamination erfolgte die exaktere Bestimmung der jeweils ursprünglichen Keimbelastung mit Hilfe einer vierstufigen Verdünnungsreihe in den Verhältnissen von 1:1 bis 1:1000. Anhand der, auf der Agarplatte wachsenden, Koloniezahlen wurde, je nach Verdünnungsstufe, die entsprechende Ausgangskontamination rechnerisch bestimmt. Die untere Nachweisgrenze dieses Verfahrens liegt bei $< 10^0$ KbE/ml.

3.5 Weitere Messgeräte zur Erfassung des Ressourcenverbrauchs

Um entsprechende Verbräuche der betriebsrelevanten Ressourcen Strom, Wasser und Zeit pro Pasteurisationsdurchgang pasteurisspezifisch bestimmen zu können, kamen weitere Messgeräte zum Einsatz.

Zur Erfassung des pasteurspezifischen Stromverbrauchs wurde ein starkstromgeeigneter Baustromverteiler mit Zwischenzähler durch einen Elektriker bereitgestellt und fachmännisch installiert. Auf einem Display am Stromverteiler konnte der Stromverbrauch des aktiven Pasteurs sowohl vor, während als auch nach der Pasteurisation abgelesen werden.

Der pasteurspezifische Frischwasserbedarf wurde mit Hilfe eines digitalen Wassermengenzählers und ebenfalls pro Pasteurisationsdurchgang erfasst. Entsprechende Verbräuche wurden, auf den Zentiliter genau, auf einem Display ausgegeben.

Für die Erfassung der benötigten Dauer eines Pasteurisationsdurchgangs wurde eine handelsübliche Armbanduhr mit Stoppuhr-Funktion verwendet. Gemessen wurde die Zeit ab Knopfdruck Programm-Start bis zum selbstständigen Abschalten nach Programm-Ende. Nicht berücksichtigt wurden die jeweiligen Zeiten für das Befüllen und vollständige Entleeren des Tanks sowie sich daran anschließende Reinigungsarbeiten/-programme oder Desinfektionsmaßnahmen.

3.6 Statistische und betriebswirtschaftliche Analysen

Aufgrund des geringen Stichprobenumfangs sind die Grundvoraussetzungen für eine inferenzstatistische Auswertung der nonparametrischen Daten nicht gegeben. Zusätzlich werden grundlegende Bedingungen für das Rechnen eines t -Tests bei unabhängigen Stichproben, wie sie laut Eid et al. (2010) notwendig sind um zu überprüfen, ob sich die Mittelwerte zweier Stichproben signifikant voneinander unterscheiden, nicht erfüllt. Dazu zählen unter anderen, dass das zu untersuchende Merkmal in beiden Teilpopulationen normalverteilt sein muss und die Stichprobengröße $n_i > 30$ beträgt (ebd.). Beide Bedingungen können durch die vorliegenden Daten nicht erfüllt werden. Daher werden nachfolgende Ergebnisse als deskriptive Analysen berichtet.

Die Auswertung der Daten zur Gesamtkeimzahluntersuchung sowie zur Keimreduktion erfolgte, entsprechend der ausgegebenen Werte vom LKV-BB und des Mastitislabors, anhand absoluter Zahlen sowie in Prozent. Eine weitere Form der Darstellung, insbesondere bei großen Zahlen, war die logarithmische Angabe als log-Reduktion, wobei 1 log-Reduktion der Reduktion um 90 % entspricht. Diese berechnet sich aus $\log_{10}(\text{KbE/ml Präpasteurisation}) - \log_{10}(\text{KbE/ml Postpasteurisation})$. Die Ergebnisdarstellung in log-Reduktion eignet sich jedoch weniger gut für den Vergleich von Proben, die sich in ihrer bakteriellen Ausgangskeimbelastung stark voneinander unter-

scheiden. Eine Angabe in Prozentuale-log-Reduktion erschien daher zweckmäßiger, um Vergleiche über alle Proben hinweg und unabhängig von der bakteriellen Ausgangsbelastung anstellen zu können. Die Prozentuale-log-Reduktion berechnet sich aus $100 \times [\log_{10} (\text{KbE/ml Präpasteurisation}) - \log_{10} (\text{KbE/ml Postpasteurisation})] / \log_{10} (\text{KbE/ml Präpasteurisation})$.

Die Berechnung der Wasserkosten erfolgte, beispielhaft für den Testbetrieb, anhand ortsüblicher Preise für die Stadt Brandenburg an der Havel. Die jeweiligen Sätze sind der Gebührenordnung zu Trinkwasserpreisen entnommen (BRAWAG, 2015a). Vom Stadtwasserwerk bereitgestelltes Frischwasser kostete zum Zeitpunkt der Untersuchung $1,50 \text{ €/m}^3$. Die Kosten für die Entsorgung des Abwassers beliefen sich in der vorliegenden Berechnung auf $3,20 \text{ €/m}^3$ (BRAWAG, 2015b). Daraus ergaben sich für den Betrieb Gesamtkosten von $4,70 \text{ €/m}^3$ verbrauchten Wassers.

Zur Berechnung der anfallenden Stromkosten wurde der betriebspezifische Strompreis von 15 ct/kWh mit den jeweiligen Verbräuchen der Pasteure pro Durchgang multipliziert. Der monatliche Grundpreis des Anbieters wurde nicht berücksichtigt.

4. Ergebnisse

Ein erster Vergleichsschwerpunkt dieser Untersuchung lag in der Effektivitätsanalyse der unterschiedlichen Pasteurisationsverfahren hinsichtlich der Keimreduktion. Weiterhin wurden die Ergebnisse zu den gerätespezifischen Strom-, Wasser und Zeitverbräuchen vergleichend gegenübergestellt. Die daraus resultierenden Kosten pro Durchgang, Tag und Jahr können dem letzten Abschnitt dieses Kapitels entnommen werden.

4.1 Verfahrensspezifische Ergebnisse zur Gesamtkeimbelastung

Die Gesamtkeimbelastung aller Sperrmilchproben wurde sowohl vor (Präpasteurisation) als auch nach (Postpasteurisation) dem Pasteurisieren bestimmt, um anhand der jeweiligen Differenz Aussagen zur Effektivität eines Pasteurisationsverfahrens treffen zu können. Die vorliegenden Ergebnisse, wie sie in Tabelle 7 dargestellt sind, erlauben jedoch keine Rückschlüsse auf die potentielle Pathogenität der Sperrmilchproben, da die vorherrschenden Keime im angewandten BactoScan-FC-Verfahren nicht näher qualifiziert wurden.

Tabelle 7 - Verfahrensspezifische Reduzierung der Gesamtkeimzahlen

LTLT-Verfahren ¹					HTST-Verfahren ²				
$t_{\text{Sperrmilch}}$	Präpasteurisation	Postpasteurisation	$\Delta_{\text{Keimgehalt}}$		$t_{\text{Sperrmilch}}$	Präpasteurisation	Postpasteurisation	$\Delta_{\text{Keimgehalt}}$	
T	°C	KbE/ml	KbE/ml	%	T	°C	KbE/ml	KbE/ml	%
1	33	$1,7 \times 10^4$	$1,0 \times 10^5$	+488,2	2	22	$8,0 \times 10^3$	$6,0 \times 10^3$	-25,0
6	22	$3,2 \times 10^4$	$4,2 \times 10^4$	+31,3	3	22	$2,4 \times 10^4$	$5,0 \times 10^3$	-79,2
					4	33	$2,0 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$	-25,0
					5	33	$1,4 \times 10^5$	$1,1 \times 10^5$	-21,4

Anmerkungen: $t_{\text{Sperrmilch}}$ = Ausgangstemperatur der Sperrmilch vor der Pasteurisation; T = Durchgang; ¹ Erwärmung der Milch auf 63 °C, Heißhaltezeit: 30 min; ² Erwärmung der Milch auf 73 °C, Heißhaltezeit von 24 - 26 s

In den Durchgängen mit angewandtem LTLT-Verfahren (siehe Tabelle 7, linke Spalte) waren mitunter deutliche Anstiege der Gesamtkeimzahlen nach der Pasteurisation zu verzeichnen. Die Gesamtkeimbelastung der initial wärmeren Sperrmilch aus T1 hat sich während des Pasteurisationsprozesses nahezu verfünffacht. In der 11 K kälteren Sperrmilch aus T6 war der Anstieg, trotz nahezu doppelter Ausgangskeimbelastung, sichtbar geringer.

Nach angewandtem HTST-Verfahren (siehe Tabelle 7, rechte Spalte) waren in allen Durchgängen, unabhängig von der Ausgangstemperatur der Sperrmilch, Reduzierungen der initialen Gesamtkeimzahlen um bis zu ~ 80 % messbar. Je nach Ausgangskeimbelastungen waren diese verschieden stark ausgeprägt. Auffällig war jedoch, dass bei der Probe mit der höchsten Ausgangskeimbelastung im Durchgang T5, die geringste Keimreduktion um 21,4 % erfolgte. Aber auch geringere Ausgangskeimbelastungen in T2 und T4 wurden nur unwesentlich stärker reduziert.

4.2 Verfahrensspezifische Ergebnisse zur Keimreduktion

Anhand der vorliegenden Ergebnisse aus den bakteriologischen Untersuchungen konnte das vorgefundene Keimspektrum der untersuchten Sperrmilchproben identifiziert und weiterhin die Effektivität beider Pasteurisationsverfahren beschrieben werden.

4.2.1 Kuhassozierte Mastitiserreger

In insgesamt vier Sperrmilchproben konnten Präpasteurisation die kuhassozierten Mastitiserreger *S. aureus* sowie die Äskulin-negativen Streptokokken detektiert und quantifiziert werden. Inwiefern diese Pathogene durch die jeweiligen Pasteurisationsverfahren reduziert wurden, kann Tabelle 8 entnommen werden.

Tabelle 8 - Verfahrensspezifische Effektivität in der Eliminierung kuhassoziierter Mastitiserreger

Spezies	LTLT-Verfahren ¹					HTST-Verfahren ²				
	T	$t_{\text{Sperrmilch}}$ °C	Präpasteurisation KbE/ml	Postpasteurisation KbE/ml	$\Delta_{\text{Keimgehalt}}$ %	T	$t_{\text{Sperrmilch}}$ °C	Präpasteurisation KbE/ml	Postpasteurisation KbE/ml	$\Delta_{\text{Keimgehalt}}$ %
<i>S. aureus</i>	6	22	$1,5 \times 10^1$	0	-100	4	33	$2,0 \times 10^0$	0	-100
Äskulin-negative Streptokokken	1	33	$2,0 \times 10^3$	0	-100	4	33	$1,0 \times 10^2$	0	-100
						5	33	$1,5 \times 10^4$	$6,0 \times 10^1$	-99,6

Anmerkungen: $t_{\text{Sperrmilch}}$ = Ausgangstemperatur der Sperrmilch vor der Pasteurisation; T=Durchgang; ¹ Erwärmung von 200 l gesperrter Rohmilch auf 63 °C, Heißhaltezeit: 30 min; ² Erwärmung von 200 l gesperrter Rohmilch auf 73 °C, Heißhaltezeit von 24 - 26 s

In den Durchgängen T4 und T6 konnte *S. aureus* in Sperrmilchproben nachgewiesen werden. Die vergleichsweise niedrigen Ausgangskeimbelastungen konnten, unabhängig von der Ausgangstemperatur der Sperrmilch, sowohl im Kurzzeit- als auch im Langzeit-Pasteurisationsverfahren vollständig reduziert wurden.

Äskulin-negativen Streptokokken wurden in drei Durchgängen identifiziert. Das LTLT-Verfahren konnte die leicht erhöhte Keimbelastung vollständig eliminieren. Auch das HTST-Verfahren eliminierte in zwei Durchgängen niedrige Ausgangskeimbelastungen vollständig und erhöhte Ausgangskeimbelastungen von 10^4 KbE/ml um > 99 % (> 2 log-Stufen bzw. 57 % log-Reduktion), was ebenfalls einer nahezu vollständigen Reduzierung gleichkommt.

4.2.2 Umweltassoziierte Mastitiserreger

Umweltassoziierte Mastitiserreger wurden, wie der Tabelle 9 entnommen werden kann, in Sperrmilchproben aller Durchgänge identifiziert. Zu ihnen gehören die KNS, die Äskulin-positiven Streptokokken, die Coliformen Keime sowie *P. aeruginosa*.

Das LTLT-Verfahren erwirkte in beiden Durchgängen eine jeweils nur unvollständige Eliminierung der KNS, sowohl bei geringen Ausgangskeimbelastungen (27 % log-Reduktion), als auch bei leicht erhöhten Ausgangskeimbelastungen (37 % log-Reduktion). Identifizierte Äskulin-positive Streptokokken aus T1, mit geringen Ausgangskeimbelastung von 50 KbE/ml, konnten durch das LTLT-Pasteurisationsverfahren ebenfalls nicht vollständig (1 log-Reduktion) reduziert werden. Die geringe Ausgangskeimbelastung mit Coliformen Keimen konnte hingegen durch die Wärmebehandlung bei 63 °C umfassend eliminiert werden.

Tabelle 9 - Verfahrensspezifische Effektivität in der Eliminierung umweltassoziierter Mastitiserreger

Spezies	LTLT-Verfahren ¹					HTST-Verfahren ²				
	T	$t_{\text{Sper-}}$	Präpasteu- risation	Postpasteu- risation	$\Delta_{\text{Keim-}}$	T	$t_{\text{Sper-}}$	Präpasteu- risation	Postpasteu- risation	$\Delta_{\text{Keim-}}$
		rmlch					°C			
KNS	1	33	1,5 x 10 ³	1,0 x 10 ²	-93,3	2	22	3,0 x 10 ²	0	-100
	6	22	4,0 x 10 ¹	1,5 x 10 ¹	-62,5	3	22	3,0 x 10 ²	0	-100
						4	33	3,0 x 10 ²	1,0 x 10 ⁰	-99,7
						5	33	2,5 x 10 ⁴	2,0 x 10 ⁰	-99,9
Äskulin- positive Strepto- kokken	1	33	5,0 x 10 ¹	5,0 x 10 ⁰	-90	4	33	7,0 x 10 ¹	0	-100
						5	33	1,0 x 10 ³	0	-100
Colifor- me	6	22	3,0 x 10 ¹	0	-100	2	22	4,0 x 10 ¹	0	-100
						3	22	1,0 x 10 ¹	0	-100
<i>P. aeru- ginosa</i>						5	33	6,0 x 10 ⁰	0	-100

Anmerkungen: $t_{\text{Spermilch}}$ = Ausgangstemperatur der Sperrmilch vor der Pasteurisation; T=Durchgang; ¹ Erwärmung von 200 l gesperrter Rohmilch auf 63 °C, Heißhaltezeit: 30 min; ² Erwärmung von 200 l gesperrter Rohmilch auf 73 °C, Heißhaltezeit von 24 - 26 s

Durch das HTST-Pasteurisationsverfahren konnten hingegen in allen Durchgängen sowohl niedrige KNS-Ausgangskeimbelastungen vollständig eliminiert als auch bei erhöhten Ausgangskeimbelastungen von 10⁴ KbE/ml, eine nahezu vollständig Beseitigung (> 2 log-Reduktion) der KNS erzielt werden. Niedrige und leicht erhöhte Ausgangskeimbelastungen mit Äskulin-positiven Streptokokken, Coliformen Keimen sowie mit *P. aeruginosa* konnten durch das HTST-Pasteurisationsverfahren vollständig abgetötet werden.

4.2.4 Sonstige nicht-pathogene Keime

In allen Durchgängen dieser Untersuchung wurden weiterhin auch die nicht-pathogenen Keime quantitativ erfasst und in Tabelle 10 abgebildet. Sie sind für das Mastitisgeschehen irrelevant, jedoch ein weiterer Indikator für die Effektivität der jeweiligen Pasteurisationsverfahren, da eine hoch qualitative Sperrmilch idealerweise keimfrei ist.

Das Langzeit-Pasteurisationsverfahren konnte in beiden Durchgängen trotz niedriger Ausgangskeimbelastungen keine umfassende Keimeliminierung der nicht-pathogenen Keime realisieren. In der initial wärmeren Sperrmilch erzielte das LTLT-Verfahren lediglich eine Halbierung der Ausgangskeimzahl, während bei der 11 K kälteren Milch sogar von mehr als einer Verdoppelung (233 %) der Ausgangskeimbelastung nach erfolgter Pasteurisation berichtet werden kann.

Tabelle 10 - Verfahrensspezifische Effektivität in der Eliminierung sonstiger nicht-pathogener Keime

Spezies	LTLT-Verfahren ¹					HTST-Verfahren ²				
	T	$t_{\text{Sperrmilch}}$	Präpasteurisation	Postpasteurisation	$\Delta_{\text{Keimgehalt}}$	T	$t_{\text{Sperrmilch}}$	Präpasteurisation	Postpasteurisation	$\Delta_{\text{Keimgehalt}}$
		°C	KbE/ml	KbE/ml	%		°C	KbE/ml	KbE/ml	%
Sonst. nicht-pathogene Keime	1	33	$2,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$	-50,0	2	22	$3,0 \times 10^2$	0	-100
	6	22	$3,0 \times 10^1$	$1,0 \times 10^2$	233,3	3	22	$5,0 \times 10^0$	0	-100
						4	33	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^0$	-99,9
						5	33	$1,5 \times 10^3$	0	-100

Anmerkungen: : $t_{\text{Sperrmilch}}$ = Ausgangstemperatur der Sperrmilch vor der Pasteurisation; T=Durchgang; ¹ Erwärmung von 200 l gesperrter Rohmilch auf 63 °C, Heißhaltezeit: 30 min; ² Erwärmung von 200 l gesperrter Rohmilch auf 73 °C, Heißhaltezeit von 24 - 26 s

Im HTST-Verfahren wurden hingegen auch die nicht-pathogenen Keime umfassend eliminiert. Unterschiedlich hohe Ausgangsbelastungen von 5 KbE/ml - $1,5 \times 10^3$ KbE/ml wurden bei 73 °C und unabhängig von der Ausgangstemperatur der Sperrmilch vollständig bzw. um 99,9 % (3 log-Reduktion) abgetötet.

4.3 Verfahrensspezifische Ressourcenverbräuche

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurden die betriebsrelevanten Verbräuche der Ressourcen Strom, Wasser und Zeit (Dauer) beider Verfahren pro Pasteurisationsdurchgang gemessen.

4.3.1 Verfahrensspezifische Stromverbräuche

In allen Durchgängen der vorliegenden Untersuchung wurden die verfahrensspezifischen Stromverbräuche beider Pasteurisationsverfahren gemessen. Die jeweiligen Strombedarfe pro Durchgang (200 l) sowie der Tages-Stromverbrauch (400 l) des Testbetriebes sind in Tabelle 11 aufgeführt.

Tabelle 11 - Verfahrensspezifische Stromverbräuche pro Durchgang und Tag

		LTLT-Verfahren ¹		HTST-Verfahren ²		Differenz	
		$t_{\text{Sperrmilch}}$	200 l*	400 l**	200 l*	400 l**	%
			°C				
Stromverbrauch	kWh	22 °C	10,4	20,8	7,3	14,6	29,81
		33 °C	8,7	17,4	7,1	14,2	18,39

Anmerkungen: $t_{\text{Sperrmilch}}$ = Ausgangstemperatur der Sperrmilch vor der Pasteurisation; ¹ Erwärmung der Milch auf 63 °C, Heißhaltezeit: 30 min; ² Erwärmung der Milch auf 73 °C, Heißhaltezeit von 24 - 26 s; * verwendete Gesamtmenge pro Durchgang; ** Tagesverbrauch bei zwei Durchgängen pro Tag

In Abhängigkeit von der Ausgangstemperatur der Sperrmilch wurden im LTLT-Verfahren unterschiedliche Stromverbräuche pro Durchgang gemessen. Bei einer wärmeren Ausgangstemperatur der Sperrmilch von 33 °C benötigte der LTLT-Pasteur zum

Erhitzen und Heißhalten in der vorliegenden Untersuchung 8,7 kWh. Für die 11 Kältere Milch hingegen stieg der Stromverbrauch um ~ 20 % auf 10,4 kWh.

Der HTST-Pasteur benötigte bei 22 °C warmer Sperrmilch insgesamt 7,3 kWh und somit ~ 30 % weniger Strom als der LTLT-Pasteur. Bei 33 °C warmer Sperrmilch verbrauchte der HTST-Pasteur ~ 18 % weniger Strom als der LTLT-Pasteur.

4.3.2 Verfahrensspezifische Wasserverbräuche

Im Wasserverbrauch enthalten ist die notwendige Menge an Frischwasser, die beide Pasteure ab Programmstart bis Programmende für die Pasteurisation benötigen. Die gemessenen, verfahrensspezifischen Frischwasserverbräuche sind in Tabelle 12 ausgewiesen.

Tabelle 12 - Verfahrensspezifische Wasserverbräuche pro Durchgang und Tag

	$t_{\text{Sperrmilch}}$	LTLT-Verfahren ¹		HTST-Verfahren ²		Differenz
		200 l*	400 l**	200 l*	400 l**	%
Wasserverbrauch	22 °C	325	650	68	136	-79,07
	33 °C	324	648	62	124	-80,86

Anmerkungen: $t_{\text{Sperrmilch}}$ = Ausgangstemperatur der Sperrmilch vor der Pasteurisation; ¹ Erwärmung der Milch auf 63 °C, Heißhaltezeit: 30 min; ² Erwärmung der Milch auf 73 °C, Heißhaltezeit von 24 - 26 s; * verwendete Gesamtmenge pro Durchgang; ** Tagesverbrauch bei zwei Durchgängen pro Tag; Wassertemperatur 12 °C

Unabhängig von der Ausgangstemperatur der Milch benötigte der LTLT-Pasteur ~ 325 l Frischwasser pro Durchgang und ~ 650 l Frischwasser pro Tag. Im HTST-Verfahren variierte der Frischwasserverbrauch in Abhängigkeit von der Ausgangstemperatur der Sperrmilch und belief sich auf 62 - 68 l pro Durchgang und somit 124 - 136 l Frischwasser pro Tag. Im direkten Vergleich beider Verfahren wurde deutlich, dass der Verbrauch des HTST-Pasteurs an Frischwasser ~ 80 % geringer war, als der des LTLT-Pasteurs.

4.3.3 Verfahrensspezifische Zeitbedarfe

Der Zeitbedarf beschreibt die Dauer eines Pasteurisationsdurchgangs vom Programmstart bis Programmende. Reinigungs- sowie Befüllungs- oder Entleerungszeiten sind exklusive und müssen zu den jeweiligen, in Tabelle 13 aufgeführten, verfahrensspezifischen Zeitbedarfen hinzugerechnet werden.

Tabelle 13 - Verfahrensspezifische Zeitbedarfe pro Durchgang und Tag

		$t_{\text{Sperrmilch}}$	LTLT-Verfahren ¹		HTST-Verfahren ²		Differenz
			200 l*	400 l**	200 l*	400 l**	%
			Zeitbedarf	h	22 °C	3,08	6,16
		33 °C	2,5	5,00	1,33	2,66	-46,80

Anmerkungen: $t_{\text{Sperrmilch}}$ = Ausgangstemperatur der Sperrmilch vor der Pasteurisation; ¹ Erwärmung der Milch auf 63 °C, Heißhaltezeit: 30 min; ² Erwärmung der Milch auf 73 °C, Heißhaltezeit von 24 - 26 s; * verwendete Gesamtmenge pro Durchgang; ** Tagesverbrauch bei zwei Durchgängen pro Tag

Der Zeitbedarf beider Pasteurisationsverfahren variierte in Abhängigkeit von der Ausgangstemperatur der Sperrmilch. Für die Pasteurisation 33 °C warmer Milch benötigte der LTLT-Pasteur 2,5 h und bei 11 K kälterer Milch stieg die Dauer um 35 min. Weniger stark unterschied sich der temperaturabhängige Zeitbedarf beim HTST-Pasteur. Dieser pasteurisierte 200 l Milch in 1,33 h bei 33 °C und benötigte etwa 8 min länger bei 11 K kälterer Milch. Daraus ergibt sich bei gleichem Pasteurisationsvolumen ein Zeit-Mehrbedarf des LTLT-Pasteurs von ~ 50 % gegenüber dem HTST-Pasteur.

4.4 Verfahrensspezifische Kosten für Strom und Wasser

Aus den zuvor beschriebenen Ergebnissen zu den verfahrensspezifischen Strom- und Frischwasserverbräuchen resultierend, werden im folgenden Verlauf die daraus entstandenen Kosten für den Testbetrieb berichtet. Diese ergaben sich aus den jeweiligen Verbräuchen sowie den dazugehörigen Tarifen, die der Betrieb an die entsprechenden Versorgerbetriebe abzuführen hat und können Tabelle 14 entnommen werden.

Tabelle 14 - Betriebs- und verfahrensspezifische Strom-, Wasser- und Gesamtkosten für die Pasteurisation von Sperrmilch pro Durchgang, Tag und Jahr

	$t_{\text{Sperrmilch}}$	LTLT-Verfahren	HTST-Verfahren	Differenz
Stromkosten ¹ pro Durchgang (200 l)	22 °C	1,56 €	1,10 €	0,46 €
	33 °C	1,31 €	1,07 €	0,24 €
Wasserkosten ² pro Durchgang (200 l)	22 °C	1,53 €	0,32 €	1,21 €
	33 °C	1,52 €	0,29 €	1,23 €
Gesamtkosten pro Durchgang (200 l)	22 °C	3,09 €	1,42 €	1,67 €
	33 °C	2,83 €	1,36 €	1,47 €
Gesamtkosten pro Tag ³	22 °C	6,18 €	2,84 €	3,34 €
	33 °C	5,66 €	2,72 €	2,94 €
Gesamtkosten pro Jahr ⁴	22 °C	2255,70 €	1036,60 €	1219,10 €
	33 °C	2065,90 €	992,80 €	1073,10 €

Anmerkungen: $t_{\text{Sperrmilch}}$ = Ausgangstemperatur der Sperrmilch vor der Pasteurisation; ¹ betriebsgebundener Stromtarif von 15 ct/kWh; ² regionaltypischer Trinkwasserpreis von 1,50 €/m³ zzgl. Abwasser-Entsorgungskosten von 3,20 €/m³; ³ berechnet sich aus zwei Pasteurisationsdurchläufen mit jeweils 200 l Sperrmilch; ⁴ zwei Durchläufe pro Tag an 365 Tagen

Beim LTLT-Pasteurisationsverfahren entstanden, in Abhängigkeit der Milchausgangstemperatur, Gesamtkosten von 2,83 - 3,09 € pro Durchgang. Wohingegen beim HTST-Pasteurisationsverfahren lediglich Gesamtkosten von 1,36 - 1,42 € pro Durchgang angefallen sind. Daraus resultiert eine Differenz zum LTLT-Pasteurisationsverfahren von 1,47 - 1,67 € pro Durchgang, sodass der HTST-Pasteur etwa 1073,10 - 1219,10 € pro Betriebsjahr einspart bzw. etwa 53 % weniger Kosten verursacht, als der LTLT-Pasteur.

5. Diskussion

Die gewonnenen Ergebnisse ermöglichten es, Aussagen hinsichtlich der Effektivität und Effizienz beider Pasteurisationsverfahren im Praxisbetrieb zu treffen. Sowohl in der Reduzierung der Gesamtkeimzahlen, der mastitisassoziierten bakteriellen Keime als auch im Ressourcenverbrauch war der HTST-Pasteur effektiver und effizienter als der LTLT-Pasteur. Dennoch lassen der geringe Stichprobenumfang sowie fehlende Kontrollgruppen weder eine statistische Absicherung, noch eine Allgemeingültigkeit und somit Übertragbarkeit auf andere Betriebe, zu.

5.1 Gesamtkeimbelastung und verfahrensspezifische Keimreduktion

Wie bereits eingangs erwähnt, existieren in der Literatur bisher keine übereinstimmenden, einheitlichen Referenzwerte für Gesamtkeimzahlen in gesperrter Rohmilch. Je nach Quelle variieren die angegebenen Werte zwischen $6,0 \times 10^3$ - $7,2 \times 10^6$ Kbe/ml (DIERSING-ESPENHORST, 2011 zit. nach HEINRICHS, J. [o. Jahr]). Die Verordnung zu spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs (MILCHVERORDNUNG, 2004) beziffert den durchschnittlichen bzw. anzustrebenden Gesamtkeimgehalt für verkehrsfähige Rohmilch mit einem Wert $\leq 10^5$ Kbe/ml. GODDEN et al. (2005) empfehlen für die Vertränkung an Kälber Gesamtkeimzahlen in der Rohmilch von < 20000 Kbe/ml. Unter diesen Gesichtspunkten waren die meisten Milchproben dieser Untersuchung nur moderat mit Keimen belastet. An dieser Stelle wird vermutet, dass die insgesamt geringen Gesamtkeimzahlen aus dem gleichzeitigen Melken mastitiskrankter und frischlaktierender Kühe resultieren, wodurch die Konzentration der einzelnen Erreger in der Gruppensammelmilchprobe stark abnahm. Lediglich im Durchgang T5 konnte eine überdurchschnittlich hohe Ausgangskeimbelastung der Sperrmilch gemessen werden. Diese resultierte vermutlich aus der sich täglich verändernden Tiergruppenkonstellation. Ausführungen von KRÖMKER (2007) stützen diesen

Verdacht und resümieren, dass in Gruppen mit einzelnen akuten Mastitiden der Keimgehalt der Sammelmilchproben stark variieren kann.

Insgesamt bleibt festzuhalten, dass in beiden Durchgängen mit durchgeführter LTLT-Pasteurisation die Gesamtkeimzahl nach der Pasteurisation angestiegen ist. Der enorme Zuwachs um fast 500 % (T1) kann nicht zuverlässig erklärt werden. Eine Verfünffachung der initialen Gesamtkeimzahl kann jedoch nicht mit der verfahrensbedingten, längeren Erwärmungszeit der Milch im LTLT-Verfahren begründet werden. Selbst schnellwachsende Keime wie die Coliformen, die in diesem Durchgang jedoch nicht detektiert wurden, beanspruchen unter optimalen Bedingungen noch Generationszeiten von 15 - 20 min (ZANGERL, 2007). Derartige Standzeiten der Milch waren in der gesamten Untersuchung nicht gegeben. Eine mögliche Erklärung für diese Erscheinung wäre, dass die Sperrmilchproben aus T1 für 2,5 d im Kühlschrank lagerten und psychotrophe Keime für diesen Anstieg verantwortlich waren. ZANGERL (2007) berichtete im Zusammenhang mit psychotropen Keimen von Generationszeiten zwischen 3 - 4 h bei Temperaturen $< 10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Da diese Keime i.d.R. jedoch zuverlässig ab $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgetötet werden (ELIZONDO-SALAZAR et al., 2010; GILMOUR & ROWE, 1990; JORGENSEN et al., 2006; ZANGERL, 2007), kann eine derartig hohe Keimbelastung nach LTLT-Pasteurisation sehr wahrscheinlich nicht durch psychotrophe Keime erklärt werden. Plausibler erscheint hingegen die Theorie einer nachträglichen Rekontamination der Milch nach Öffnung des Pasteurs zur manuellen Ansäuerung sowie zur Probenahme. Sowohl GODDEN (2007) als auch PARTRIDGE (2009) unterstellen der Milch ein hohes Rekontaminationspotential durch Staub, Aerosole und sonstige Umweltkeime aufgrund geöffneter LTLT-Pasteure. ELIZONDO-SALAZAR et al. (2010) berichten aus eigenen Versuchen mit pasteurisierter Milch, am Beispiel nicht abgedeckter Tränkeeimer, sogar von einer kurzfristigen Versechsfachung der Gesamtkeimzahl durch Rekontamination. Unter diesen Gesichtspunkten ist eine Rekontamination in T1, trotz größter Sorgfalt im Probennahmeverfahren, sehr wahrscheinlich, da nicht zuletzt im Milchhaus des Testbetriebes permanenter Vogel- und Insektenflug sowie eine hohe Staubbelastung zu beobachten waren.

Der moderatere Anstieg der Gesamtkeimzahl (Postpasteurisation) um 31,3 % aus T6 konnte hingegen nicht mit der Anwesenheit psychotropher Keime bzw. langen Kühlzeiten begründet werden, da die dazugehörigen Proben bereits kurze Zeit nach der Probenahme im Labor untersucht wurden. Eine mögliche Erklärung für diesen Anstieg liefert

die potentielle Anwesenheit thermoresistenter Mikroorganismen, wie sie von NAGL & ZIEGELWANGER (o. Jahr) und COGAN & ACCOLAS (1990) berichtet wurden. Thermoresistente Keime können höhere Temperaturen problemlos überleben und weiter wachsen. Ihr Vorhandensein in den Milchproben der vorliegenden Untersuchung wurde jedoch nicht explizit untersucht.

Grundsätzlich war in den Durchgängen zum HTST-Verfahren von einer Reduktion der Gesamtkeimzahl nach Pasteurisation zu berichten. Das unmittelbare und sehr schnelle Erhitzen der Rohmilch durch einströmenden Dampf schien sich positiv auf die Unterdrückung des Keimwachstums auszuwirken. Dennoch, die höchste initiale Gesamtkeimzahl aus T5 wurde nur unerheblich um 21,4 % reduziert. Dieser Umstand erscheint anlässlich ähnlich aufgebauter Untersuchungen von ELIZONDO-SALAZAR et al. (2010) und JORGENSEN et al. (2006) sowie nach Aussagen von ZANGERL (2007) erstaunlich, da derartige Gesamtkeimbelastungen i. d. R. durch Pasteurisation umfassend reduziert werden. GODDEN (2007) bescheinigte den meisten, nicht nur thermoresistenten, Mastitiserregern eine erhöhte Überlebenswahrscheinlichkeit der Pasteurisation erst ab Gesamtkeimzahlen $> 10^6$ KbE/ml. Da die meisten Mastitiserreger jedoch durch das HTST-Verfahren eliminiert wurden ist anzunehmen, dass es sich bei dem Großteil der überlebenden Keime um thermoresistente milchassoziierte Bakterien, wie z.B. *Enterobacter aerogenes*, handelte. Weiterhin konnte auch für das HTST-Verfahren eine Rekontamination nicht per se ausgeschlossen werden, da zum Zwecke der Probennahme (Postpasteurisation) die abgeleitete Milchsammelprobe kurzzeitig nicht abgedeckt werden konnte. Daher kann nur gemutmaßt werden, dass die absolute Reduzierung der Gesamtkeimzahl weitaus umfassender war, diese jedoch im Zuge der Lagerung erneut auf den entsprechenden Wert angestiegen ist.

5.1.1 Kuhassoziierte Mastitiserreger

S. aureus wurde im LTLT-Pasteurisationsverfahren nur mit sehr geringen Ausgangskeimbelastungen von 15 KbE/ml in T6 festgestellt. Diese geringe Konzentration ist kennzeichnend für den progressiven Rückgang der kuhassoziierten Mastitiserreger wie ihn KRÖMKER (2007) und BLOWEY & EDMONDSON (2010) beschrieben haben. Auch ELIZONDO-SALAZAR et al. (2010) konnten *S. aureus* in keiner von 147 Proben mehrerer Betriebe identifizieren. Angesichts der Empfindlichkeit von *S. aureus* gegenüber hohen Temperaturen überraschte deren vollständige Eliminierung nicht und wurde sowohl durch MUIR (1990) vorausgesagt als auch durch JORGENSEN et al. (2005) repliziert.

In Durchgängen mit HTST-Pasteurisationsverfahren wurde *S. aureus* mit einer initialen Keimbelastung von 2 KbE/ml ebenfalls um 100 % reduziert, wobei die Bedeutsamkeit dieses Effekts aufgrund der sehr geringen Ausgangskeimbelastung eingeschränkt ist. Eine vollständige Eliminierung von *S. aureus* durch das HTST-Verfahren, selbst bei höheren Keimbelastungen, kann jedoch aufgrund der Temperatursensitivität von *S. aureus* erwartet werden. Diese Annahme basiert auf Untersuchungsergebnissen von TERPSTRA (2007), wonach selbst sehr hohe Ausgangskeimbelastungen von $2,5 \times 10^7$ KbE/ml im HTST-Verfahren um $> 5 \log_{10}$ KbE/ml reduziert wurden. Und auch JORGENSEN et al. (2006) sprachen und berichteten von einer besonderen Sensitivität *S. aureus* gegenüber On-Farm-Pasteuren und reduzierten Ausgangskeimbelastungen von $> 1,0 \times 10^4$ KbE/ml um $> 99,9$ %.

Das LTLT-Pasteurisationsverfahren konnte die leicht erhöhte Keimbelastung mit den kuhassoziierten Äskulin-negativen Streptokokken um 100 % reduzieren. Dieses Ergebnis war für diese Pasteurisationsverfahren, angesichts der von GILMOUR & ROWE (1990) angegebenen oberen Temperaturgrenze für *Strep. agal.* von 45 °C, zu erwarten und reproduzierte Untersuchungsergebnisse, von JORGENSEN et al. (2006). Ebenso zuverlässig konnte das HTST-Pasteurisationsverfahren Äskulin-negative Streptokokken in zwei Durchgängen um 100 % reduzieren. Lediglich im Durchgang T5 könnte die Restkeimbelastung von 60 KbE/ml das Ergebnis einer ungenügenden Pasteurisation sein. Denn eine nachträgliche Rekontamination der Milch während der Probennahme erscheint als unwahrscheinlich, da Äskulin-negative Streptokokken im Wesentlichen über Schmierinfektionen (BRAMLEY & MCKINNON, 1990; HAHN et al., 2005) oder durch kontaminierte Melkerhände in die Milch gelangen und nur sehr selten über erhöhten Umweltkeimdruck. Insgesamt scheint jedoch das Zurückbleiben von *Strep. agal.* bei höheren Ausgangskeimbelastungen nicht ungewöhnlich zu sein, und wurde bereits von JORGENSEN et al. (2006) berichtet. TERPSTRA (2007) hingegen konnte im HTST-Pasteurisationsverfahren, trotz einer deutlich höheren Ausgangskeimbelastung von $3,8 \times 10^6$ KbE/ml, bereits nach 4 s Behandlungsdauer keine Erreger mehr nachweisen. Somit bleibt in Bezug auf die kuhassoziierten Mastitiserreger festzuhalten, dass beide Pasteurisationsverfahren gut geeignet sind, um sowohl *S. aureus* als auch Äskulin-negative Streptokokken zu eliminieren. Auf ein nachträgliches Öffnen des LTLT-Pasteurs zum Ansäuern der pasteurisierten Milch sollte zugunsten einer sofortigen Vertränkung verzichtet werden, da dieser Vorgang ein zu großes Rekontaminationsrisiko in sich birgt.

5.1.2 Umweltassoziierte Mastitiserreger

Umweltassoziierte Mastitiserreger konnten in der vorliegenden Untersuchung in allen Durchgängen identifiziert werden. Diese Erscheinung validiert ebenfalls die Ausführungen von KRÖMKER (2007) sowie von BLOWEY & EDMONDSON (2010), wonach sich infolge umfangreicherer Vorbeuge- und Hygienemaßnahmen ein Übergewicht der umweltassoziierten Mastitiserreger eingestellt hat.

Angesichts ihrer hohen Temperaturempfindlichkeit ab > 45 °C ist es erstaunlich, dass in beiden Durchgängen des LTLT-Pasteurisationsverfahrens, trotz geringer Ausgangskeimbelastungen, keine vollständige Erregereliminierung stattfand. Auch bei höheren Ausgangskeimbelastungen von $1,5 \times 10^3$ KbE/ml fand lediglich eine 37 % log-Reduktion statt. In Versuchen von ELIZONDO-SALAZAR et al. (2010) blieben in manchen Durchgängen ebenfalls unterschiedlich hohe KNS-Gehalte zurück. Deren Ausgangskeimbelastungen waren jedoch wesentlich höher, im Durchschnitt wurde trotzdem eine 75 % log-Reduktion erreicht (ebd.). Auch JORGENSEN et al. (2006) konnten in ihren Versuchen ähnlich hohe Ausgangskeimbelastungen verschiedener Staphylokokken-Spezies, *S. aureus* ausgenommen, umfangreich reduzieren. Ähnlich wie in der vorliegenden Untersuchung waren auch hier noch zwischen 10^1 - 10^2 KbE/ml nach der Pasteurisation feststellbar. Die Autoren begründen dieses Ergebnis mit einer inadäquaten Temperatur-Zeit-Konstellation der On-Farm-Pasteure, um die Alkaline-Phosphatase der pathogenen Keime hinreichend zu denaturieren (ebd.).

In allen Durchgängen mit HTST-Pasteurisation wurden KNS detektiert und durch den Pasteur um mindestens zwei log-Stufen (99 %) reduziert. Lediglich in zwei Durchgängen wurden nach erfolgter Pasteurisation noch 1 - 2 KbE/ml gezählt. Dieses Ergebnis entspricht dennoch einer 93 % log-Reduktion und liegt deutlich über den durchschnittlichen Pasteurisationsergebnissen von ELIZONDO-SALAZAR et al. (2010) mit einer 75 % log-Reduktion und JORGENSEN et al. (2006) mit einer 57 % log-Reduktion.

Im Vergleich zu von LEIGH (1999) und ELIZONDO-SALAZAR et al. (2010) berichteten Ausgangskeimbelastungen mit den Äskulin-positiven Streptokokken *Strep. uberis* und *Enterococcus* spp. von 10^5 - 10^7 KbE/ml, waren die Ausgangskeimbelastungen in der vorliegenden Untersuchung mit 10^1 - 10^3 KbE/ml verhältnismäßig gering. Obwohl KRÖMKER et al. (2014) von einer vollständigen Inaktivierung bei 60 °C für 30 min berichten, konnte der LTLT-Pasteur Ausgangskeimbelastungen von 50 KbE/ml um nur

eine log-Stufe (90 %) reduzieren. Dieses Ergebnis indiziert zunächst, je nach Zusammensetzung der beteiligten Keime, ein ungenügendes Pasteurisationsvermögen des LTLT-Pasteurs. Denn selbst deutlich höhere Ausgangskeimbelastungen von $1,7 \times 10^5$ KbE/ml wurden in Versuchen von JORGENSEN et al. (2006) um durchschnittlich 96 % reduziert. Die unvollständige Eliminierung in der vorliegenden Untersuchung könnte jedoch auch der Hitzeresistenz einzelner Enterokokken geschuldet sein (vgl. MCAULEY et al. 2012; ZANGERL, 2007), da einige Spezies Temperatureinwirkungen von 65 °C für 30 min problemlos überstehen können. Weiterhin denkbar wäre auch eine nachträgliche Rekontamination der Milch durch fäkal verunreinigte Melkerhände, da im betroffenen Durchgang beobachtet wurde, wie das Melkpersonal nach Öffnung des LTLT-Pasteurs, das hinzugegebene Ansäuerungsmittel per Hand in die pasteurisierte Milch hineintrührte.

Im HTST-Pasteurisationsverfahren konnten in beiden Durchgängen Ausgangskeimbelastungen mit Äskulin-positiven Streptokokken von 70 - 1000 KbE/ml auf 0 KbE/ml reduziert werden, was sowohl den Erwartungen aber auch Ergebnissen von JORGENSEN et al. (2006), GIMENÉZ-PEREIRA (2005) sowie MCAULEY et al. (2012) an die Temperatur-Zeit-Konstellation der HTST-Pasteurisation entsprach.

Das Vorhandensein Coliformer Keime wurde in drei Durchgängen festgestellt. Im Vergleich zu Ausgangskeimbelastungen aus Versuchen von ELIZONDO-SALAZAR et al. (2010) und JORGENSEN et al. (2006) waren die vorliegenden Ausgangskeimbelastungen mit 10 - 40 KbE/ml als sehr gering einzustufen, was wiederum für einen prinzipiell hohen Hygienestandard der Melkgerätschaften sowie für eine gute Reinigungsleistung selbiger spricht. Dass laut ROLLE (2007) Coliforme Keime ab 60 °C und somit durch Pasteurisation (GILMOUR & ROWE, 1990; ZANGERL, 2007) vollständig eliminiert werden, konnte in der vorliegenden Untersuchung sowohl anhand des LTLT-Verfahrens als auch des HTST-Verfahren demonstriert werden. Die erreichte Reduktion der Coliformen Keime auf 0 KbE/ml entspricht den Anforderungen an eine verträglichkeitswürdige Milch von MCGUIRK (2003) und übertraf zum Teil Pasteurisationsergebnisse von ELIZONDO-SALAZAR et al. (2010) und JORGENSEN et al. (2006), in denen jeweils zwischen durchschnittlich 62 - 305 KbE/ml in der pasteurisierten Milch zurückblieben.

P. aeruginosa ist in nur einem Durchgang, mit einer als sehr gering einzustufende Ausgangskeimbelastung von 6 KbE/ml, identifiziert worden (vgl. ZANGERL, 2007), was ebenfalls ein Indikator für ein effizient arbeitendes Reinigungsprogramm der milchfüh-

renden Gerätschaften im Betrieb spricht. Aufgrund ihrer oberen Toleranzgrenze für Temperatur von 41 °C (GILMOUR & ROWE, 1990) war die vollständige Eliminierung durch das HTST-Verfahren im vorliegenden Versuch bereits zu erahnen. Bereits SHARMA et al. (2014) zeigten, dass sogar Ausgangskeimbelastungen von bis zu 10⁸ KBE/ml im Pulsed-Electric-Field-Konservierungsverfahren bei 50 °C um 6 log-Stufen reduziert werden konnten. Diese Ergebnisse legen nahe, dass in pasteurisierter Milch keine *P. aeruginosa*-Rückstände zu erwarten sind. Um dennoch das Wachstumsrisiko potentieller Rückstände einzudämmen, sollte die Milch auf einen pH < 6 angesäuert (vgl. ZANGERL, 2007) und unmittelbar vertränkt werden.

Somit ist in Bezug auf die umweltassoziierten Mastitiserreger festzuhalten, dass die verwendete Temperatur-Zeit-Konstellation des verwendeten LTLT-Pasteurs ungenügend war, um selbst geringere Keimbelastungen an KNS und Äskulin-positiven Streptokokken und vermutlich mancher Enterokokken vollständig zu eliminieren. Lediglich Coliforme Keime konnten in der vorliegenden Untersuchung zuverlässig abgetötet werden. Weiterhin zeichnete sich auch in diesen Versuchen erneut das hohe Rekontaminationspotential des LTLT-Pasteurs nach Deckelöffnung ab. Dem gegenüber scheint die einwirkende Temperatur-Zeit-Konstellation des HTST-Pasteurs hinreichend zu sein, um auch umweltassoziierte Mastitiserreger umfassend abzutöten. Das schnelle Erhitzen, Abkühlen und Ansäuern der Milch in einem geschlossenen System minimiert das Risiko einer nachträglichen Rekontamination im Zuge der Pasteurisation.

5.1.3 Sonstige nicht-pathogene Keime

Abgesehen von bestimmten Bakteriengruppen, wie beispielsweise den Bifidobakterien oder anderen Probiotika, denen u. a. ZANGERL (2007) verschiedene gesundheitsfördernde Wirkungen zuschreibt, zeichnen sich zukaufbare Aufzuchtfuttermittel, neben ihrer individuellen Nährstoffzusammensetzung, insbesondere durch ihre Keimfreiheit aus. Weiterhin wurde die tatsächliche Pathogenität vieler Bakterien noch nicht abschließend geklärt. Dementsprechend ist durch Pasteurisation auch die vollständige Eliminierung sonstiger nicht-pathogener Bakterien anzustreben. Unter diesen Gesichtspunkten erschienen die Keimbelastungen der pasteurisierten Milch nach angewandtem LTLT-Verfahren als relativ hoch. Über den 233 %-igen Anstieg der Ausgangskeimbelastung im Durchgang T6 kann hingegen nur gemutmaßt werden, dass sich anwesende thermo-resistente Bakterien im Zuge des insgesamt knapp dreistündigen Pasteurisationsprogramms entsprechend repliziert haben. Derartige Hitzeresistenzen wurden bereits von

MCAULEY et al. (2012) für einzelne Enterokokken-Stränge beschrieben. In deren Untersuchung berichteten die Autoren allerdings nur von einem eingeschränkten Eliminierungspotential des LTLT-Verfahrens (ebd.) und nicht von einem Anstieg der Ausgangskeimbelastung. Somit liegt auch in diesem Durchgang eine mögliche Erklärung für einen derartigen Anstieg in der Rekontamination der Probe begründet. Da die Probenahme im Durchgang T6 aufgrund technischer Probleme nicht im Milchhaus, sondern in einem Nebenraum des Kälberstalls durchgeführt wurde, ist ein erhöhter Umweltkeimdruck anzunehmen und die potentielle Rekontamination der offenen liegenden Milch umso wahrscheinlicher.

In allen Durchgängen mit HTST-Pasteurisationsverfahren konnten hingegen alle nicht-pathogenen Keime trotz ähnlich hoher bis höherer Ausgangskeimbelastungen auf Werte zwischen $< 1 - 1$ KbE/ml reduziert werden.

In Bezug auf die erste zu beantwortende Frage der Aufgabenstellung, inwiefern bisherige Ergebnisse zur Effektivität des HTST-Pasteurisationsverfahrens durch den MaxiSteam III unter praxisüblichen Bedingungen reproduziert werden konnten ist zu sagen, dass der MaxiSteam III sowohl kuhassoziierte, umweltassoziierte als auch sonstige nicht-pathogene Keime um jeweils mehr als 2-log-Stufen ($> 99\%$) reduzierte. Damit wurden nicht nur bisherige Untersuchungsergebnisse zu verschiedenen On-Farm-Pasteuren repliziert, sondern darüber hinaus auch eine z. T. effektivere Keimreduzierung, durch die Verwendung von Dampf als wärmeübertragendes Medium, erreicht.

Bezüglich der zweiten zu beantwortenden Frage der Aufgabenstellung, wie effektiv, im Vergleich zum LTLT-Pasteurisationsverfahren, der MaxiSteam III Mastitiseime in Sperrmilch reduziert, war festzustellen, dass auch das LTLT-Pasteurisationsverfahren gut geeignet ist, um eine Vielzahl an mastitiserregenden Keimen zu bekämpfen. Dennoch blieben im LTLT-Pasteurisationsverfahren häufiger noch lebende, z. T. hoch pathogene, meist umweltassoziierte Erreger in der pasteurisierten Milch zurück, die u. U. schwere Erkrankungen bei den immunschwachen Kälbern nach deren Vertränkung auslösen können. Der MaxiSteam III konnte hingegen alle Keime umfassend eliminieren.

5.2 Ressourcenverbräuche und Kosten

Beide Pasteurisationsverfahren verfolgen das Ziel, nährstoffreiche Sperrmilch mit hohen, meist pathogenen Ausgangskeimbelastungen für die Vertränkung an Aufzuchtälber aufzubereiten und somit dem Betrieb unnötige Kosten für Austausch-, Ergänzungs-

oder Ersatzfuttermittel zu ersparen. Aus betriebswirtschaftlicher Sicht müssen langfristig jedoch die aus der Pasteurisation der Sperrmilch anfallenden Prozesskosten unter den Anschaffungskosten der o. g. Substituenten liegen. Die nachfolgend dargestellten Unterschiede beider Verfahren dienen weiterhin als Beantwortung der dritten Fragestellung: ob und inwiefern wahrnehmbare Unterschiede im Strom-, Wasser- und Zeitverbrauch und somit in den Kosten pro Durchgang existierten.

Bereits HINRICH (2012) betonte, dass Strom- und Wasserverbräuche in der Landwirtschaft erhebliche Kostenquellen darstellen, die jedoch durch fortschreitende technische Entwicklungen Einsparmöglichkeiten bereithalten. Eine wesentliche Weiterentwicklung zur Einsparung von elektrischer Energie sieht HINRICH (2012) in der Wärmerückgewinnung im kontinuierlichem Durchflusssystem, wie es auch beim MaxiSteam III der Firma Förster-Technik[®] technisch umgesetzt wurde (ebd.). Durch die Wärmerückgewinnung wurde die gleichzeitige Abkühlung der bereits pasteurisierten Milch erwirkt, weshalb der MaxiSteam III deutlich weniger Wasser für das Herabkühlen verwendete als das Milchtaxi. Die Einführung des Gegenstromkühlers sorgte dafür, dass je nach Ausgangstemperatur der Milch und trotz höherer Zieltemperatur, der verwendete HTST-Pasteur MaxiSteam III zwischen 18 - 30 % weniger Strom für die Pasteurisation der gleichen Sperrmilchmenge benötigte als das der verwendete LTLT-Pasteur, was in der Konsequenz geringeren Jahres-Stromkosten von 175 - 336 € entspricht.

Die aufgrund des Gegenstromkühlers reduzierte Menge an Kühlwasser, aber auch die Einführung von Dampf als wärmeübertragendes Medium im MaxiSteam III, konnten den Gesamtwasserverbrauch pro Durchgang, im Vergleich zu herkömmlichen und auch älteren HTST-Pasteuren, um bis zu 87 % reduzieren (vgl. HINRICH, 2012). Im vorliegenden Vergleich zwischen dem LTLT- und HTST-Pasteurisationsverfahren verbrauchte der verwendete LTLT-Pasteur, aufgrund des ständig nachfließenden Frischwassers während der Abkühlphase, pro Durchgang etwa die 5-fache Wassermenge.

In Anbetracht der jeweiligen Strom- und Wasserverbräuche und in Abhängigkeit von der Ausgangstemperatur der Rohmilch lägen die Gesamtkosten, bei Verwendung des LTLT-Pasteurs für die Pasteurisation von Sperrmilch, pro Betriebsjahr zwischen 1073 - 1219 € über den Kosten des MaxiSteam III.

Die Ressource Zeit bzw. Dauer eines Pasteurisationsdurchgangs ist für die Organisation der täglichen Betriebsabläufe von zentraler Bedeutung. Lange Pasteurisationszeiten bedeuten für Tierpfleger häufig lange Wartezeiten und verzögerte Fütterungsphasen. Nicht zuletzt fördern längere Pasteurisationszeiten auch das Wachstum thermoresistenter Keime, wie bereits im Kapitel 5.1 erläutert wurde. Eine kurze Pasteurisationsdauer ist demnach anzustreben. Im vorliegenden Versuch dauerte die Pasteurisation von 200 l Sperrmilch beim HTST-Pasteur nur halb so lange wie beim LTLT-Pasteur (2,5 - 3,1 h). Die vorliegenden Ergebnisse zur Durchsatzleistung entsprachen damit etwa den Ergebnissen von HINRICH (2012). Auf ein Betriebsjahr hochgerechnet und im dem direkten Vergleich beider Geräte ergab sich für den LTLT-Pasteur Milchtaxi, gegenüber dem HTST-Pasteur MaxiSteam III, pro Betriebsjahr ein Mehrbedarf an Zeit von 876 – 1241 h (36,5 - 51,71 d). Dieser Zeitbedarf muss von Betriebsleitern in die entsprechenden Arbeitsabläufe eingeplant werden, weshalb sich die täglichen Arbeitsgänge nicht selten nach dem Pasteur richten.

6. Schlussfolgerungen und Empfehlungen für den Testbetrieb

Abschließend bleibt festzuhalten, dass der Vergleich des LTLT- mit dem HTST-Pasteurisationsverfahren deutliche Unterschiede, sowohl in deren Effektivität in der Keimreduzierung als auch in ihrer Effizienz hinsichtlich des Ressourcenverbrauchs, hervorgebracht hat.

Aus den vorliegenden Ergebnissen zum LTLT-Pasteurisationsverfahren lässt sich schlussfolgern, dass dieses tendenziell einen Anstieg der Gesamtkeimzahl, thermostabiler und auch nicht-pathogener Bakterien fördert, statt zu reduzieren. Da dieser Anstieg jedoch bei niedrigeren Ausgangstemperaturen der Milch bedeutend geringer war, empfiehlt es sich aus mikrobiologischer Sicht mit einem LTLT-Pasteur nur zuvor gekühlte Milch zu pasteurisieren. Der LTLT-Pasteur besitzt ein sehr hohes Rekontaminationspotential, sobald der Deckel im Prozess geöffnet wird. Deshalb sollte dieser bis zur Vertränkung geschlossen bleiben oder nur an stallfernen Orten mit geringem Keimdruck kurzfristig und lediglich einen schmalen Spalt geöffnet werden. Hersteller dieser Pasteure könnten zur Problemlösung einen separaten Zulauf für flüssige Supplemente ins Tankinnere konstruieren. Das Einmischen der Säure in die Milch sollte nicht per Hand oder Rührbesen, sondern ausschließlich im geschlossenen Zustand mit dem eingebauten

Rührwerk passieren. Der LTLT-Pasteur kann bedenkenlos für die umfassende Eliminierung kuhassoziierter Mastitiserreger wie *S. aureus* und den Äskulin-negativen Streptokokken sowie für die umweltassoziierten Coliformen Keime eingesetzt werden. Werden hingegen KNS oder Äskulin-positive Streptokokken als vorherrschende Erreger identifiziert, ist das LTLT-Pasteurisationsverfahren für deren vollständige Abtötung ungeeignet. Dafür müssten entweder höhere Temperaturen oder längere Einwirkzeiten gewählt werden. Einige dazu zählende Enterokokken-Spezies sind Anzeiger für fäkale Verunreinigungen der Milch und somit Anzeichen für eine ungenügende Melkhygiene. Deshalb sollte bereits das Euter vor dem Melken gut gereinigt und abgefallenes Melkzeug intensiv von eventuellen Fäkalienresten befreit werden. Auch Melkerhände sollten dementsprechend penibel und vor direktem Zitzen- und Milchkontakt gereinigt werden.

Entgegen der mikrobiologischen Erkenntnisse lohnt es sich aus betriebswirtschaftlicher Sicht, weniger stark gekühlte Milch unmittelbar nach dem Melken mit dem LTLT-Pasteur zu pasteurisieren, um sowohl Strom für das Herabkühlen als auch für das nachträgliche Wiedererwärmen einzusparen. Aus diesen gegenläufigen Tendenzen muss ein Kompromiss geschlossen werden. Weiterhin sollten Hersteller dieser Systeme versuchen, den Wasserverbrauch drastisch zu reduzieren, da die Ver- und Entsorgung mit Frischwasser für dieses Verfahren den größten Kostenfaktor darstellt. Alternativ können Betriebe auf die Wasserförderung aus einem eigenen Brunnen zurückgreifen. Dies reduziert nicht nur die Kosten für die Ver- und Entsorgung, sondern kühlt die Milch nach der Pasteurisation, aufgrund der meist niedrigeren Wassertemperaturen, schneller ab.

Im HTST-Pasteurisationsverfahren konnte hingegen in allen Durchgängen und unabhängig von der Ausgangstemperatur der Milch eine Reduzierung der Gesamtkeimzahl sowie eine nahezu vollständige Eliminierung auch der nicht-pathogenen Keime herbeigeführt werden. Bei den kuhassozierten Mastitiserregern wurde *S. aureus* vollständig abgetötet. Leicht erhöhte Ausgangskeimbelastungen mit Äskulin-negativen Streptokokken bereiteten dem HTST-Pasteur hingegen Schwierigkeiten. Die umweltassoziierten KNS konnten bei höheren Ausgangskeimbelastungen auch im HTST-Verfahren nicht vollständig abgetötet, allerdings um mehr als 2 log-Stufen reduziert werden. Rekontaminationen können auch für dieses Verfahren nicht per se ausgeschlossen werden, sind aber aufgrund der Abgeschlossenheit des Systems eher unwahrscheinlich. Hier sollte darauf geachtet werden, dass abfließende, milchführende Leitungen keine starken Biegungen aufweisen, in denen sich Spülschatten auf tun, wodurch nachträglich Keime in

die pasteurisierte Milch gelangen können. Da niedrigere Ausgangstemperaturen der Milch den Stromverbrauch des MaxiSteam III nur unerheblich erhöhen, sollte bevorzugt vorgekühlte Sperrmilch aufbereitet werden. Nachträglich sollte diese umgehend vertränkt werden, da sie zu diesem Zeitpunkt am wenigsten keimbelastet ist. Sowohl der geringere Strom-, Wasser- und Zeitbedarf des MaxiSteam III sowie seine kontinuierliche Verfahrensweise qualifizieren ihn für den Einsatz auf größeren Milchviehbetrieben, in denen mehrfach am Tag größere Mengen Sperrmilch aufbereitet werden müssen.

Die vorliegende Untersuchung stellte die unterschiedlichen Vorzüge und Optimierungspotentiale in Hinblick auf die keimreduzierende Effektivität und ökonomische Effizienz der verschiedenen Pasteurisationsverfahren HTST und LTLT anhand eines Praxisbeispiels dar. Aufgrund der geringen Tierzahlen, Durchgänge und Messzeitpunkte können auf Basis der vorliegenden Ergebnisse keine betriebsübergreifenden, generalisierbaren Aussagen getroffen werden. Hierzu sollten in zukünftigen Untersuchungen größere und auch betriebsübergreifende Datenmengen erhoben und ausgewertet werden. Für die exakte Untersuchung der Pasteureffektivität müssen Labormaßstäbe angesetzt werden, wonach alle Milchproben gezielt mit den gleichen Spezies inokuliert und mit nahezu identischen Ausgangskeimbelastungen analysiert werden. Weiterhin sollte ein Hauptaugenmerk zukünftiger Untersuchungen auf Möglichkeiten zur Vermeidung von Rekontaminationen gelegt werden, da Pasteurisation nur dadurch nachhaltig effektiv sein kann. Weiterhin erstrebenswert wäre eine Erweiterung der ökonomischen Analysen, da neben Strom-, Wasser und Zeitverbräuchen auch Anschaffungs- Folge- und Zusatzkosten für die praxisrelevante Bewertung eines On-Farm-Pasteurs maßgeblich sind.

7. Zusammenfassung

In einem Milchviehbetrieb in Brandenburg wird anfallende Sperrmilch aufgrund ihrer hochwertigen Nährstoffzusammensetzung durch On-Farm-Pasteurisation keimreduziert und anschließend an die betriebseigenen Aufzuchtkälber vertränkt. Zu den dort eingesetzten Langzeit- (LTLT) und Kurzzeit-Pasteurisationsverfahren (HTST) an mastitisbedingter Sperrmilch wurde eine mehrtägige, vergleichende Untersuchung durchgeführt. Verglichen wurden sowohl die jeweilige Effektivität der Pasteure hinsichtlich der Keimreduzierung als auch die verfahrensspezifischen Verbräuche, der zum pasteurisieren benötigten Ressourcen Strom, Wasser und Zeit sowie die daraus resultierenden Kosten. In sechs Durchgängen wurden jeweils 200 l Sperrmilch pasteurisiert.

Verwendet wurden der LTLT-Pasteur „Milchtaxi“ der Firma Holm & Laue[®], der Sperrmilch in einem 200 l-Kessel erhitzt sowie der HTST-Pasteur „MaxiSteam III“ der Firma Förster-Technik[®], der Sperrmilch im Durchflussverfahren mit einströmenden Dampf erhitzt. Zur Bestimmung der jeweiligen Pasteur-Effektivität wurden Milchproben vor und nach der Pasteurisation gezogen und im Labor anhand des Koch'schen Plattenverfahrens sowie des BactoScan-FC-Verfahrens analysiert. Die jeweiligen Ressourcenverbräuche wurden mit einem Starkstromzähler, einem Wassermengenzähler und einer Uhr gemessen. Die Ergebnisse bisheriger Forschung konnten in dieser Untersuchung größtenteils bestätigt werden. Der HTST-Pasteur konnte alle untersuchten kuh- und umweltassoziierten Mastitiserreger um mehr als 99 % reduzieren. Auch Gesamtkeimzahlen wurden zuverlässig herabgesetzt. Beim LTLT-Pasteur kam es hingegen zu einer Erhöhung der Gesamtkeimzahl nach der Pasteurisation. Auch einige Mastitiserreger konnten trotz geringer Ausgangskeimbelastung nicht hinreichend eliminiert werden. Weiterhin ist ein erhöhtes Risiko für eine Rekontamination der Milch durch Deckelöffnung für den LTLT-Pasteur zu erwarten.

Der HTST-Pasteur benötigte für die Pasteurisation von 200 l Sperrmilch, im Vergleich zum LTLT-Pasteur, ca. 50 % weniger Zeit, 18 - 30 % weniger Strom und 80 % weniger Frischwasser. Daraus ergeben sich pro Betriebsjahr Mehrkosten für Ressourcen zwischen 1073 - 1219 € und ein Mehrbedarf an Zeit zwischen 876 - 1241 h des LTLT-Pasteurs, im Vergleich zum HTST-Pasteur. Zusammenfassend ist festzuhalten, dass der HTST-Pasteur effektiver in Sperrmilch enthaltene Keime eliminiert und einen geringeren Ressourcenverbrauch aufweist als der LTLT-Pasteur.

8. Literaturverzeichnis

- BARTH, K., KRÖMKER, V., & AULRICH, K. (2011): Einstreumaterialien und-management – ihre Bedeutung für die Entwicklung von Mastitiserregern und das Infektionsgeschehen in der Ökologischen Milchviehhaltung. Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft. Online verfügbar unter: http://orgprints.org/19933/1/19933-08OE196-09OE012-vti-fh_hannover-barth-kroemker-2011-einstreumaterialien_milchvieh.pdf (Zuletzt abgerufen am 5.8.2015).
- BASEGGIO, N., MANSELL, P. D., BROWNING, J. W., & BROWNING, G. F. (1997): Strain differentiation of isolates of streptococci from bovine mastitis by pulsed-field gel electrophoresis. *Molecular and cellular probes* 11, S. 349-354.
- BLOME, R., DRACKLEY, J., MCKEITH, F., HUTJENS, M., & MCCOY, G. (2003): Growth, nutrient utilization, and body composition of dairy calves fed milk replacers containing different amounts of protein. *Journal of animal science* 81, S. 1641-1655.
- BLOSSER, T. H. (1979): Economic losses from and the national research program on mastitis in the United States. *Journal of dairy science* 62, S. 119-127.
- BLOWEY, R. W. & EDMONDSON, P. (2010): *Mastitis control in dairy herds*. Cabi.
- BONE, F. J., BOGIE, D., & MORGAN-JONES, S. C. (1989): Staphylococcal food poisoning from sheep milk cheese. *Epidemiology and infection* 103, S. 449-458.
- BRAMLEY, A. J. & MCKINNON, C.H. (1990): *The Microbiology of Raw Milk*. - In: Robinson, R. K. (Hrsg.): *Dairy Microbiology. The Microbiology of Milk*. 2. Auflage. Elsevier Science Publishers LTD. London, S. 163-208.
- BRAWAG (2015a): *Wasser- und Abwassergesellschaft Brandenburg an der Havel. Trinkwasser – Preise*. Online verfügbar unter: www.brawag.de/Trinkwasser/Preise (Zuletzt abgerufen am 31.7.2015).

- BRAWAG (2015b): Wasser- und Abwassergesellschaft Brandenburg an der Havel. Abwassergebührensatzung 2015. Online verfügbar unter: http://www.stadt-brandenburg.de/fileadmin/pdf/10/Buero_SVV/Satzungen/Abwassergebuehrensatzung_2015.pdf (Zuletzt abgerufen am 31.7.2015).
- CALVINHO, L. F., ALMEIDA, R. A., & OLIVER, S. P. (1998): Potential virulence factors of *Streptococcus dysgalactiae* associated with bovine mastitis. *Veterinary microbiology* 61, S. 93-110.
- CHANDAN, R. (1997): Dairy-based ingredients. Eagan Press.
- COGAN, T., & ACCOLAS J.-P. (1990): Starter Cultures: Types, Metabolism and Bacteriophage. - In: Robinson, R. K. (Hrsg.): Dairy Microbiology. The Microbiology of Milk. 2. Auflage. Elsevier Science Publishers LTD. London, S. 77-114.
- DIERSING-ESPENHORST, M. (2011): Pasteurisierung – Mit Hitze töten. *Dlz agrarmagazin* 3/2011. Online verfügbar unter: <http://extension.psu.edu/animals/dairy/nutrition/calves/colostrum/colostrum-pasteurization> (Zuletzt abgerufen am 3.8.2015).
- DOGAN, B., & BOOR, K. J. (2004): Short communication: growth characteristics of *Streptococcus uberis* in UHT-treated milk. *Journal of dairy science* 87, S. 813-815.
- EID, M., GOLLWITZER, M., & SCHMITT, M. (2010): Statistik und Forschungsmethoden. 2. korrigierte Auflage. Beltz Verlag. Weinheim, Basel.
- ELIZONDO-SALAZAR, J. A., JONES, C. M., & HEINRICHS, A. J. (2010): Evaluation of calf milk pasteurization systems on 6 Pennsylvania dairy farms. *Journal of dairy science* 93, S. 5509-5513.

- ELIZONDO-SALAZAR, J. A., HEINRICH, A. J. & GELSINGER, S. L. (2013): Pasteurization of non-saleable milk. Department of Dairy and Animal Science, The Pennsylvania State University. Online verfügbar unter: http://extension.psu.edu/animals/dairy/nutrition/calves/feeding/das-07-121/extension_publication_file (Zuletzt abgerufen am 1.8.2015).
- FRISTER, G. (2007): Technologische Aspekte der Milchverarbeitung: - In: Krömker, V. (Hrsg.): Kurzes Lehrbuch der Milchkunde und Milchhygiene. 1. Auflage. Parey Verlag. Stuttgart. S. 103-109.
- GARVIE, E. I., FARROW, J. A. E., & BRAMLEY, A. J. (1983): *Streptococcus dysgalactiae* (Diernhofer) nom. rev. International Journal of Systematic Bacteriology 33, S. 404-405.
- GILMOUR A. & ROWE, M. T. (1990): Microorganisms Associated with Milk. - In: Robinson, R. K. (Hrsg.): Dairy Microbiology. The Microbiology of Milk. 2. Auflage. Elsevier Science Publishers LTD. London, S. 37-75.
- GIMÉNEZ-PEREIRA, M. L. (2005): Enterococci in milk products. Yüksek Lisans Tezi, Massey Üniversitesi, Yeni Zelanda. Online verfügbar unter: http://www.alba_ny-recreation.ac.nz/massey/fms/Colleges/College%20of%20Sciences/Epicenter/docs/MirthaGimenezMVSFinal.pdf (Zuletzt abgerufen am 5.8.2015).
- GODDEN, S. M., FETROW, J. P., FEIRTAG, J. M., GREEN, L. R., & WELLS, S. J. (2005): Economic analysis of feeding pasteurized nonsaleable milk versus conventional milk replacer to dairy calves. Journal of the American Veterinary Medical Association 226, S. 1547-1554.
- GODDEN, S. M. (2007): Pasteurizing non-saleable milk and colostrum. WCDS Advances in Dairy Technology 19, S. 267-282.
- HAHN, H., MIKSITS, K., & GATERMANN, S. (2005): Streptokokken. Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, S. 199-219.

- HAHN, H. (2013): Pseudomonas. – In: Hahn, H., Falke, D. & Klein, P. (Hrsg.): Medizinische Mikrobiologie. Springer-Verlag Berlin. S. 169-171.
- HAIDN, B. (2010): Anforderungen von Kälber an das Haltungssystem. Fachtagung Bau und Technik – Gesunde Kälber mit einem passenden System. Köllitsch.
Online verfügbar unter: <http://www.smul.sachsen.de/lfulg/download/Ha.pdf>
(Zuletzt abgerufen am 5.8.2015).
- HEIZMANN, W. R. (1999): Kurzlehrbuch medizinische Mikrobiologie und Immunologie: Zur Vorbereitung auf das 1. Staatsexamen; mit 61 Tabellen. Schattauer Verlag. Stuttgart.
- HINRICH, L. (2012): Untersuchungen zum Einsatz von pasteurisiertem Kolostrum in der Kälberaufzucht. Masterarbeit, Fachbereich Tierhaltungssysteme. Humboldt-Universität zu Berlin.
- JAMALUDDIN, A., HIRD, D., THURMOND, M., & CARPENTER, T. (1996): Effect of pre-weaning feeding of pasteurized and nonpasteurized milk on postweaning weight gain of heifer calves on a Californian dairy. Preventive Veterinary Medicine 28, S. 91-99.
- JAMES, R., & SCOTT, M. (2006): On-farm Pasteurizer Management for Waste Milk Quality Control. - In: Proceedings 10th Calf and Heifer conference. Visalia, USA.
- JÄGER, S. P. (2006). Untersuchungen zur Eutergesundheit in Milchviehbeständen des Bundesstaates Jalisco, Mexiko. Inaugural-Dissertation, Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig.
- JORGENSEN, M. A., HOFFMAN, P., & NYTES, A. (2005): Efficacy of on-farm pasteurized waste milk systems on upper Midwest dairy and custom calf rearing operations. Proc. Managing and Marketing Quality Holstein Steers. Rochester.

- JORGENSEN, M. A., HOFFMAN, P., & NYTES, A. (2006): Case study: A field survey of on-farm milk pasteurization efficacy. *The Professional Animal Scientist* 22, S. 472-476.
- KAYSER, F. H., & BÖTTGER, E. C. (2014): Bakterien als Krankheitserreger. - In: Kayser, F. H., Böttger, E. C., Haller, O., Deplazes, P., & Roers, A. (Hrsg.): Taschenlehrbuch Medizinische Mikrobiologie. Georg Thieme Verlag. Stuttgart.
- KEEFE, G. P. (1997): Streptococcus agalactiae mastitis: a review. *The Canadian Veterinary Journal* 38, S. 429-437.
- KEHOE, S. I., JAYARAO, B. M., & HEINRICHS, A. J. (2007): A survey of bovine colostrum composition and colostrum management practices on Pennsylvania dairy farms. *Journal of dairy science* 90, S. 4108-4116.
- KUDINHA, T., & SIMANGO, C. (2002): Prevalence of coagulase-negative staphylococci in bovine mastitis in Zimbabwe. *Journal of the South African Veterinary Association* 73, S. 62-65.
- KRÖMKER, V. (2007): Euterkrankheiten. – In: Krömker, V. (Hrsg.): Kurzes Lehrbuch Milchkunde und Milchhygiene. 1. Auflage. Parey Verlag. Stuttgart. S. 47-75.
- KRÖMKER, V., REINECKE, F., PADUCH, J. H., & GRABOWSKI, N. (2014): Bovine Streptococcus uberis Intramammary Infections and Mastitis. *Clinical Microbiology: Open Access*. Online verfügbar unter: <http://www.esciencecentral.org/journals/bovine-streptococcus-uberis-intramammary-infections-and-mastitis-2327-5073.1000157.php?aid=27654> (Zuletzt abgerufen am 2.8.2015).
- LEIGH, J. A. (1999): Streptococcus uberis: a permanent barrier to the control of bovine mastitis?. *The veterinary journal* 157, S. 225-238.
- LKV-NRW (2015): BactoScan FC. Online verfügbar unter: <http://www.lkv-nrw.de/fachbereiche/prueflabor0/technische-ausstattung/bactoscan/> (Zuletzt abgerufen am 31.7.2015).

- LUGTENBERG, B. J., DEKKERS, L., & BLOEMBERG, G. V. (2001): Molecular determinants of rhizosphere colonization by *Pseudomonas*. Annual review of phytopathology 39, S 461-490.
- MAYR, A. (2007): Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. Krankenhaus-Hygiene + Infektionsverhütung 29, S. 66 ff.
- MATOS, J. S., WHITE, D. G., HARMON, R. J., & LANGLOIS, B. E. (1991): Isolation of *Staphylococcus aureus* from sites other than the lactating mammary gland. Journal of dairy science 74, S. 1544-1549.
- MCAULEY, C. M., GOBIUS, K. S., BRITZ, M. L., & CRAVEN, H. M. (2012): Heat resistance of thermotolerant enterococci isolated from milk. International journal of food microbiology 154, S. 162-168.
- MCGUIRK, S. M. (2003): Solving calf morbidity and mortality problems. American Association of Bovine Practitioners. 36th Annual Conference. Online verfügbar unter: <http://www.vetmed.wisc.edu/dms/fapm/fapmtools/8calf/calfmorbid.pdf> (Zuletzt abgerufen am 5.8.2015).
- MILCHVERORDNUNG (2004): Verordnung (EG) Nr. 853/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. 4. 2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs. Amtsblatt Nr. L 226, S. 22-82.
- MOORE, D. A., TAYLOR, J., HARTMAN, M. L., & SISCHO, W. M. (2009): Quality assessments of waste milk at a calf ranch. Journal of dairy science 92, S. 3503-3509.
- MUIR, D. D. (1990): The Microbiology of Heat-Treated Fluid Milk Products. - In: Robinson, R. K. (Hrsg.): Dairy Microbiology. The Microbiology of Milk. 2. Auflage. Elsevier Science Publishers LTD. London, S. 163-208.
- MÜLLER-HOLTKAMP, P. (2007): Therapeutisches Trockenstellen – gestern und heute. Intervet Deutschland GmbH. Magdeburg.

- NAGL, G. & ZIEGELWANGER, E. (o. Jahr): Mikrobiologische Untersuchung von Rohmilch und Trinkmilch. Lehr- und Forschungszentrum Francisco Josephinum. Online verfügbar unter: http://www.eduhi.at/dl/Mikrobiologische_Untersuchung_Trinkmilch100001.pdf (Zuletzt abgerufen am 22.06.2015).
- PARTRIDGE, J. (2009): Fluid Milk Products. – In: Chandan, R. C., Kilara, A., & Shah, N. (Hrsg.): Dairy processing and quality assurance. John Wiley & Sons. S. 203-217.
- PETZL, W. (2010): Die Mastitis des Rindes. Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung. Ludwig-Maximilians-Universität München.
- PHUEKTES, P., MANSELL, P., DYSON, R., HOOPER, N., DICK, J., & BROWNING, G. (2001): Molecular epidemiology of *Streptococcus uberis* isolates from dairy cows with mastitis. *Journal of clinical microbiology* 39, S. 1460-1466.
- RIFFON, R., SAYASITH, K., KHALIL, H., DUBREUIL, P., DROLET, M., & LAGACÉ, J. (2001): Development of a rapid and sensitive test for identification of major pathogens in bovine mastitis by PCR. *Journal of clinical microbiology* 39, S. 2584-2589.
- ROLLE, M. (2007): Medizinische Mikrobiologie, Infektions-und Seuchenlehre. Georg Thieme Verlag. Stuttgart.
- SCOTT, M. C. (2006): Viability of waste milk pasteurization systems for calf feeding systems. Doctoral dissertation, Virginia Polytechnic Institute and State University.
- SELBITZ, H.-J. (2007): Bakterielle Krankheiten der Tiere. - In: Rolle, M. (2007): Medizinische Mikrobiologie, Infektions-und Seuchenlehre. A. Mayr (Hrsg.). Georg Thieme Verlag. Stuttgart.
- SELIM, S. A., & CULLOR, J. S. (1997): Number of viable bacteria and presumptive antibiotic residues in milk fed to calves on commercial dairies. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 211, S. 1029-1035.

- SHARMA, P., BREMER, P., OEY, I., & EVERETT, D. W. (2014): Bacterial inactivation in whole milk using pulsed electric field processing. *International Dairy Journal* 35, S. 49-56.
- SOBIRAJ, A., KRON, A., SCHOLLMAYER, U., & FAILING, K. (1997): Federal investigations on the distribution and in vitro resistance of udder pathogenic bacteria in the milk of cows with subclinical mastitis. *Tierärztliche Praxis* 25, S. 108-115.
- STABEL, J. R., HURD, S., CALVENTE, L., & ROSENBUSCH, R. F. (2004): Destruction of *Mycobacterium paratuberculosis*, *Salmonella* spp., and *Mycoplasma* spp. in raw milk by a commercial on-farm high-temperature, short-time pasteurizer. *Journal of dairy science* 87, S. 2177-2183.
- STEELE, J. H. (2000): History, trends, and extent of pasteurization. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 217, S. 175-178.
- TERPSTRA, F., RECHTMAN, D., LEE, M., HOEIJ, K., BERG, H., ENGELBERG, F., & WOUT, A. (2007): Antimicrobial and antiviral effect of high-temperature short-time (HTST) pasteurization applied to human milk. *Breastfeeding Medicine* 2, S. 27-33.
- TIMONEY, J. F., GILLESPIE, J. H., SCOTT, F. W., & BARLOUGH, J. E. (1988): Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals (8. Auflage). Cornell University Press. New York.
- TODHUNTER, D. A., SMITH, K. L., & HOGAN, J. S. (1995): Environmental streptococcal intramammary infections of the bovine mammary gland. *Journal of dairy science* 78, S. 2366-2374.
- WANG, S. M., DEIGHTON, M. A., CAPSTICK, J. A. & GERRATY, N. (1999): Epidemiological typing of bovine streptococci by pulsed-field gel electrophoresis. *Epidemiology and infection* 123, S. 317-324.
- WENDT, K. (1998): *Handbuch Mastitis*. Kamlage Verlag. Osnabrück.

- WINTER, P. (2008): Praktischer Leitfaden Mastitis: Vorgehen beim Einzeltier und im Bestand. Georg Thieme Verlag. Stuttgart.
- WOLTER, W., KLOPPERT, B., CASTANEDA, H., & ZSCHÖCK, M. (2002): Die Mastitis des Rindes. Ein Kursbuch. Justus-Liebig-Universität Gießen. Giessener Elektronische Bibliothek. Online verfügbar unter: <http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2002/910/> (Zuletzt abgerufen am 03.07.2015).
- YANG, Q., PORTER, A., ZHANG, M., HARRINGTON, D., BLACK, G., & SUTCLIFFE, I. (2012): The impact of pH and nutrient stress on the growth and survival of *Streptococcus agalactiae*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 102, S. 277-287.
- ZALL, R. R. (1990): Control and Destruction of Micro-organisms. - In: Robinson, R. K. (Hrsg.): Dairy Microbiology. The Microbiology of Milk. 2. Auflage. Elsevier Science Publishers LTD. London, S. 115-161.
- ZANGERL, P. (2007): Milchwirtschaftliche Mikrobiologie. - In: Krömker, V. (Hrsg.): Kurzes Lehrbuch der Milchkunde und Milchhygiene. 1. Auflage. Parey Verlag. Stuttgart, S. 110-138.

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass die vorliegende Arbeit nicht für andere Prüfungen eingereicht worden ist und selbstständig geschrieben wurde. Sämtliche Quellen einschließlich Internetquellen, die unverändert oder abgewandelt wiedergegeben werden, insbesondere Quellen für Texte, Grafiken, Tabellen und Bilder, sind als solche kenntlich gemacht und mir ist bekannt, dass bei Verstößen gegen diese Grundsätze ein Verfahren wegen Täuschungsversuchs bzw. Täuschung eingeleitet wird.

Berlin, den 19. August 2015

Ort/ Datum

Peter Niemeyer