**Zeitschrift:** Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für

Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire

ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

Herausgeber: Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

**Band:** 138 (1996)

**Heft:** 12

DOI:

Artikel: Isolierung von Corynebacterium diphteriae subsp. belfanti bei einer Kuh

mit chronisch-aktiver Dermatitis

Autor: Corboz, L. / Thoma, R. / Braun, U.

https://doi.org/10.5169/seals-593168

#### Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

#### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

#### Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

**Download PDF: 17.11.2025** 

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Institute für Veterinärbakteriologie<sup>1</sup> und Veterinärpathologie<sup>2</sup>, Klinik für Wiederkäuer- und Pferdemedizin<sup>3</sup> und Institut für Medizinische Mikrobiologie<sup>4</sup> der Universität Zürich

# Isolierung von *Corynebacterium diphtheriae* subsp. belfanti bei einer Kuh mit chronisch-aktiver Dermatitis

L. Corboz<sup>1</sup>, R. Thoma<sup>2</sup>, U. Braun<sup>3</sup>, R. Zbinden<sup>4</sup>

#### Zusammenfassung

Die Diphtherie ist eine akut verlaufende, übertragbare Krankheit des Menschen, die durch Corynebacterium (C.) diphtheriae verursacht wird. Rachen- und Hautformen kommen vor, die sowohl bei Infektionen mit toxigenen als auch mit nichttoxigenen Stämmen auftreten können. Infektionen mit C. diphtheriae wurden in früheren Berichten auch bei Milchkühen beschrieben, wobei der Erreger sowohl aus Zitzenläsionen als auch aus Mastitismilch isoliert werden konnte. Menschen wurden durch den Genuss derartiger Milch infiziert. Diese Arbeit beschreibt die Isolierung und Charakterisierung von C. diphtheriae bei einer 4jährigen Kuh mit über den ganzen Körper verteilter, herdförmig chronisch-aktiver Dermatitis. Mikroskopisch konnten zahlreiche grampositive coryneforme Bakterien nachgewiesen werden, die als C. diphtheriae subsp. belfanti identifiziert wurden. Die Bedeutung von C. diphtheriae in der Veterinärmedizin und die Rolle der Kuh als Reservoir dieses Erregers werden erörtert.

Schlüsselwörter: Corynebacterium diphtheriae – Dermatitis – Milchkuh – Epidemiologie

### Isolation of *C. diphtheriae subsp. belfanti* in a cow with multifocal chronic-active dermatitis

Diphtheria is an acute communicable disease of man caused by C. diphtheriae. Pharyngeal and cutaneous forms are described, wherefrom both toxigenic and nontoxigenic strains can be isolated. The occurrence of *C. diphtheriae* in dairy cattle has already been reported in the past. The pathogens were isolated from ulcerated teats and from the milk of cows with mastitis as well. These animals were considered to play a role in the transmission of the disease to man. This paper describes the isolation and characterization of C. diphtheriae in a 4 years old cow with generalized, partly ulcerative and purulent skin lesions. Bacteriological examination revealed the presence of very numerous corynebacterium-like organisms, which were characterized as C. diphtheriae subsp. belfanti, a nontoxigenic subspecies of *C. diphtheriae*. The significance of *C.* diphtheriae in veterinary medicine and the possible role of cattle as a reservoir of these organisms are discussed.

Key words: Corynebacterium diphtheriae – dermatitis – dairy cow – epidemiology

#### **Einleitung**

Die Diphtherie, verursacht durch *Corynebacterium (C.) diphtheriae*, ist eine akut verlaufende, übertragbare Krankheit des Menschen und wurde 1821 vom Franzosen P.F. Bretonneau erstmals beschrieben (Youmans, 1980). Sie ist charakterisiert durch eine lokale Infektion

mit weisslichen, haftenden Belägen im oberen Respirationstrakt («Rachendiphtherie»). In seltenen Fällen sind andere Lokalisationen wie Nase, Konjunktiven und Vagina betroffen. Eine Hautform der Diphtherie ist ebenfalls beschrieben und wurde seit den 60er Jahren zunehmend beobachtet. Es wird zwischen einer ulzerierenden Form mit typischen Belägen und einer chronisch ver-

Schweizer Archiv für Tierheilkunde laufenden Form ohne Ulzeration unterschieden. Diese Hautinfektionen erfolgen oft nach vorangegangenen Traumata (Selbitz und Bisping, 1995). Im Zusammenhang mit der «Rachendiphtherie» werden meistens toxigene Stämme isoliert. Die systemische Wirkung des produzierten Exotoxins führt zu Lähmungen, Endokarditis und Nephritis (Clarridge und Spiegel, 1995). Allerdings können Endokarditiden ebenfalls durch nichttoxigene Stämme verursacht werden. Dies wurde auch in der Schweiz in den 90er Jahren, insbesondere bei Patienten mit Bezug zur Drogenszene, mehrmals nachgewiesen (Gruner et al., 1994).

Infektionen mit C. diphtheriae bei Tieren wurden in früheren Berichten vor allem bei Milchkühen beschrieben, wobei der Erreger sowohl aus Zitzenläsionen als auch aus Milch von Kühen mit Mastitis isoliert werden konnte (Hammer, 1928; Pfeiffer und Viljoen, 1945; Greathead und Bisshop, 1963). In diesen Fällen wurde vermutet, dass die Kühe durch den Melkenden, als Träger von C. diphtheriae, infiziert worden waren und dass danach die Infektion durch den Genuss von roher Milch und von Milchprodukten auf andere Menschen übertragen wurde.

Diese Arbeit berichtet über die Isolierung von C. diphtheriae subsp. belfanti bei einer Kuh mit ulzerierenden Hautläsionen. Die Möglichkeit der Kuh als Reservoir von C. diphtheriae wird diskutiert.

#### **Tier, Material und Methoden**

Die 4jährige Schwarzfleckkuh stammte aus einem Betrieb mit 16 Kühen und 10 Kälbern. Sie stand in der 3. Laktation und hatte einen Monat zuvor problemlos abgekalbt. Nach Behandlung einer postpartalen Azetonämie zeigte sie rezidivierende Fieberschübe bis 41°C und fünffrankenstückgrosse, übelriechende Hautveränderungen, die sich allmählich über den ganzen Körper ausbreiteten. Nach Einlieferung ins Tierspital wurde die Kuh eingehend klinisch untersucht, aber wegen infauster Prognose euthanasiert und an das Institut für Veterinärpathologie zur Sektion überwiesen.

Das Tier wurde routinemässig seziert. Proben verschiedener Hautstellen und Lokalisationen des Magendarmtraktes sowie von weiteren Organen wurden in neutral gepuffertem Formalin (4%) fixiert und in Paraffin eingebettet. Für die histologische Untersuchung wurden 4-5 µm dicke Schnitte mit Hämatoxylin-Eosin (HE) angefärbt. Zum Ausschluss einer Hautmykose wurde eine Versilberung nach Grocott und eine Perjodsäure-Schiff (PAS)-Reaktion durchgeführt. Der Ausschluss von Mykobakterien erfolgte am nach Ziehl-Neelsen gefärbten Paraffinschnitt. Eine immunhistologische Untersuchung auf das bovine Virusdiarrhoe-Virus (BVDV) wurde mittels der «Labelled Streptavidin Biotin (LSAB)»-Methode (monoklonale Antikörper Ca3/34-42, C16, C42, 15C5, Labor Dr. Bommeli AG, Bern) am Kryostatschnitt von Haut, Zunge und Labmagen durchgeführt.

Für die bakteriologische und mykologische Untersuchung von Hautläsionen aus dem Euterspiegel wurden Trypticase Soy Agar (BBL) mit 5% Schafblut, Bromthymolblau Laktose Agar (Merk) und Sabouraud-Agar mit Dextrose (Oxoid) verwendet. Zusätzlich wurden Subkulturen auf Cystein-Tellurit-Blutagar (CTBA) (Frobisher, 1937) verimpft und ein Löffler-Medium für die Neisserfärbung angesetzt. Ausserdem wurde die Toxigenität des Isolates mittels Genom-Amplifikation (PCR) (Martinetti et al., 1992) überprüft. Die Platten wurden während 24-72 h bei 37°C aerob mit 5% CO<sub>2</sub> und anaerob (Blutagar) inkubiert. Von den unter den Belägen liegenden Hautläsionen wurden Ausstriche angefertigt und nach Gram und Ziehl-Neelsen angefärbt. Für die biochemische Charakterisierung stand ein kommerzieller Test zur Verfügung (Galerie api Corvne, bioMérieux, Lyon), und die Resultate wurden mit dem ATB-System (bioMérieux) ausgewertet. Ein Antibiogramm wurde mittels Agardiffusionstest auf Iso-Sensitestagar (Oxoid) mit 5% Schafblut, unter Anwendung von Testblättchen des Institut Pasteur (Paris) durchgeführt.

#### Resultate

Neben dem Rückgang der Milchleistung von 35 kg post partum auf 2 kg und dem schlechten Allgemeinzustand mit reduzierter Magen-Darmperistaltik, Fieber, Tachykardie und Trielödem fielen klinisch die, mit Ausnahme von Stirn und Nasenrücken, über den ganzen Körper verteilten übelriechenden Hautveränderungen auf. Es handelte sich um kreisrunde, zum Teil schorfbedeckte Läsionen mit einem Durchmesser von 1 bis 3 cm. Unter den teilweise abhebbaren Krusten war die Haut blutig-rot. Sowohl an den Vorder- als auch Hinterextremitäten wurde eine ausgeprägte Intertrigobildung festgestellt (Abb. 1). Die klinischen labordiagnostischen Untersuchungen ergaben eine hochgradige Anämie mit einem Hämatokritwert von 13% sowie eine geringgradige Neutrophilie bei



Abb. 1: Haut mit kreisrunden, zum Teil schorfbedeckten und ulzerierenden Läsionen. Ausgeprägter Intertrigo zwischen Euter und Hinterbein.

Schweizer Archiv für Tierheilkunde

Tabelle 1: Antibiogramm von C. diphtheriae subsp. belfanti

Empfindlich	Penicillin Ampicillin Amoxicillin Oxacillin Cefalozin Chloramphenicol Neomycin Kanamycin	Doxycyclin Polymyxin B Erythromycin Spiramycin Clindamycin Sulfonamid Trimethoprim- Sulfamethoxazol
Resistent	Gentamicin Streptomycin	Furane Enrofloxacin

Tabelle 2: Biochemische Reaktionen (api-Coryne-Galerie) von C. diphtheriae subsp. belfanti

Positiv	Katalase Glukose Maltose	α-Glukosidase Ribose
Negativ	Nitratreduktion Pyrrolidonyl-Arylamidase β-Glukuronidase N-Acetyl-β-Glukosaminidase Urease Xylose Laktose Glykogen	Pyrazinamidase Alkalische Phosphatase $\beta$ -Galaktosidase Äskulin ( $\beta$ -Glukosidase) Gelatinehydrolyse Mannit Saccharose

normaler Leukozytenzahl. Aufgrund der klinischen Befunde wurde die Verdachtsdiagnose «Hautleukose» gestellt. Differentialdiagnostisch wurden eine BVDV-Infektion und bösartiges Katarrhalfieber (BKF) in Erwägung gezogen.

Bei der Sektion fielen nebst den oben beschriebenen Hautläsionen 1 bis 5 cm grosse Schleimhaut-Ulzerationen im Bereich von Zunge, Gingiva, Ösophagus, Pansen, Labmagen und Blinddarmspitze auf. Die Leber wies einen leichtgradigen Befall mit grossen Leberegeln auf. Bei der histologischen Untersuchung konnte eine chronisch-aktive, teils ulzerierende Dermatitis mit vereinzelten mehrkernigen Riesenzellen in der Dermis festgestellt werden. Das Vorliegen einer Hautmykose oder Mykobakteriose konnte ausgeschlossen werden. Die immunhisto-

logische Untersuchung auf BVD-Virus verlief ebenfalls negativ. Aufgrund dieser Befunde konnten die klinischen Verdachts- und Differentialdiagnosen nicht bestätigt werden.

Bei der bakteriologischen Untersuchung der Hautläsionen wurde mikroskopisch eine Mischflora mit starker Beteiligung von grampositiven, coryneformen Bakterien gefunden, die zum Teil in Nestern lagen. Hingegen konnten keine Mykobakterien nachgewiesen werden. Neben verschiedenen Kontaminanten wie *Proteus sp.* wurden kulturell nach 48stündiger Inkubationszeit 0,5 bis 1 mm grosse, regelmässige, runde, leicht abgeflachte, weissgelbliche, nicht hämolysierende, leicht verschiebbare Kolonien nachgewiesen, die sich mikroskopisch als grampositive coryneforme Bakterien erwiesen. Auf

## Mise en évidence de *Corynebacterium* diphtheriae subsp. belfanti chez une vache atteinte d'une dermatite active-chronique

La diphthérie est une maladie aiguë contagieuse de l'homme, causée par Corynebacterium (C.) diphtheriae. On distingue une forme pharyngienne et une forme cutanée, qui peuvent être provoquées aussi bien par des souches toxigènes que non toxigènes. Des infections à C. diphtheriae ont été rapportées dans le passé chez des vaches laitières, chez qui l'agent pathogènes avait été isolé de lésions des trayons ou du lait de vaches atteintes de mammite. Des cas d'infection de l'homme après consommation de lait ou de produits laitiers contaminés ont également été publiés. Ce travail décrit la mise en évidence et l'identification de C. diphtheriae chez une vache de 4 ans, souffrant d'une dermatite active-chronique répartie sur tout le corps. L'analyse microscopique révéla de nombreux bâtonnets Gram positifs et coryneformes, qui furent identifiés comme étant C. diphtheriae subsp. belfanti. On discute de l'importance de C. diphtheriae en médecine vétérinaire et du rôle de la vache comme réservoir de cet agent pathogène.

#### Isolazione del *Corynebacterium diphtheriae* subsp. belfanti da una mucca con una dermatite attiva-cronica.

La difterite è una malattia contagiosa di genere umano con decorso acuto, causata dal Corynebacterium (C.) diphtheriae. L'affezione può essere di tipo faringea oppure cutanea, e l'infezione è provocata da ceppi con o esenti della tossina difterica. Infezioni con il C. diphtheriae sono stati descritti in rapporti precendenti anche presso mucche lattifere con cui l'agente patogeno è stato isolato dalle lesioni del capezzolo oppure nel latte della mastite. Persone che hanno avuto il piacere di bere questo tipo di latte, si sono infettate. Questo lavoro descrive l'isolazione e la caratterizzazione del C. diphtheriae presso una mucca di età 4 anni. Essa avera sparso su tutta la regione del corpo, focolai infettivi della dermatite attiva-cronica. La morfologia microscopica ha dimonstrato numerosi batteri Gram positivi di forma corine, che più avanti sono stati identificati come C. diphtheriae subsp. belfanti. L'importanza del C. diphtheriae nella medicina veterinaria e il ruolo della mucca come riserva di questo agente patogeno, saranno discussi.

CTBA-Platten bildeten sich typische schwarze C.-diphtheriae-Kolonien. Mit der Neisser-Färbung liessen sich auch sogenannte endständige Polkörperchen (Polyphosphate) nachweisen. Das Antibiogramm zeigte eine Empfindlichkeit gegenüber fast allen getesteten Antibiotika und Chemotherapeutika, insbesondere gegen Penicillin und Erythromycin. Der Erreger war nur gegen Streptomycin und Enrofloxacin resistent (Tab. 1). Von den 20 Reaktionen der api-Coryne-Galerie waren 5 positiv, nämlich: Katalase, α-Glukosidase, Glukose, Ribose und Maltose. Die Nitratreduktion war negativ, was gegen die Zugehörigkeit zu C. diphtheriae subsp. mitis sprach (Tab. 2). Der Erreger wurde als C. diphtheriae subsp. belfanti identifiziert (%id=98,9/T=1,0). Mittels PCR wurde festgestellt, dass es sich um ein nichttoxigenes Isolat handelte.

#### **Diskussion**

gehandelt hatte.

Beim isolierten Erreger handelt es sich um einen im allgemeinen nichttoxigenen und bisher für Menschen als apathogen eingestuften Subtyp von C. diphtheriae. Toxigene Isolate des Subtyps belfanti wurden jedoch schon beim Menschen nachgewiesen (Chang et al., 1978). Die vorliegenden Untersuchungen haben gezeigt, dass C. diphtheriae nicht nur beim Menschen, sondern auch beim Tier eine Rolle spielen kann. Im Gegensatz zu früheren Berichten waren die Hautläsionen bei dieser Kuh nicht nur auf Zitzen und Euter beschränkt (Hammer, 1928; Pfeiffer und Viljoen, 1945; Greathead und Bisshop,

1963), sondern traten beinahe am ganzen Körper auf. Zudem war in den früheren Fällen nicht klar, ob es sich

um Infektionen mit C. diphtheriae mitis oder belfanti

In unserem Fall war nicht ersichtlich, ob der Erreger primär oder sekundär an den Hautläsionen beteiligt war und ob es sich im eigentlichen Sinn um eine ulzerierende Hautform der Diphtherie handelte, wie sie beim Menschen vorwiegend in den Tropen auftritt. Obwohl die Hautveränderungen histologisch mit einer bakteriellen oder mykotischen Infektion vereinbar waren, konnte letztere ausgeschlossen werden. Die Schleimhautulzera im Magen-Darmtrakt konnten ätiologisch nicht erklärt werden. Sie standen eventuell in Verbindung mit der klinisch festgestellten Anämie, obschon bei der Sektion keine Anzeichen für einen akuten Blutverlust vorlagen. Eine mögliche Infektionsquelle für die Kuh war nachträglich nicht zu eruieren. In dem Herkunftsbestand handelte es sich um einen Einzelfall, und Personen, die mit der Kuh in Kontakt kamen, wiesen keine manifeste Form der Diphtherie auf.

Es wurden jedoch keine weiteren epidemiologischen Untersuchungen vorgenommen.

Fest steht, dass die untersuchte Kuh Träger von nichttoxigenen C. diphtheriae war und damit eine potentielle Infektionsgefahr für den Menschen, insbesondere durch den direkten Kontakt, darstellte. Infektionen durch den Genuss von sekundär kontaminierter Milch oder Milchprodukten, wie sie in früheren Berichten dargestellt wurden, sind heute wegen der beinahe vollumfänglichen Pasteurisierung der Milch wenig wahrscheinlich. Die Möglichkeit der Kuh als Reservoir dieses Erregers ist jedoch ein zusätzliches Argument gegen den Genuss von roher Milch.

#### Literatur

Chang D. N., Laughren G. S., Chalvardjian N. E. (1978): Three variants of Corynebacterium diphtheriae subsp. mitis (Belfanti) isolated from a throat specimen. J. Clin. Microbiol. 8, 767-768.

Clarridge J. E., Spiegel A. (1995): Corynebacterium and miscellaneous irregular gram-positive rods, in «Manual of Clinical Microbiology», Eds.: Murray, Baron, Pfaller, Tenover and Yolken. Am. Soc. for Microbiol., Washington, D.C., 6th edn, 358-378.

Frobisher M. Jr. (1937): Cystine-tellurite agar for C. diphtheriae. J. Infect. Dis. 60, 99-105.

Greathead M.M., Bisshop P.I. (1963): A report on the occurrence of C. diphtheriae in dairy cattle. Sth. Afr. Med. J. 37, 1261-1262.

Gruner E., Opravil M., Altwegg M., von Graevenitz A. (1994): Nontoxigenic Corvnebacterium diphtheriae isolated from intravenous drug users. Clin. Infect. Dis. 18, 94-96.

Hammer B.W. (1928): Diphtheria, in: Dairy Bacteriology, Ed.: J. Wiley & Sons, Inc. London, Chapman and Hall Limited, 221-226.

Martinetti L. M., Gruner E., Altwegg M. (1992): Rapid detection of diphtheria toxin by the polymerase chain reaction. Med. Microbiol. Lett. 1. 276-283.

Pfeiffer D. H., Viljoen N. F. (1945): Diphtheria and mastitis. J. Sth. Afr. Vet. Med. Assoc. 16, 148-153.

Selbitz H.J., Bisping W. (1995): Tierseuchen und Zoonosen: Alte und neue Herausforderungen. Gustav Fischer Verlag, Jena-Stuttgart,

Youmans G.P. (1980): Diphtheria, in: The Biologic and Clinical Basis of Infectious Diseases, Eds.: Youmans, Paterson and Sommer, 2nd edn., W.B. Saunders Company, Philadelphia, 238-258.

#### Dank

Wir danken Herrn PD Dr. M. Altwegg, Institut für Medizinische Mikrobiologie der Universität Zürich, für die Durchführung der PCR.

Korrespondenzadresse: L. Corboz, Institut für Veterinärbakteriologie der Universität Zürich, Winterthurerstrasse 270, CH-8057 Zürich