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: 142 (2000)

Heft: 7

Artikel: Isolierung von Listeria spp. und Aspergillus fumigatus : zwei

Fallberichte aus der Mastitisdiagnostik

Autor: Stephan, R. / Senczek, D. / Müller, C.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-592955

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

Isolierung von Listeria spp. und Aspergillus fumigatus – zwei Fallberichte aus der Mastitisdiagnostik

R. Stephan¹, D. Senczek¹, Ch. Müller², Ch. Feusi³

¹Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene der Universität Zürich, ²Kantonales Laboratorium Aargau,

Zusammenfassung

Zwei seltene Fälle einer bovinen Listerienmastitis und einer Schimmelpilzmastitis werden beschrieben und diskutiert.

Die sowohl aus Milch- wie auch aus Silageproben des Betriebes isolierten *L. monocytogenes*-Stämme wurden zur weiteren epidemiologischen Abklärung mittels Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE) und Makrorestriktionsanalyse (*ApaI*) genotypisiert. Drei Stämme aus der Silage und vier Stämme aus Viertelsgemelken zeigten dasselbe PFGE-Muster.

Schlüsselwörter: bovine Mastitis – Listerien – PFGE – Aspergillus fumigatus

Isolation of *Listeria* spp. and *Aspergillus* fumigatus – two case reports from mastitis diagnostics

Two rare cases of a bovine listeria mastitis and a mould mastitis are being described and discussed. The *L. monocytogenes* strains isolated from milk as well as silage samples were further genotyped by means of Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) and macrorestriction analysis (*ApaI*). Three strains from the silage and four strains from quarter milking showed an identical PFGE-pattern.

Key words: bovine mastits – *Listeria* spp. – PFGE – Aspergillus fumigatus

Einleitung

In der Schweiz ist die prozentuale Verteilung der häufigsten Erreger von klinischen und subklinischen Mastitiden in den letzten Jahren etwa gleich geblieben. Die «Staphylokokkenmastitis» spielt dabei – besonders seit der erfolgreichen Bekämpfung des «gelben Galtes» – die dominierende Rolle. Nach Schällibaum (1999) werden etwa bei 40% der Mastitismilchproben Staphylokokken, bei 35,6% Streptokokken und bei 10% coliforme Keime isoliert.

In dieser Arbeit wird die Isolierung von zwei seltenen Erregern boviner Mastitiden beschrieben und die Fallbeispiele weitergehend ausgeführt und diskutiert.

Fall 1

Vorbericht

Im Rahmen einer jährlichen, amtlichen, kantonalen Untersuchungskampagne von Rohmilch wurden in einer von insgesamt 57 untersuchten Proben Listerien (L. monocytogenes, L. innocua) in 25 ml Milch nachgewiesen. Um abzuklären, ob es sich dabei um einen Zufallsbefund handelte oder ob im Erzeugerbetrieb ein «Listerien-Problem» vorlag, wurden Vier-Viertel-Sammelmilchproben aller 28 Kühe dieses Betriebes untersucht. In Proben

von sieben Kühen konnten nach Anreicherung von 25 ml Milch Listerien (L. monocytogenes, L. innocua) nachgewiesen werden. Zwei der sieben Kühe (Kuh 2,7) zeigten einen positiven (+) Schalmtest in je einem Euterviertel, alle anderen Viertel waren im Schalmtest unauffällig.

Weitergehende Untersuchungen

Aufgrund der Ergebnisse der Sammelmilchuntersuchungen wurden im Folgenden von diesen sieben Kühen Viertelgemelke erhoben und jeweils sowohl eine fluoreszenzoptische Zellzahlbestimmung (Fossomatic) als auch eine bakteriologische Untersuchung durchgeführt. Die bakteriologische Untersuchung erfolgte als Direktausstrich auf Schafblutagar (Trypticase–Soy–Agar, BBL 11043 mit 5% Schafblut) und auf BROLAC–Agar (Bromthymolblau–Laktose–Agar, Merck 1639). Zudem wurde eine spezifische Listerienanreicherung durchgeführt (Schweizer Lebensmittelbuch, Kap. 56, Pt. 7,25).

Vier der 28 untersuchten Viertelmilchen erwiesen sich nach Anreicherung als «Listerien-positiv»: Kuh 1, Viertel hinten links; Kuh 5, Viertel vorne rechts, Viertel vorne links und Viertel hinten links. Die biochemische Differenzierung von jeweils drei Isolaten pro Viertel ergab *Listeria innocua*. Auffallend war die Tatsache, dass die somatischen Zellzahlen aller Listerien-positiven Euterviertel niedrig waren.

³Tierarztpraxis Dres. Ch. und K. Feusi, Wädenswil

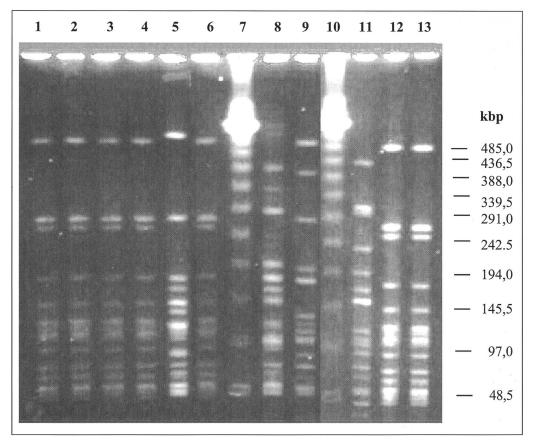


Abbildung 1: PFGE-Profile der mit ApaI geschnittenen chromosomalen DNA der isolierten L. monocytogenes-Isolate; Spur 1–3 Silage; Spur 4–6 Vier-Viertel-Gemelk; Spur 7 und 10: Lambda-ladder (Bio-Rad); Spur 8–9: Vier-Viertel-Gemelk; Spur 11: Ein-Viertel-Gemelk; Spur 12–13: Vier-Viertel-Gemelk; PFGE-Bedingungen: 1–40 s, 6 V/cm, 24 h, 120 °, 12 °C, 0,5× TBE, einprozentiges PFGE-Agarosegel.

Um den Listerien-Mastitisverdacht zu erhärten, wurden daraufhin erneut Viertelgemelksproben dieser sieben Kühe erhoben und bakteriologisch untersucht: Kuh 1, Viertel hinten links (L. monocytogenes, L. innocua); Kuh 5, Viertel vorne rechts (L. innocua), Viertel hinten rechts (L. welshimeri), Viertel hinten links (L. monocytogenes, L. innocua). Zur weiteren epidemiologischen Abklärung wurden zudem zwei Grassilageproben auf das Vorkommen von Listerien untersucht. In einer der angesetzten Poolproben konnte L. monocytogenes nach Anreicherung nachgewiesen werden.

Eine vergleichende Genotypisierung aller *L. monocytogenes*-Isolate erfolgte anschliessend mittels Pulsfeldgelelektrophorese (CHEF-DR III, Bio-Rad, München) und Makrorestriktionsanalyse (*ApaI*). Bei den 11 *L. monocytogenes*-Isolaten konnten insgesamt 5 PFGE-Muster (Abb. 1) gefunden werden, wobei 7 Isolate dasselbe Restriktionsmuster zeigten. Die drei aus der Silage isolierten *L. monocytogenes*-Stämme wiesen das gleiche Restriktionsmuster wie vier aus Viertelgemelken isolierte *L. monocytogenes*-Stämme auf. Die weiteren vier Stämme zeigten andere, klar zu unterscheidende Restriktionsmuster.

Diskussion

Die Frage, ob bei diesen Tieren wirklich eine Mastitis vorgelegen hat oder ob es sich um eine nachträgliche Kontamination der Milch mit Listerien handelte, kann wie folgt eingeschätzt werden. Die Probenentnahme wurde jeweils erst nach gründlicher Zitzendesinfektion durch einen geschulten Milchinspektor des MIBD durchgeführt. Es ist daher davon auszugehen, dass es sich nicht um eine nachträgliche Kontamination der Milch mit Listerien, sondern tatsächlich um eine Infektion des Euters handelte. Diese These wird auch durch die Tatsache unterstützt, dass bei den aufeinander folgenden Untersuchungen der Einzelviertel aus denselben Vierteln bei denselben Tieren Listerien isoliert werden konnten. Da alle aus der Silage isolierten L. monocytogenes-Stämme das gleiche Restriktionsmuster wie vier der aus Viertelgemelken isolierten L. monocytogenes-Stämme aufwiesen, ist nicht auszuschliessen, dass die Silage das Reservoir für diesen L. monocytogenes-Klon dargestellt haben könnte. Bovine Listerienmastitiden sind in der Literatur relativ selten beschrieben worden (Sharp, 1989; Fedio et al., 1990; Cullor et al., 1991; Bourry et al., 1995 und 1997; Bourry und Poutrel, 1996; Jensen et al., 1996; Poutrel, 1999). Der Verlauf ist in der Regel

subklinisch und die Listerien persistieren im erkrankten Euterviertel. Durch eine antibiotische Therapie lassen sich oft keine Erfolge erzielen (Sharp, 1989; Fedio et al., 1990; Bourry et al., 1995). Erkrankte Tiere sollten von der Herde isoliert werden (Bourry und Poutrel, 1996). Andere Autoren gehen so weit zu sagen, dass diese Tiere infolge einer eher infausten Prognose bezüglich der Erregereliminierung und dem davon ausgehenden Infektionspotential für den Menschen ausgemerzt werden sollten (Sharp, 1989). Da die Höhe der Ausscheidung von L. monocytogenes mit der Milch variiert (Bourry et al., 1995), kann eine wiederholte bakteriologische Untersuchung eines Listerien-positiven Viertelgemelkes in der Wiederholung Listerien-negativ erscheinen. Im vorliegenden Fall konnten, obwohl die Tiere nicht behandelt wurden, bei einer weiteren Nachkontrolle des Bestandes nach einem Monat keine Listerien mehr nachgewiesen werden.

Fall 2

Vorbericht

Die Mastitismilch stammte von einer antibiotisch vorbehandelten Kuh, die seit mehreren Tagen anhaltend hohes Fieber (40 °C) und massiv gestörtes Allgemeinbefinden zeigte. Das betroffene Euterviertel war hochgradig geschwollen, hart und teilweise schmerzempfindlich. Das wenige zu gewinnende Sekret war grauweiss und flockig. Die Milch der übrigen drei Euterviertel zeigte keine Veränderungen. Sowohl eine erste, in einem Privatlabor durchgeführte bakteriologische Mastitismilchuntersuchung als auch eine im Rahmen dieser ersten Untersuchung durchgeführte Gramfärbung des Sedimentausstriches führten zu keiner Diagnosestellung.

Weitere Untersuchungen

Bei der anschliessend an unserem Institut durchgeführten mikrobiologischen Untersuchung des Milchsedimentes des betroffenen Viertels konnte Wachstum einer koloniebildenden Einheit eines Schimmelpilzes im Direktausstrich auf Schafblutagar (Trypticase-Soy-Agar, BBL 11043 mit 5% Schafblut) festgestellt werden. Ebenfalls war in der Calcofluor-Färbung (Difco) nach KOH-Behandlung des Sedimentausstriches dieser Mastitismilch deutlich Pilzmyzel nachzuweisen (Abb. 2). Um diese Ergebnisse zu bestätigen, wurden in der Folge weitere Milchproben dieser Kuh erhoben und mikrobiologisch untersucht. Auch in den Wiederholungsansätzen waren Schimmelpilze mikroskopisch und kulturell nachweisbar. Diese Ergebnisse bestätigten somit das Vorliegen einer Pilzmastitis.



Abbildung 2: Calcofluor-Färbung des Sedimentausstriches und Nachweis von Pilzmyzel.

Die Schimmelpilze wurden anhand ihrer Mikround Kulturmorphologie der Spezies *Aspergillus fumigatus* zugeordnet.

Diskussion

Im Gegensatz zu Hefemastitiden werden Euterentzündungen mit Schimmelpilzbeteiligung selten beschrieben (Fenizia et al., 1975; Walser und Kleinschroth, 1979; Schällibaum et al., 1980; Overgoor und Vos, 1983; Chihaya et al. 1992; Costa et al., 1993). In den meisten dieser Fälle konnten die isolierten Schimmelpilze dann aber ebenfalls Aspergillus fumigatus zugeordnet werden. Aspergillus-Mastitiden können einerseits in latenter bzw. subklinischer Form, andererseits aber auch in akuter, gravierend verlaufender und therapeutisch schwer zu beherrschender Form im laktierenden und im trockenstehenden Euter auftreten (Walser und Kleinschroth, 1979). Da Aspergillus fumigatus als fakultativ pathogen einzustufen ist und in der Umwelt ubiquitär verbreitet vorkommt, sind für die Auslösung dieser Mastitis zusätzliche prädisponierende Faktoren erforderlich.

Bei klinisch manifester Mastitis mit Schimmelpilzbeteiligung sind therapeutische Massnahmen schwierig (Katamoto und Shimada, 1990). Im beschriebenen Fall wurde als Ultima Ratio eine Behandlung mittels einprozentiger Jodlösung versucht, durch die sich klinisch eine Verbesserung des Gesundheitszustandes des Euterviertels erreichen liess. Behandlungserfolge sind jedoch schwer zu beurteilen, da Spontanheilungen durchaus möglich sind (Fenizia et al., 1975; Walser und Kleinschroth, 1979; Costa et al., 1993).

Dank

Für die mykologische Differenzierung des Schimmelpilzisolates bis auf Speziesebene möchten wir uns bei Dr. G. Schaer, Institut für medizinische Mikrobiologie der Universität Zürich, herzlich bedanken.

Isolation de *Listeria* spp. et d'*Aspergillus* fumigatus – rapport de deux cas de routine

On décrit et discute deux cas rares de mammites bovines dûes à des Listéria et à des moisissures

On a pu isoler dans une exploitation des souches de *L. monocytogenes* aussi bien à partir d'échantillons de lait que de silage. Le génotype de ces souches a été déterminé par gel-électrophorèse à pulsation (PFGE) et par analyse de macrorestriction (*ApaI*). Trois souches isolées à partir de silage et quatre à partir de lait de quartier ont montré le même profil PFGE.

Isolamento di *Listeria* spp. e *Aspergillus fumigatus* – resoconto di due casi provenienti dalla diagnostica di mastiti

Vengono descritti e discussi due casi rari di mastiti provocati da Listerie e da ficomiceti. Ceppi di *L. monocytogenes*, isolati sia nel latte che in campioni di silo d'azienda, sono stati caratterizzati geneticamente tramite elettroforesi con campo pulsante e analisi di macrorestrizione in funzione di ulteriori chiarificazioni epidemiologiche. Tre ceppi di silo e quattro ceppi di mungiture di quarti hanno mostrato il medesimo modello PFGE.

Literatur

Bourry A., Poutrel B. (1996): Bovine mastitis caused by Listeria monocytogenes: kinetics of antibody responses in serum and milk after experimental infection. J. Dairy Sci. 79, 2189–2195.

Bourry A., Cochard T., Poutrel B. (1997): Serological diagnosis of bovine, caprine, and ovine mastitis caused by Listeria monocytogenes by using an enzyme-linked immunosorbent assay. J. Clin . Microbiol. 35, 1606–1608.

Bourry A., Poutrel B., Rocourt J. (1995): Bovine mastitis caused by *Listeria monocytogenes*: characteristics of natural and experimental infections. J. Med. Microbiol. 43, 125–132.

Chihaya Y., Matsukawa K., Ohshima K., Matsui Y., Ogasa K., Furusawa Y., Okada H. (1992): A pathological study of bovine alimentary mycosis. J. Comp. Pathol. 107, 195–206.

Costa E.O., Gandra C.R., Pires M.F., Coutinho S.D., Castilho W., Teixeira C.M. (1993): Survey of bovine mycotic mastitis in dairy herds in the State of Sao Paulo, Brazil. Mycopathologia 124, 13–17.

Cullor J.S., Wood S., Smith W., Panico L., Selsted M.E. (1991): Bactericidal potency and mechanistic specificity of neutrophil defensies against bovine mastitis pathogens. Vet . Microbiol. 29, 49–58.

Fedio W.M., Schoonderwoerd M., Shute R.H., Jackson H. (1990): A case of bovine mastitis caused by Listeria monocytogenes. Can. Vet. J. 31, 773.

Fenizia D., De Anseris P., Cicala G. (1976): Subclinical bovine mastitis due to Aspergillus fumigatus. Vet. Bull. 47, 2590.

Gitter M., Bradley R., Blampied P.H. (1980): Listeria monocytogenes infection in bovine mastitis. Vet. Rec. 107, 390–393.

Jensen N.E., Aarestrup F.M., Jensen J., Wegener H. C. (1996): Listeria monocytogenes in bovine mastitis. Possible implication for human health. Int. J. Food Microbiol. 32, 209–216.

Katamoto H., ShimadaY. (1990): Intra-arterial and intramammary injection of miconazole for bovine mastitis caused by Aspergillus fumigatus. Br.Vet. J. 146, 354–357.

Overgoor G.H., Vos A.J. (1983): The litter – Aspergillus – mastitis. Tijdschr. Diergeneeskd. 108, 103–106.

Poutrel B. (1999): Characteristics of bovine mastitis caused by Listeria monocytogenes and new ELISA method for diagnosis. IDF Mastitis Newsletter 23, 6.

Schällibaum M., Nicolet J., Konig H. (1980): Aspergillus nidulans and Aspergillus fumigatus as causal agents of bovine mastitis. Sabouraudia 18, 33–38.

Schällibaum M. (1999): Mastitis pathogens in Switzerland (1987–1996). IDF Mastitis Newsletter 23, 14.

Sharp M.W. (1989): Bovine mastitis and Listeria monocytogenes. Vet. Rec. 125, 512–513.

Walser K., Kleinschroth E. (1979): Über einige Fälle von Aspergillus-Mastitiden beim Rind. Berl. Münch. Tierarztl. Wochenschr. 92, 129–131.

Korrespondenzadresse

Dr. R. Stephan
Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene
Winterthurerstrasse 270–72
CH-8057 Zürich

Manuskripteingang: 21. September 1999

In vorliegender Form angenommen: 11. Dezember 1999