

Zeitschrift: Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

Band: 138 (1996)

Heft: 12

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

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

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-593168>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. 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. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

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. [Voir Informations légales.](#)

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. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 17.11.2024

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

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

L. Corboz¹, R. Thoma², U. Braun³, R. Zbinden⁴

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-

laufenden Form ohne Ulzeration unterschieden. Diese Hautinfektionen erfolgen oft nach vorangegangenen Traumata (Selbitz und Bisping, 1995). Im Zusammenhang mit der «Rachendiphtherie» werden meistens toxische Stämme isoliert. Die systemische Wirkung des produzierten Exotoxins führt zu Lähmungen, Endokarditis und Nephritis (Clarridge und Spiegel, 1995). Allerdings können Endokarditiden ebenfalls durch nichttoxische 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 seziiert. 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% CO₂ 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 Coryne, bioMérieux, Lyon), und die Resultate wurden mit dem ATB-System (bioMérieux) ausgewertet. Ein Antibiotogramm 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 schorfbefleckte 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 labor diagnostischen Untersuchungen ergaben eine hochgradige Anämie mit einem Hämatokritwert von 13% sowie eine geringgradige Neutrophilie bei



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

Tabelle 1: Antibiogramm von *C. diphtheriae subsp. belfanti*

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

normaler Leukozytenzahl. Aufgrund der klinischen Befunde wurde die Verdachtsdiagnose «Hautleukose» gestellt. Differentialdiagnostisch wurden eine BVDV-Infektion und bösartiges Katarrhalieber (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 Leberegel auf. Bei der histologischen Untersuchung konnte eine chronisch-aktive, teils ulzerierende Dermatitis mit vereinzelt mehrkernigen Riesenzellen in der Dermis festgestellt werden. Das Vorliegen einer Hautmykose oder Mykobakteriose konnte ausgeschlossen werden. Die immunhisto-

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 β -Galaktosidase Äskulin (β -Glukosidase) Gelatinehydrolyse Mannit Saccharose

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 pathogène 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 precedenti 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 aveva sparso su tutta la regione del corpo, focolai infettivi della dermatite attiva-cronica. La morfologia microscopica ha dimostrato 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 nichttoxisches Isolat handelte.

Diskussion

Beim isolierten Erreger handelt es sich um einen im allgemeinen nichttoxischen und bisher für Menschen als apathogen eingestuft Subtyp von *C. diphtheriae*. Toxische 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* gehandelt hatte.

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 nicht-toxischen *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 Tenover. 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.J. (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): Nontoxicogenic *Corynebacterium 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, 188-192.

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 Veterinär bakteriologie der Universität Zürich, Winterthurerstrasse 270, CH-8057 Zürich