

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

Band: 141 (1999)

Heft: 6

Artikel: Resistenzsituation und Enterotoxinbildungsfähigkeit von Staphylococcus aureus Stämmen aus bovinen Mastitismilchproben

Autor: Stephan, R. / Dura, U. / Untermann, F.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-591687>

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: 18.10.2024

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

Resistenzsituation und Enterotoxinbildungs-fähigkeit von *Staphylococcus aureus* Stämmen aus bovinen Mastitismilchproben

R. Stephan, U. Dura, F. Untermann

Zusammenfassung

Die untersuchten *S. aureus* Stämme wurden zwischen Februar und Juni 1998 aus bovinen Mastitismilchproben unterschiedlicher Tiere aus 57 verschiedenen Betrieben isoliert.

Von den 63 Stämmen zeigten 14 (22%) eine in vitro Resistenz gegen mindestens ein Chemotherapeutikum, wobei insgesamt sechs verschiedene Resistenzmuster gefunden wurden. 14.3% der Stämme waren Penicillin-resistent.

Eine Bildung von Staphylokokkenenterotoxinen (SE) konnte bei 34 (54%) Stämmen nachgewiesen werden, wobei drei Stämme SEA, 21 SEC, 3 SED und sieben Stämme 2 SE (SEAC, SEAD oder SEBD) produzierten. Keines der untersuchten Isolate bildete mehr als 2 SE.

Schlüsselwörter: *S. aureus* – Mastitis – Antibiotikaresistenz – Enterotoxinbildung – Rind

Resistance pattern and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis milk samples

In total, 63 *S. aureus* strains from mastitis milk samples of different animals in 57 farms were isolated.

In 14 (22%) of the *S. aureus* strains resistancies against one or several of the examined antibiotics could be observed whereby six resistance patterns were found. 14.3% of the strains were penicillin resistant.

34 (54%) of the 63 *S. aureus* produced enterotoxins (SE). Three strains formed SEA, 21 SEC, three SED and seven strains 2 SE, SEAC, SEAD or SEBD.

Key words: *S. aureus* – mastitis – antibiotic resistance – enterotoxins – cattle

Einleitung

Die prozentuale Verteilung der häufigsten Erreger von klinischen und subklinischen Mastitiden des Rindes ist in den letzten Jahren in der Schweiz etwa gleich geblieben (Schällibaum, 1996). Die «Staphylokokkenmastitis» spielt dabei – besonders seit der erfolgreichen Bekämpfung des «gelben Galtes» – die dominierende Rolle. In der Schweiz werden etwa bei 40% der Mastitismilchproben Staphylokokken isoliert (Schällibaum, 1996).

Um den gezielten therapeutischen Einsatz von Antibiotika gewährleisten und auf mögliche Resistenzverände-

rungen reagieren zu können, sind regelmässige Erhebungen zur Resistenzsituation notwendig.

Neben der Euterpathogenität besitzt zudem ein Teil der *S. aureus* Stämme auch die Fähigkeit, Enterotoxine zu bilden. Dies hat vor allem bei *S. aureus* bedingten subklinischen Mastitiden eine besondere lebensmittelhygienische Bedeutung.

Ziel dieser Untersuchungen war es, aktuelle Daten zur Resistenzsituation und zur Enterotoxinbildungsfähigkeit von *S. aureus* Stämmen, die aus Mastitismilchproben isoliert wurden, zu erheben und diese Stämme phänotypisch noch weiter zu charakterisieren.

Material und Methoden

Die Milchproben wurden nach einer vorgängigen Zit-zendesinfektion entnommen, mit einer Stahlöse auf Blutagar (Trypticase-Soy-Agar, BBL mit 5% Schafblut) aus-gestrichen und bei 37°C 24 Stunden bebrütet. Von jeder Milchprobe mit Gram-positiven und Katalase-positiven Staphylokokken wurde jeweils eine Kolonie bildende Einheit (KBE) isoliert und auf Bacto DNase Test Agar Platten (Difco, Nr 063-17-7) auf ihre DNase-Bildung über-prüft (Jeffries et al., 1957). DNase-positive Kolonien wur-den subkultiviert und für die weiteren Untersuchungen verwendet.

Differenzierung

Alle DNase-positiven Kolonien wurden mittels API ID 32 Staph (bioMérieux) identifiziert. *S. aureus* Stämme wur-den anschliessend zusätzlich über die Hämolyse auf Blu-tagar (Trypticase-Soy-Agar, BBL mit 5% Schafblut), die Eigelbreaktion auf Baird-Parker-Agar (Oxoid CM 275 mit Eigelb-Tellurit Lösung SR 054C) sowie den Nachweis des Clumping Faktors und von Protein A mittels Latexagglu-tination (Staphaurex, Murrex) weitergehend charakteri-siert.

Resistenzprüfung

Die Resistenzprüfung erfolgte mit der standardisierten Agardiffusionsmethode nach Kirby-Bauer (Bauer et al., 1966) unter Mitführung eines Referenzstammes (*S. au-reus* ATCC 25923) gegenüber Cefoperazon (30 µg), Oxa-cillin (1 µg), Penicillin G (10 µg), Cephalotin (30 µg), Gentamicin (10 µg), Neomycin (30 µg), Tetracyclin (30 µg), Chloramphenicol (30 µg), Lincomycin (15 µg), Polymyxin B (300 U/IE), Erythromycin (15 µg) und Sul-famethoxazol (25 µg).

Zusätzlich wurde ein β -Lactamase-Nachweis durchge-führt (Jorgensen et al., 1977). Das Prinzip dieses Penicil-linase-Streifentestes beruht auf der Entfärbung eines Jod-Stärke-Komplexes durch die Bindung des Jods an das Pe-nicillinabbauprodukt Penicilloinsäure.

Nachweis der Enterotoxinbildung

Der Nachweis der Enterotoxinbildung erfolgte bei allen *S. aureus* Stämmen mittels eines Sandwich-ELISA (Bom-meli, Bern) gemäss Herstellerangaben. Mit diesem ELISA-Kit können die Staphylokokkenenterotoxine SEA-SED nachgewiesen werden.

Ergebnisse und Diskussion

Die insgesamt 63 *S. aureus* Stämme wurden aus Milch-proben unterschiedlicher Tiere von 57 verschiedenen

Betrieben isoliert. Aus sechs Betrieben stammten je zwei Stämme, die sich aber phänotypisch klar voneinander unterschieden. Laut Vorbericht handelte es sich bei 8% der Proben um eine akute und bei 92% um eine chro-nisch klinische oder subklinische Mastitis.

42 (70%) der 63 *S. aureus* zeigten eine β - δ , je sechs Stäm-me eine γ - oder δ - und neun Stämme eine β -Hämolyse auf Schafblutagar. Nur gerade 22 Stämme wiesen phäno-typisch den Clumping Faktor und/oder das Protein A auf. 14 Stämme waren Eigelb-positiv. Mit lediglich 22.2% Ei-gelb-positiven *S. aureus* bestätigt sich, dass die Eigelbre-aktion bei Milchstämmen für die Diagnostik von *S. aure-us* nicht geeignet ist.

Von den 63 Stämmen zeigten 14 (22%) eine in vitro Re-sistenz gegen mindestens ein Chemotherapeutikum. Ta-belle 1 zeigt die Resistenzsituation gegen die einzelnen Chemotherapeutika, wobei sich die Penicillinresistenz bei 14.3% der Stämme als häufigste Resistenz erwies. Mit der Agardiffusionsmethode wie auch mit dem β -Lacta-mase-Nachweis wurden dieselben Ergebnisse erzielt. In Abbildung 1 ist das Verteilungsmuster der Hemmhof-durchmesser aller *S. aureus* für Penicillin (10 µg) darge-stellt. Nach NCCLS (1998) gilt ein Stamm mit einem Hemmhofdurchmesser von kleiner als 28 mm als resi-sistent, mit grösser als 29 mm als empfindlich.

Ein- und Mehrfachresistenzen der 14 resistenten Stäm-me sind in Tabelle 2 dargestellt. Vier Stämme erwiesen sich gegen zwei oder drei der geprüften Antibiotika resi-sistent. Insgesamt wurden die sechs verschiedenen Resi-

Tabelle 1: Resistenzsituation der 63 untersuchten *S. aureus* Stämme (Angaben in %)

Gruppe	Wirkstoff	R	I	E
β -Laktame	Cefoperazon	-	-	100
	Oxacillin	-	-	100
Penicilline	Penicillin G	14.3	-	85.7
	Cephalotin	-	-	100
Aminoglykoside	Gentamicin	-	-	100
	Neomycin	-	-	100
Tetracycline	Tetracyclin	-	-	100
	Chloramphenicol	-	-	100
Lincomycin	Lincomycin	3.2	-	96.8
Polypeptide	Polymyxin B	-	6.3	93.7
Makrolide	Erythromycin	3.2	-	96.8
Sulfonamide	Sulfamethoxazol	4.8	-	95.2

R: resistent I: intermediär E: empfindlich

Tabelle 2: Ein- und Mehrfachresistenzen der 14 resi-sistenten *S. aureus* Stämme

resistent gegen	Ein- oder Mehrfachresistenzen		
	1-fach	2-fach	3-fach
Penicillin	5	2	2
Erythromycin			2
Lincomycin			2
Polymyxin B	3	1	
Sulfamethoxazol	2	1	
Total resistente Stämme	10	2	2

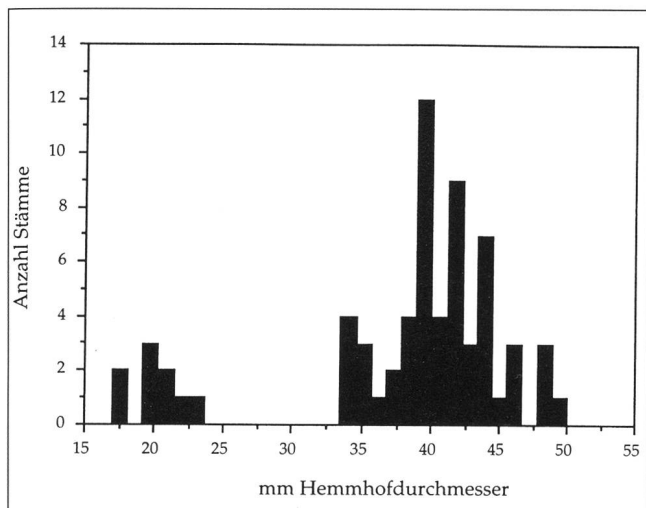


Abbildung 1: Ergebnisse der Agardiffusionsmethode für Penicillin (10 µg)

stanzmuster Penicillin, Polymyxin B, Sulfamethoxazol, Penicillin/ Polymyxin B, Penicillin/Erythromycin und Penicillin/Erythromycin/ Lincomycin gefunden. Die Prozentsätze resistenter *S. aureus* liegen in diesen Untersuchungen in ähnlichem Rahmen, wie sie auch durch Müller (1993) für die Nordostschweiz und Winter et al. (1998) für Österreich beschrieben wurden.

Bleibt die Sanierung eines Staphylokokken-Problemetriebes aber trotz günstiger Resistenzsituation auf den Einsatz von Antibiotika beschränkt und werden die zahlreichen prädisponierenden Faktoren, z. B. ungünstige Aufstallungssysteme, Euterformen oder mögliche Fehler im Zusammenhang mit der Melkmaschine nicht berücksichtigt, sind auf längere Sicht keine rückläufigen Ergebnisse hinsichtlich des Auftretens dieser Mastitiden zu erwarten. Bei 34 (54%) *S. aureus* aus 34 unterschiedlichen Betrie-

ben wurde Enterotoxinbildung nachgewiesen. 27 Stämme, die jeweils ein einziges SE bildeten, teilten sich auf in 3 SEA-, 0 SEB-, 21 SEC- und 3 SED-Bildner. Bei den insgesamt 7 Stämmen, die zwei SE produzierten, wurden 1 SEAC, 5 SEAD und 1 SEBD Bildner gefunden. Keiner der untersuchten Stämme produzierte aber mehr als 2 SE. Auffallend war, dass alle SED-Bildner sowohl Eigelb-positiv wie auch in der Latexagglutination positiv waren. Bis auf einen Stamm waren alle SEC bildenden *S. aureus* Eigelb-negativ. Eine Häufung von SEC-Bildnern im Zusammenhang mit Rohmilch bzw. Mastitismilchproben wurde in der Literatur bereits beschrieben (Ombui, 1992; Müller, 1993; Zschöck et al., 1998).

Die in der älteren Literatur beschriebenen Häufigkeiten von ca. 10% zum Vorkommen enterotoxinbildender *S. aureus* bei bovinen Mastitiden stehen aber im Widerspruch zu den in der vorliegenden Arbeit gefundenen 54% SE-positiven Stämmen (Rea et al., 1980; Brückler et al., 1981; De Nooij et al., 1982). Dagegen fand auch Müller (1993) in seinen Untersuchungen 41.9% und Zschöck et al. (1998) bei einer aktuellen Untersuchung in Deutschland 33% Enterotoxinbildner.

Ein Aspekt bei der Bewertung dieser Ergebnisse ist sicherlich die verwendete Nachweismethode. Immundiffusionsmethoden, wie sie von den meisten Autoren in früheren Arbeiten verwendet wurden, haben eine deutlich geringere Nachweisempfindlichkeit, als die in der vorliegenden Untersuchung benutzte ELISA-Methode. Zum anderen muss man auch davon ausgehen, dass regional erhebliche Unterschiede bestehen können. Zudem sind die Häufigkeitsangaben erst aussagekräftig, wenn nur Stämme unterschiedlicher Betriebe in die Untersuchung einbezogen werden. Beim Vergleich mehrerer Isolate aus demselben Betrieb hat sich auch in dieser Untersuchung gezeigt, dass es sich meistens um einen einzigen *S. aureus* Phänotyp handelt.

Résistance aux antibiotiques et production d'entérotoxines chez des souches de *S. aureus* isolées de lait de vaches souffrant de mammites

Au total 63 souches de *S. aureus*, ont été isolées de lait provenant de différentes vaches souffrant de mammites. 14 souches (22%) se révélèrent résistantes à au moins une substance chimiothérapeutique, le nombre des configurations de résistance s'élevant à six. 14.3% des souches étaient résistantes à la pénicilline.

34 des 63 souches de *S. aureus* analysées (54%) étaient capables de produire de l'entérotoxine (SE), dont trois souches de la SEA, 21 de la SEC, trois de la SED et sept une combinaison de deux entérotoxines au maximum (SEAC, SEAD ou SEBD).

Rapporto sulla situazione delle resistenze e sulla capacità di produzione di enterotossine di ceppi di *Stafilococcus aureus* isolati da campioni di latte proveniente da bovine affette da mastite

In totale 63 *S. aureus* furono isolati da campioni di latte provenienti da diverse bovine affette da mastite.

14 (22%) ceppi di *S. aureus* mostrarono almeno una resistenza in vitro ad un antibiotico; in totale furono scoperte sei combinazioni diverse di resistenze. 14.3% dei ceppi erano resistenti alla penicillina.

34 (54%) dei 63 ceppi di *S. aureus* hanno prodotto enterotossine da stafilococco (SE): tre ceppi produssero SEA, 21 SEC, tre SED e sette ceppi 2 SE, SEAC, SEAD oppure SEBD. Nessun ceppo produsse più di 2 SE.

Literatur

- Bauer A.W., Kirby W.M.M., Sherris J.C., Turck M.* (1966): Antibiotic Susceptibility Testing by a standardized single disc method. *Am. J. Clin. Path.* 45, 493-496.
- Brückler J., Klima H., Schaeg W., Manz D., Blobel H.* (1981): *S. aureus* von Kühen mit subklinischen Euterinfektionen. *Zbl. Vet. Med. B* 28, 494-499.
- De Noij M.P., van Leuween W.J., Notermans S.* (1982): Enterotoxin production by strains of *S. aureus* isolated from clinical and non-clinical specimens with special reference to enterotoxin F and toxic shock syndrome. *J. Hyg. Camb.* 89, 499-505.
- Jeffries C.D., Holtman D.F., Guse D.G.* (1957): Rapid method for determining the activity of microorganisms on nucleic acids. *J. Bacteriol.* 73, 590-591.
- Jorgensen J.H., Lee J.C., Alexander G.A.* (1977): Rapid penicillinase paper strip test for detection of betalactamase-producing *Haemophilus influenzae* and *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 11, 1087-1088.
- Müller Ch.* (1993): Charakterisierung von Staphylokokken aus Mastitismilchproben der Region Nordostschweiz. *Vet. med. Diss. Zürich.*
- National Committee of Clinical Laboratory Standards NCCLS* (1998): Performance Standards for Antimicrobial disc susceptibility tests. Approved Standard ASM-2. Vol 14 no 16. Villanova, Pa.
- Ombui J.N., Arimi S.M., Kayibura M.* (1992): Raw milk as a source of enterotoxigenic *S. aureus* and enterotoxins in consumer milk. *East Afr. Med. J.* 69, 123-125.
- Rea M., O'Connor F., Daily C., O'Regan W.* (1980): Biochemical characteristics and enterotoxigenicity of *S. aureus* isolated from bovine mastitis. *Ir. J. Food Sci. Technol.* 4, 45-55.
- Schaeren W., Jemmi T., Schällibaum M.* (1986): Resistenzsituation der wichtigsten Mastitiserreger beim Rind. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 128, 401-406.
- Schällibaum M.* (1996): Mastitis pathogens in Switzerland (1988-1993). *IDF Mastitis Newsletter* 20.
- Winter P., Deutz A.* (1998): Beitrag zur in vitro Antibiotikaempfindlichkeit von Mastitiserregern beim Rind. *Wien. Tierärztl. Mschr.* 85, 251-258.
- Zschöck M., Botzler D., Blöcker S., Sommerhäuser J.* (1998): Nachweis von Genen für Enterotoxine und Toxic Shock Syndrome Toxin 1 in *S. aureus*-Isolaten aus subklinischer Mastitis des Rindes mittels Polymerase-Kettenreaktion. *Proc. 39. Arbeitstagung DVG, Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen.*

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

Manuskripteingang: 10. Oktober 1998
In vorliegender Form angenommen: 31. Dezember 1998