

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: 103 (1961)

Heft: 12

Artikel: Vorschlag zur Mastitis-Diagnostik

Autor: Becht, H.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-593009>

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: 29.03.2025

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

Aus dem Veterinär-bakteriologischen Institut der Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. E. Hess

Vorschlag zur Mastitis-Diagnostik

H. Becht

Die Thalliumsulfat-Kristallviolett-Toxin-Platte (TKT-Platte) hat seit ihrer Einführung in die Mastitis-Diagnostik für das sichere Erkennen einer Gelbgaltinfektion gute Dienste geleistet. [Seelemann und Obiger (1956), Obiger (1956), Plömmet (1958)]. Diese Feststellung hat jedoch nur dort Gültigkeit, wo in erster Linie das Auffinden einer Gelbgaltinfektion angestrebt wird und damit die Wachstumsunterdrückung von anderen eutero-pathogenen Keimen wünschenswert ist. Wird hingegen dem Laboratorium die Aufgabe gestellt, für den individuellen Mastitisfall den generellen Erregernachweis zu führen, muß die ganze Reihe der möglichen Erreger angezüchtet werden können. Unterbleibt aber der Hemmstoffzusatz zur Toxinplatte, so gilt für die Auswertung einer Streptokokkenhämolyse immer die gleiche Einschränkung, daß diese durch das CAMP-Phänomen oder durch betahämolisierende Streptokokken bedingt sein kann. Die Art der Lysis muß also auf der CAMP-Platte nachgeprüft werden. Kretschmar (1959) suchte diese Schwierigkeiten zu umgehen, indem er Streptokokkenimpfstriche über die inokulierte Platte legte, in deren Hämolysebereich eine CAMP-Lysis und außerhalb dieser Zone die Betahämolyse der Streptokokkenkolonien beurteilt werden sollte.

Wir haben versucht, ein Medium zu finden, auf dem jeder Mastitiserreger kultiviert werden kann und das gleichzeitig das endgültige Erkennen einer *Sc. agalactiae*-Kolonie gestattet. Damit wäre eine schnell und mit gleicher optimaler Sicherheit wie die TKT-Platte arbeitende Methode geschaffen. Nachdem Ito (1940) gefunden hatte, daß die Farbstoffe der Benzidinreihe das Streptolysin inaktivieren, ohne das Wachstum der Bakterien im geringsten zu hemmen, war die Möglichkeit gegeben, die Betahämolyse auszuschalten und, wenn diese Methode mit Sicherheit arbeiten sollte, auf das Anlegen der CAMP-Platte zu verzichten.

Material und Methode

Als Grundmedium wird der Trypticase Soy Agar der BBL benutzt, auf dem sämtliche Bakterienarten sehr gut wachsen und der eine optimale Ausbildung der Hämolyse gewährleistet. Diesem Grundmedium wird Toxin in der vorher festgelegten Menge, ferner Kälbervollblut (6 %) und Kongorot zugesetzt.

Zur Arbeitersparnis wird kein gewaschenes Blut, sondern Citratblut von etwa sechswöchigen Kälbern verwendet. Jüngere Tiere wurden nicht als Blutspender benutzt, nachdem wir die Beobachtung gemacht hatten, daß Staphylokokken-Beta-toxin die Erythrozyten ganz junger Tiere bei Zimmertemperatur direkt zu lösen vermag. Das in Schraubdeckelflaschen von 100 und 200 ml im Kühlschrank aufbewahrte Blut kam bis zu 8 Wochen nach der Entnahme zur Verwendung.

Das Toxin wurde in der üblichen Weise durch siebentägige Bebrütung einer Fleischbouillonkultur in einer 10%igen CO₂-Atmosphäre gewonnen. Die Bakterien wurden auszentrifugiert und der Überstand filtriert. Das Klarbleiben des Filtrats zeigt bei längerer Kühlschranklagerung dessen Keimfreiheit an. Auf Erhitzen verzichteten wir, da der verwendete Staphylokokkenstamm kein Alphatoxin erzeugt.

Ähnlich wie in den Arbeiten von Pulsford (1954) erfolgte die Titration des Toxins in flüssigem Medium. 2 ml Trypticase Soy Broth der BBL erhielt einen 6%igen Zusatz von Vollblut und aufsteigende Toxinkonzentrationen von 1 bis 8%. Vor dem Einpipettieren der Blutbouillon wurde diese mit *Sc. agalactiae* beimpft. Die Röhrchen wurden im Abstand von 2 bis 3 Stunden zweimal aufgeschüttelt und die Hämolyse nach 12- bis 18stündiger Bebrütung abgelesen. Als Gebrauchsdosis wurde die 1,5fache totalhämolyisierende Dosis verwendet. Wenn auch bei Zusatz von Vollblut vom sechswöchigen Kalb die Wahrscheinlichkeit für das Vorhandensein von Staphylokokken-Antitoxinen gering ist, so ist durch diese Titration doch gewährleistet, daß Antihämotoxine im Plasma keine Störungen auslösen können.

Wie Ito und später Struth (1948) zeigten, wird das Streptolysin durch Trypanblau, Kongorot und andere Farbstoffe der Benzidinreihe bei Verdünnungen bis 10⁻⁴ und 10⁻⁵ inaktiviert. Die für unser Medium brauchbare Menge ermittelten wir durch Zusatz von abgestuften Trypanblau- und Kongorotkonzentrationen zwischen 10⁻⁴ und 10⁻⁵ zu 20 ml flüssigem Toxin-Blutagar und Beimpfen der gegossenen Platte mit hämolysierenden Streptokokken der Lancefield-Gruppe C.

Nachdem die genannten Faktoren festgelegt waren, wurde die Toxin-Kongorotplatte in die Routinediagnostik eingeführt, und zur Bestätigung der Befunde wurden sämtliche Streptokokkenkolonien mit dem CAMP-Test nachgeprüft.

Ergebnisse

Das Ausbleiben einer gleichzeitigen Hemmung des CAMP-Phänomens durch den Farbstoff bildete die Voraussetzung für dessen Verwendbarkeit in der Toxin-Platte. In Vorversuchen, welche durch die Ergebnisse aus der Routinediagnostik bestätigt werden konnten, ergab sich, daß die CAMP-Hämolyse tatsächlich nicht eingeschränkt wird. Ferner zeigte sich, daß der Farbstoff das Wachstum der bei uns isolierten Mastitiserreger in keiner Weise beeinflußt, in Übereinstimmung mit den Befunden von Struth, in denen ebenfalls keinerlei Hemmung von Streptokokken, Staphylokokken oder Heubakterien verzeichnet ist.

In einem Parallelversuch mit 80 Staphylokokkenstämmen, die auf farbstoffhaltigen und -freien Platten gezüchtet worden waren, wurde sichergestellt, daß auch die Produktion von Koagulase keine Einbuße durch die Farbstoffeinwirkung erleidet.

Die Betahämolyse der Streptokokken war bei Kongorotverdünnungen bis 1 : 20 000 vollständig unterdrückt. In dieser Konzentration war höchstens eine leichte Aufhellung unter dem Rasen zu erkennen. Mit weiter ansteigenden Verdünnungen bildete sich ein breiter werdender Saum einer partiellen Hämolyse um die Einzelkolonie aus. Auch hier konnte die Mitteilung von Struth bestätigt werden, daß Kongorot bei identischen Konzentrationen eine etwas größere Wirksamkeit besitzt als Trypanblau. Für die Routineuntersuchungen wird eine Kongorotlösung von 1 : 20 000 verwendet.

Die Streptokokken wachsen auf den Toxin-Kongorot-Platten als blasse Kolonien mit einem rosa Schimmer. Staphylokokkenkolonien sind entweder mehr oder weniger intensiv ziegelrot, oder sie sind weißlich mit leichter rötlicher Tönung. Hierbei soll vermerkt werden, daß die Stämme, welche reichlich Farbstoff aufgenommen hatten, in der Regel Plasmakoagulase produzierten. Beim Ansetzen der Plasmakoagulasereaktion haben wir daher darauf geachtet, daß in der zu prüfenden Mischkultur vor allem die intensiv gefärbten Kolonien abgeimpft werden. Der unterschiedliche Farbton gibt ferner einen wertvollen differential-diagnostischen Hinweis zur Unterscheidung zwischen Staphylokokken und Streptokokken. Dies ist vor allem bedeutsam beim Auftreten der CAMP-ähnlichen Hämolysebilder bei manchen Staphylokokkenstämmen, deren proteolytische und lipolytische Eigenschaften nach Christie und Graydon (1941) dieses Phänomen bewirken.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß in keinem Fall ein *Sc. agalactiae*-Stamm gefunden wurde, der auf der Toxin-Kongorot-Platte keine Hämolyse erzeugt hatte. Es gibt allerdings Stämme, welche auf Grund der individuell unterschiedlichen Produktion des CAMP-Faktors nur eine schmale, jedoch deutliche Hämolyse erzeugen. Undeutliche Hämolyse stellten wir lediglich bei drei Stämmen fest, von denen zwei als *Sc. uberis* diagnostiziert wurden. In diesen drei Ausnahmen war eine Bestätigung durch den CAMP-Test angezeigt. Generell ist festzuhalten, daß die Betahämolyse in jedem Fall ausgeschaltet war.

Paralleluntersuchungen auf Kongorot-Toxin-Platte, bzw. CAMP-Test-Platte

| Anzahl untersuchter Stämme | Kongorot-Toxin-Platte | CAMP-Test-Platte |
|----------------------------|---|---|
| 305 | <i>Sc. agalactiae</i> | <i>Sc. agalactiae</i> |
| 236 | Streptokokken, andere als <i>Sc. agalactiae</i> | Streptokokken, andere als <i>Sc. agalactiae</i> |
| 13 | Streptokokken, andere als <i>Sc. agalactiae</i> | Streptokokken, andere als <i>Sc. agalactiae</i> |
| 3 | fragliche Kolonien | (betahämolysierende <i>Sc.</i>) <i>Sc. agalactiae</i> * |

*davon erwiesen sich bei näherer Differenzierung 2 Stämme als *Sc. uberis*.

Diskussion

Mit der Toxinplatte verfügen wir über ein Medium, auf dem sämtliche Mastitiserreger gezüchtet werden können und das die sichere Diagnose einer Gelbgalteinfection bei geringster Keimzahl sowie bei Mischinfektionen mit anderen Mastitiserregern oder Schmutzkeimen ermöglicht. Der Kongorot-zusatz gestattet die nach eintägiger Bebrütung gewachsenen Streptokokkenkolonien als *Sc. agalactiae* anzusprechen, bzw. als nicht zur Gruppe B gehörende Streptokokken zu diagnostizieren. Die Schnelligkeit der Methode erhöht ihren Wert in einer Laboratoriumsdiagnostik, die dem behandelnden Tierarzt als Hilfsmittel für eine gezielte Therapie, eine sichere Prognose und eine systematische Übersicht über die Bestandesverseuchung dienen soll.

Wird aus besonderen Gründen neben der Erfassung des seuchenbedingenden *Sc. agalactiae* auf die genaue Typisierung der anderen Streptokokken Wert gelegt, so muß bei diesem wie bei jedem anderen Verfahren auf das biochemische und serologische Verhalten geprüft werden. Beim Zusatz von Äskulin wird die Beurteilung der Äskulinspaltung nach der Braunfärbung des Mediums oder unter der UV-Lampe nicht beeinträchtigt.

Zusammenfassung

Es wird eine Methode beschrieben, die erlaubt, auf einer Toxin-Kongorot-Blutagarplatte jeden Mastitiserreger zu züchten und eine Gelbgalteinfection mit Sicherheit zu erkennen. Der Zusatz von Kongorot schließt durch die Inaktivierung des Streptolysins eine Verwechslung zwischen *Sc. agalactiae* und anderen Streptokokken aus und erübrigt daher weitgehend das zusätzliche Anlegen einer CAMP-Platte.

Résumé

Description d'une méthode permettant la culture de tout agent de la mastite ainsi que l'identification sûre de toute infection mammaire. L'adjonction de rouge-congo à la culture, grâce à l'inactivation de la streptolysine, exclut toute méprise entre le *Sc. agalactiae* et d'autres streptocoques et rend inutile l'emploi d'une plaque CAMP.

Riassunto

Si descrive un metodo che permette di coltivare qualsiasi germe causale delle mastiti su una piastra di agar-sangue rosso congo e di riconoscere con sicurezza un'infezione da mastite streptococcica. L'aggiunta di rosso congo esclude, con l'inattivazione della streptolisina, una confusione tra lo streptococco dell'agalassia e altri streptococchi; questa aggiunta dispensa quindi largamente dall'aggiungere una piastra di CAMP.

Summary

A method is described which allows cultivation of any microbe of mastitis on a toxin-congored-blood-agar-plate and to recognize the streptococcal agalactia microorganism with certainty. The addition of congo red inactivates streptolysin and allows the differentiation of str. agalactiae and other streptococci. The use of a CAMP plate is therefore unnecessary.

Literatur

Christie, R. und Graydon, J. J.: *Austr. J. Exp. Biol. Med.* 19, 9 (1941). – Ito, R.: *Fol. Jap. Pharmacol.* 30, 11 (1940), *Ref. Zbl. Bakteriol.* 140, 98 (1941). – Kretzschmar, Chr.: *Arch. Exp. Vet. Med.* 13, 678 (1959). – Obiger, G.: *DTW* 63, 337 (1956). – Plömmet, M.: *Rec. Méd. Vét.* 134, 285 (1958). – Pulsford, M. F.: *Austr. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 32, 347 (1954). – Seelemann, M. und Obiger, G.: *Milchwissenschaft* 98 und 134 (1956). – Struth, H.: *Diss. Marburg* 1948.