



Äskulin-positive Streptokokken: nur *S. uberis* und Enterokokken?

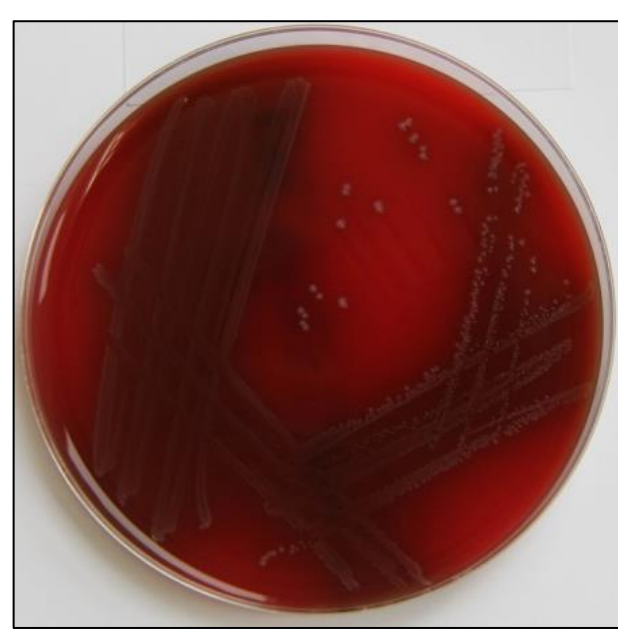
Zusammenfassung: In den vorliegenden Untersuchungen wurde im ersten Schritt nach einer möglichst sicheren, kostengünstigen und auch im Routinelabor praktikablen Methode zur Abgrenzung der verschiedenen Äskulin-positiven Streptokokken wie *S. uberis* und Enterokokken gesucht. In Anlehnung an Untersuchungen von Krabisch et al. (1999) wurde das unterschiedliche Resistenzverhalten gegenüber Penicillin und Rifampicin aufgrund der größten Übereinstimmung mit biochemischen Methoden (Api rapID 32 strept von Biomerieux) als Differenzierungsmethode etabliert. Bei den 55 getesteten Stämmen fiel bereits auf, dass neben *S. uberis* (n=25) und verschiedenen *Enterococcus spp.* (n=17) auch *Lactococcus (Lc.) garviae* und *Lc. lactis* festgestellt wurden. Seit 2014 steht dem Milchlabor des TGD Bayern e.V. eine MALDI-TOF-MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation Time of Flight Massenspektrometrie) zur Verfügung, mit der u.a. nicht differenzierbare Äskulin-positive Streptokokken abgeklärt werden. Dabei finden sich *Lactococcus spp.* sowohl als sporadische Einzelnachweise als auch als Leitkeim des Mastitisgeschehens.

Einleitung: Umweltassoziierte Mastitiserreger wie *S. uberis* und Enterokokken haben in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen. Im Hinblick auf das unterschiedliche Resistenzverhalten von *S. uberis* und *Enterococcus spp.* und ein teilweise unterschiedliches Verhalten im Kuhbestand ist auch im Routinelabor eine möglichst sichere Abgrenzung anzustreben. Allerdings ist eine sichere Diagnostik vergleichsweise teuer oder in der Regel mit Kompromissen verbunden. Eine Unterscheidung allein über die Beurteilung des Koloniewachstums auf dem in der Mastitisdiagnostik genutzten Äskulin-Blutagar ist nicht möglich (siehe Abb.1).

Material und Methoden: Zur Etablierung einer geeigneten Methode wurden 55 Äskulin-positive Streptokokken, die aus schalmtest-positiven Vierteln auf Äskulin-Blut-Agar isoliert worden waren, folgenden Tests unterzogen:

- Wachstum auf Selektivnährböden (Kanamycin-Äskulin-Acid-Agar (KAA-Agar, Merck 1.05222.0500), Slanetz-Bartley-Agar (Oxoid CM 0377), modif. Rambachagar*
- Vorhandensein der Pyrase (Oxoid ID0581M)
- Agglutination mit Latex-Testsubstanz D (Oxoid DR 0589G)
- Resistenz/Hemmhofbeurteilung gegenüber Penicillin (10µg Oxoid CT0043B), Oxacillin (5µg Oxoid CT0040B) und Rifampicin (30µg Oxoid CT0104B) im Agardiffusionstest
- Biochemische Differenzierung mittels Api rapID 32 strept von Biomerieux

- Differenzierung mittels MALDI-TOF-MS (Bruker Daltonik Maldi Biotyper, Bruker, durchgeführt im LGL Oberschleißheim, seit 2014 im TGD Bayern e.V.)



Lc. garviae



S. uberis



Ec. faecalis

Abb.1 Koloniewachstum auf Äskulin-Blut-Agar

Ergebnisse: Die Differenzierung mittels Agardiffusionstest (ADT) zur Resistenzbestimmung bzw. zur Hemmhofbeurteilung zusätzlich zur Beurteilung des Wachstums auf KAA-Agar erwies sich als für die Routinediagnostik geeignete und kostengünstige Variante und wird in Tab.1 dargestellt. Neben einer Differenzierung wird zusätzlich die Empfindlichkeit gegenüber Penicillin geprüft, einem Antibiotikum erster Wahl für die Indikation „subklinische Mastitis“ im Sinne der Antibiotikaleitlinien. Nicht eindeutig differenzierbare Äskulin-positive Streptokokken erscheinen weiterhin als „Äskulin-positive Streptokokken“ im Befund bzw. werden mittels MALDI-TOF-MS charakterisiert.

Tab.1: Differenzierungsschema für Äskulin-positive Streptokokken beim TGD Bayern e.V.

KAA-Agar	Agardiffusionstest (ADT) Penicillin	ADT Rifampicin (30 µg) Hemmhof Ø (mm)	Weitere Untersuchungen	Erregerbezeichnung im Befund
-	sensibel	>24	nicht notwendig	<i>S. uberis</i>
+	resistent oder sensibel	<23	nicht notwendig	Enterokokken
-	resistent	<23	MALDI-TOF-MS	Ergebnis MALDI-TOF-MS
-	sensibel	<23	MALDI-TOF-MS	
+	sensibel	>24	MALDI-TOF-MS	

*freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Prof. Krömker, Hochschule Hannover, Abt. Bioverfahrenstechnik-Mikrobiologie

Kontakt: reglindis.huber@tgd-bayern.de

Für dieses Poster wurden teilweise Erkenntnisse und Ergebnisse verwendet, die auf Untersuchungen des TGD Bayern e.V. basieren, die aus Mitteln des Freistaates Bayern durch das Bayerische Staatsministerium für Landwirtschaft und Forsten sowie der Bayerischen Tierseuchenkasse gefördert wurden