

# Rohmilch-assoziierte *Staphylococcus aureus* Intoxikation bei Kindern

N. Giezendanner<sup>1</sup>, B. Meyer<sup>2</sup>, M. Gort<sup>3</sup>, P. Müller<sup>4</sup>, C. Zweifel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene der Universität Zürich, <sup>2</sup>Institut für Klinische Mikrobiologie und Immunologie, St. Gallen, <sup>3</sup>Tierarztpraxis Flums, <sup>4</sup>Spital Walenstadt, Walenstadt

## Zusammenfassung

Im Juli 2008 traten bei 3 aus der Ostschweiz stammenden Kindern 4 Stunden nach dem Konsum von nicht erhitzter Ziegenmilch Vomitus und Diarrhöe auf. Erste Abklärungen ergaben, dass die Milch von einer klinisch an Mastitis (*Staphylococcus aureus*) erkrankten Ziege stammte. In der Milchprobe der erkrankten, unbehandelten linken Euterhälfte lag die *Staphylococcus aureus*-Keimzahl bei  $5.0 \times 10^7$  KBE ml<sup>-1</sup>. Bei isolierten Stämmen wurden mittels PCR das Gen für das Staphylokokken-Enterotoxin D nachgewiesen. Rohmilchverzehr ist allerdings nur sehr selten mit einer Intoxikation assoziiert, da sich *Staphylococcus aureus* bedingt durch die milchoriginäre Flora nicht genügend vermehren kann. Im vorliegenden Fall lag jedoch infolge der Mastitis der Ziege bereits eine hohe *Staphylococcus aureus*-Keimzahl in der Milch vor und reichte zur Auslösung einer *Staphylococcus aureus*-Intoxikation bei den Kindern aus.

Schlüsselwörter: *Staphylococcus aureus*, Intoxikation, Rohmilch, Kinder, Ziege

## Raw milk-associated *Staphylococcus aureus* intoxication in children

Four hours after the consumption of raw goat milk, three Swiss children came down with emesis and diarrhea in July 2008. First investigations showed that the milk originated from a goat suffering from clinical mastitis (*Staphylococcus aureus*). In the milk sample from the untreated left udder, *Staphylococcus aureus* counts reached  $5.0 \times 10^7$  CFU ml<sup>-1</sup>. By PCR, the gene for the staphylococcal enterotoxin D was found in isolated strains. The consumption of raw milk is rarely associated with *Staphylococcus aureus* intoxications. Due to the flora naturally present in raw milk, *Staphylococcus aureus* normally cannot multiply sufficiently. However, in the present case, high *Staphylococcus aureus* counts were already present in the milk due to the mastitis of the goat. This amount sufficed to cause a *Staphylococcus aureus* intoxication in the children.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, intoxication, raw milk, children, goat

## Vorbericht

Im Juli 2008 traten bei 3 aus der Ostschweiz stammenden Kindern im Alter von 5 bis 13 Jahren Vomitus und Diarrhöe ohne Fieber auf („Brechdurchfall“). Nach Konsultation bei der Hausärztin wurden die Kinder zur Rhythmusüberwachung hospitalisiert. Bereits kurz nach Einweisung ins Spital kam es zur Sistierung der Symptome und zur Besserung des Zustands. Bis zum nächsten Morgen erfolgte die vollständige Erholung.

## Erste Abklärungen

Erste Abklärungen ergaben, dass die Kinder etwa 4 Stunden vor dem Auftreten der Symptome nicht erhitzte Ziegenmilch getrunken hatten. Die konsumierte rohe Zie-

genmilch stammte von einer einzelnen, älteren Ziege, die neben Kühen auf dem Betrieb der Eltern der erkrankten Kinder gehalten wurde. Bei der klinischen Untersuchung dieser Ziege durch den Tierarzt wurde an der linken Euterhälfte eine akute klinische Mastitis diagnostiziert. Vor der Behandlung der betroffenen Euterhälfte mit Spiramycin wurde eine Milchprobe zur bakteriologischen Untersuchung entnommen. Die Untersuchung dieser Probe am Institut für Klinische Mikrobiologie und Immunologie (IKMI) in St. Gallen ergab den Befund *Staphylococcus (S.) aureus*.

## Verdachtsdiagnose

*S. aureus*-Intoxikation durch Rohmilchverzehr.

## Weitergehende Laboruntersuchungen

Zur weiterführenden Abklärung wurden Milchproben der unbehandelten und behandelten linken Euterhälfte sowie der rechten Euterhälfte ans Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene der Universität Zürich gesandt.

### Mastitidiagnostik

Zunächst wurden die Ziegenmilchproben auf Blutagarplatten (Difco Laboratories, Detroit, USA; 5 % Schaffblut defibrinogenisiert, Oxoid Ltd., Hampshire, UK) ausgestrichen und bei 37 °C während 24 h bebrütet. Sowohl bei den Milchproben der linken (behandelt und unbehandelt) wie auch der rechten Euterhälfte lag ein starkes Wachstum (++++) gram- und katalasepositiver Staphylokokken vor. Bei der Probe der rechten Euterhälfte wurde das Wachstum von 2 verschiedenen Kolonietypen festgestellt. Mittels API ID 32 Staph (bioMérieux SA, Marcy-l'Étoile, F) wurden die Staphylokokken aus der linken Euterhälfte (behandelt und unbehandelt) als *S. aureus* bestätigt. Bei den Staphylokokken der rechten Euterhälfte handelte es sich gemäss API ID 32 Staph um *S. xylosus* und *S. simulans*. Diese Spezies wurden neben anderen bereits früher in Ziegenmilch gefunden (Deinhofer und Pernthaner, 1995; Vernozy-Rozand et al., 1996; Bedidi-Madani et al., 1998).

### *S. aureus*-Keimzahl

Zur Bestimmung der *S. aureus*-Keimzahl wurde mittels 0.85 % NaCl eine dezimale Verdünnungsreihe ( $10^0$  bis  $10^{-6}$ ) angelegt und mittels Spatelverfahren jeweils 0.1 ml auf Baird Parker plus Rabbit Plasma Fibrinogen Agar (BP-RPF; Oxoid Ltd.) aufgebracht. Die Nachweisgrenze lag bei  $1.0 \times 10^1$  KBE ml<sup>-1</sup>. Die Keimzahl wurde durch Auszählen der typischen Kolonien bestimmt (Abb. 1). In



Abbildung 1: *Staphylococcus aureus*-verdächtige Kolonien (telluritpositiv mit opakem Hof) auf Rabbit Plasma Fibrinogen Agar (BP-RPF; Oxoid Ltd.).

der Milchprobe der unbehandelten linken Euterhälfte lag die *S. aureus*-Keimzahl bei  $5.0 \times 10^7$  koloniebildenden Einheiten (KBE) ml<sup>-1</sup>. Nach der antibiotischen Therapie belief sich die *S. aureus*-Keimzahl in dieser Euterhälfte immer noch auf über  $10^3$  KBE ml<sup>-1</sup>.

### Nachweis von Staphylokokken-Enterotoxin (SE)-Genen

Zufällig isolierte *S. aureus* wurden mittels PCR auf das Vorkommen der Gene für die klassischen Enterotoxine SEA bis SED untersucht (Scherrer et al., 2004). Diese *S. aureus* stammten aus der Milchprobe der linken, unbehandelten Euterhälfte und die Kolonien wurden von verschiedenen Verdünnungsstufen (hoch bis niedrig verdünnt) ab BP-RPF-Agar entnommen. Bei den 8 untersuchten *S. aureus*-Stämmen wurde jeweils das Gen für SED nachgewiesen. Im Gegensatz dazu wurde in früheren Arbeiten bei *S. aureus*-Isolaten aus Ziegenmilch häufig SEC nachgewiesen (Valle et al., 1990; Orden et al., 1992; Foschino et al., 2002; Scherrer et al., 2004).

## Diskussion

Basierend auf den vorliegenden Ergebnissen lässt sich feststellen, dass bei den untersuchten *S. aureus*-Stämmen Enterotoxingene nachgewiesen wurden und gleichzeitig eine für eine *S. aureus*-Intoxikation passende Klinik bei den Patienten vorlag. Daher ist beim vorliegenden Krankheitsausbruch vermutlich von einer *S. aureus*-Intoxikation auszugehen, die durch den Verzehr von Rohmilch einer an Mastitis erkrankten Ziege ausgelöst wurde.

Enterotoxinbildende *S. aureus* gehören zu den weltweit wichtigsten Ursachen von Lebensmittelintoxikationen (Lowy, 1998; Dinges et al., 2000; Le Loir et al., 2003). Solche Intoxikationen werden durch im Lebensmittel präformierte Staphylokokken-Enterotoxine ausgelöst und sind durch eine kurze Inkubationszeit (0.5 bis 4 h) sowie Symptome wie Erbrechen, Übelkeit, Bauchkrämpfe oder Durchfall charakterisiert (Bergdoll, 1989). Bei einer *S. aureus*-Intoxikation geht man bis anhin davon aus, dass im Lebensmittel  $10^6$  und mehr Keime ml<sup>-1</sup> oder g<sup>-1</sup> vorhanden sein müssen, um eine Erkrankung auszulösen (Mossel und van Netten, 1990). In der Milchprobe der unbehandelten, linken Euterhälfte lag die Keimzahl deutlich über diesen Werten. Ob dies jedoch der effektiven Keimzahl zum Zeitpunkt des Verzehrs entspricht, ist nicht abschliessend zu beurteilen. Zu beachten ist, dass die Enterotoxine im Gegensatz zum Erreger selbst sehr widerstandsfähig gegenüber hohen Temperaturen sind und eine Pasteurisation in der Regel nicht zur Inaktivierung ausreicht (Becker et al., 2007).

Rohmilchverzehr ist nur sehr selten mit einer *S. aureus*-Intoxikation assoziiert. In der Regel kann sich *S. aureus* bedingt durch die milchoriginäre Flora (implicit parameter) nicht genügend vermehren (Genigeorgis, 1989;

Sameshima et al., 1998; Vernozy-Rozand et al., 1998), ohne dass die Milch grobsinnlich beeinträchtigt ist. Im vorliegenden Fall wurde jedoch die Milch eines an Mastitis erkrankten Tieres „genossen“. Bedingt durch die Infektion des Euters ist daher mit einer hohen *S. aureus*-Ausscheidungsmenge in die Milch zu rechnen. Für eine Intoxikation bei den Kindern, welche die Rohmilch der betreffenden Ziege konsumiert hatten, genügte daher bereits diese Keimzahl ohne eine zusätzliche Vermehrung.

## Literatur

- Becker H., Bürk C., Märtlbauer E.: Staphylokokken-Enterotoxine: Bildung, Eigenschaften und Nachweis. J. Verbr. Lebensm. 2007, 2:171–189.
- Bedidi-Madani N., Greenland T., Richard Y.: Exoprotein and slime production by coagulase-negative staphylococci isolated from goats' milk. Vet. Microbiol. 1998, 59:139–145.
- Bergdoll, M.S.: *Staphylococcus aureus*. In: Doyle, M.P. (ed.). Foodborne bacterial pathogens. New York, Basel; Marcel Dekker, Inc., 1989, 463–523.
- Deinhofer M., Pernthaner A.: *Staphylococcus* spp. as mastitis-related pathogens in goat milk. Vet. Microbiol. 1995, 43:161–166.
- Dinges M.M., Orwin P.M., Schlievert P.M.: Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clin. Microbiol. Rev. 2000, 13:16–34.
- Foschino R., Invernizzi A., Barucco R., Stradiotto K.: Microbial composition, including the incidence of pathogens, of goat milk from the Bergamo region of Italy during a lactation year. J. Dairy Res. 2002, 69:213–225.
- Genigeorgis C.A.: Present state of knowledge on staphylococcal intoxication. Int. J. Food Microbiol. 1989, 9:327–360.
- Le Loir Y., Baron F., Gautier M.: *Staphylococcus aureus* and food poisoning. Genet. Mol. Res. 2003, 2:63–76.
- Lowy F.D.: *Staphylococcus aureus* infections. N. Engl. J. Med. 1998, 339:520–532.
- Mossel D.A., van Netten P.: *Staphylococcus aureus* and related staphylococci in foods: ecology, proliferation, toxinogenesis, control and monitoring. In: The Society for Applied Bacteriology Symposium Series No. 19: Staphylococci. Supplement to J. Appl. Bacteriology 69; Oxford, London, Edinburgh, Boston, Melbourne, Berlin, Paris, Vienna; Blackwell Scientific Publications, 1990, 123S-145S.
- Orden J.A., Goyache J., Hernandez J., Domenech A., Suarez G., Gomez-Lucia E.: Detection of enterotoxins and TSST-1 secreted by *Staphylococcus aureus* isolated from ruminant mastitis. Comparison of ELISA and immunoblot. J. Appl. Bacteriol. 1992, 72:486–489.
- Sameshima T., Magome C., Takeshita K., Arihara K., Itoh M., Kondo Y.: Effect of intestinal *Lactobacillus* starter cultures on the behaviour of *Staphylococcus aureus* in fermented sausage. Int. J. Food Microbiol. 1998, 41:1–7.
- Scherrer D., Corti S., Muehlherr J.E., Zweifel C., Stephan R.: Phenotypic and genotypic characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from raw bulk-tank milk samples of goats and sheep. Vet. Microbiol. 2004, 101:101–107.
- Valle J., Gomez-Lucia E., Piriz S., Goyache J., Orden J.A., Vaddillo S.: Enterotoxin production by staphylococci isolated from healthy goats. Appl. Environ. Microbiol. 1990, 56:1323–1326.
- Vernozy-Rozand C., Mazuy C., Prevost G., Lapeyre C., Bes M., Brun Y., Fleurette J.: Enterotoxin production by coagulase-negative staphylococci isolated from goats' milk and cheese. Int. J. Food Microbiol. 1996, 30:271–280.
- Vernozy-Rozand C., Meyrand A., Mazuy C., Delignette-Muller M.L., Jaubert G., Perrin G., Lapeyre C., Richard Y.: Behaviour and enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* during the manufacture and ripening of raw goats' milk lactic cheeses. J. Dairy Res. 1998, 65:273–281.

## Korrespondenz

Claudio Zweifel  
Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene  
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich  
Winterthurerstr. 272  
CH-8057 Zürich  
E-Mail: ils@fsafety.uzh.ch  
Tel.: + 41 44 635 8651  
Fax: + 41 44 635 8908

Manuskripteingang: 24. September 2008  
Angenommen: 28. Oktober 2008