Aus dem Institut für
Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle

Über den Hygienestatus von Schweinetonsillen unter Berücksichtigung der wichtigsten Zoonoseerreger

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Matthias Gerhardt
aus Badenweiler

München 2005

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. A. Stolle
Referent:	Univ.-Prof. Dr. A. Stolle
Korreferent:	Univ.-Prof. Dr. K. Heinritzi

Tag der Promotion: 15. Juli 2005

Für meine
Familie

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

µl	Mikroliter
§	Paragraph
%	Prozent
A.	*Arcobacter*
Blutagar	Columbia-Blut-Agar
BPLS	Brillantgrün-Phenolrot-Lactose-Saccharose-Agar
bzw.	beziehungsweise
CAMP	Christie, Atkins, Munch-Petersen
CASO	Casein-Sojamehl-Pepton
C.	*Campylobacter*
°C	Celsius
CCDA	Cefoperazon-Charcoal-Deoxycholat-Agar
CCP	Critical Control Point
CIN	Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin
cm	Zentimeter
CO_2	Kohlendioxid
CP	Control Point
CRMOX	Kongorot-Magnesium-Oxalat
d.h.	das heißt
E.	*Escherichia*
et al.	et alli
ECD	*Escherichia coli* Direktagar
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FB	Fast Blue BB
FlHV	Fleischhygiene-Verordnung
Fraser	Fraser-Selektiv-Anreicherung
g	Gramm
GKZ	Gesamtkeimzahl
GHP	Gute Herstellungs-Praxis
GMP	Good Manufacturing Practice
HACCP	Hazard Analysis Critical Control Point
IfSG	Infektionsschutzgesetz

IND	Indol
ITC	Irgasan-Ticarcillin-Kaliumchlorat
Kap.	Kapitel
KbE	Kolonien bildende Einheiten
KOH	Kaliumhydroxid (Kalilauge)
L.	*Listeria*
LMBG	Lebensmittel- Bedarfsgegenständegesetz
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MRB	Modifizierte-Rappaport-Bouillon
NIT	Nitrat
ON	overnight
Oxford	Oxford-*Listeria*-Selektivagar
PB	gepuffertes Peptonwasser
PCA	Plate Count Agar
PCR	polymerase chain reaction (Polymerasekettenreaktion)
PFGE	Pulsfeldgelelektrophorese
Preston	Preston-Selektiv-Anreicherung
RKI	Robert Koch-Institut
RV	Rappaport-Vassiliadis-Anreicherung
S.	*Salmonella*
SC	Selenit-Cystin
SLT	Shiga-like-Toxin
spp.	Spezies
SSA	*Salmonella*-*Shigella*-Agar
Stx	Shigatoxin
subsp.	Subspecies
TDA	Tryptophandesaminase
TTP	thrombozytopenische Purpura
UV	ultraviolett
VP	Voges-Proskauer
VT	Verotoxin
VYE	Virulent-*Yersinia enterocolitica*
XLD	Xylose-Lysin-Desoxycholat

XLT4	Xylose-Lysin-Tergitol
Y.	*Yersinia*
z.B.	zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem

INHALTSVERZEICHNIS

A EINLEITUNG 1

B LITERATUR 2

1 Die Schweineschlachtung 2
1.1 Ablauf der Schlachtung 2
1.2 Schlachthygiene 4
1.2.1 HACCP und kritische Prozessschritte der Schweineschlachtung 4
1.2.2 Kontaminationen in Abhängigkeit der Ausweidetechniken am Beispiel von *Y. enterocolitica* 10
1.3 Vorkommen pathogener Bakterien in Schweinetonsillen 11
1.4 Vorkommen pathogener Bakterien in Schweinekot 14
1.5 Kreuzkontaminationen 19
1.5.1 Kreuzkontaminationen durch Schweinetonsillen 21
1.5.2 Kreuzkontaminationen durch Schweinekot 22
1.6 Kontaminationsprophylaxe 23

2 Hygieneindikatoren 26
2.1 Die aerobe Gesamtkeimzahl 26
2.1.1 Die aerobe Gesamtkeimzahl in der Schweineschlachtung 27
2.2 Bestimmung der *Escherichia coli*-Zahl 28
2.2.1 *E. coli* 28
2.2.2 Die *E. coli*-Zahl 30
2.2.3 Die *E. coli*-Zahl in der Schweineschlachtung 30

3 Pathogene Mikroorganismen 32
3.1 *Campylobacter coli* und *Campylobacter jejuni* 32
3.1.1 Allgemeines 32
3.1.2 Morphologie und kulturelle Eigenschaften 32
3.1.3 Vorkommen und geographische Ausbreitung 33
3.1.4 Reservoir und Infektionswege von *C. coli* und *C. jejuni* 35

3.1.5 Erkrankungen beim Menschen 38
3.1.6 Erkrankungen bei Tieren 39
3.1.7 Nachweismethoden für *Campylobacter* spp. 40
3.2 *Listeria monocytogenes* 44
3.2.1 Allgemeines 44
3.2.2 Morphologie und kulturelle Eigenschaften 44
3.2.3 Vorkommen und geographische Ausbreitung 46
3.2.4 Reservoir und Infektionswege von *L. monocytogenes* 47
3.2.5 Erkrankungen beim Menschen 50
3.2.6 Erkrankungen bei Tieren 52
3.2.7 Nachweismethoden für *L. monocytogenes* 54
3.3 *Yersinia enterocolitica* 59
3.3.1 Allgemeines 59
3.3.2 Morphologie und kulturelle Eigenschaften 60
3.3.3 Vorkommen und geographische Ausbreitung 62
3.3.4 Reservoir und Infektionswege von *Y. enterocolitica* 64
3.3.5 Erkrankungen beim Menschen 66
3.3.6 Erkrankungen bei Tieren 67
3.3.7 Nachweismethoden für *Y. enterocolitica* 69
3.4 *Salmonella* spp. 73
3.4.1 Allgemeines 73
3.4.2 Morphologie und kulturelle Eigenschaften 74
3.4.3 Vorkommen und geographische Ausbreitung 74
3.4.4 Reservoir und Infektionswege von *Salmonella* spp. 76
3.4.5 Erkrankungen beim Menschen 78
3.4.6 Erkrankungen bei Tieren 79
3.4.7 Nachweismethoden für Salmonellen 81

C EIGENE UNTERSUCHUNGEN 85

1 Hintergrund und Ziel der Untersuchung 85

2 Material 86

2.1 Probenmaterial 86
2.2 Arbeitsmaterial 87

3 Methodik 87
3.1 Probenentnahme 87
3.2 Probenvorbereitung 88
3.3 Bestimmung der Hygieneindikatoren aus Schweinetonsillen 89
3.3.1 Aerobe Gesamtkeimzahl 89
3.3.2 *Escherichia coli*-Zahl 89
3.4 Isolierungsverfahren für pathogene Bakterien 90
3.5 Identifizierungsverfahren pathogener Mikroorganismen 96
3.5.1 Identifizierung von *Campylobacter coli* und *Campylobacter jejuni* 96
3.5.2 Identifizierung von *Listeria monocytogenes* 101
3.5.3 Identifizierung von *Yersinia enterocolitica* 105
3.5.4 Identifizierung von *Salmonella* spp. 112

4 Lagerung der identifizierten Bakterien-Stämme 114

5 Verwendetes Untersuchungsmaterial 115

D ERGEBNISSE 116

1 Untersuchung der Schweinetonsillen 116
1.1 Aerobe Gesamtkeimzahl 116
1.2 *Escherichia coli*-Zahl 116
1.3 Nachweis von pathogenen Bakterien aus Schweinetonsillen 118
1.3.1 Nachweisrate von *Campylobacter coli* und *Campylobacter jejuni* 118
1.3.2 Nachweisrate von *Listeria monocytogenes* 119
1.3.3 Nachweisrate von *Yersinia enterocolitica* 119
1.3.4 Nachweisrate von *Salmonella* spp. 120

2 Nachweis von pathogenen Bakterien aus Schweinekot 121
2.1 Nachweisrate von *Campylobacter coli* und *Campylobacter jejuni* 121

2.2 Nachweisrate von *Listeria monocytogenes* 122
2.3 Nachweisrate von *Yersinia enterocolitica* 122
2.4 Nachweisrate von *Salmonella* spp. 123

3 Vergleich der Nachweishäufigkeiten von humanpathogenen Bakterien bei der Untersuchung von Tonsillen- und Kotproben 124
3.1 Nachweis von *Campylobacter coli* und *Campylobacter jejuni* 124
3.2 Nachweis von *Listeria monocytogenes* 124
3.3 Nachweis von *Yersinia enterocolitica* 124

4 Vergleich der drei angewandten Nachweisverfahren 126
4.1 Nachweis von *Campylobacter coli* 126
4.2 Nachweis von *Listeria monocytogenes* 127
4.3 Nachweis von *Yersinia enterocolitica* 128

5 Identifikation von pathogenen Bakterien 129
5.1 Campylobacter 129
5.1.1 Latex-Agglutinationstest (Dryspot *Campylobacter* Test) 129
5.1.2 Testsystem API Campy 129
5.2 Listerien 130
5.2.1 CAMP-Test 130
5.2.2 Testsystem API Listeria 130
5.3 Yersinien 131
5.3.1 Urea-Test 131
5.3.2 Testsystem API 20 E 131
5.3.3 Ergebnisse der Biotypisierung 133
5.3.4 Ergebnis der Untersuchung auf Pathogenität 133

E DISKUSSION 134

1. Untersuchung der Schweinetonsillen 134
1.1 Aerobe Gesamtkeimzahl 134
1.2 *Escherichia coli*-Zahl 136

1.3 Prävalenzen von pathogenen Bakterien in den untersuchten Schweinetonsillen 137
2. Prävalenzen von pathogenen Bakterien im untersuchten Schweinekot 142
3. Vorschläge zur Vermeidung der Kontaminationen und Lösungsmöglichkeiten 144

F ZUSAMMENFASSUNG 147

G SUMMARY 149

H ANHANG 151

1 Nährmedium zur Voranreicherung 151
1.1 Peptonwasser gepuffert nach ISO 6579 151

2 Nährmedien zur Anreicherung, Isolierung und Identifizierung der zu untersuchenden pathogenen Mikroorganismen 151
2.1 Flüssige Medien 151
2.2 Feste Medien 156
2.3 Weitere Nährmedien 162
2.4 Aufbewahrungsmedium 163

3 Testsysteme und Reagenzien 164

4 Geräte und Hilfsmittel 167

5 Übersichtstabellen zu den Untersuchungsergebnissen 171

I LITERATURVERZEICHNIS 189

J TABELLENVERZEICHNIS 212

K ABBILDUNGSVERZEICHNIS 214

DANKSAGUNG 216

LEBENSLAUF 217

A EINLEITUNG

In Deutschland werden jedes Jahr ungefähr 45,2 Millionen Schweine geschlachtet und dementsprechend viele aus Schweinefleisch hergestellte Produkte verzehrt. Da mittlerweile bekannt ist, dass Schweine Träger und auch Überträger von bestimmten pathogenen Mikroorganismen sind, stellen diese Tiere ein Reservoir für einige humanpathogene Bakterien wie Salmonellen, Campylobacter, Yersinien und Listerien dar. Daher können die aus Schweinefleisch hergestellten Produkte mit diesen Bakterien kontaminiert werden. Salmonellen, Campylobacter und Yersinien sind in erster Linie verantwortlich für eine große Anzahl gastrointestinaler Erkrankungen des Menschen und sind in Deutschland meldepflichtig. In diesem Zusammenhang müssen auch die Listerien erwähnt werden, da sie zu schwerwiegenden Erkrankungen des Menschen wie unter anderem Meningitis und Enzephalitis führen können.

Eine besondere Bedeutung im Rahmen der Produktion von Fleischerzeugnissen wird der Schlachtung beigemessen, in deren Verlauf kritische Bereiche wie die Entfernung des Geschlinges einschließlich der Zunge und der Tonsillen sowie des Darmes bekannt sind. Dabei kann es zu einer Kontamination der Schweineschlachttierkörper mit Verderbnis- und Zoonoseerregern kommen. Als zentrale Kontaminationsquellen beim Schwein sind vor allem der Kot sowie die Tonsillen als Teil des lymphatischen Apparates zu nennen.

Im Rahmen dieser Studie sollte untersucht werden, wie hoch sich der Kontaminationsgrad der Tonsillen von Schlachtschweinen darstellt. Dieser wurde durch die Bestimmung der aeroben Gesamtkeimzahl und *Escherichia coli*-Zahl ermittelt. Des weiteren sollten die Tonsillen und der Kot von Schlachtschweinen auf das Vorkommen von Campylobacter, Listerien, Yersinien und Salmonellen untersucht werden, um das Schwein als Reservoir und Überträger dieser humanpathogenen Keime zu eruieren.

B LITERATUR

1. Die Schweineschlachtung

1.1 Ablauf der Schlachtung

Die Schlachtung von Schweinen erfolgt nach den schrittweisen Hauptarbeitsgängen: Lebenduntersuchung, Betäubung, Blutentzug, äußere Reinigung durch Brühen, Entborstung und Nachbearbeitung, die jeweils zur unreinen Seite im Schlachthof gehören. Den Hauptarbeitsgängen der reinen Seite müssen die Eviszeration (Ausschlachtung) sowie die Zerteilung der Tierkörper in Hälften und schließlich die amtliche Fleischuntersuchung zugeordnet werden (MÄNNL 1994, WOLTERSDORF 1994, ZRENNER und HAFFNER 1999). Es muss eine Überschneidung mit dem vorhergehenden Arbeitsschritt vermieden werden, weil nach jedem dieser Arbeitsgänge der Tierkörper reiner und damit empfindlicher wird. Daher ist insbesondere der Wechsel von der unreinen Seite vor der Enthäutung zur reinen Seite nach der Enthäutung unbedingt zu unterlassen (WOLTERSDORF 1994). Nach der Schlachttieruntersuchung anhand § 5 Fleischhygiene-Verordnung (FlHV) Anlage 1 Kap. I werden die Schweine durch eine der folgenden zugelassenen Betäubungsmethoden, wie Bolzenschuss-, Elektro- oder CO_2-Betäubung, in einen Zustand der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit gebracht (MÄNNL 1994). Im Anschluss an die tierschutzgerechte Betäubung der Schweine wird bei den Tieren innerhalb eines vorgeschriebenen Zeitintervalls der Blutentzug durchgeführt (MÄNNL 1994, PEARCE et al. 2004). Soll die Haut bei der Schlachtung am Tierkörper verbleiben und später als Lebensmittel Verwendung finden und somit die lebensmittelrechtlichen Ansprüche erfüllen, ist es unverzichtbar, die Borsten zu entfernen und die Hautoberfläche zu reinigen (WOLTERSDORF 1994). Die Reinigung und Lockerung der Borsten geschieht durch fünf- bis sechsminütiges Brühen im Wasserbad bei Temperaturen von ca. +62°C bis +64°C (ZRENNER und HAFFNER 1999). Eine Alternative zum Brühbottich stellen die Sprühbrühverfahren in der Vertikalen bzw. Horizontalen oder die sogenannte Kondensations-Brühung dar (WOLTERSDORF 1994). An den gebrühten

Schlachttierkörpern werden durch manuelle oder maschinelle Manipulation die Borsten entfernt und anschließend durch Abflammen bei +1200°C für bis zu 15 Sekunden die Tierkörperoberflächen gereinigt, wobei auch die letzten Borstenreste an den schlecht zugänglichen Stellen beseitigt werden (PEARCE et al. 2004). Da die Borsten während des Brühens am einfachsten und mit dem geringsten Zeitaufwand zu entfernen sind, wurden Anlagen zum gleichzeitigen Brühen und Entborsten, sogenannte kombinierte Brüh- und Enthaarungsmaschinen, entwickelt, deren größte Vorteile die Platzersparnis und der Wegfall des gesonderten Nachenthaarens sind (WOLTERSDORF 1994). Als nächstes erfolgt das Nachbearbeiten der Tierkörper, wobei die Augen, Klauen sowie Ohrenausschnitte entfernt und die Schlachttierkörper der Nachreinigung, dem Polieren, zugeführt werden. Dort erfolgt eine Bearbeitung der Tierkörper unter ständiger Besprühung mit Frischwasser mittels rotierender Peitschen- bzw. Bürstenwaschmaschinen für annähernd fünf Minuten (WOLTERSDORF 1994, ZRENNER und HAFFNER 1999, PEARCE et al. 2004).

Der erste Arbeitsschritt im reinen Bereich ist die Eviszeration (Ausweidung) der bis jetzt noch ungeöffneten Schlachttierkörper (ZRENNER und HAFFNER 1999). Das Ausweiden beginnt manuell mit Handwerkszeugen oder unter Zurhilfenahme von Maschinen (Sägen, Hack- oder Spaltmaschinen), wobei zuerst der hintere Teil der Bauchhöhle eröffnet, das Schlossbein im Bereich der Beckenfuge (Schambein) durchtrennt, der After durch einen Kreisschnitt umschnitten und vom Tierkörper abgelöst wird. Nach Erweiterung des medianen Bauchschnittes werden die Becken- und Bauchorgane ausgeschlachtet (WOLTERSDORF 1994, ZRENNER und HAFFNER 1999). Um die Brusteingeweide einschließlich der Leber herausnehmen zu können, wird der Brustkorb durch Spaltung des Brustbeins in seiner gesamten Länge eröffnet und das Geschlinge, bestehend aus Zunge mit Tonsillen, Larynx, Trachea, Oesophagus, Lunge, Herz, Zwerchfell und Leber, in toto entnommen (WOLTERSDORF 1994, BORCH et al. 1996, NIELSEN und WEGENER 1997, ZRENNER und HAFFNER 1999). Die Tierkörper werden durch Längsspaltung der Wirbelsäule in zwei gleichgroße Hälften geteilt (PEARCE et al. 2004). Die Nieren, die meistens am Tierkörper verbleiben, sind aus ihrer Fettkapsel zu

lösen. Das Geschlinge sowie der Magen-Darmtrakt begleiten an Haken bzw. in Wannen den dazugehörigen Tierkörper bis zur gemeinsamen nach dem Fleischhygienerecht vorgeschriebenen Fleischuntersuchung an einem parallel auf gleicher Höhe zum Tierkörperförderband laufenden Organband (ZRENNER und HAFFNER 1999). Die Fleischuntersuchung erfolgt nach § 5 FlHV Anlage 1 Kap. II, 5.4 bei jedem Schlachttierkörper. Anschließend werden die Tierkörper noch einer Nachreinigung, dem sogenannten Trimmen unterzogen, wobei unter anderem Tonsillenreste entfernt und der Stichkanal ausgeschnitten werden (BORCH et al. 1996, ZRENNER und HAFFNER 1999). Im Anschluss daran führt man die Klassifizierung durch und verbringt die Tierkörper in den Kühlraum (PEARCE et al. 2004).

1.2 Schlachthygiene

1.2.1 HACCP und kritische Prozessschritte der Schweinschlachtung

Die Schlachtung von Schweinen stellt einen Vorgang dar, bei dem der Tierkörper eröffnet wird, wodurch sich zahlreiche Gelegenheiten ergeben, die zu einer Kontamination der Schweineschlachttierkörper mit Verderbniserregern und pathogenen Bakterien führen können (GILL und BRYANT 1993, BORCH et al. 1996, NESBAKKEN und SKJERVE 1996, GILL und JONES 1997). Apathogene Mikroorganismen, Verderbniserreger und Umgebungskeime, aber vor allem eine große Zahl von Zoonoseerregern, wie *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Y. enterocolitica* und *L. monocytogenes* können die Oberflächen von Schlachttierkörpern kontaminieren (WARRINER et al. 2002). Dabei stellt das Schwein selbst die Hauptkontaminationsquelle mit *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. und *Y. enterocolitica* dar. Die Kontaminationen sind nur durch eine strenge Schlachttechnik zu limitieren. *L. monocytogenes* kann endemisch auf der Schlachtbandeinrichtung vorhanden sein (BORCH et al. 1996). Eine der größten Gefahren während der Schlachtung geht von Kot- und Pharynxmaterial aus (ANDERSEN 1988, NESBAKKEN 1988, BORCH et al. 1996). Die Risiken der mikrobiellen Kontamination können durch ein Konzept der „Guten Herstellungs-Praxis“

(GHP-Konzept) bzw. Good Manufacturing Practice-Konzept (GMP-Konzept) und ein Hazard Analysis Critical Control Point-Konzept (HACCP-Konzept) aufgezeigt werden. Somit wird es möglich, die Verbreitung der Kontaminanten einzuschränken (HECHELMANN 1994, NESBAKKEN und SKJERVE 1996). Ein funktionierendes HACCP-Konzept ist ohne durch ein GMP-Konzept gesichertes Umfeld nicht möglich. Good Manufacturing Practice (GMP) bedeutet die Anwendung guter, bewährter und anerkannter Verfahren, die die Anwendung von Hygienemaßnahmen beschreibt, um einen anerkannten Qualitätsstandard zu erreichen. Eine genaue Risikoanalyse stellt die Basis dar, um kritische Kontrollpunkte aufzuzeigen (BORCH et al. 1996). Die Anwendung des HACCP-Konzepts basiert auf sieben Grundsätzen, die vereinfacht in drei Punkten zusammenfassbar sind (HECHELMANN 1994, ZRENNER und HAFFNER 1999):

1. Ermittlung und Bewertung der Gefahren im Prozessablauf
2. Schwachstellen (CCPs) aufzeigen und Sicherheitsmaßnahmen entwickeln
3. Andauernde Überwachung und Überprüfung des Systems durch Anwendung von Grenz- und Richtwerten sowie Dokumentation sämtlicher Verfahren und Aufzeichnungen.

Per definitionem ist ein kritischer Kontrollpunkt (CCP) ein Punkt innerhalb einer Produktionskette, wo eine fehlende Überwachung ein nicht vorhersehbares Risiko herbeiführen könnte (ZRENNER und HAFFNER 1999, PEARCE et al. 2004). Einige kritische Kontrollpunkte im Schlachtprozess stellen tatsächlich Kontrollpunkte dar, die durch das HACCP-Konzept zu überwachen sind (BORCH et al. 1996, NESBAKKEN und SKJERVE 1996). Wichtige Prozessschritte der Schweineschlachtung, die bei der Entwicklung eines HACCP-/GMP-Konzepts zu beachten sind, werden in **Abbildung 1** zusammengefasst. Prozessschritte, die ein hohes Sicherheitsrisiko durch pathogene Bakterien mit Auswirkungen auf Menschen darstellen sowie die Tierkörper kontaminieren, sollten als CCPs angesehen und durch HACCP kontrolliert werden, wohingegen andere Arbeitsschritte, die ein geringes Sicherheitsrisiko repräsentieren, als kritische Punkte (CPs) bezeichnet und mittels GMP überwacht werden (BORCH et al. 1996). Es sollten hier die Prozessschritte der Reinigung der Haut, die das Brühen, Entborsten,

Abflammen und Polieren der Schweineschlachttierkörper umfassen und die jeweils kritische Punkte hinsichtlich Kontaminationsmöglichkeiten darstellen, beleuchtet werden. Anschließend ist der Prozessschritt der Eviszeration, der das Einschneiden bzw. das Umschneiden des Anus mit Entfernung des Magen-Darmtraktes sowie das Herauslösen der Zunge einschließlich der Tonsillen und des gesamten Geschlinges umfasst und als kritischer Kontrollpunkt angesehen wird, einer Betrachtung zu unterziehen. Dem folgen das Zerteilen der Tierkörper und schließlich die beiden letzten kritischen Prozessschritte, die die Fleischuntersuchung und das Entbeinen des Kopfes betreffen, in deren Verlauf die Mandibularlymphknoten (Lymphonodi mandibulares) angeschnitten werden und es somit ebenfalls zu Kontaminationen kommen kann. Obwohl es bei der Schlachtung zahlreiche Möglichkeiten für Kontaminationen der Tierkörper gibt, stellt doch die Eviszeration den kritischsten Prozessschritt am Schlachtband dar. Aus diesem Grund wird ihm im Rahmen eines Kontroll-Konzepts besondere Beachtung geschenkt (BORCH et al. 1996, NESBAKKEN und SKJERVE 1996).

1. <u>Die Prozessschritte der äußeren Reinigung bis zum Beginn der Eviszeration:</u>

   Durch den Prozessschritt des Brühens werden zahlreiche mesophile Bakterien, die auf der Haut von lebenden Tieren vorhanden sind, abgetötet (GILL und BRYANT 1993). Die beim Brühvorgang in die Halsstichwunde eingedrungenen Bakterien spielen nur eine untergeordnete Rolle, wohingegen das Brühwasser in der Lunge, das beim Brühvorgang im Wasserbad auf der Passage durch Maul und Pharynx kontaminiert wird, von nicht unerheblicher Bedeutung ist (BORCH et al. 1996). Die Tierkörper werden bei der Entborstung durch eine verschmutzte Enthaarungsmaschine schnell mit mesophilen pathogenen Keimen und Verderbniserregern kontaminiert (GILL und BRYANT 1993, GILL und JONES 1997). Im Verlauf der Entborstung kann es zur Verteilung von Kotmaterial auf der Tierkörperoberfläche kommen (BORCH et al. 1996). Aus Detritus der Enthaarungsmaschine sind *E. coli* und *Campylobacter* spp. in einer Größenordnung von 10^5 bis 10^6 kolonienbildenden Einheiten je Gramm (KbE/g) sowie *Salmonella* spp. in Höhe von bis zu 10^5 KbE/g nachzuweisen

(GILL und BRYANT 1993). Das Abflammen der Schlachttierkörperoberfläche reicht nicht aus, um die bakterielle Kontamination zu beseitigen, aber es führt zu einer signifikanten Reduktion des Kontaminationsgrads (BORCH et al. 1996). GILL und BRYANT (1993) haben beispielsweise gezeigt, dass das Abflammen zu einer Reduktion der *E. coli*-Zahl um zwei log-Grade führen kann. Durch den sich anschließenden Vorgang des Polierens besteht jedoch die Möglichkeit, die noch vorhandenen Bakterien auf der gesamten Oberfläche erneut zu verteilen (GILL und BRYANT 1993, GILL und JONES 1997). BERENDS et al. (1997) sowie PETERSEN et al. (2002) konnten nachweisen, dass beim Polieren der Schlachttierkörper 5-15 % der Kontaminationen stattfinden. Neueren Untersuchungen von BRYANT et al. (2003) zur Folge wies die Haut der Schlachttierkörper nach der Entborstung eine relativ hohe aerobe Gesamtkeimzahl sowie einen hohen Grad der Kontamination mit coliformen Keimen und *E. coli* auf. Auch das Abflammen bewirkte keine Reduktion der Bakterienzahl, weshalb eine Pasteurisierungsbehandlung der Entborstung angeschlossen wurde. Das reduzierte die Anzahl von Coliformen, *E. coli* und die Gesamtkeimzahl auf ein Drittel (BRYANT et al. 2003).

2. Eviszeration:

Im Rahmen der Eviszeration werden das Abdomen eröffnet, das Rektum in seiner gesamten Länge gelöst, das somit aus der Bauchhöhle hängt, und in der Konsequenz kommt der mit Kot verschmutzte Anus in Kontakt mit dem Tierkörper. Dies führt zu einer Kontamination sowohl mit *E. coli* als auch anderen Bakterien (GILL und JONES 1997, NIELSEN und WEGENER 1997). Schon beim Umschneiden des Anus und in der Folge beim Herauslösen des Rektums werden pathogene und apathogene Bakterien durch Kot vom Darm auf die Schlachttierkörper übertragen (ANDERSEN 1988, NESBAKKEN 1988, BORCH et al. 1996, GILL und JONES 1997). Nach der Entfernung des Magen-Darmtrakts wird das Geschlinge in toto entfernt (BORCH et al. 1996, NIELSEN und WEGENER 1997). Dabei kann es zu einer unvermeidbaren Verbreitung von pathogenen Bakterien, wie *Y. enterocolitica* und *Salmonella* spp., aus den hochkontaminierten Tonsillen, Zunge und Pharynx auf den Tierkörper und

das Geschlinge kommen, vor allem dann, wenn alle Organe zusammen an einem Haken hängen (BORCH et al. 1996, NIELSEN und WEGENER 1997, FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 2000, BUCHER 2001, FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 2001). Werkzeug und Ausstattungsgegenstände, mit denen das Geschlinge und der Darm entfernt werden, stellen beim Prozessschritt der Eviszeration eine Kontaminationsmöglichkeit mit Zoonoseerregern unter anderem mit Listerien und pathogenen Yersinien (AUTIO et al. 2000, FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 2000) für die nachfolgenden Schlachtkörper am Schlachtband dar (BORCH et al. 1996, NIELSEN und WEGENER 1997, BOTTELDOORN et al. 2003). Bei der Zerteilung ist die Säge, mit der die Schlachttierkörper gespalten werden, von Bedeutung, da diese zu Kreuzkontaminationen mit Listerien und *Y. enterocolitica* in anderen Regionen führen kann, wenn sie beispielsweise beim Spalten des Kopfes durch noch vorhandene Tonsillenreste verschmutzt worden ist (NESBAKKEN 1992, NESBAKKEN et al. 2003). Bei der Eviszeration können 55-90% der Kontaminationen mit pathogenen Bakterien erfolgen (BERENDS et al. 1997, PETERSEN et al. 2002).

3. Fleischuntersuchung:

   Ein wichtiger kritischer Prozessschritt der Schlachtung ist auch die Fleischuntersuchung, bestehend aus Schlachttierkörperuntersuchung mit der Untersuchung des Kopfes, sowie die Untersuchung des Geschlinges (BORCH et al. 1996). Bei der Untersuchung der Mandibularlymphknoten (Lymphonodi mandibulares), in deren Verlauf diese angeschnitten werden, und vor allem bei der Entfernung des lymphatischen Rachenrings einschließlich der Tonsillen ist eine manipulationsbedingte oder durch das Schneidmesser bzw. die Hände des Personals verursachte Verbreitung von pathogenen Keimen wie *Y. enterocolitica* des Bioserotyps 4/O:3 auf den Schlachttierkörper nicht auszuschließen (NESBAKKEN 1988, BÜLTE et al. 1991, BORCH et al. 1996). Im Rahmen der weiteren Arbeitsschritte wie des Trimmens und der Fleischuntersuchung kann es nach BERENDS et al. (1997) und PETERSEN et al. (2002) zu 5-35% der Kontaminationen kommen.

Abb. 1: Hygieneaspekte und Präventivmaßnahmen hinsichtlich des bakteriellen Risikos im Verlauf der Schweineschlachtung (modifiziert nach BORCH et al. 1996)

Prozessschritt	Hygieneaspekt	Präventivmaßnahmen
Wartestall	Kontamination zw. Tieren	Reinigung und Desinfektion
Betäubung		
Blutentzug	Kontamination der Werkzeuge	Reinigung und Desinfektion
Brühen	Bakterienreduktion	Zeit und Temperatur
Entborstung	Kontamination der Maschinen	Reinigung und Desinfektion
Abflammen	Bakterienreduktion	Zeit und Temperatur
Polieren	Kontamination der Maschinen	Reinigung und Desinfektion
Ausweidung	Kontamination durch den Darm Kontamination durch Zunge, Pharynx und Tonsillen Kontamination durch Arbeitsgeräte	Rektumverschluss Arbeitsanweisungen Desinfektion der Arbeitsgeräte
Zerteilung	Kontamination über Spalter/Säge	Bandgeschwindigkeit Wassertemperatur
Fleisch-untersuchung	Kontamination durch die Fleischuntersuchung	Desinfektion der Arbeitsgeräte
Entbeinen des Kopfes	Kontamination durch den Kopf	Arbeitsanweisungen Desinfektion der Arbeitsgeräte

1.2.2 Kontaminationen in Abhängigkeit der Ausweidetechniken am Beispiel von *Y. enterocolitica*

1. Traditionelle manuelle Ausweidung:

   Bei der traditionellen Technik der Ausweidung von Schlachtschweinen wird das Rektum manuell umschnitten. Mit einem Messer werden der Zusammenhang beider Hintergliedmaßen vorsichtig getrennt und das Becken eröffnet, indem man den Knorpel der Beckensymphyse durchtrennt. Der Anus wird unter Zurhilfenahme zweier Finger, die man im Anus platziert, umschnitten. Danach können das Rektum und der Anus zwischen den beiden Hintergliedmaßen vorgezogen werden (ANDERSEN 1988, BORCH et al. 1996). Während der Ausweidung besteht ein hohes Risiko dafür, dass das Rektum in Kontakt mit den Vorderbeinen kommt und somit eine Kontamination der Karkasse mit Darminhalt erfolgt (NESBAKKEN et al. 1994). Bei dieser Ausweidetechnik war die Kontaminationsrate für *Y. enterocolitica* auf 26,3% der medialen Seiten der Hintergliedmaßen und auf 12,9% der Brustbeine am höchsten (ANDERSEN 1988, ANDERSEN et al. 1991). Das beweist, dass die vom Enddarm ausgehende Kontamination die Hauptrolle für die Verteilung von *Y. enterocolitica* O:3 auf dem Schlachttierkörper spielt (KAPPERUD 1991, NESBAKKEN et al. 1994).

2. Ausweidung mit dem sogenannten „Bung Cutter“:

   Bei diesem Verfahren wird das Rektum mittels einer Maschine, die aus einer Sonde und einem scharfen, rotierendem Zylinder besteht, dem sogenannten „Bung Cutter“, umschnitten (ANDERSEN 1988, BORCH et al. 1996). Die Sonde wird in den Anus eingelegt und das Rektum mittels eines Vakuums fixiert, während das zylinderartige Messer den Anus umschneidet. Anschließend werden Rektum und Anus unter Zug aus dem Beckenkanal entfernt und der „Bung Cutter“ nach jedem Schwein in heißem Wasser (+82°C) dekontaminiert (ANDERSEN 1988).

   Die Nachweishäufigkeit von Yersinien war mit dieser Methode schon wesentlich geringer als bei der traditionellen manuellen Ausweidetechnik.

Nur an 9,5% der Hintergliedmaßen und 8,7% der geteilten Brustbeine konnte *Y. enterocolitica* nachgewiesen werden (ANDERSEN et al. 1991).

3. Kombinierte Technik aus „Bung Cutter“ und Plastikbeutel:
   Bei dieser Ausweidetechnik wird zuerst das Rektum mit einem Plastikbeutel manuell verschlossen, und erst danach kommt der „Bung Cutter“ zur Anwendung (ANDERSEN 1988). Mit dieser kombinierten Technik kann das beste Ergebnis erzielt werden, da nur noch 1,9% der Hintergliedmaßen und 2,2% der halbierten Brustbeine eine Kontamination mit *Y. enterocolitica* zeigen (ANDERSEN 1988, ANDERSEN et al. 1991, KAPPERUD 1991).

1.3 Vorkommen pathogener Bakterien in Schweinetonsillen

Das Vorkommen von pathogenen Keimen in Tonsillen von Schlachtschweinen ist unter anderem für die Kontamination der Tierkörper, des Geschlinges und der Umgebung während der Schlachtung und der anschließend durchzuführenden amtlich vorgeschriebenen Fleischuntersuchung verantwortlich (BORCH et al. 1996). In Deutschland konnten von FRIES et al. (2002) im Rahmen der Untersuchung von 146 Poolproben von Schweinetonsillen in 68 (46,6%) Tonsillenproben *Campylobacter* spp. gefunden werden, wobei in der taxonomischen Aufschlüsselung *C. coli* deutlich dominierte. Einer norwegischen Studie zufolge sollen sogar in 66,7% der Schweinetonsillen *Campylobacter* spp. vorhanden sein (NESBAKKEN et al. 2003).

FRIES et al. (2002) zeigten in einer Untersuchung von 146 gepoolten Schweinetonsillenproben, dass in 39 (26,7%) Proben *Listeria* spp. nachzuweisen waren. In der Mehrzahl handelte es sich hierbei um *L. monocytogenes*. Die Prävalenz für *L. monocytogenes* lag in einer finnischen Untersuchung von 50 Schweinetonsillen bei 12%, nur bei den 50 in der

gleichen Studie untersuchten Schweinezungen konnten höhere Nachweisraten von 14% ermittelt werden (AUTIO et al. 2000).
Aus einer neueren Untersuchung in fünf finnischen Schlachthöfen durch AUTIO et al. (2004) von 132 Mastschweinen und 139 Muttersauen ist ersichtlich, dass aus Tonsillengewebe von 22% der Mastschweine, aber nur sechs Prozent der Muttersauen *L. monocytogenes* nachzuweisen war. Die unterschiedlich hohen Nachweisraten hängen möglicherweise damit zusammen, dass Sauen gegenüber diesem Erreger wesentlich resistenter sind als Jungtiere (AUTIO et al. 2004). Andere Untersuchungen aus den Vereinigten Staaten von Amerika zeigen niedrigere Nachweisraten für *L. monocytogenes* bei Schlachtschweinen von 7,1% (KANUGANTI et al. 2002). Allerdings wird aus Jugoslawien auch von deutlich höheren Inzidenzen für *L. monocytogenes* in Tonsillen, die bei 45% liegen, berichtet. Dieser höhere Wert im Vergleich zu anderen Untersuchungsergebnissen lässt sich vermutlich damit erklären, dass in Jugoslawien im Gegensatz zu anderen europäischen Staaten die Schweine mit Silage gefüttert werden. Schon geringe Mengen von *L. monocytogenes* im Futter führen offensichtlich dazu, dass sich der Erreger im lymphatischen Gewebe des Oropharyngealtrakts festsetzen kann (BUNCIC 1991).

Bei einer Untersuchung von Schweinetonsillen in Süddeutschland auf das Vorkommen von *Y. enterocolitica* des Bioserotyps 4/O:3 war die Isolationsrate von 60% aus Tonsillen wesentlich höher als jene aus Kot, die bei nur 10% lag. Das bestätigt somit die Kontaminationsgefahr der Schlachttierkörper durch pathogene *Y. enterocolitica* aus den Tonsillen (FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 2001). Auch BUCHER (2001) isolierte bei der Untersuchung von 140 Schweinetonsillen aus 85% der Proben *Y. enterocolitica* 4/O:3. FRIES et al. (2002) fanden in Norddeutschland bei der Untersuchung von Poolproben von Schweinetonsillen in 17 (11,6%) von insgesamt 146 Proben *Y. enterocolitica* 4/O:3. Untersuchungen von Schweinetonsillen, die an Schlachthöfen in Finnland vorgenommen wurden, konnten in 37 bis 56% der Tonsillen *Y. enterocolitica* 4/O:3 nachweisen, was wiederum beweist, dass Tonsillen eine wichtige Kontaminationsquelle für den Schlachttierkörper darstellen (FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 2000, KORTE et al. 2004). In zwei weiteren

Studien aus Dänemark, die 400 bzw. 2218 Schlachtschweine umfassten, war in 149 (37%) bzw. 554 (25%) der Tonsillen *Y. enterocolitica* nachzuweisen (CHRISTENSEN 1987, ANDERSEN et al. 1991). Bei der Untersuchung von 150 Schweinetonsillen in Indien (Trinidad) gelang der Nachweis von *Y. enterocolitica* aus 11 (7,3%) Proben (ADESIYUN und KRISHNAN 1995). Eine italienische Studie, in deren Rahmen 150 Tonsillen untersucht worden sind, kommt zu dem Ergebnis, dass in 22 (14,7%) Proben *Y. enterocolitica* vorhanden war (BONARDI et al. 2003). Je nach Probenumfang konnte aus den Schweinetonsillen der am häufigsten vorkommende Bioserotyp 4/O:3 von *Y. enterocolitica* mit einer Nachweisrate von 7,3% bis hin zu 85% isoliert werden (**Tabelle 1**).

Tabelle 1: Nachweis von *Y. enterocolitica*-Stämmen aus Schweinetonsillen

Herkunftsland	Anzahl der Proben	Prävalenz (%) der pathogenen Bio-/Serotypen (Anzahl positiver Proben)			Referenzen
		4/O:3	**2/O:9**	**2/O:5,27**	
USA	27			29,6% (8)	HANNA et al. 1980
Deutschland	480	8,0% (36)	2,0% (9)		WEBER u. KNAPP 1981
Norwegen	461	32,0% (146)		0,2% (1)	NESBAKKEN u. KAPPERUD 1985
Niederlande	40	10,0% (4)			DE BOER et al. 1986
Dänemark	400	37,0% (149)			CHRISTENSEN 1987
Belgien	54	61,0% (33)			WAUTERS et al. 1988
Finnland	481	36,0% (175)			ASPLUND et al. 1990
Dänemark	2218	25,0% (554)			ANDERSEN et al. 1991
Finnland	120	26,0% (31)	1,0% (1)		MERILAHTI-PALO et al. 1991
Niederlande	86	38,0% (33)		3,0% (3)	DE BOER u. NOUWS 1991
Indien	150	7,3% (11)			ADESIYUN u. KRISHNAN 1995
Kanada	202	28,0% (57)		7,0% (15)	HARIHARAN et al. 1995
Italien	106	41,0% (43)	2,0% (2)		DE GIUSTI et al. 1995
Kanada	291	22,0% (63)	0,7% (2)	0,3% (1)	THIBODEAU et al. 1999
Deutschland	50	60,0% (30)			FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 2001
Deutschland	140	85,0% (119)			BUCHER 2001
Deutschland	146	11,6% (17)			FRIES et al. 2002
Italien	150	14,7% (22)			BONARDI et al. 2003
Finnland	210	56,0% (122)			KORTE et al. 2004

Nach Campylobacter, Listerien und Yersinien können auch die Salmonellen eine Rolle als Kontaminanten von Tonsillen und Zunge bei Schlachtschweinen spielen. Von FRIES et al. (2002) wurden in einer Studie in Norddeutschland 146 Poolproben von Tonsillen auf das Vorkommen von *Salmonella* spp. hin untersucht. Dabei kamen sie zu dem Ergebnis, dass 25 (17,1%) der Tonsillen *Salmonella* spp. enthielten, wobei *S*. Typhimurium dominierte. Dagegen konnten in einer Untersuchung in Bayern aus Schweinetonsillen keine Salmonellen isoliert werden (GREIL 2001). In einer italienischen Studie, die 150 Schlachtschweine umfasste, waren bei 22 (14,7%) Tieren aus den Tonsillen *Salmonella* spp. nachzuweisen (BONARDI et al. 2003). Auch Untersuchungen in Holland berichten von Zahlen ähnlicher Größenordnung. Hier gelten 19,7% der Tonsillen von Schlachtschweinen als mit Salmonellen kontaminiert (SWANENBURG et al. 2001).

1.4 Vorkommen pathogener Bakterien in Schweinekot

Campylobacter spp. gehören in höherer Anzahl als *Salmonella* spp. und *Yersinia* spp. zur normalen Darmflora von Schweinen und anderen Haustieren wie Hund und Katze. So konnten *Campylobacter* spp. in einer Größenordnung von $4x10^3$ KbE/g Darminhalt festgestellt werden (BORCH et al. 1996). Von den landwirtschaftlichen Nutztieren kommt dem Schwein als Träger und Ausscheider von *Campylobacter* spp. eine große Bedeutung zu. Dies belegen schon ältere Untersuchungen aus Deutschland, die zeigen, dass je nach Probenumfang zwischen 33,6% (WEBER et al.1985) und 53,6% (STICHT-GROH 1982) der untersuchten Kotproben *C. coli* enthalten. Das Nachweisniveau von *C. jejuni* aus Schweinekotproben liegt dabei mit 16,4% (STICHT-GROH 1982) bzw. 20,8% (WEBER et al. 1985) deutlich niedriger. Im Vergleich mit anderen domestizierten Haustieren in einer norwegischen Untersuchung weist das Schwein mit 100%, gefolgt von Schaf und Kuh mit 8,1 bzw. 0,8%, die höchste Nachweisrate für *C. coli* aus Kot auf (ROSEF et al. 1983). NESBAKKEN et al. (2003) berichten aus Norwegen ebenfalls von Nachweisquoten bis zu 100% für die beiden *Campylobacter* spp., *C. coli* und

C. jejuni aus dem Gastrointestinaltrakt von Schweinen. Untersuchungen von Schweinekotproben in Dänemark sprechen ebenfalls von einer Isolationsrate für thermophile Campylobacter von nahezu 100%, wobei 98% auf *C. coli* entfallen und die beiden anderen Spezies *C. jejuni* bei nur 0,3% bzw. *C. lari* in keiner Probe nachgewiesen werden konnten (NIELSEN und WEGENER 1997). Kanadische Untersuchungen von Schweinekotproben zeigen ein ähnliches Ergebnis, wobei von 200 untersuchten Kotproben sich 198 (99%) als positiv für *C. coli* erwiesen, wohingegen *C. jejuni* und *C. lari* nur jeweils aus einer Kotprobe zu isolieren waren (MAFU et al. 1989). Indischen Untersuchungen zufolge ergibt sich ein etwas anderes Bild für den Nachweis von *Campylobacter* spp.. Hier fällt bei der Untersuchung von 139 Schweinekotproben auf, dass in nur 72 (51,8%) Proben *C. coli* enthalten waren, allerdings gelang auch hier nur bei 3 (2,2%) Proben der *C. jejuni*-Nachweis (ADESIYUN und KRISHNAN 1995). Eine neuere Untersuchung von PEARCE et al. (2003) in den USA bestätigt auch die Adaptation von *Campylobacter* spp. und hier vor allem von *C. coli* an das Schwein, denn in 89 (79%) von 112 Kotproben wurde *C. coli* und in 1 (<1%) von 112 Kotproben *C. jejuni* nachgewiesen. Die Ausnahme stellt aber eine amerikanische Studie von YOUNG et al. (2000) dar, wobei die Untersuchung von 152 Schlachtschweinen ein umgekehrtes Ergebnis erbrachte, denn den Untersuchern gelang es, häufiger *C. jejuni* (50%) als *C. coli* (41,4%) zu isolieren. Die weltweite Nachweisrate für *C. coli* bewegt sich je nach Probenumfang zwischen 33,6 und 100%, die von *C. jejuni* zwischen 0 und 50% (**Tabelle 2**).

Tabelle 2: Nachweis von *Campylobacter* spp.-Stämmen aus Schweinekotproben

Herkunftsland	Anzahl der Proben	Anzahl positive Proben (%)			Referenzen
		C. coli	***C. jejuni***	***C. lari***	
Deutschland	110	59 (54,0%)	18 (16,0%)	0	STICHT-GROH 1982
Norwegen	114	114 (100%)	0	0	ROSEF et al. 1983
Deutschland	736	247 (34,0%)	153 (21,0%)	0	WEBER et al. 1985
Schweiz	40	20 (50,0%)	0	0	KÜRSTEINER et al. 1985
Canada	200	198 (99,0%)	1 (0,5%)	1 (0,5%)	MAFU et al. 1989
Indien	139	72 (52,0%)	3 (2,2%)	0	ADESIYUN u. KRISHNAN 1995
USA	152	63 (41,0%)	76 (50,0%)	1 (1,5%)	YOUNG et al. 2000
USA	112	89 (79,0%)	1 (1,0%)	0	PEARCE et al. 2003

Listeriose ist eigentlich eine Erkrankung der kleinen Wiederkäuer und Rinder, bei denen eine fäkale Exkretion von *L. monocytogenes* bei über 50% der Tiere festgestellt worden ist (SKOVGAARD und NORRUNG 1989). In Dänemark wurden in den Jahren 1975 bis 1982 insgesamt nur 14 Fälle von Listeriose bei Schweinen im Vergleich zu 666 Fällen bei Schaf und Ziege bzw. 472 Fällen von Listeriose bei Rindern bekannt (SKOVGAARD und NORRUNG 1989). Das lässt erkennen, dass Listerien zwar nur in einem vergleichsweise geringen Umfang, aber durchaus im Kot von Schweinen vorhanden sein können, wie auch eine Untersuchung von AMTSBERG (1979) in Deutschland zeigt, bei der nur in 14 (13,4%) von 96 Schweinekotproben *L. monocytogenes* nachzuweisen waren. Eine Studie aus Jugoslawien, in deren Rahmen 97 Schweinekotproben auf das Vorhandensein von Listerien untersucht worden sind, zeigt eine noch geringere Nachweisrate für *L. moncytogenes*. Aus 46% der Proben konnten *Listeria* spp., aber nur aus 3% der Proben *L. monocytogenes* isoliert werden (BUNCIC 1991). Nach einer dänischen Studie mit 172 Schweinen beherbergen nur 1,7% der untersuchten Schweinekotproben *L. monocytogenes* (SKOVGAARD und NORRUNG 1989). Indische Untersuchungen in Trinidad ermitteln ein ähnliches Ergebnis. Hier konnte nur aus sieben der 139 auf *L. moncytogenes* untersuchten Schweinekotproben ein positiver Nachweis erbracht werden, was ungefähr 5% entspricht (ADESIYUN und KRISHNAN 1995 S.103). KANUGANTI et al.

(2002) haben in keiner ihrer 255 aus dem Rektum von Schweinen entnommenen und untersuchten Kotproben *L. monocytogenes* nachgewiesen. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich die Nachweisrate für *L. monocytogenes* aus Schweinekotproben je nach untersuchter Probenmenge zwischen null und 13,4% bewegt (**Tabelle 3**).

Tabelle 3: Nachweis von *Listeria* spp.-Stämmen aus Schweinekotproben

Herkunftsland	Anzahl der Proben	Anzahl positive Proben (%)			Referenzen
		L. monocytogenes	***L. innocua***	***Listeria* spp.**	
Deutschland	96	14 (13,4%)	0	0	AMTSBERG 1979
Dänemark	172	3 (1,7%)	4 (2,3%)	7 (4,1%)	SKOVGAARD u. NORRUNG 1989
Jugoslawien	97	3 (3,0%)	45 (46,0%)	0	BUNCIC 1991
Indien	139	7 (5,0%)	0	0	ADESIYUN u. KRISHNAN 1995
Japan	5975	46 (0,8%)	0	0	IIDA et al. 1998
USA	255	0	0	0	KANUGANTI et al. 2002

In West- und Nordeuropa ist *Y. enterocolitica* nach den *Salmonella* spp. und *Campylobacter* spp. die dritthäufigste Ursache für eine bakterielle Enteritis des Menschen (VERHAEGEN et al. 1998). Ein hoher Prozentsatz gesunder Schlachtschweine, die als ein natürliches Reservoir pathogener Bioserotypen von *Y. enterocolitica* gelten (SAMMARCO et al. 1997), scheidet sie über den Kot aus (ANDERSEN 1988, ANDERSEN 1991) und stellt somit die wichtigste Quelle für die pathogenen Serotypen O:3 bzw. O:9 von *Y. enterocolitica* in Europa dar (DE BOER und NOUWS 1991, BORCH et al. 1996). In Deutschland schwankt die Nachweisrate für *Y. enterocolitica* 4/O:3 aus Schweinekotproben je nach Probenumfang zwischen drei Prozent (WEBER und KNAPP 1981) und 27,3% (BOCKEMÜHL et al. 1979). Eine neuere Studie von FREDRIKSSON-AHOMAA et al. (2001) kommt zu dem Ergebnis, dass bei deutschen Schlachtschweinen in 10% von 50 getesteten Kotproben *Y. enterocolitica* 4/O:3 vorhanden ist. Weltweit wurden zahlreiche Studien über das Vorkommen von Y. enterocolitica 4/O:3 in Schweinekotproben

durchgeführt. Je nach Probenumfang konnte in unterschiedlicher Höhe ein positiver Nachweis für *Y. enterocolitica* erbracht werden, wobei die Nachweisquote zwischen 0,2 und 27,3% schwankte (**Tabelle 4**).

Tabelle 4: Nachweis von *Y. enterocolitica*-Stämmen aus Schweinekotproben

Herkunftsland	Anzahl der Proben	Prävalenz (%) der pathogenen Bio-/Serotypen (Anzahl positiver Proben)			Referenzen
		4/O:3	**2/O:9**	**2/O:5,27**	
Kanada	544	3,0% (15)		1,0% (5)	TOMA u. DEIDRICK 1975
Dänemark	399	4,0% (17)			PEDERSEN u. WINBLAD 1979
Deutschland	1358	27,3% (371)			BOCKEMÜHL et al. 1979
Deutschland	1206	3,0% (32)	0,1% (1)		WEBER u. KNAPP 1981
Deutschland	215	4,2% (9)			WUTHE et al. 1982
Großbritannien	1300	0,2% (2)			HUNTER u. HUGHES 1983
Spanien	110	5,0% (6)			GURGUI FERRER et al. 1987
Japan	9423	11,8% (1114)			MARYAMA 1987
Dänemark	1458	24,7% (360)			ANDERSEN 1988
Japan	1200	4,0% (45)		0,1% (1)	FUKUSHIMA et al. 1989
Kanada	200	13,0% (25)		1,0% (2)	MAFU et al. 1989
Niederlande	100	16,0% (16)			DE BOER u. NOUWS 1991
Indien	141	16,3% (23)			ADESIYUN u. KRISHNAN 1995
Kanada	291	6,0% (17)			THIBODEAU et al. 1999
Kanada	1420	17,0% (235)	0,6% (9)	2,0% (25)	LETELLIER et al. 1999
Deutschland	50	10,0% (5)			FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 2001
Italien	150	4,0% (6)			BONARDI et al. 2003

Klinisch gesunde Schweine sind Träger und ein signifikantes Reservoir von pathogenen *Salmonella*-Stämmen, die für lebensmittelbedingte Erkrankungen des Menschen verantwortlich zu machen sind (LETELLIER et al. 1999). In Deutschland wurden im Rahmen zweier Studien von BOTH et al. (1982) ein bzw. 8,4% für *Salmonella* spp. positive Schweinekotproben gefunden. KÄSBOHRER et al. (2000) fanden nur noch in 3,7% von 11.929 untersuchten Kotproben Salmonellen. Eine Untersuchung von GREIL (2001) erbrachte eine Nachweisrate für *Salmonella* spp. aus Schweinekot, die unter 1% lag.

In zahlreichen Untersuchungen konnten weltweit *Salmonella* spp. aus Schweinekot isoliert werden, wobei in Europa die Nachweisquoten je nach Probenumfang zwischen einem Prozent und 36,7% schwankten (**Tabelle 5**). In einer kanadischen Studie von 1989 liegt die Nachweisrate für *Salmonella* spp. aus Schweinkot bei 18% (MAFU et al. 1989). Dieser Untersuchung steht eine Studie gegenüber, die 10 Jahre später wiederum in Kanada angefertigt wurde und dabei eine deutlich niedrigere Nachweisrate für *Salmonella* spp. von nur noch 5,2% eruierte (LETELLIER et al. 1999). In den USA konnte eine im Vergleich zu Kanada deutlich höhere Prävalenz von 24,6% festgestellt werden (DAVIES et al. 1997).

Tabelle 5: Nachweis von *Salmonella* spp.-Stämmen aus Schweinekotproben

Herkunftsland	Anzahl der Proben	positive Proben	Prozent (%)	Referenzen
Schweiz	1140	14	1,2	FEY u. VALETTE 1961
Deutschland	1407	14	1,0	BOTH et al. 1982
Deutschland	296	25	8,4	BOTH et al. 1982
Kanada	200	36	18,0	MAFU et al. 1989
Dänemark	13468	832	6,2	BAGGESEN et al. 1996
USA	2288	565	24,6	DAVIES et al. 1997
Kanada	1420	61	5,2	LETELLIER et al. 1999
Deutschland	11929	445	3,7	KÄSBOHRER et al. 2000
Niederlande	925	237	25,6	SWANENBURG et al. 2001
Italien	150	55	36,7	BONARDI et al. 2003
Belgien	345	65	19,0	BOTTELDOORN et al. 2003
Großbritannien	2509	578	23,0	DAVIES et al. 2004

1.5 Kreuzkontaminationen

Die Schweineschlachtung bietet sowohl durch Manipulationen, wie zum Beispiel durch die Messer und Hände des Personals, bei der Fleischuntersuchung am Schlachttierkörper selbst als auch am Schlachtband zwischen zwei nebeneinander hängenden Tierkörpern bzw. Tierkörperhälften sowie ausgehend von der Umgebung zahlreiche Möglichkeiten für

Kreuzkontaminationen (BORCH et al. 1996, SWANENBURG et al. 2001, BOTTELDOORN et al. 2003). Vor allem die Messer des Personals und die Säge, die die Tierkörper der Länge nach zerteilt, stellen eine Kontaminationsquelle dar (BOTTELDOORN et al. 2003). Die Hauptkontaminationsquelle für *Campylobacter* spp.*, Salmonella* spp. und *Y. enterocolitica* stellt das Schwein selbst dar. Denen gegenüber stehen die *Listeria* spp. und hier vor allem *L. monocytogenes*, welche aus der Umgebung stammen und auf diese Weise die Tierkörper kontaminieren (BORCH et al. 1996). Schon durch Luftbewegungen in der Schlachthalle können Mikroorganismen übertragen werden. Die Luft repräsentiert ein ideales Vehikel für Bakterien, die zur Verunreinigung von Fleisch während der Schlachtung und Herstellung von Fleischprodukten beitragen (RAHKIO und KORKEALA 1997). Normalerweise ist die Muskulatur von gesunden, lebenden Tieren frei von Krankheitserregern. Allerdings kann es bei der Schlachtung zu unerwünschten Kontaminationen kommen, die aber unvermeidbar sind, wenn lebende Tiere zu Lebensmitteln für Menschen verarbeitet werden (SAMMARCO et al. 1997). Die Mikroorganismen werden von einem kontaminierten Tierkörper auf die Hände und Arbeitsgeräte des Schlachthofpersonals übertragen und gelangen dann von dort auf die nachfolgenden Schlachttierkörper (SAMMARCO et al. 1997). Außerdem kann als gesichert gelten, dass die Fußböden der Schlachthalle, Kühlräume sowie die Arbeitstische pathogene Keime wie *Salmonella* spp., *Y. enterocolitica* und *L. monocytogenes* beherbergen können und somit ein striktes Reinigungs- und Desinfektionsregime für die Schlachthofeinrichtung vonnöten ist (NESBAKKEN 1992, SAMMARCO et al. 1997, AUTIO et al. 2000, FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 2000). Werkzeuge und Maschinen verteilen Bakterien auf andere Bereiche der Schlachttierkörper und das Geschlinge; das beweist, wie wichtig auch die Desinfektion der Arbeitsgeräte nach jeder Karkasse ist, um Kreuzkontaminationen vermeiden zu können (NESBAKKEN 1988, FUKUSHIMA et al. 1989, FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 2000).

1.5.1 Kreuzkontaminationen durch Schweinetonsillen

DEVRIESE et al. (1994) berichten vom Vorkommen von für Menschen apathogenen Bakterien, wie vor allem von *Streptococcus* spp. mit *Streptococcus suis*, *Streptococcus dysgalactiae* und *Streptococcus porcinus*, und im geringeren Umfang *Enterococcus* spp., wie *Enterococcus faecalis* sowie *Enterococcus faecium* in Schweinetonsillen. In mehreren Untersuchungen wurde gezeigt, dass die Tonsillen und die Zunge wichtige Kontaminationsquellen für das Geschlinge und den gesamten Tierkörper mit pathogenen *Yersinia*-Stämmen darstellen, weil sie etwa zehnmal häufiger aus Zungen und Tonsillen als aus Kot bzw. aus Zäkuminhalt von Schweinen isoliert werden konnten (ANDERSEN 1988, FUKUSHIMA et al. 1989, VERHAEGEN et al. 1998, BUCHER 2001, FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 2001). Die Verbreitung von pathogenen Bakterien wie *Y. enterocolitica* 4/O:3 aus den Tonsillen auf Zunge, Herz, Lunge, Zwerchfell und Leber erfolgt dann, wenn alles zusammen entfernt wird und an einem Haken hängt (FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 2000, BUCHER 2001). Selbst wenn die Tonsillen nicht in direkten Kontakt mit dem Geschlinge kommen, können *Y. enterocolitica* sowie andere pathogene Bakterien durch Blut bzw. herunterlaufendes Spritzwasser, von den Tonsillen und von der Maulhöhle ausgehend, weiter auf den Tierkörper und die Schlachthofumgebung verbreitet werden (NESBAKKEN 1988, NIELSEN und WEGENER, 1997, FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 2000). *L. monocytogenes* wird direkt oder indirekt über die Tonsillen auf der Schlachthofeinrichtung verbreitet. Das führt dann unweigerlich zu einer Kontamination der Tierkörper (AUTIO et al. 2004). Eine weitere Möglichkeit der Kreuzkontamination stellt die Untersuchung des Kopfes dar. Dieser Vorgang repräsentiert ebenso ein Risiko für Kreuzkontaminationen mit *Y. enterocolitica* 4/O:3, wobei eine Übertragung dieses Keims von den Tonsillen bei der vorgeschriebenen Entfernung des lymphatischen Rachenringes durch die Messer und Hände der Fleischkontrolleure auf andere Bereiche des Tierkörpers nicht auszuschließen ist (NESBAKKEN 1988, BÜLTE et al. 1991, NESBAKKEN et al. 2003). WAUTERS (1979) konnte in einer Untersuchung aufzeigen, in deren Rahmen er *Y. enterocolitica* in bis zu 96,5% der Schweinezungen aus Metzgereien

verschiedener Regionen Belgiens nachgewiesen hat, dass die Übertragung des Erregers auf die Massetermuskulatur bei der Entfernung von Zunge und vor allem der Tonsillen erfolgte.

1.5.2 Kreuzkontaminationen durch Schweinekot

Im Schweinekot sind zahlreiche für Menschen apathogene Bakterien vorhanden. Sowohl gramnegative Bakterien, wie *Bacteroides ruminicola*, *Fusobacterium prausnitzii*, *Gemminger formicilis* und *Selenomonas ruminantium* als auch grampositive Bakterien, wie *Bifidobacterium adolescentis*, *Eubacterium aerofaciens*, *Lactobacillus acidophilus*/*fermentus* und *Streptococcus* spp. sind aus Kot von Schweinen zu isolieren (SALANITRO et al. 1977, RUSSELL 1979, ROBINSON et al. 1984). Laut einer Studie von DEVRIESE et al. (1994) gehören dazu auch Fäkalkeime aus der *Enterococcus* spp., wie *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* und *Enterococcus hirae* sowie *Streptococcus. suis*, *Streptococcus alactolyticus* und *Streptococcus hyointestinalis,* die der *Streptococcus* spp. zugeordnet werden. In diesem Zusammenhang darf auch nicht die große Gruppe der *Enterobacteriaceae*, zu denen neben *E. coli* und den coliformen Keimen auch viele humanpathogene Bakterien gehören, vergessen werden.

Die Schweineschlachtung bietet zahlreiche Möglichkeiten der Kontamination des Fleisches mit humanpathogenen Mikroorganismen, wie den Zoonoseerregern *C. coli*. *C. jejuni*, *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* und *Salmonella* spp., die ebenfalls aus dem Darmtrakt von Schlachtschweinen zu isolieren sind (MAFU et al. 1989, NIELSEN und WEGENER 1997, KANUGANTI et al. 2002, SVOBODA und JÄGGI 2002, WITTENBRINK 2002, BONARDI et al. 2003, NESBAKKEN et al. 2003). Hierbei nimmt die Eviszeration eine Schlüsselposition für Kreuzkontaminationen im Verlauf des Schlachtprozesses ein, da bei der Entfernung des Darmkonvoluts ein Risiko besteht, dass dieses beschädigt und so mit pathogenen Keimen belastetes Kotmaterial über den Tierkörper verteilt und in den weiteren Herstellungsprozess sowie in das fertige Produkt verschleppt werden kann

(BORCH et al. 1996, AUTIO et al. 2000, KANUGANTI et al. 2002, BOTTELDOORN et al. 2003, PEARCE et al. 2003). Eine untergeordnete Rolle bei der Kontamination des Schlachttierkörpers stellt die Entborstung dar. Die in Schweinekot gefundenen pathogenen *Yersinia*-Stämme haften sehr gut auf der Haut, weshalb sie häufig über eine durch kotverschmutzte Haut kontaminierte Entborstungsmaschine auf die anderen Schlachttierkörper verteilt werden können und ebenso bei der Kontamination mit Fäkalkeimen und anderen pathogenen Bakterien wie z.B. Campylobacter spp. eine nicht unerhebliche Rolle spielen (FUKUSHIMA et al. 1989, GILL und BRYANT 1993, PEARCE et al. 2003).

1.6 Kontaminationsprophylaxe

Die Schweineschlachtung stellt, wie bereits angedeutet, einen Vorgang mit vielen Gelegenheiten der Kontamination des Schlachttierkörpers mit pathogenen Bakterien dar (BORCH et al. 1996). Die meisten Kontaminationsquellen während der Schlachtung wie die fäkalen und pharyngealen Kontaminationsmöglichkeiten sind direkt vom Schwein abhängig (BORCH et al. 1996). Das Umschneiden des Rektums und die Entfernung des Geschlinges stellen Arbeitsschritte dar, die dazu führen, dass pathogene Bakterien vom Darm, aus der Maulhöhle und insbesondere den Tonsillen auf den gesamten Tierkörper verteilt werden können (CHRISTENSEN 1987, BONARDI et al. 2003). Um die Kontamination des Tierkörpers nach dem Herauslösen des Rektums zu vermeiden, da gerade hierbei regelmäßig Kot auf den Tierkörper verbreitet wird, sollte ein Plastikbeutel zum Verschluss des Rektums verwendet werden (NIELSEN und WEGENER 1997). In den skandinavischen Ländern Dänemark, Norwegen und Schweden wird diese Methode angewendet, und es konnte gezeigt werden, dass dadurch die Verbreitung von *Y. enterocolitica* 4/O:3 erheblich zu reduzieren war (ANDERSEN 1988, NESBAKKEN et al. 1994, BORCH et al. 1996, GILL und JONES 1997, NIELSEN und WEGENER 1997). Bei Verwendung des Plastikbeutels waren weniger als 1% der Karkassen kontaminiert, wohingegen

bei Verzicht dieser Maßnahme in Norwegen bei 11,7 Prozent und in Schweden bei 8,3 Prozent der Schweineschlachttierkörper *Y. enterocolitica* zu isolieren war (NESBAKKEN et al. 1994, NESBAKKEN und SKJERVE 1996). Ebenso konnte in einer dänischen Untersuchung aufgezeigt werden, wie sinnvoll die Verwendung eines Plastikbeutels ist. Allerdings reduzierte die zusätzliche Verwendung eines sogenannten „Bung Cutters“ beim Herauslösen des Rektums im Vergleich zur manuellen Eviszeration oder der alleinigen Verwendung eines Plastikbeutels die Kontaminationsrate um ein Vielfaches (ANDERSEN 1988). Darüber hinaus wurden auch technische Lösungen entwickelt, die das Herauslösen des Rektums ermöglichen, ohne dabei den Schlachttierkörper zu kontaminieren. Hierbei wird ein gefrorener Stab vor dem Herauslösen des Rektums in den Anus eingeführt und dieser somit verschlossen (NESBAKKEN 1992).

Bei der Entfernung der Tonsillen kann es vorkommen, dass Tonsillenreste übersehen werden und somit von ihnen die Verbreitung von pathogenen Mikroorganismen auf die Muskulatur ausgeht (BONARDI et al. 2003). Auch bei Anwendung der Zwei-Messer-Methode durch die Schlachthofmitarbeiter und Fleischkontrolleure ist, ausgehend von den Tonsillen, die Verteilung von pathogenen Mikroorganismen auf Geschlinge, Schlachttierkörper und Umgebung möglich, weshalb der Kopf zusammen mit Tonsillen und Zunge vor der Eviszeration abgesetzt und die Untersuchung des Kopfes einschließlich Tonsillen und Zunge in einem separaten Raum durchgeführt werden sollten (NESBAKKEN 1992, BORCH et al. 1996, GILL und JONES 1997, FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 2000, FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 2001, PETERSEN et al. 2002). Der europäische Gesetzgeber widerspricht dem aber, weil der Kopf einschließlich Tonsillen und Zunge im Zusammenhang mit dem Schlachttierkörper zu untersuchen ist (FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 2000). CHRISTENSEN und LUTHJE (1994) entwickelten eine modifizierte Ausschlachttechnik, in deren Rahmen die Zunge und die Tonsillen im Kopf verbleiben und bei der der Kopf während des Schlachtprozesses nicht zerteilt wird. Somit ist eine Reduktion der Verbreitung von pathogenen Bakterien wie *Y. enterocolitica* auf Tierkörper, Leber und Zwerchfell zu vermeiden. Außerdem sollten wirksame Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen der

Arbeitswerkzeuge und Gegenstände, die bei ihrem Gebrauch mit Zoonoseerregern kontaminiert werden können, nach jedem Schlachttierkörper eingehalten werden, um eine Kontamination der Arbeitsgeräte und somit eine Kreuzkontamination zu unterbinden (NIELSEN und WEGENER 1997, AUTIO et al. 2000, FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 2000, SWANENBURG et al. 2001). Eine weitere Möglichkeit der Kontaminationsvermeidung ist der Verzicht des Anschneidens der Lymphknoten, indem man sich nur auf die visuelle Untersuchung des Kopfes beschränkt (PETERSEN et al. 2002). Nach FRIES et al. (2002) ist es unbedingt erforderlich, dass die Tonsillen, die nachweislich ein potentielles Risiko für die Übertragung von Zoonoserregern darstellen, separat mit einem separaten Instrumentarium entfernt werden müssen, so wie es die letzte Novellierung der Fleischhygieneverordnung (FlHV) vorsieht. Die Einführung einer Dampfpasteurisation, das Waschen der Tierkörper mit heißem Wasser oder die Sprühanwendung von organischen Säuren vor dem Prozessschritt der Eviszeration stellen weitere Alternativen dar, um Kreuzkontaminationen, die von mit Fäkalkeimen kontaminierter Haut ausgehen, zu vermeiden (FUKUSHIMA et al. 1989, WOLTERSDORF 1994, WARRINER et al. 2002).

2. Hygieneindikatoren

2.1 Die aerobe Gesamtkeimzahl

Die aerobe Gesamtkeimzahl (GKZ), die nach § 35 LMBG L 06.00-19 bestimmt wird, ist so definiert, dass darunter alle mesophilen und aeroben Mikroorganismen in einer bestimmten Menge von Probenmaterial zu verstehen sind. Sie dient dazu, eine allgemeine Aussage zum hygienisch-mikrobiologischen Zustand eines Lebensmittels machen zu können (PRÄNDEL et al. 1988). Nach SCHMIDHOFER (1988) gibt die Gesamtkeimzahl über die Menge aerober, „lebensfähiger Mikroorganismen in einer bestimmten Probenmenge“ Auskunft. Allerdings ist sie nicht in der Lage, eine Aussage über die Zusammensetzung der Mikroorganismen hinsichtlich ihrer Gattung und Spezies zu treffen (MARRIOT 1992), was bedeutet, dass ihr lediglich eine Indikatorfunktion zukommt (KLEER 2004a).

Je höher die Gesamtkeimzahl ist, umso höher ist die Wahrscheinlichkeit einzustufen, dass Verderbniserreger und deren toxische und mikrobielle Stoffwechselprodukte vorkommen (FEHLHABER 1992). Jedoch kann im Gegenzug nicht davon ausgegangen werden, dass bei niedriger Gesamtkeimzahl keine pathogenen Bakterien anwesend sind (KLEER 2004a). Beim Vorkommen hoher Gesamtkeimzahlen besteht der Verdacht auf Hygienemängel bzw. Behandlungsfehler, wobei aber die Beurteilung eines Lebensmittels anhand der Gesamtkeimzahl immer unter Berücksichtigung der Art und Herstellungsweise zu erfolgen hat, da bei Produkten wie Rohwurst und Hackfleisch durchaus Werte zwischen 10^5 und 10^7 KbE/g normal sind (FEHLHABER 1992). Nach KLEER (2004a) gilt eine Gesamtkeimzahl in einer Höhe ab 10^8 KbE/g als erhöht und stellt einen Hinweis auf mangelnde Hygiene im Fleischgewinnungs- bzw. Verarbeitungsprozess dar. Schon SCHELLHAAS (1982) ermittelte aerobe Gesamtkeimzahlen zwischen 10^4 und 10^8 KbE/g und auch KARCHES und TEUFEL (1988) haben in Hackfleischproben Gesamtkeimzahlen in der Größenordnung von $2{,}9 \times 10^5$ bis $4{,}9 \times 10^7$ KbE/g gefunden, wohingegen andere Untersuchungen im Mittel Gesamtkeimzahlen von $2{,}1 \times 10^5$ KbE/g (KÖPKE und REUTER 1995) und von $5{,}4 \times 10^4$ KbE/g

(SCHALCH et al. 1996) eruierten. Bei der Untersuchung von rohem, unbehandeltem Schweinefleisch konnte MAHLER (2004) eine Gesamtkeimzahl zwischen 1,2 x 10^3 und 6,7 x 10^3 KbE/g feststellen. Eine Untersuchung von Schweinekopffleisch erbrachte Gesamtkeimzahlen von 3,3 x 10^4 KbE/g (LAUBACH et al. 1998 S.250).

2.1.1 Die aerobe Gesamtkeimzahl in der Schweineschlachtung

In einer Studie von GILL und JONES (1997) konnte aufgezeigt werden, dass Schweinezungen auf ihrer Oberfläche eine Gesamtkeimzahl von 9,5 x 10^4 KbE/cm^2 aufweisen und somit die Maulhöhle von Schweinen eine Hauptkontaminationsquelle des Schlachttierkörpers mit pathogenen Bakterien und Verderbniserregern darstellen kann. Im Rahmen der Schlachtung kommt es insbesondere bei der Entborstung zur Kontamination der Tierkörperoberflächen mit pathogenen Bakterien und Verderbniserregern (GILL und BRYANT 1992, 1993). Im Detritus der Entborstungsmaschine können Gesamtkeimzahlen zwischen 8,5 x 10^7 und 9,3 x 10^8 KbE/g nachgewiesen werden. Auf den Schlachttierkörperoberflächen liegen die Keimzahlen nach der Entborstung zwischen 1,2 x 10^3 und 7,9 x 10^4 KbE/cm^2 (GILL und BRYANT 1993).

Die Einführung einer Pasteurisierung der Oberflächen von Schlachttierkörpern kann die Gesamtkeimzahl von 3,4 x 10^3 KbE/cm^2 nach der Entborstung auf 1,3 x 10^1 KbE/cm^2 nach Pasteurisierung und vor dem Absetzen des Kopfes absenken. Allerdings werden die Tierkörper durch das Absetzen des Kopfes rekontaminiert und weisen danach eine auf 9,8 x 10^2 KbE/cm^2 gestiegene Gesamtkeimzahl auf; sie ist also nur unwesentlich niedriger, als wenn auf den Pasteurisierungsschritt verzichtet wird (BRYANT et al. 2003). Wird jedoch der Pasteurisierungsschritt erst nach Entborstung und Abtrennung des Kopfes durchgeführt, liegt die Gesamtkeimzahl mit 8,7 x 10^1 KbE/cm^2 etwa ein Drittel niedriger (BRYANT et al. 2003).

2.2 Bestimmung der *Escherichia coli*-Zahl

2.2.1 *E. coli*

E. coli ist eine Spezies der Gattung *Escherichia* und gehört zu der Familie der *Enterobacteriaceae*. *E. coli* ist ein gramnegatives, oxidasenegatives, plumpes bis kokkoides 1,1 bis 1,5 x 2,0 bis 6,0 µm großes, fakultativ anaerobes, nicht sporenbildendes, einzeln oder paarweise gelegenes und meistens bekapseltes Stäbchen (BISPING und AMTSBERG 1988). Die Spezies *E. coli* fermentiert Laktose und kann die Kohlenhydrate Glukose (mit Gasbildung), Arabinose, Maltose, Mannit, Sorbit und Trehalose spalten (BISPING und AMTSBERG 1988, SELBITZ 2002c). Als ein natürlicher Bewohner des Dickdarms von Mensch und Tier kommt *E. coli* in den Fäzes mit einer Größenordnung von 10^5 bis 10^9/g vor (BAUMGART 1999). Im allgemeinen erfolgt die Übertragung auf dem Weg Mensch/Tier – Lebensmittel – Mensch. Insbesondere bei hygienewidrigem Verhalten in der Lebensmittelproduktion können so Einrichtungsgegenstände und Lebensmittel kontaminiert werden, weshalb der Erreger vor allem in den Gebieten weit verbreitet ist, in denen Mängel bei Personal- und Betriebshygiene die Kontamination mit fäkalen Verunreinigungen ermöglichen (BÜLTE 2004a).

Die pathogenen Stämme von *E. coli* lassen sich aufgrund ihrer Virulenzeigenschaften in Kategorien einteilen (KRÄMER 2002, SELBITZ 2002c, BÜLTE 2004a):

- enteropathogene *E. coli* (EPEC)
- enteroinvasive *E. coli* (EIEC)
- enterotoxinbildende *E. coli* (ETEC)
- enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC)

EPEC verursachen bei Säuglingen und Kleinkindern sowie Erwachsenen nach einer Inkubationszeit von 17 bis 72 Stunden lebensmittelbedingte Gastroenteritiden, die mit heftigen Durchfällen vergesellschaftet sind (KRÄMER 2002, BÜLTE 2004a). Vor allem in den Entwicklungsländern sind enteropathogene *E. coli* als eine der häufigsten Ursachen für

Durchfallerkrankungen bei Kleinkindern verantwortlich zu machen (STOLLE und MÄRTLBAUER 1995).

EIEC-Infektionen entwickeln sich innerhalb von 8 bis 24 Stunden nach Aufnahme der Erreger. Das schwere Krankheitsbild mit den ruhrähnlichen Durchfällen gleicht stark dem der Shigellose. Die Erreger dringen in die Schleimhaut von Ileum, Caecum und Colon ein, in der es dann zur Bildung geschwüriger Veränderungen und zu Granulozyten-Infiltrationen kommt (KRÄMER 2002, BÜLTE 2004a). Enteroinvasive *E. coli* sind gelegentlich Verursacher von Reisediarrhöen auf dem Balkan und in Südostasien (BÜLTE 2004a).

ETEC sind die eigentlichen Erreger der Reisediarrhöe, die sich in Form von choleraähnlichen Durchfällen mit Bauchkrämpfen, Erbrechen, aber ohne Fieber äußert (KRÄMER 2002, BÜLTE 2004a). Die wässrigen Durchfälle werden durch ein hitzelabiles Toxin (LT), das die Kryptenzellen zur Sekretion anregt und so zu starken Flüssigkeitsansammlungen im Dünndarmlumen führt sowie durch ein hitzestabiles Toxin (ST), welches die Absorption der Flüssigkeitsmengen verhindert, verursacht (KRÄMER 2002, BÜLTE 2004a). Die Erkrankung ist in vielen tropischen Gegenden endemisch (BÜLTE 2004a), Es existieren aber auch Berichte über Ausbrüche in Europa, Japan und den USA, die auf den Genuss kontaminierter Lebensmittel zurückgehen (STOLLE und MÄRTLBAUER 1995).

EHEC-Infektionen, die weltweit vorkommen, äußern sich mit dem Krankheitsbild einer hämorrhagischen Colitis und gehen mit kolikartigen Bauchkrämpfen, Brechreiz und anfangs wässrigen, später profus blutigem Durchfall einher. Die Inkubationszeit beträgt drei bis neun Tage (BÜLTE 2004a). Bereits 10 bis 100 Erreger können eine Erkrankung auslösen (KRÄMER 2002). Bei bis zu 20 Prozent der Fälle treten extraintestinale Komplikationen wie das hämolytisch-urämische Syndrom (HUS) mit terminaler Nierenschädigung, vor allem bei Kleinkindern, oder die thrombotisch-thrombozytopenischen Purpura (TTP) bei älteren Erkrankten auf (KRÄMER 2002, SELBITZ 2002c, BÜLTE 2004a). Ursache für die Pathogenität des Erregers ist unter anderem die Fähigkeit zur Bildung von Cytotoxinen. Die Cytotoxine werden aufgrund ihrer Wirkung auf Kulturen von Affennierenzellen (Verozellen) als Verotoxine (VT1-, VT2- und VT3-Subtypen) oder wegen der

strukturellen und biologischen Gemeinsamkeiten mit dem Shigatoxin von *Shigella dysenteriae* Typ I auch als Shiga-like-Toxine (SLT) oder Shigatoxine (Stx) bezeichnet (KRÄMER 2002). Von Bedeutung sind wegen ihrer Virulenz meist *E. coli* der Serogruppe O157:H7 und O157:H7- (BÜLTE 2004a). Wichtigste Infektionsquellen für den Menschen sind rohe oder nicht durchgegarte Rindfleischprodukte sowie Rohmilch bzw. Rohmilchprodukte. Allerdings kann der Erreger auch über Kontakt- und Schmierinfektionen übertragen werden (KRÄMER 2002, BÜLTE 2004a).

2.2.2 Die *E. coli*-Zahl

Die Spezies *E. coli* stellt einen obligaten Darmbewohner dar und ist als Hygieneindikator für die fäkale Verunreinigung eines Lebensmittels anzusehen. Sie kann anhand § 35 LMBG L 06.00-36 bestimmt werden. Der Nachweis von *E. coli* schließt auch andere potentielle Gefahren, wie die Anwesenheit von pathogenen Bakterien, Viren oder Parasiten mit ein und ist außerdem ein Hinweis auf mangelhafte Betriebs- bzw. Personalhygiene (KRÄMER 2002, KLEER 2004a). Bei Untersuchungen von Hackfleisch konnten *E. coli*-Gehalte im Bereich von 10^3 KbE/g (TEUFEL et al. 1982) bzw. von 1,7 x 10^1 KbE/g (SCHALCH et al. 1996) nachgewiesen werden. Die Untersuchung von Schweinekopffleisch erbrachte *E. coli*-Zahlen im Bereich von 1,8 x 10^2 KbE/g (LAUBACH et al. 1998).

2.2.3 Die *E. coli*-Zahl in der Schweineschlachtung

Eine Untersuchung von Schweinezungen zeigt, dass die *E. coli*-Zahl bei 1,5 x 10^2 KbE/100 cm^2 liegt, und macht deutlich, dass die Maulhöhle durchaus eine Kontaminationsquelle für pathogene Bakterien und Verderbniserreger, die die Schlachttierkörper kontaminieren können, darstellt (GILL und JONES 1997). Die Bakterien, die auf der Haut angesiedelt sind, werden während des Brühvorgangs abgetötet, aber es kommt zu einer erneuten Kontamination während der Entborstung (GILL und JONES 1997). Im Detritus von

Entborstungsmaschinen sind *E. coli*-Zahlen in der Größenordnung zwischen 1,9 x 10^4 und 1,1 x 10^5 KbE/g nachzuweisen; das erklärt, weshalb auf den Tierkörperoberflächen nach der Entborstung *E. coli*-Zahlen im Bereich zwischen 9,0 x 10^1 und 4,3 x 10^3 KbE/cm^2 festzustellen sind (GILL und BRYANT 1993 S.341). Nach einer Untersuchung von BRYANT et al. (2003) sind entborstete Schlachttierkörper auf ihrer Oberfläche relativ stark in einer Höhe von 4,1 x 10^3 KbE/100 cm^2 mit *E. coli* kontaminiert. Dieser Kontaminationsgrad kann durch Einführung einer Pasteurisierung nach der Entborstung und vor dem Absetzen des Kopfes so weit abgesenkt werden, dass keine *E. coli*-Bakterien mehr nachzuweisen waren. Allerdings werden die Tierkörper durch das Absetzen des Kopfes rekontaminiert und weisen dann eine auf 1,6 x 10^2 KbE/100 cm^2 gestiegene *E. coli*-Zahl auf (BRYANT et al. 2003). Kommt die Pasteurisierung jedoch erst nach Entborstung des Tierkörpers und Abtrennung des Kopfes zum Einsatz, so sind Werte von *E. coli* in Höhe von 8,0 KbE/100 cm^2 zu erwarten (BRYANT et al. 2003).

3. Pathogene Mikroorganismen

3.1 *Campylobacter coli* und *Campylobacter jejuni*

3.1.1 Allgemeines

Campylobacter, *Arcobacter* und *Helicobacter* zählen gemeinsam mit der Gattung *Spirilium* zur rRNA-Superfamilie VI der Klasse Proteobacteria (SELBITZ 2002a). Die Gattung *Campylobacter* umfasst die für die Veterinärmedizin wichtigsten Vertreter der mikroaerophilen, beweglichen, schraubenförmigen, gramnegativen Bakterien und bildet zusammen mit der Gattung *Arcobacter* die Familie der *Campylobacteraceae* (SELBITZ 2002a). Insgesamt umfasst die Gattung *Campylobacter* 15 Spezies, darunter die für Durchfallerkrankungen des Menschen verantwortlich zu machenden Spezies *C. jejuni*, *C. coli* und *C. lari*, die sogenannten thermotoleranten *Campylobacter* spp. (PEARCE et al. 2003). In Europa und Nordamerika gehören Bakterien dieser Gattung zu den häufigsten Ursachen von lebensmittelbedingten Durchfallerkrankungen des Menschen (WITTENBRINK 2002).

3.1.2 Morphologie und kulturelle Eigenschaften

Bakterien der Gattung Campylobacter sind gramnegative, gebogene oder spiralig gewundene schlanke, nicht sporenbildende Stäbchen von 0,5 bis 5 µm Länge, die aufgrund einer monopolaren oder bipolaren, monotrichen Begeißelung eine korkenzieherartige Beweglichkeit aufweisen, nur etwa 5 bis 15% des normalen Sauerstoffpartialdrucks tolerieren und somit mikroaerophil sind (KÜRSTEINER et al. 1985, KIST 1994, KETLEY 1997, YOUNG et al. 2000, WITTENBRINK 2002, BÜLTE 2004b). Ihr Temperaturoptimum liegt im Bereich von +30°C bis +42°C (SELBITZ 2002a). Diese Eigenschaft wird zur Differenzierung zwischen den humanpathogenen, thermotoleranten und bei +42°C wachsenden *Campylobacter* spp. wie *C. jejuni* und *C. coli* und den bei Wiederkäuern vorkommenden genitopathogenen Unterarten bei +30°C wachsenden wie *C. fetus* herangezogen (WITTENBRINK 2002).

Kohlenhydrate können sowohl oxidativ als auch fermentativ nicht gespalten werden, wohingegen alle Vertreter in der Lage sind, Oxidase zu bilden und eine positive Katalasereaktion zeigen (KIST 1994, SELBITZ 2002a). Ein sicheres Unterscheidungsmerkmal zwischen *C. jejuni* und *C. coli* ist die Produktion von Glyzin als Endprodukt der Hydrolyse von Hippurat, wozu *C. coli* im Gegensatz zu *C. jejuni* nicht in der Lage ist (STICHT-GROH 1982, CLOAK und FRATAMICO 2002).

3.1.3 Vorkommen und geographische Ausbreitung

C. jejuni, *C. coli* und *C. lari* besiedeln den Darmtrakt von Tieren und können Lebensmittel tierischen Ursprungs kontaminieren, wobei gerade diese Spezies von Campylobacter in unterschiedlicher Häufigkeit verantwortlich für Durchfallerkrankungen des Menschen sind (YOUNG et al. 2000). Campylobacter bedingte Erkrankungen des Menschen lassen sich zu 80 bis 90% auf *C. jejuni* und nur zu 5 bis 10% auf *C. coli* zurückführen (KETLEY 1997, GUEVREMONT et al. 2004). Infektionen durch Bakterien der Gattung Campylobacter sind weltweit verbreitet. Insbesondere durch *C. jejuni*, den humanpathogensten Erreger dieser Gattung, der etwa 70% der gemeldeten Fälle in Deutschland ausmacht (ROBERT KOCH INSTITUT 1999a), werden bakterielle lebensmittelbedingte Enteritiden in vielen Industrieländern Europas, in Nordamerika und in Australien verursacht (SKIRROW 1991, KETLEY 1997, BROMAN et al. 2002, WITTENBRINK 2002). An einer Campylobacter-Enteritis können laut demographischer Verteilung Personen jeder Altersklasse erkranken, aber typischerweise sind Kinder unter vier Jahren mit einer Inzidenzrate von 74 bis 168 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner und junge Erwachsene im Alter zwischen 20 und 29 Jahren mit Inzidenzen von 87 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner betroffen (SKIRROW 1991, SCHMID 2002, ROBERT KOCH INSTITUT 2004b). Die jährliche Inzidenzrate weist regional bedingte Unterschiede auf und lag 2003 im Bundesdurchschnitt bei 58 Fällen pro 100.000 Einwohner und ist im Jahr 2004 auf 67 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner angestiegen (**Tabelle 6**) (ROBERT KOCH INSTITUT 2004b, ROBERT KOCH INSTITUT 2005). Im Vergleich zu den Jahren 2001

und 2002, als in Deutschland jährlich 54.607 bzw. 55.724 Fälle (ROBERT KOCH INSTITUT 2003) von Campylobacteriose festzustellen waren, hat die Inzidenz im Jahr 2003 deutlich abgenommen, allerdings ist 2004 wieder eine deutliche Zunahme zu verzeichnen (ROBERT KOCH INSTITUT 2004a; 2005) (**Tabelle 6**).

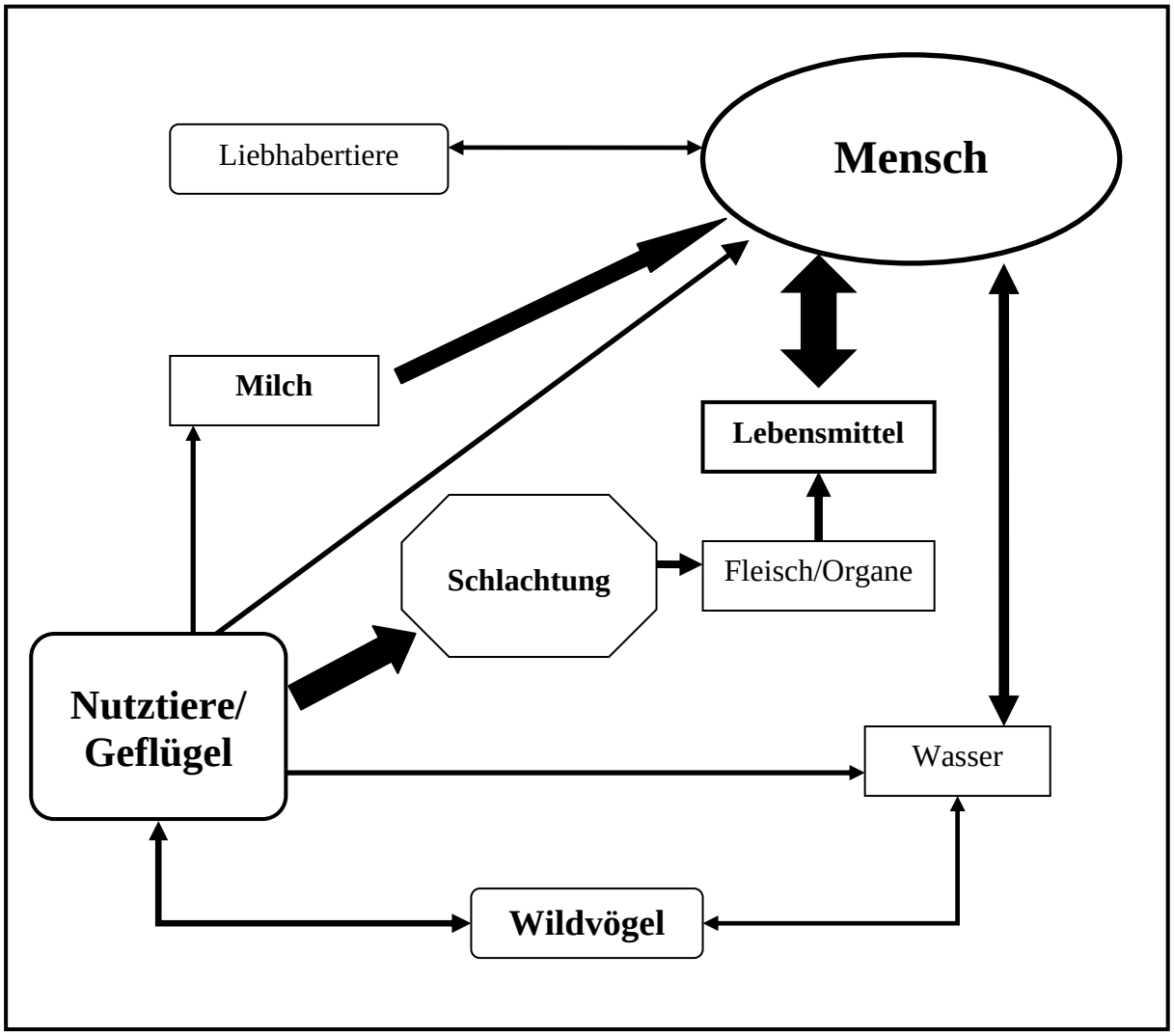
Tabelle 6: Vorkommen der Campylobacteriose in Deutschland

Bundesland	Campylobacteriose 2003		Campylobacteriose 2004	
	n	Fälle pro 100.000 Einwohner	n	Fälle pro 100.000 Einwohner
Baden-Württemberg	4.921	46,2	5.105	47,9
Bayern	5.297	42,8	6.249	50,4
Berlin	2.631	77,6	2.706	79,8
Brandenburg	1.770	68,6	2.153	83,4
Bremen	407	61,5	442	66,8
Hamburg	1.621	93,8	1.843	106,6
Hessen	3.002	49,3	3.231	53,0
Mecklenburg-Vorp.	1.537	88,1	2.089	119,7
Niedersachsen	3.788	46,8	4.603	57,7
Nordrhein-Westfalen	10.441	57,8	13.414	74,2
Rheinland-Pfalz	2.348	57,9	2.686	66,2
Saarland	881	82,7	886	83,2
Sachsen	4.108	94,5	4.480	103,0
Sachsen-Anhalt	1.520	59,6	1.792	70,3
Schleswig-Holstein	1.556	55,2	2.051	72,8
Thüringen	1.737	72,6	1.751	73,2
Deutschland	**47.546**	**57,6**	**55.481**	**67,2**

3.1.4 Reservoir und Infektionswege von *C. coli* und *C. jejuni*

C. coli und *C. jejuni* sind Darmbewohner verschiedener gesunder oder an Enteritis erkrankter Pflanzen- sowie Fleischfresser wie Rind, Kalb, Schaf, Ziege, Schwein, Hund und Katze (KÜRSTEINER et al. 1985, KETLEY 1997, BROMAN et al. 2002, SELBITZ 2002a). Als Vektoren der thermophilen Campylobacter-Arten kommen sowohl Würmer als auch Arthropoden in Frage (WEBER 1985, SKIRROW 1991, SELBITZ 2002a). Daneben stellen auch Vögel ein Hauptreservoir für *C. jejuni* dar (WITTENBRINK 2002). Nicht nur bei wildlebenden Vögeln, sondern auch bei Zucht- und Nutzgeflügel wie insbesondere bei Puten, Enten und Hühnern und sogar bei Kanarienvögeln gelingt bei bis zu 100% der Tiere die Isolierung von *C. jejuni* aus dem Darminhalt (ROSEF et al. 1983, WEBER 1985, BROMAN et al. 2002, SCHMID 2002). Vor allem Legehennen und Mastgeflügel gelten als wichtigstes Keimreservoir von *C. coli* und *C. jejuni*, da sie mit ihrer physiologisch höheren Körpertemperatur von +42°C den Keimen eine optimale Vermehrungstemperatur bieten und so auch eine Präsenz von über 10^6 Mikroorganismen pro Gramm Kot nichts Außergewöhnliches darstellt (SVOBODA und JÄGGI 2002, BÜLTE 2004b). Von den landwirtschaftlichen Nutztieren kommt dem Schwein als Reservoir, Träger und Ausscheider nicht nur von *C. jejuni*, sondern auch von *C. coli* allergrößte Bedeutung zu (YOUNG et al. 2000, SVOBODA und JÄGGI 2002), da im Darminhalt von Schlachtschweinen *C. coli* wesentlich häufiger als *C. jejuni* nachzuweisen ist (STICHT-GROH 1982, ROSEF et al. 1983, WEBER 1985, BÜLTE 2004b). Liebhabertiere, wie Hunde- und Katzenwelpen meistens im Alter bis zu einem halben Jahr, die unter blutigen Durchfällen leiden, sowie auch ältere Hunde und Katzen ohne Enteritissymptome sind sehr oft Ausscheider von *C. jejuni* (WEBER 1985). Für die Campylobacteriose kommen zahlreiche Infektionswege infrage, wobei Lebensmittel wohl den Hauptinfektionsweg repräsentieren. Erst dann folgen als Übertragungsmöglichkeiten der direkte Kontakt zu Tieren bzw. der Infektionsweg über oder durch Wasser (**Abbildung 2**).

Abb. 2: Infektionswege von *Campylobacter* spp.
(modifziert nach KRÄMER 2002)



Die Campylobacteriose des Menschen ist vorzugsweise eine nahrungsmittelbedingte Infektion und wird durch die thermophilen Campylobacter-Arten *C. jejuni* und *C. coli* verursacht (CLOAK und FRATAMICO 2002). Die Hauptinfektionsquellen sind nicht ausreichend durchgegartes Geflügelfleisch und -innereien, Rohmilch und mit Oberflächenwasser kontaminiertes Trinkwasser (ROSEF et al. 1983, KÜRSTEINER et al. 1985, BROMAN et al. 2002, MEILE 2002, SVOBODA und JÄGGI 2002, WITTENBRINK 2002, BÜLTE 2004b). Bei Nutzgeflügel, vor allem bei Hühnern hat die *C. jejuni*-Infektion die größte Bedeutung, da von kontaminierten Geflügelschlachttierkörpern eine Gefahr durch

lebensmittelbedingte Infektionen für den Menschen ausgeht (WEBER 1985, SELBITZ 2002a). Ebenso können durch Genuss von nicht oder nur ungenügend erhitztem Schweinefleisch und durch bei der Schlachtung kontaminierte Schweinefleischprodukte Erkrankungen beim Menschen durch *C. coli* oder *C. jejuni* ausgelöst werden (STICHT-GROH 1982, WEBER 1985) Bei der Untersuchung von Hühnereiern wurden weder im Ei selbst, noch auf der Eierschale *Campylobacter* spp. festgestellt (SVOBODA und JÄGGI 2002). Dies zeigt, dass durchaus ein Gesundheitsrisiko für den Menschen bestehen kann, denn um eine Lebensmittelinfektion auszulösen, reicht eine vergleichsweise geringe Infektionsdosis von etwa 500 Keimen aus (WEBER 1985, SELBITZ 2002a, SVOBODA und JÄGGI 2002, WITTENBRINK 2002, NESBAKKEN et al. 2003). In Freiwilligenversuchen haben BLACK et al. (1988) nachgewiesen, dass Campylobacter-Keimzahlen unter 10^3 in der Lage sind, bei 10% der Testpersonen eine Enteritis mit Fieber hervorzurufen. COWDEN (1993) beschreibt Keimkonzentrationen von 3 KbE bis 5 x 10^2 KbE / ml bzw. g Lebensmittel, die zum Ausbruch der Erkrankung des Menschen ausreichend sind. Obwohl sich thermophile Campylobacter im Gegensatz zu anderen bakteriellen Erregern von Lebensmittelinfektionen wie *Salmonella* spp. und *E. coli* nicht in Lebensmitteln vermehren, wird die erforderliche Infektionsdosis durch unzureichende Erhitzung oder durch Kreuzkontaminationen bei der Zubereitung von Speisen erreicht (WITTENBRINK 2002). Auch der direkte Kontakt zu Kleintieren kann zu einer Infektion mit *Campylobacter* spp. führen (KÜRSTEINER et al. 1985). Da zwischen den von Menschen und Hunden isolierten Campylobacter-Stämmen keine Unterschiede nachweisbar sind, stellen Hunde und Katzen, die eng mit dem Menschen zusammenleben, und vor allem durchfallkranke Welpen eine Infektionsquelle für den Menschen und hier vor allem für Kinder dar, die die allgemeinen hygienischen Schutzmaßnahmen nicht beachten (FOX et al. 1983, WEBER 1985, KETLEY 1997, SUTER 2001).

3.1.5 Erkrankungen beim Menschen

Die nach §§ 6 und 7 Infektionsschutzgesetz (IfSG) meldepflichtige Campylobacter-Enteritis des Menschen, vor allem verursacht durch *C. jejuni* ist eine Zoonose und stellt für die öffentliche Gesundheit ein Problem dar (ROSEF et al. 1983, SELBITZ 2002a). Beim Menschen verursachen *Campylobacter* spp. nach einer Inkubationszeit von zwei bis sieben Tagen bzw. in Einzelfällen von ein bis zehn Tagen eine akute Enteritis (BORCH et al. 1996, BÜLTE 2004b) Nur bei 5 bis 10% der menschlichen Campylobacter-bedingten Durchfallerkrankungen sind andere Arten, wie z.B. *C. coli*, *C. lari*, *C. hyointestinalis* als Ursache festzustellen (SELBITZ 2002a, WITTENBRINK 2002). Das klinische Bild reicht von einer schweren entzündlichen bis hin zu einer generalisiert milden, nichtentzündlichen wässrigen Diarrhöe (KETLEY 1997). Häufig bestehen 12 bis 24 Stunden vor dem Auftreten der enteritischen Symptome unspezifische Prodromi mit Fieber (+38°C bis +40°C), Kopfschmerzen, Myalgien, Arthralgien und Müdigkeit (WEBER 1985, BORCH et al. 1996, KETLEY 1997, WITTENBRINK 2002). Die meistens wässrige und selten auch blutige Durchfallsymptomatik wird von abdominalen Krämpfen sowie Schmerzen begleitet und klingt normalerweise nach zwei bis drei Tagen ab, kann aber bis zu 10 bis 14 Tagen andauern (WEBER 1985, KETLEY 1997, SMITH 2002, BÜLTE 2004b). Die Infektionen sind in der Regel selbstlimitierend, jedoch können bei 5 bis 10% der unbehandelten Patienten Rezidive auftreten. Komplikationen bzw. Spätfolgen sind in seltenen Fällen eine reaktive Arthritis, Uveitis, Erythema nodosum und in einer Größenordnung von 1:1000 das Guillain-Barré-Syndrom (KETLEY 1997, SMITH 2002, WITTENBRINK 2002, BÜLTE 2004b). Nur nach einer Infektion mit *C. jejuni* liegt eine Prädisposition für das Guillain-Barré-Syndrom, einer symmetrisch aufsteigenden Lähmung bis zur Atemlähmung, für das Auftreten einer reaktiven Arthritis und für das Reiter-Syndrom vor, wohingegen eine Infektion mit *C. coli* nicht mit diesen klinischen Syndromen vergesellschaftet ist (KIST 1994, CLOAK und FRATAMICO 2002, BÜLTE 2004b).

3.1.6 Erkrankungen bei Tieren

Nach *C. fetus* spp. *fetus*, der eine hohe Anpassung an das **Schaf** erreicht hat und seuchenhaft verlaufende Erkrankungen auslöst (SELBITZ 2002a), können allerdings auch *C. coli* und *C. jejuni* sowohl als Ursache für das Verlammen als auch für die Geburt lebensschwacher Lämmer verantwortlich gemacht werden, da Schafe latente Träger und Ausscheider von *C. jejuni* sein können (WEBER 1985, WITTENBRINK 2002). Bei Erstausbrüchen werden bis zu 70% der Muttertiere einer Herde erfasst (SELBITZ 2002a). Bei **Rindern** spielt der durch die Unterart *C. fetus* spp. *venerealis* verursachte Enzootische Campylobacter-Abort, eine anzeigepflichtige Tierseuche nach der Rinder-Deckinfektionen-Verordnung von 1975, eine besondere Rolle (SELBITZ 2002a). Der Erreger befindet sich, ohne Symptome hervorzurufen, in der Präputialschleimhaut des Deckbullen und wird beim Deckakt oder der künstlichen Besamung auf die weiblichen Tiere übertragen. Dies führt bei den Tieren zu wiederholtem Umrindern infolge einer Endometritis mit embryonalen Fruchttod und Resorption oder unerkannter Ausstoßung der Frucht im 4. bis 7. Trächtigkeitsmonat (SELBITZ 2002a, WITTENBRINK 2002). Ob allerdings die thermophilen Campylobacter *C. jejuni* oder *C. coli* eine Rolle bei Enteritiden von Haustieren wie Hunden, Katzen, Schafen, Rindern und Schweinen spielen, bleibt weiterhin ungeklärt (WEBER 1985, WITTENBRINK 2002). Nach experimenteller Infektion mit *Campylobacter* spp. werden bei Rindern relativ milde und selbstlimitierende Krankheitsverläufe beobachtet. Diese zeichnen sich durch Fieber, vermutlich bakteriämiebedingt, und Durchfall, der Schleim- und Blutbeimengungen aufweisen kann, aus (KLEE 2002a). Die *C. jejuni*-Infektion des **Geflügels** erfolgt auf oralem Weg, wobei in der Regel 14 Tage alte Küken betroffen sind, die keine klinischen Symptome aufweisen, obwohl bei einer Ausbreitung im Bestand bis zu 100% der Tiere infiziert sein können (SELBITZ 2002a).

3.1.7 Nachweismethoden für *Campylobacter* spp.

I. Konventionelle Nachweismethoden:

Es gibt eine Vielzahl an kulturellen Untersuchungsmethoden zum Nachweis von *Campylobacter* spp. aus unterschiedlichstem Probenmaterial, wofür verschiedene Nährmedien zur Verfügung stehen. Da Campylobacter eine geringe Tenazität und hohe Sensitivität aufweisen, stellen sie hohe Ansprüche an Nährmedien, Bebrütungsbedingungen und Wachstumstemperaturen (KRÄMER 2002, SELBITZ 2002a). Daher sind die besten Ergebnisse zu erzielen, wenn das Untersuchungsmaterial am Tag der Probenentnahme angelegt bzw. ein spezielles Transportmedium wie beispielsweise das Cary-Blair-Medium verwendet wird (SELBITZ 2002a).

1. Selektivanreicherung:
   Die selektive Anreicherung in einer Bouillon vor Beimpfung eines festen Selektivnährbodens empfiehlt sich bei Untersuchungsmaterial mit hoher Begleitflora und/oder nur geringer Anzahl an *Campylobacter* spp. (OXOID 1993). Hierbei eignet sich nach ISO 10272 die Preston-Selektiv-Anreicherungsbouillon, die durch die Zugabe von Campylobacter-Selektiv-Supplement (Preston), welches Cycloheximid enthält, das Wachstum der Begleitflora unterdrückt. In der Bouillon wird das Untersuchungsmaterial suspendiert, für 24 Stunden bei +42°C mikroaerophil bebrütet und dann auf einem Campylobacter-Selektivnährboden subkultiviert (OXOID 1993).

2. Kultivierung bzw. Isolierung auf Selektivagar:
   Die Anzüchtung erfolgt hauptsächlich auf bluthaltigen Nährböden, wie Blutagar-Basis Nr.2, Columbia-Agar-Basis, Campylobacter-Agar-Basis oder Brucella-Agar-Basis, denen Hemmstoffe in Form von Antibiotka, zugesetzt werden. Dafür stehen Supplemente nach Blaser und Wang, Skirrow sowie Butzler zur Verfügung (SELBITZ 2002a), die sich in ihrer Hemmstoffzusammensetzung unterscheiden. Das Skirrow-Selektiv-Supplement beinhaltet Polymyxin B, Vancomycin sowie Trimethoprim, wobei im Blaser und Wang-Supplement noch zusätzlich Cephalotin und

Amphotericin B enthalten sind (SKIRROW 1977, BLASER et al. 1980). Durch den Zusatz von Amphotericin B wird das Wachstum von Pilzen gehemmt, Cephalotin steigert die Selektivität des Supplements. Das Selektivsupplement nach Butzler weist mit Ausnahme von Cephalotin die gleiche Zusammensetzung auf wie das Supplement nach SKIRROW. Allerdings wurde Cephalotin durch Cephalozin ersetzt, um *Pseudomonas* spp. stärker im Wachstum zu hemmen (LAUWERS et al. 1978).

Darüberhinaus gibt es noch die blutfreien Selektivmedien wie z.B. den Selektivagar nach KARMALI mit dem Selektiv-Supplement, das Cefoperazon, Vancomycin und Cycloheximid enthält (KARMALI et al. 1986), sowie den Cefoperazon-Charcoal-Deoxycholat-Agar (CCD-Agar) nach BOLTON (SELBITZ 2002a).

Der CCD-Selektivagar setzt sich aus der blutfreien Campylobacter-Agar-Basis und dem CCDA-Selektiv-Supplement zusammen. Das CCDA-Selektiv-Supplement stellt eine Modifikation des ursprünglichen Cefoperazon-Selektiv-Suppelments dar, indem Amphotericin B hinzugefügt wurde. Der modifizierte CCDA-Selektivagar geht auf ein Rezept von BOLTON et al. (1984) zurück, wobei der Blutanteil im Nährboden durch Eisen(II)-sulfat und Natriumpyruvat und das ursprünglich enthaltene Cephazolin durch Cefoperazon ersetzt wurden. Durch den Austausch von Cephazolin gegen Cefoperazon erhöht sich die Selektivität (HUTCHINSON und BOLTON 1984), und es zeigt sich, dass die Isolierungsrate bei einer Bebrütung bei+37°C gegenüber der bei +42°C deutlich zunimmt (BOLTON et al. 1988). Um das Wachstum von Hefen und Pilzen, die bei +37°C wachsen können, zu unterbinden, wird Amphotericin B zugesetzt.

Beide blutfreien Selektivmedien, sowohl der Agar nach Karmali als auch der CCD-Agar bieten den Vorteil, dass eine Inkubation von 48 Stunden bei +37°C in einer mikroaerophilen Atmosphäre als ausreichend angesehen werden kann. Danach erscheinen charakteristische Kolonien von *C. coli* als cremig-grau gefärbte, oft einzeln wachsende und erhabene Kolonien.

Hingegen wachsen die Kolonien von *C. jejuni* grau, feucht, flach ausgebreitet, mit einem metallischen Glanz versehen. (OXOID 1993).

3. Weitere Identifizierungsmethoden:

   Nach der Kultivierung auf Selektivnährböden werden Bakterien der Gattung *Campylobacter* anhand des mikroskopischen Bildes, der Beweglichkeit und der positiv ausfallenden Oxidase- und Katalsereaktionen identifiziert (BISPING und AMTSBERG 1988, SELBITZ 2002a). Zur schnellen Abgrenzung der thermophilen Arten *C. coli*, *C. jejuni* und *C. lari* sind Latex-Agglutinationstests (SELBITZ 2002a), wie der Dryspot Campylobacter Test (Oxoid, Basingstoke, England) im Handel, die allerdings keine Speziesdiagnose innerhalb dieser Gruppe erlauben. Die Identifizierung und Differenzierung ist durch eine biochemische Untersuchung beispielsweise mit dem kommerziell erhältlichen Testsystem API Campy (Biomérieux, Marcy l'Étoile, Frankreich) möglich (SELBITZ 2002a). Mit diesem Testsystem werden 18 Stoffwechselleistungen der Bakterien und das Verhalten gegenüber drei antibakteriellen Chemotherapeutika getestet, deren Ergebnisse dann einer bestimmten Campylobacter-Spezies zuzuordnen sind.

II. Alternative Nachweismethoden:

In den letzten Jahren werden vermehrt ELISA-gestützte Verfahren eingesetzt, die Campylobacter Antigene aus Kot nachweisen. Diese Verfahren haben den Nachteil, dass auch abgestorbene Erreger nachzuweisen sind und keine Isolate zur Differenzierung oder zur Erstellung eines Antibiogramms mehr vorhanden sind (DEDISTE at al. 2003). Daneben kommen auch Komplementbindungsreaktionen (JANVIER et al. 2000) oder ein Diffusion-in-Gel ELISA (Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay) zum Einsatz (SVEDHEIM et al. 1983). Es besteht auch die Möglichkeit, die Erreger durch eine Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR, polymerase chain reaction) nachzuweisen (SELBITZ 2002a). Die PCR ist eine schnelle, sensitive und spezifische Methode, um aus Lebensmitteln und Kotproben sowohl *C. coli* als

auch *C. jejuni* nachzuweisen (BOLTON et al. 2002, CLOAK und FRATAMICO 2002). Mit dieser Methode ist eine Differenzierung zwischen den einzelnen Spezies zu treffen. Es bestehen große Modifikationsmöglichkeiten bei den jeweiligen Durchführungsprotokollen (WASSENAR 2000). Die Möglichkeit einer Feintypisierung liefert die PFGE (Pulsfeldgelelektrophorese), die nicht routinemäßig Verwendung findet, sondern vor allem bei der Sicherung von Infektketten eingesetzt wird (CLOAK und FRATAMICO 2002).

3.2 *Listeria monocytogenes*

3.2.1 Allgemeines

In den zwanziger Jahren des letzten Jahrhunderts wurde diese Bakterienart zum ersten Mal bei Kaninchen und Meerschweinchen bzw. bei Wüstenmäusen mit charakteristischen Leberveränderungen gefunden und zunächst als *Bacterium monocytogenes* und dann zu Ehren des englischen Chirurgen Lister als *Listerella hepatolytica* bezeichnet, bis dann im Jahre 1940 die Umbenennung in die noch heute gültige Artbezeichnung *Listeria monocytogenes* vorgenommen wurde (AMTSBERG 1979). Die Gattung *Listeria* gehört zu einer Gruppe nicht sporenbildender, grampositiver Stäbchen, in der *L. monocytogenes* als tier- und humanpathogene Spezies die Hauptrolle spielt (SELBITZ 2002b, ALLERBERGER 2003). Die anderen Spezies, wie *L. ivanovii*, *L. seelegeri* sowie *L. welshimeri* sind für den Menschen als weniger pathogen einzustufen; *L. grayi*, *L. innocua* und *L. murrayi* gelten sogar als apathogen (HOF 1994, BORCH et al. 1996, HOF 2003). Die nicht mehr eigenständige Spezies *L. murrayi* ist in die Spezies *L. grayi* eingegliedert worden (SELBITZ 2002b, ALLERBERGER 2003).

3.2.2 Morphologie und kulturelle Eigenschaften

L. monocytogenes ist ein kokkoides, Ketten bildendes, an beiden Enden abgerundetes, bewegliches, katalasepositives, oxidasenegatives, grampositives und nichtsporenbildendes Stäbchenbakterium mit einer Größe von 0,5 x 2,0 µm, dessen Kolonien im Schrägdurchlicht nach HENRY charakteristisch blau-grün erscheinen (BISPING und AMTSBERG 1988, HOF 1994, KRÄMER 2002, SELBITZ 2002b). Die Stäbchen sind meist einzeln oder in kurzen Ketten, nur selten in längeren Filamenten gelagert (SELBITZ 2002b). Neben eben dieser Glattform, in der die Listerien aus Untersuchungsmaterial isoliert werden, gibt es bei dieser Bakterienart auch eine sogenannte Rauhform, die unter Laborbedingungen auftritt, eine Länge zwischen 50 und 100 µm erreicht und sich für Mäuse und Schafe als avirulent

erweist (AMTSBERG 1979, BISPING und AMTSBERG 1988). Ein weiteres morphologisches und differentialdiagnostisches Merkmal ist die Beweglichkeit, die sich bei Temperaturen von +20°C bis +25 °C infolge der Expression von einer bis fünf peritrich angeordneten Geißeln am ausgeprägtesten darstellt, wobei die Zahl der Geißeln bei Temperaturen über +30°C wieder abnimmt (AMTSBERG 1979, BISPING und AMTSBERG 1988, SELBITZ 2002b, ALLERBERGER 2003). Listerien sind fakultative Anaerobier und weisen somit einen fermentativen Glucoseabbau auf (SELBITZ 2002b). *L. monocytogenes* ist im Vergleich zu anderen Bakterienarten hinsichtlich der Kultivierung relativ anspruchslos, wächst auf den gebräuchlichen einfachen, festen, flüssigen sowie halbfesten Nährmedien. Durch Zugabe von Blut, Serum oder Traubenzucker ist zusätzlich ein wachstumfördernder Effekt festzustellen (AMTSBERG 1979). *L. monocytogenes* ist psychrotroph, aber auch in der Lage, in einem weiten Temperaturbereich von + 3°C bis zu +45°C unter aeroben Kautelen zu wachsen (AMTSBERG und BISPING 1988, KRÄMER 2002). Die optimale Temperatur zur Anzüchtung liegt jedoch bei +30°C bis +37°C, wobei die Ausbeute durch eine mikroaerophile Atmosphäre, d.h. durch eine 5- bis 10%ige CO_2-Atmosphäre, erhöht werden kann (AMTSBERG und BISPING 1988, SELBITZ 2002b). Zur Identifizierung von *L. monocytogenes* können das Hämolysephänomen, das sich nach 24stündiger Bebrütung in Form grauweißer Kolonien mit einem Durchmesser von 0,5 bis 2 mm mit einer schmalen hämolytischen Hofbildung auf Blutagarplatten zeigt (AMTSBERG 1979) und ein positiv ausfallender CAMP-Test (Christie, Atkins, Munch-Petersen) mit *Staphylococcus aureus* bzw. *Rhodococcus equi* eingesetzt werden (KRÄMER 2002, SELBITZ 2002b, ALLERBERGER 2003). Aufgrund des Auftretens von Zellwand- bzw. O-Antigenen und von Geißel- bzw. H-Antigenen sind in der Spezies *L. monocytogenes* 13 verschiedene Serotypen zu unterscheiden, wobei in Deutschland und weltweit die Typen 1/2a, 1/2b und 4b ausschließlich für die Listeriose verantwortlich zu machen sind (AMTSBERG 1979, BISPING und AMTSBERG 1988, SELBITZ 2002b, ALLERBERGER 2003, BÜLTE 2004c).

3.2.3 Vorkommen und geographische Ausbreitung

Listeriose stellt eine weltweit verbreitete lebensmittelbedingte Infektion dar, die vor allem durch Milch bzw. Milchprodukte, Gemüse und Salat, aber auch durch Fleisch insbesondere Schweinefleisch und Geflügelprodukte verursacht werden kann (BUNCIC 1991, KANUGANTI et al. 2002, AUTIO et al. 2004). Für prädisponierte Menschen wie neugeborene Kinder, Schwangere, alte Menschen und Personen mit gedämpftem Immunsystem infolge Verabreichung von Kortikosteroiden und Immunsupressiva stellt *L. monocytogenes* eine wichtige Ursache lebensbedrohlicher Infektionen einschließlich Sepsis und Meningoenzephalitis dar (AMTSBERG 1979, STÖBER 2002, BELOEIL et al. 2003, DOGANAY 2003). In den Vereinigten Staaten von Amerika verursacht *L. monocytogenes* bis zu 2500 Fälle von Meningitis, Enzephalitis, Sepsis und 500 Todesfälle jährlich (KANUGANTI et al. 2002). KANUGANTI et al. (2002) und AUTIO et al. (2004) berichten von drei Listerioseausbrüchen beim Menschen in Frankreich in den Jahren 1992, 1993 und 2000, die auf Schweine oder Schweineprodukte zurückzuführen sind, was zeigt, dass die Kontaminationsvorbeugung bei Schweineprodukten mit *L. monocytogenes* von höchster Wichtigkeit ist. In den skandinavischen Ländern Schweden und Norwegen können jedes Jahr 40 bis 50 bzw. 3 bis 21 Listerioseerkrankungen des Menschen nachgewiesen werden (NESBAKKEN et al. 1994). Genaue Daten über die Häufigkeit der Listeriose in Deutschland liegen nicht vor, da lediglich die angeborene Listeriose nach den IfSG meldepflichtig ist (BÜLTE 2004c). Seit Einführung der Meldepflicht in Deutschland 2001, die nur Nachweise aus normalerweise sterilen Materialien und Abstrichen von Neugeborenen berücksichtigt, wird nach einer Statistik des Robert-Koch-Instituts (ROBERT KOCH INSTITUT 2003, 2004a, 2005) bei invasiven und konnatalen Infektionen ein Anstieg der Listeriose beobachtet (**Tabelle 7**).

Tabelle 7: Vorkommen der invasiven und konnatalen Listeriose in Deutschland in den Jahren 2001 bis 2004

2001	2002	2003	2004
216	239	255	288

In den Nachbarländern Deutschlands mit einer obligatorischen Meldepflicht liegt die Inzidenz in der Normalbevölkerung bei jährlich 0,7 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner. Alte Menschen haben offensichtlich ein deutlich höheres Risiko, denn bei den über 70jährigen steigt die Inzidenz auf 2,1 Fälle pro 100.000 Einwohner, und bei Immunsuppremierten liegt dieser Wert sogar bei 700 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner (BÜLTE 2004c).

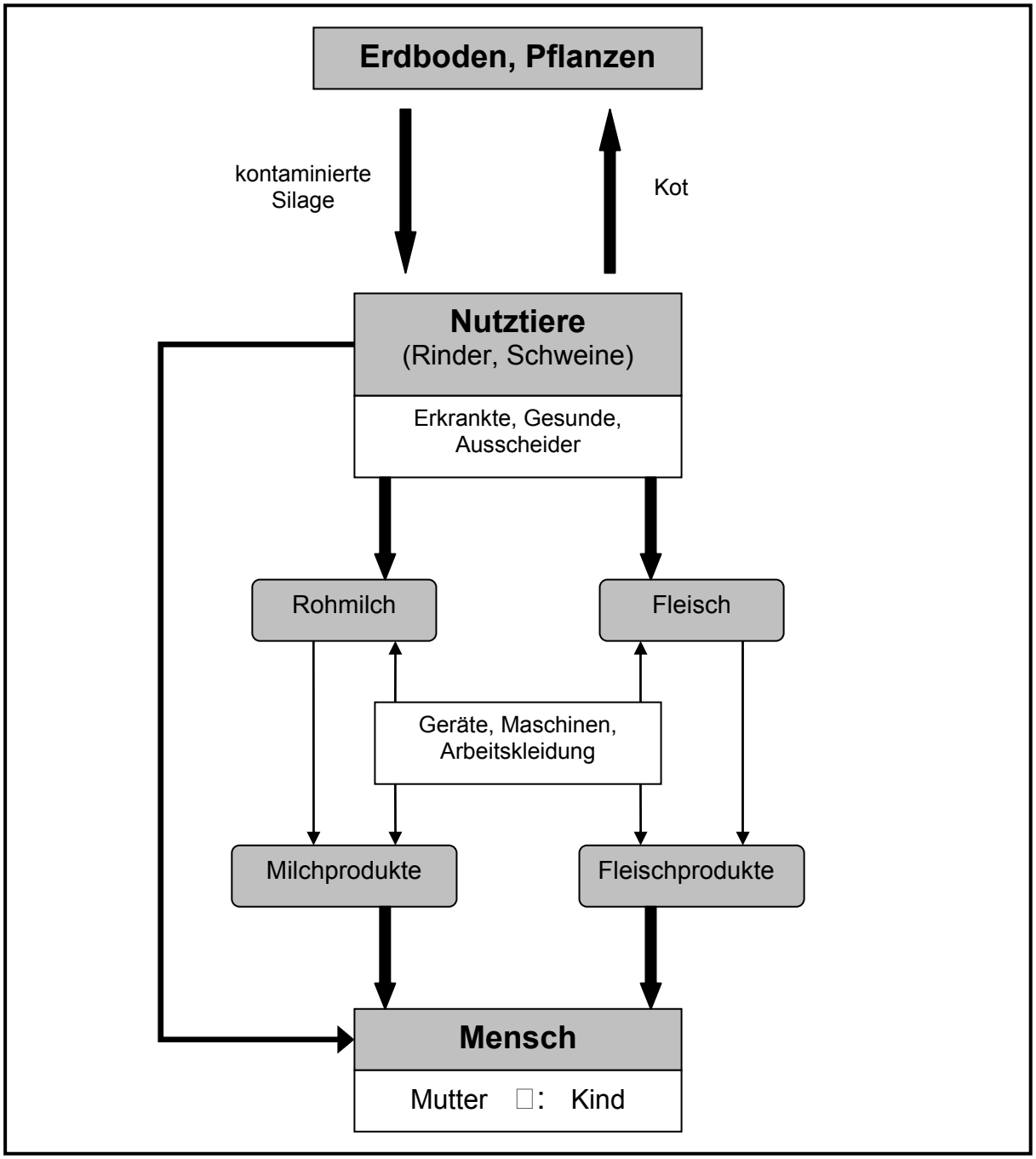
3.2.4 Reservoir und Infektionswege von *L. monocytogenes*

Listerien sind ubiquitär verbreitet und können sehr oft als Saprophyten des Verdauungstrakts gesunder Tiere, insbesondere im Darmtrakt und Kot von Wiederkäuern (STÖBER 2002), aber auch in Schweinekot (NESBAKKEN et al. 1994, BORCH et al. 1996, WENDT und BICKHARDT 1997, AUTIO et al. 2004) nachgewiesen werden. *L. monocytogenes* gelangt so in die Außenwelt und ist auf Pflanzen und im Erdboden vorhanden (AMTSBERG 1979, SELBITZ 2002b), wobei sich 44% der untersuchten Pflanzen- und 51,4% der getesteten Erdbodenproben als kontaminiert erwiesen haben (AMTSBERG 1979, KRÄMER 2002). Grasfressende Tiere kommen auf diese Weise in Kontakt mit *L. monocytogenes*, womit die hohe Inzidenz bei Wiederkäuern zu erklären ist (SKOVGAARD und NORRUNG 1989). Durch fäkale Ausscheidungen von Menschen sowie Haus- und Wildtieren, die nicht nur im Erkrankungsfall, sondern auch im gesunden Zustand relativ häufig in ihrem Darmkanal Listerien beherbergen, können auch in Schlammproben aus Bächen, Flüssen und Teichen sowie im Oberflächenwasser Listerien nachgewiesen werden (AMTSBERG 1979, SELBITZ 2002b). Eine wichtige Rolle bei der Übertragung von *L. monocytogenes* spielt Grassilage von mangelhafter Qualität, in der sich

die Bakterien, eingebracht durch kontaminiertes bzw. mit Erdreich verschmutztes Pflanzenmaterial, vor allem dann gut vermehren, wenn der pH-Wert wegen mangelnder Säuerung infolge Pilzbefalls nicht unter fünf absinkt (BISPING und AMTSBERG 1988, KRÄMER 2002, STÖBER 2002, SELBITZ 2002b). Eine gute Silage zeichnet sich durch pH-Werte zwischen 3,7 und 4,2 aus, die allerdings meistens nur in der Kernsilage erreicht werden. Somit erfolgt eine Anreicherung von bis zu 3000 Listerien pro g Futter in den Rand- und Oberflächenbereichen (AMTSBERG 1979). *L. monocytogenes* bedingte Erkrankungen konnten außer bei Haus- und Wildwiederkäuern auch bei Chinchillas, Kaninchen, Schweinen, Vögeln, Hunden, Katzen und Pferden sowie Fischen, Amphibien und Reptilien nachgewiesen werden (STÖBER 2002, SELBITZ 2002b, HOF 2003). Isolierungen bei einigen Arthropodenarten weisen auf eine mögliche Überträgerolle dieser Tiergruppe hin (SELBITZ 2002b). Die Listeriose des Menschen lässt sich auf mit *L. monocytogenes* kontaminierte Rohmilch zurückführen, die entweder in Folge einer Mastitis oder sekundär durch Kotverschmutzungen beim Melken kontaminiert worden ist. Dadurch können dann auch Milchprodukte wie Rohmilchweichkäse und Camembert betroffen sein (AMTSBERG 1979, BUNCIC 1991, AUTIO et al. 2000, KRÄMER 2002, BELOEIL et al. 2003, HOF 2003, BÜLTE 2004c).

Darüberhinaus gelten Meeresfrüchte, Fischereiprodukte, Geflügelerzeugnisse und Fleisch, insbesondere Delikatess-Schweinefleischprodukte und Hackfleisch vom Schwein sowie Rohwurst als Vektoren für *L. monocytogenes* (**Abbildung 3**) (SKOVGAARD und NORRUNG 1989, BUNCIC 1991, AUTIO et al. 2000, BELOEIL et al. 2003, BÜLTE 2004c). Bei Nichtbeachtung hygienischer Vorsichtsmaßnahmen kann eine direkte Übertragung von einem erkrankten Tier auf den Menschen gelegentlich bei Tierärzten und Landwirten im Rahmen der Geburtshilfe und bei der Behandlung einer Retentio secundinarium mit der Folge des Auftretens einer Hautlisteriose beobachtet werden (AMTSBERG 1979).

Abb. 3: Infektionswege von *L. monocytogenes* (modifiziert nach KRÄMER 2002)



3.2.5 Erkrankungen beim Menschen

Die durch *L. monocytogenes* hervorgerufene Listeriose des Menschen ist eine weit verbreitete, aber seltene Infektionskrankheit, die insbesondere für schwangere Frauen, Neugeborene und alte Menschen aufgrund ihrer zahlreichen Übertragungsmöglichkeiten ein Gefahrenpotential darstellt (SELBITZ 2002b). Da es sich nicht um eine zyklische Allgemeininfektion, sondern um eine zur Generalisierung neigende Lokalinfektion handelt, lässt sich keine klassische Inkubationszeit angeben (ROBERT KOCH INSTITUT 2000). Bei gesunden Menschen verursacht *L. monocytogenes* 24 Stunden nach dem Genuss von kontaminierten Lebensmitteln eine selbstlimitierende, fiebrige, gastrointestinale Erkrankung mit Brechreiz, Erbrechen und Durchfall (DOGANAY 2003). Allerdings kann es aber auch bis zu 70 Tagen dauern (in der Regel etwa drei Wochen) bis sich Krankheitserscheinungen zeigen (ROBERT KOCH INSTITUT 2000, BÜLTE 2004c). Die Listeriose kann beim Menschen fünf verschiedene Erscheinungsformen aufweisen (AMTSBERG 1979).

1. Akut septische Form:

   Die akut septische Form (Neugeborenenlisteriose) tritt als Schwangerschaftslisteriose auf, die mit Fehlgeburten einhergeht und beim Neugeborenen die Granulomatosis infantiseptica auslöst (AMTSBERG 1979, SELBITZ 2002b). Schwangere Frauen haben nach dem Konsum von kontaminierten Nahrungsmitteln ein 12-fach höheres Risiko im Vergleich zur Durchschnittsbevölkerung an Listeriose zu erkranken (HOF 2003, BÜLTE 2004c). Aufgrund einer durch *L. monocytogenes* verursachten Entzündung der Plazenta besteht die Gefahr, dass der Fetus absterben kann (HOF 2003, KANUGANTI et al. 2002). Die klassischen Symptome der Listeriose in der Schwangerschaft sind Fieber, Kopf-, Muskel- und Gelenkschmerzen, seltener gastrointestinale Symptome mit Durchfall und Bauchschmerzen. Bei frühzeitiger Diagnose und antimikrobieller Therapie kann es trotz einer Listeriose während der Schwangerschaft zur Geburt eines gesunden Kindes kommen (DOGANAY 2003).

2. ZNS-Form:

   L. monocytogenes weist einen Tropismus für das Gehirn sowie die Hirnhäute auf und ruft so die klinische Symptomatik einer Meningitis oder Enzephalitis hervor, die mit hohem Fieber, Genicksteife und Bewegungsstörungen wie Tremor und Ataxien sowie Krampfanfällen einhergeht (AMTSBERG 1979, SELBITZ 2002b, DOGANAY 2003). Patienten, die an einer listerienbedingten Meningoenzephalitis leiden, zeigen fokale neurologische Befunde im Rhombencephalon, die mit Ataxien und Auffälligkeiten an den Kopfnerven verbunden sind (DOGANAY 2003).

3. Glanduläre Form:

   Diese Form der Listeriose mit Lymphadenitis und Monocytenangina verläuft grippeähnlich und zeichnet sich durch Angina und Lymphknotenschwellungen aus (SELBITZ 2002b).

4. Lokale Form:

   Lokale Erkrankungen wie Konjunktivitis und die Hautlisteriose sind die Folgen einer direkten Ansteckung, die im Rahmen der Geburtshilfe und Nachgeburtsbehandlungen bei Tieren erfolgt (AMTSBERG 1979, SELBITZ 2002b). Andere Formen einer lokalisierten Infektion sind Peritonitis, Cholecystitis, Hepatitis, Pleuritis, Milzabszess, Perikarditis, Osteomyelitis und Endophtalmie (DOGANAY 2003).

5. Chronisch-septische Form mit isoliertem Organbefall:

   Bei dieser Form kommt es zur Abszeßbildung oder Endokarditis (AMTSBERG 1979, SELBITZ 2002b). Die Listerienendokarditis mit einer Mortalitätsquote von nahezu 50 Prozent kann bei acht Prozent der infizierten Erwachsenen beobachtet werden. Sie betrifft bevorzugt die linken Herzklappen und stellt oft die Quelle einer bakteriellen, systemischen Embolie dar (DOGANAY 2003).

3.2.6 Erkrankungen bei Tieren

Die Listeriose der **Wiederkäuer** ist eine meldepflichtige Tierkrankheit der kleinen Wiederkäuer und Rinder. Sie befällt vor allem immungeschwächte Tiere, wenn an diese Silage von schlechter Qualität verfüttert wurde (BISPING und AMTSBERG 1988, SKOVGAARD und NORRUNG 1989, SELBITZ 2002b). *L. monocytogenes* ist in unterschiedlichen Ländern bei bis zu 50% der Rinder sowie bei Schafen und auch Schweinen nachzuweisen (SKOVGAARD und NORRUNG 1989, BUNCIC 1991). Infektionen mit Listerien können bei Wiederkäuern in sechs unterschiedlichen Formen verlaufen (SELBITZ 2002b).

1. Zerebrale Form:

   Die Gehirnlisteriose mit einer Inkubationszeit von ungefähr zwei bis drei Wochen ist beim Schaf und Rind die häufigste Manifestationsform und stellt pathologisch-histologisch eine herdförmige eitrige Enzephalitis dar, die von einer Meningitis begleitet wird (AMTSBERG 1979, BISPING und AMTSBERG 1988). Fieber besteht nur am Anfang der Infektion, jedoch wird das klinische Bild von der Trias Depression, Ataxie und Hirnnervenlähmung bestimmt (SELBITZ 2002b). Die weitere Symptomatik erstreckt sich auf zentralnervöse Ausfallerscheinungen mit Lähmungen von Ohr, Augenlid, Augenbraue (Nervus facialis), Schlucklähmungen (Nervus glossopharyngeus) und Lähmungen der Kaumuskulatur (Nervus trigeminus) (STÖBER 2002, SELBITZ 2002b). Betroffen sind ruminierende Rinder aller Altersstufen, bei denen der Erreger über Haut- oder Schleimhautläsionen im Kopfbereich eine Eintrittspforte zu den Ausläufern des Nervus trigeminus aber auch Nervus glossopharyngeus findet und an diesen intraaxonal zum Hirnstamm wandert. Dort löst er eine mikroabszedierende Hirnstammenzephalitis, begleitet von einer Leptomeningitis lymphocytaria, aus (STÖBER 2002, SELBITZ 2002b).

2. Metrogene Form:

   Diese Verlaufsform äußert sich in Aborten, Frühgeburten bzw. termingerechten Geburten lebensschwacher Kälber und Lämmer (AMTSBERG 1979, BISPING und AMTSBERG 1988). In der Folge sind

Nachgeburtsverhaltungen bei den Muttertieren möglich, und es besteht außerdem die Gefahr, dass sich durch nicht ausgestoßene infizierte Früchte eine septische Metritis mit ungünstiger Prognose für das Muttertier entwickeln kann (AMTSBERG 1979, STÖBER 2002, SELBITZ 2002b). Von dieser Form sind vor allem Färsen im 6. bis 9. Trächtigkeitsmonat betroffen, wobei neben *L. monocytogenes* in seltenen Fällen auch *L. ivanovii* zu isolieren ist (STÖBER 2002).

3. Septikämische Form:

   Septikämien durch Listerien, die einen perakuten bis akuten Verlauf nehmen, kann man häufiger bei Lämmern beobachten, die schon intrauterin infiziert worden sind (SELBITZ 2002b). Es erkranken auch wenige Tage alte Kälber (≤ 2 Lebenswochen), Ferkel und Fohlen, ohne enzephalitische Erscheinungen zu zeigen (AMTSBERG 1979). Klinisch weisen die Tiere Fieber und Schwäche auf; mitunter ist eine Hornhauttrübung, Iritis, Dyspnoe und/oder Opisthotonus festzustellen, wobei solche Erkrankungsfälle meistens innerhalb von 12 Stunden tödlich enden (STÖBER 2002).

4. Mastitiden:

   Die Listerien-Mastitis beim Rind ist relativ selten, kann aber akut oder chronisch verlaufen und erweist sich oft als therapieresistent. Die Gefahren für die Gesundheit des Menschen, ausgehend von infizierter Milch, sind von nicht zu unterschätzender Bedeutung (SELBITZ 2002b, STÖBER 2002).

5. Augenform:

   Die Listeriöse Keratokonjunktivitis, an der Rinder aller Altersstufen erkranken und bei der es zu einer Binde- und Hornhautentzündung mit beidseitigem Tränenfluss, Photophobie, bläulicher Verfärbung der Kornea und Fältelung der Iris kommt, kann nicht nur als Teilerscheinung einer Listerien-Enzephalitis bzw. Listerien-Sepsis auftreten, sondern auch durch direkten Kontakt der Augen mit listerienverseuchter Silage entstehen (STÖBER 2002, SELBITZ 2002b).

Bei anderen Tierarten, wie vielen Vogelarten und Pferden insbesondere Fohlen, kommen ebenfalls septikämische Listeriosen und Enzephalitiden vor (SELBITZ 2002b). Bei **Schweinen** sind vier verschiedene Manifestationsformen der Listeriose beschrieben worden, die mit tödlichen Septikämien bei Ferkeln, Aborten und Enzephalitiden sowie als Listerien-Septikämie mit blutiger Enteritis bei Mastschweinen einhergehen (WENDT und BICKHARDT 1997, SELBITZ 2002b). Ebenso sollen Nagetiere und Hasenartige empfänglich sein (AMTSBERG 1979, SELBITZ 2002b). Die typischen Haustiere wie **Hunde** und **Katzen** erkranken nur in Ausnahmefällen an Listeriose und zeigen ebenfalls ein klinisches Bild mit zentralnervösen Symptomen infolge Meningitis und Enzephalitis, Depression, Ataxien, Hirnnervenausfällen, Aborten und gastrointestinalen Störungen (FREUDIGER 1993, SUTER 2001).

3.2.7 Nachweismethoden für *L. monocytogenes*

I. Konventionelle Nachweismethoden

L. monocytogenes wächst auf einfachen festen und in flüssigen Nährmedien, wobei der Zusatz von Blut, Serum oder Traubenzucker sich positiv bemerkbar macht. Die Kultivierung erfolgt unter aeroben Bedingungen bei +30°C bis +37°C, jedoch kann die kulturelle Ausbeute durch eine mikroaerophile Atmosphäre verbessert werden (SELBITZ 2002b). Bei Verwendung von Blutagar, der zur Anzucht gut geeignet ist, entwickeln sich nach einer Inkubation für 24 Stunden bei +37°C kleine, glattrandige, milchig-durchscheinende Kolonien, die nach 48 Stunden eine grauweiße Farbe annehmen, etwa 0,5 bis 2,0 mm groß und von einem schmalen hämolytischen Hof umgeben sind (BISPING und AMTSBERG 1988). Aufgrund der hohen Temperaturtoleranz, die den Listerien ermöglicht, sich sogar bei +4°C zu vermehren, kann dieser Selektivitätsvorteil gegenüber anderen Keimen bei der sogenannten Kälteanreicherung genutzt werden. Dabei wird das Untersuchungsmaterial in einer Nährbouillon suspendiert und einige Tage bei

Kühlschranktemperatur inkubiert, um anschließend auf Selektivagarplatten übertragen zu werden (HOF 1994, SELBITZ 2002b).

In der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz (LMBG) wird ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung und Prüfung auf An- oder Abwesenheit von *L. monocytogenes* in Lebensmitteln beschrieben. Die in § 35 LMBG L 00.00-22 vorgeschriebenen Methoden werden zu den konventionellen kulturellen Nachweisverfahren gerechnet und lassen sich in vier Abschnitte unterteilen.

1. Voranreicherung:
   Die Voranreicherung im hemmstofffreien, nichtselektiven gepufferten Peptonwasser soll die Ausbeute an Listerien steigern, bevor eine definierte Menge aus der Voranreicherung in die Selektivanreicherung überführt wird.

2. Selektivanreicherung:
   Zur Verbesserung der Isolierungsrate von *L. monocytogenes* auch aus Materialien mit niedriger Keimkonzentration bzw. beim Vorhandensein einer starken Mischflora sind verschiedene Anreicherungs- und Selektivmedien entwickelt worden (SELBITZ 2002c).
   Nach § 35 LMBG L 00.00-22 können zur selektiven Anreicherung aus Fleisch, anderen Lebensmitteln, klinischem Material und Umweltmaterial die UVM-Anreicherungsbouillon (UVM I und II) sowie Fraser-Anreicherungsbouillon eingesetzt werden. Die *Listeria*-Anreicherungsbouillons UVM I und II wurden zuerst von DONNELLY und BAIGENT (1986) entwickelt und dann durch Reduzierung der Nalidixinsäure-Konzentration in UVM I und UVM II bei gleichzeitiger Anhebung der Acriflavin-Konzentration in UVM II modifiziert (MC CLAIN und LEE 1988). Die Anreicherung in zwei Bouillons mit sich steigernder Selektivität ist besonders gut bei Untersuchungsmaterial geeignet, in dem mit einer hohen Begleitflora zu rechnen ist. Mit den Anreicherungsbouillons UVM I und UVM II ist *L. monocytogenes* nach einer Bebrütung bei +30°C für vier bzw. 24 Stunden in hoher Anzahl zu isolieren (OXOID 1993).

Zur Isolierung und Identifizierung von *L. monocytogenes* aus Lebensmitteln und Umweltmaterial hat sich die Fraser-Anreicherungsbouillon durch ihre außerordentliche Genauigkeit bewährt (FRASER und SPERBER 1988, McCLAIN und LEE 1988). Diese flüssige Selektivanreicherung wurde von FRASER und SPERBER (1988) entwickelt und enthält Äsculin, Eisen(III)-ammoniumcitrat und Lithiumchlorid. Alle Listerien können Äsculin zu Äsculetin und Glukose hydrolysieren, wobei das entstandene Äsculetin mit Eisen(III)-Ionen schwarze Präzipitate bildet und so das Wachstum von *L. monocytogenes* unterstützt (COWART und FOSTER 1985). Als Hemmstoff dient Lithiumchlorid, das vor allem das Wachstum der Enterokokken hemmen soll, da diese ebenso Äsculin hydrolysieren und so zu falschpositiven Nachweisen führen können. Kulturen, die nach einer 48stündigen Inkubation keine Schwarzfärbung aufweisen, gelten als frei von Listerien (OXOID 1993).

3. Kultivierung bzw. Isolierung auf Selektivagar:

   Nach der selektiven Anreicherung erfolgen der Ausstrich und die Isolierung auf einem Selektivagar. Dafür werden nach § 35 LMBG L 00.00-22 häufig der PALCAM-Selektivnährboden oder Oxford-Selektivnährboden eingesetzt.

   Der PALCAM-Selektivnährboden basiert auf der Zusammensetzung nach VAN NETTEN et al. (1989) und dient der Isolierung von *L. monocytogenes* aus Lebensmitteln sowie Fäzes und stark kontaminierten Umweltproben, wobei gleichzeitig die gramnegative sowie teilweise grampositive Begleitflora im Wachstum gehemmt wird. Durch den Zusatz von Lithumchlorid, Ceftazidim, Poymyxin B und Acriflavin ist dieser Nährboden hochselektiv und soll hinsichtlich seiner Selektivität anderen vergleichbaren Nährböden überlegen sein (HAMMER et al. 1990, PICHHARDT 1998).
   L. monocytogenes werden durch das doppelte Indikatorsystem Äsculin/Eisen(III)-Ionen und Mannit/Phenolrot sicher identifiziert, da sie Äsculin zu Glukose und Äsculetin hydrolysieren, woraus dann zusammen mit den Eisen(III)-Ionen schwarze Komplexverbindungen entstehen, die die Kolonien entsprechend schwarz erscheinen lassen (PICHHARDT 1998).

Mannit-positive Begleitkeime wie Enterokokken und Staphylokokken führen zum Farbumschlag des Indikators Phenolrot von rot nach gelb und sind deshalb sehr leicht zu erkennen. Aerobier wie *Bacillus* und *Pseudomonas* spp., die ebenfalls wachsen können, sind durch eine mikroaerophile Bebrütung bei +36°C für 48 Stunden zu hemmen.(OXOID 1993).

Der Oxford-Selektivagar wurde erstmals von CURTIS et al. (1989) beschrieben und wird zur Isolierung von *L. monocytogenes* aus klinischem Untersuchungsmaterial und Lebensmitteln eingesetzt. Die Selektivität dieses Nährbodens wird durch Lithiumchlorid, Acriflavin, Colistin, Cefotetan, Cycloheximid und Fosfomycin, die als Hemmstoffe das Wachstum gramnegativer und teilweise auch grampositiver Bakterien unterbinden, sowie das Indikatorsystem Äsculin und Eisen(III)-Ionen begründet. *L. monocytogenes* hydrolysiert Äsculin zu Äsculetin, das mit den Eisen(III)-Ionen schwarze Komplexverbindungen eingeht und so die Kolonien schwarz erscheinen sowie schwarze Höfe um die Kolonien entstehen lässt (PICHHARDT 1998, ALLERBERGER 2003). Typische Kolonien von *L. monocytogenes* sind nach einer 48stündigen Bebrütung bei +37°C deutlich zu erkennen (OXOID 1993), jedoch sollte eine biochemische Identifizierung angeschlossen werden.

4. Bestätigung von *L. monocytogenes*:

   Die Bestätigung von *L. monocytogenes* erfolgt durch eine positive Gramfärbung, durch einen positiven Katalase- und Beweglichkeitstest sowie einen positiven CAMP-Test (SELBITZ 2002c, ALLERBERGER 2003). Für die biochemische Identifizierung kann das kommerzielle Testsystem API Listeria verwendet werden (SAMMARCO et al. 1997, SELBITZ 2002b). Dieses standardisierte Testsystem API Listeria (Biomérieux) dient anhand von miniaturisierten Reaktionen der Identifizierung von *Listeria* spp. Hierbei unterscheidet sich *L. monocytogenes* von *L. innocua* durch die Abwesenheit von Arylamidase, die der sogenannte DIM-Test der API Listeria anzeigt und der bei *L. monocytogenes* immer negativ ausfällt (BILLE et al. 1992).

II. Alternative Nachweismethoden

Die Nachweismethoden werden immer weiter entwickelt, und so gibt es mittlerweile zahlreiche unterschiedliche Techniken zum Nachweis von Listerien, die die zeitaufwendige kulturelle Isolierung sowie biochemische Identifizierung überflüssig machen. Die neu entwickelten Nachweis- und Identifizierungsverfahren basieren beispielsweise auf dem Einsatz von monoklonalen Antikörpern in einem ELISA-Test (KRÄMER 2002).

Durch Anwendung der PCR werden die Untersuchungsverfahren beschleunigt, und es können schon in den Anreicherungskulturen die für *L. monocytogenes* spezifischen Nukleinsäuresequenzen amplifiziert sowie mittels Gensonden nachgewiesen werden (KRÄMER 2002, ALLERBERGER 2003).

3.3 *Yersinia enterocolitica*

3.3.1 Allgemeines

Die Gattung *Yersinia* gehört zur Familie der *Enterobacteriaceae* und beinhaltet 11 Spezies (HEESEMANN 1994, NEUBAUER et al. 2001a). Als pathogen für Menschen gelten *Y. pestis*, der klassische Pesterreger sowie die enteropathogenen Spezies *Y. pseudotuberculosis* und *Y. enterocolitica*. Die sogenannten *Y. enterocolitica*-like Spezies *Y. frederiksenii, Y. intermedia, Y. kristensenii, Y. rhodei, Y. mollaretii*, *Y. bercovieri* und *Y. aldovae* sind als apathogen anzusehen. Außerdem gehört noch die fischpathogene Spezies *Y. ruckeri* zur Gattung *Yersinia* (HARTUNG und GERIGK 1991, NESBAKKEN 1992, HEESEMANN 1994, VERHAEGEN et al. 1998, NEUBAUER et al. 2001a, SELBITZ 2002c, KLEER 2004c). Um *Y. enterocolitica* von den sieben *Y. enterocolitica*-like Bakterien unterscheiden zu können, bedient man sich neun verschiedener biochemischer Parameter (**Tabelle 8**), wobei die Fermentation von Rhamnose, Melibiose und Sucrose eine Schlüsselposition einnimmt (NESBAKKEN 1992).

Tabelle 8: Biochemische Parameter zur Unterscheidung von *Y. enterocolitica* und *Y. enterocolitica*-like Bakterien

Eigenschaften	***Y. entero-colitica***	***Y. enterocolitica*-like Bakterien**						
		Y. frede-riksenii	*Y. kristen-senii*	*Y. inter-media*	*Y. aldovae*	*Y. rohdei*	*Y. mollaretti*	*Y. bercovieri*
D-Cellobiose	+	+	+	+	-	+	+	+
D-Melibiose	-	-	-	+	-	+	-	-
L-Rhamnose	-	+	-	+	+	-	-	-
Sucrose	+	+	-	+	-	+	+	+
L-Sorbose	+	+	+	+	-	-	+	-
□-Methyl-D-glucosid	-	-	-	+	-	-	-	-
Voges-Proskauer	+	+	-	+	+	-	-	-

+ mehr als 90% der Isolate weisen eine positive Reaktion auf
- weniger als 10% der Isolate weisen eine positive Reaktion auf

Die medizinische Bedeutung der humanpathogenen Yersinien hat sich in den letzten 100 Jahren stark gewandelt. Der in den vergangenen Jahrhunderten gefürchtete Pesterreger *Y. pestis* ist heute in Europa für die Humanmedizin fast bedeutungslos geworden. Die enteropathogenen Spezies, hier vor allem *Y. enterocolitica*, haben ihn in der Wichtigkeit für Erkrankungen des Menschen überflügelt (HEESEMANN 1994).

3.3.2 Morphologie und kulturelle Eigenschaften

Y. enterocolitica ist ein gramnegatives, oxidasenegatives, katalasepositives, Nitrat-Reduktase-positives, kokkoides bis pleomorphes, psychrotrophes und fakultativ anaerobes Stäbchen von 1 bis 3 µm Länge und 0,5 bis 0,8 µm Breite (NESBAKKEN 1992, NEUBAUER et al. 2001a, KLEE 2002b). Die optimale Bebrütungstemperatur liegt zwischen +28°C und +30°C. Allerdings sind die

Bakterien, da sie psychrotroph sind, auch in der Lage, sich bei Temperaturen um den Gefrierpunkt zu vermehren (SELBITZ 2002c). *Y. enterocolitica* kann weder eine Kapsel noch Sporen bilden, zeigt aber eine temperaturabhängige Begeißelung. Bei Temperaturen zwischen +35°C und +37°C ist *Y. enterocolitica* unbeweglich, wohingegen bei Temperaturen unter +30°C eine geringe Anzahl peritricher Geißeln ausgebildet werden können (NESBAKKEN et al. 1992, HEESEMANN 1994). Weiterhin ist das Bakterium Urease-positiv, H_2S-negativ, kann Mannitol fermentieren und Säure, aber kein Gas aus Glukose produzieren (NESBAKKEN 1992, NESBAKKEN et al. 1994).

Bakterien, die man als *Y. enterocolitica* klassifiziert, bilden keine homogene Gruppe, wobei innerhalb der Spezies ein weites Spektrum an biochemischen Varianten existiert (BERCOVIER et al. 1978, SWAMINATHAN et al. 1982, KAPPERUD und BERGAN 1984). Diese Variationen stellen die Grundlage dar, auf der WAUTERS et al. (1987) ein Biotypisierungsschema entwickelten, um bei *Y. enterocolitica* durch Untersuchung von 10 Parametern zwischen sechs Biotypen unterscheiden zu können. Die Biotypen 2, 3, 4 und 5 enthalten die pathogenen europäischen, der Biotyp 1B die pathogenen, erstmalig in Amerika isolierten Stämme (NEUBAUER et al. 2001c) und der Biotyp 1A beinhaltet die für den Menschen apathogenen, sogenannten „Umweltstämme“ (KLEER 2004c S.37). Neben der Einteilung nach Biotypen können die enteropathogenen Yersinien auch anhand von 60 Oberflächen-(O)- und mindestens 44 Geißel-(H)-Antigenen in Serotypen unterteilt werden (SELBITZ 20002c). Manche O-Antigene können bei verschiedenen Spezies vorkommen, wohingegen die H-Antigene speziesspezifisch sind (SWAMINATHAN et al. 1982). Durch Bestimmung der Serotypen lässt sich auf die Pathogenität eines *Y. enterocolitica*-Stammes schließen. Von *Y. enterocolitica* existieren mehr als 50 Serotypen, von denen allerdings nur einige wenige Serotypen wie O:3 (Biotyp 4), O:9 und O:5,27 (Biotyp 2) sowie O:8, O:18 und O:21 (Biotyp 1B) als pathogen für den Menschen anzusehen sind (KAPPERUD 1991, VERHAEGEN et al. 1998, KLEER 2004b). Die anderen Serotypen sind entweder tierpathogene Typen oder Saprophyten (VERHAEGEN et al. 1998). WAUTERS (1973) konnte als erster eine Verbindung zwischen den Biotypen bzw. Serotypen herstellen, wobei BOTTONE (1997) durch Unterteilung der

Gruppe 1 in 1A und 1B sowie durch Berücksichtigung der Pathogenität ein neues Schema (**Tabelle 9**) erstellen konnte.

Tabelle 9: Virulenz von *Y. enterocolitica* in Abhängigkeit von Biotyp und Serotyp (modifiziert nach BOTTONE 1997)

Biotyp	Serotyp	Humanpathogenität
1A	O:5; O:6,30; O:7,8; O:18; O:4	**nein**
1B	O:8; O:4; O:13a,13b; O:18; O:20; O:21	**ja**
2	O:9; O:5,27	**ja**
3	O:1,2,3; O:5,27; O:3	**ja**
4	O:3	**ja**
5	O:2,3	**ja**

3.3.3 Vorkommen und geographische Ausbreitung

Y. enterocolitica kommt weltweit vor, allerdings beschränkt sich die geographische Verbreitung von *Y. enterocolitica* vor allem auf die subtropischen bis gemäßigten sowie die kühleren Regionen (KAPPERUD 1991, NEUBAUER et al. 2001a), wohingegen der Erreger in den Tropen bisher selten bzw. noch gar nicht isoliert werden konnte (NEUBAUER et al. 2001). In ganz Europa sowie Japan, Australien und Kanada kommen die Serotypen O:3, O:9 und O:5,27 beim Menschen vor, während in Nordamerika die Serotypen O:4,23; O:5,27; O:8; O:13a, 13b; O:18; O:20 und O:21 medizinisch von Bedeutung sind (BOCKEMÜHL et al. 1979, NESBAKKEN 1992, VERHAEGEN et al. 1998, LETELLIER et al. 1999) (**Tabelle 10**).

Tabelle 10: Herkunft, Verbreitung und Pathogenität von *Y. enterocolitica* (nach ALEKSIC und BOCKEMÜHL (1990), HARTUNG und GERIGK (1991), NEUBAUER (2001))

Biovar	Serovar	Herkunft	Verbreitung	Human-pathogenität
1B	O:4, O:8, O:32, O:13a, O:13b, O:18, O:20, O:21 O:4,32	Mensch, Lebensmittel Schwein, Milch Hund, Katze, Ratte, Affe	USA, Kanada, (Italien, Niederlande)	ja
2	O:9, O:5,27	Mensch, Schwein, Hund, Katze, Ratte, Wildtiere, Affe, Milchprodukte, Rinder	Deutschland, Niederlande, USA, Kanada, Japan, Australien, (Europa)	ja
3	O:1, O:2a, O:3, O:5,27 O:9	Chinchillas, Rinder, Hase, Schwein, Hund, Katze, Ratte, Milch	Europa, USA, Deutschland, Niederlande, Kanada, Japan, Australien	möglich
4	O:3	Mensch, Schwein, Hund, Katze, Ratte, Geflügel	Deutschland, Skandinavien, Japan, USA, Australien, Kanada, Südafrika	ja
5	O:2a, O:2b, O:3b, O:3c	Schaf, Ziege, Hase, Affe	Europa, USA	nein

Als Lebensmittelinfektionserreger ist nur *Y. enterocolitica* von Bedeutung. Der Nachweis beim Menschen unterliegt in Deutschland seit dem Inkrafttreten des Infektionsschutzgesetzes (IfSG) Anfang 2001 einer expliziten Meldepflicht (KLEER 2004c S.37). Im Vergleich zu den Jahren 2001 mit 7.213 Erkrankungen (ROBERT KOCH INSTITUT 2003) und 2002 mit 7.524 Krankheitsfällen (ROBERT KOCH INSTITUT 2004a) hat die Inzidenz für Yersiniose in Deutschland im Jahr 2003 und auch 2004 weiter abgenommen (**Tabelle 11**) (ROBERT KOCH INSTITUT 2004a; 2005). Die jährliche Inzidenz weist regionale Unterschiede auf, wobei der Bundesdurchschnitt bei 8 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner im Jahr 2003 und nur noch bei 7,5 Erkrankten pro 100.000 Einwohner 2004 liegt (**Tabelle 11**) (ROBERT KOCH INSTITUT 2004b, ROBERT KOCH INSTITUT 2005).

Tabelle 11: Vorkommen der Yersiniose in Deutschland

Bundesland	Yersiniose 2003		Yersiniose 2004	
	n	Fälle pro 100.000 Einwohner	n	Fälle pro 100.000 Einwohner
Baden-Württemberg	424	4,0	381	3,6
Bayern	567	4,6	579	4,7
Berlin	269	7,9	218	6,4
Brandenburg	305	11,8	236	9,1
Bremen	43	6,5	55	8,3
Hamburg	159	9,2	137	7,9
Hessen	312	5,1	319	5,2
Mecklenburg-Vorp.	219	12,6	198	11,3
Niedersachsen	672	8,4	663	8,3
Nordrhein-Westfalen	1.041	5,8	1.110	6,1
Rheinland-Pfalz	362	8,9	383	9,4
Saarland	101	9,5	102	9,6
Sachsen	797	18,3	677	15,6
Sachsen-Anhalt	498	19,5	397	15,6
Schleswig-Holstein	250	8,9	222	7,9
Thüringen	529	22,1	479	20,0
Deutschland	**6.548**	**7,9**	**6.156**	**7,5**

3.3.4 Reservoir und Infektionswege von *Y. enterocolitica*

Einer der weltweit wichtigsten Reservoirwirte für *Y. enterocolitica* ist das Schwein (CHRISTENSEN 1987, NESBAKKEN 1992, ADESIYUN und KRISHNAN 1995, NIELSEN und WEGENER 1997). Gesunde Schweine sind sowohl im Kot als auch in der Maulhöhle symptomlose Träger von *Y. enterocolitica* 4/O:3 und 2/O:9 (KAPPERUD 1991), die die Ursache für

Erkrankungen beim Menschen darstellen, während der Bioserotyp 1B/O:8 selten bei Schweinen zu finden ist (NESBAKKEN et al. 1992, FUNK et al. 1998). Eine italienische Untersuchung von Hunden zeigt, dass Hunde mit Durchfall, aber auch klinisch gesunde Tiere Träger sein und eine Rolle bei der Übertragung von *Y. enterocolitica* 4/O:3 auf den Menschen spielen können (FANTASIA et al. 1985, CHRISTENSEN 1987, HEESEMANN 1994). Offensichtlich stellt die Verfütterung von rohem Schweinefleisch und getrocknete Schweineohren eine geeignete Infektionsquelle für Hunde aber auch Katzen mit *Y. enterocolitica* 4/O:3 dar, wobei die Tiere nicht zwangsläufig erkranken müssen. Jedoch kann es durch den engen Kontakt zum Menschen, insbesondere zu Kindern, vor allem bei den unter Sechsjährigen, zu einem erhöhten Auftreten der Yersiniose durch Schmierinfektionen kommen (KAPPERUD 1991, FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 2001). Bei Menschen ist *Y. enterocolitica* ein häufiger Erreger von lebensmittelbedingten Darminfektionen und anderen klinischen Syndromen (DE BOER und NOUWS 1991, SELBITZ 2002c), wobei Tiere, insbesondere Schweine und Schweinefleischprodukte die Erregerreservoire darstellen (NESBAKKEN 1992, NESBAKKEN et al. 1994, BORCH et al. 1996, FUNK et al. 1998, SELBITZ 2002c). Die Übertragung von *Y. enterocolitica* erfolgt über den oral-alimentären Übertragungsweg. Lebensmittel tierischen Ursprungs, wie Schweinefleisch sowie Produkte aus Schweinefleisch, sekundär durch Kot kontaminierte Milch und Geflügelfleisch, aber auch Oberflächenwasser sind als Ursache anzusehen. Deshalb müssen *Y. enterocolitica* zu den sogenannten Yersiniose auslösenden „foodborne“-Bakterien gezählt werden (SCHIEMANN 1989, HEESEMANN 1994, NEUBAUER et al. 2001b). In Untersuchungen aus Finnland und Deutschland konnte gezeigt werden, dass Schweinezungen und Schweinehackfleisch stark mit *Y. enterocolitica* kontaminiert waren und somit diese Produkte zur Verbreitung des Erregers vom Schwein auf den Menschen beitragen können (FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 1999, BUCHER et al. 2001, HANK 2003). Auffällig ist, dass in muslimischen Ländern *Y. enterocolitica* nahezu unbekannt zu sein scheint, da dort der Hauptüberträger, das Schwein, als Nahrungsquelle nicht genutzt wird und deshalb Infektionen mit diesem Erreger sehr selten auftreten. Das wiederum ist ein Beweis dafür, dass Schweine bzw. Schweinefleischprodukte

eine bedeutende Rolle bei der Übertragung spielen (KAPPERUD 1991, NESBAKKEN 1992, NEUBAUER et al. 2001b).

3.3.5 Erkrankungen beim Menschen

Beim Menschen verursacht *Y. enterocolitica* nach einer Inkubationszeit von vier bis sieben Tagen die Yersiniose, eine akute Enteritis oder Enterokolitis, die für wenige Tage, aber auch bis zu zwei Wochen andauern kann (BORCH et al. 1996, NEUBAUER et al. 2001b). Säuglinge und Kleinkinder zeigen nach einer *Y. enterocolitica*-Infektion eine ein bis zwei Wochen andauernde, selbstlimitierende Gastroenteritis mit Fieber, wässrigem bis blutigem Durchfall und Erbrechen (COVER und ABER 1989, SCHIEMANN 1989, HEESEMANN 1994, NEUBAUER et al. 2001b, SELBITZ 2002c, KLEER 2004c). Bei Jugendlichen und Erwachsenen zeigt sich kolikartiger Bauchschmerz infolge einer akuten mesenterialen Lymphadenitis (Ileozökalwinkel). Weitere Hauptsymptome sind akute terminale Ileitis, Pseudoappendizitis, Fieber, Übelkeit, blutiger Stuhl sowie Entzündungen im Halsbereich (NESBAKKEN 1992, ALEKSIC und BOCKEMÜHL 1996, KLEER 2004c). Yersiniosen können bei Erwachsenen aber auch sehr unterschiedliche klinische Verlaufsformen zeigen, wie die eines grippalen Infekts mit Pharyngitis, Myalgien und Fieber oder die einer chronisch-rezidivierenden Ileokolitis unter Beteiligung der mesenterialen Lymphknoten, Pseudo-Crohn genannt (HEESEMANN 1994). Nicht selten verursachen enteropathogene Yersinien beim Menschen mit Grunderkrankungen wie Diabetes mellitus, Leberzirrhose, Immunsuppression und Krebsleiden extramesenteriale fokale Infektionen, wie Hepatitis mit Leberabszessen, Pleuritis, Perikarditis, Endokarditis oder Osteomyelitis. Darüber hinaus können bei Personen mit genannten Grunderkrankungen und bei Patienten mit hämolytischer Anämie sowie Dialyse-Patienten Yersinia-Septikämien auftreten (HEESEMANN 1994, ALEKSIC und BOCKEMÜHL 1996, NEUBAUER et al. 2001b). Mögliche postinfektiöse Komplikationen bei Menschen, die Träger des HLA-B27-Antigens sind, stellen die Reaktive Arthritis und das Erythema nodosum dar. Des weiteren sind Fälle von Uveitis, Thyreoiditis sowie Myokarditis als Folgeerkrankungen einer Yersiniose

bekannt geworden (BISPING und AMTSBERG 1988, HEESEMANN 1994, NEUBAUER et al. 2001b, SELBITZ 2002c).

3.3.6 Erkrankungen bei Tieren

Das Vorkommen von *Y. enterocolitica* ist bei zahlreichen Tierarten dokumentiert, allerdings ist der Nachweis des Erregers nicht immer mit klinisch erkennbaren Symptomen bei diesen Tieren in Verbindung zu bringen (NEUBAUER et al. 2001a). Bei Tieren führt *Y. enterocolitica* nur selten zur Erkrankung, obwohl tierische Reservoire für die Infektion des Menschen von Bedeutung sind (NESBAKKEN 1992, ALEKSIC und BOCKEMÜHL 1996, SELBITZ 2002c).

1. *Y. enterocolitica*-Infektionen beim Schwein:
   Die klinische Yersiniose tritt beim Schwein vor allem als Jungtiererkrankung auf, wobei die Tiere an Enteritiden und Enterokolitiden im Zusammenhang mit Anorexie und Durchfall leiden sowie purulente Meningoenzephalitiden und nekrotisierende Entzündungen der Tonsillen zeigen können (NEUBAUER et al. 2001a). Bei einer Untersuchung von Tonsillen klinisch gesunder Schlachtschweine stellte man bei allen Tieren Tonsillitiden mit Mikroabszessen fest (SHIZAWA et al. 1991). Fruchtbarkeitsstörungen in Form von Rauschestörungen durch Zystenbildung und Aborte sind bei Muttersauen zu beobachten (NATTERMANN et al. 1986, SELBITZ 2002c). Immunpathologische Reaktionen lösen Arthritiden, Arthrosen, Epiphysiolysen und Hauterkrankungen aus, die an das Erythema nodosum des Menschen erinnern und mit Pruritus einhergehen (NATTERMANN et al. 1986).

2. *Y. enterocolitica*-Infektionen bei anderen Tieren:
   Rinder können Träger pathogener Y. enterocolitica-Isolate sein und scheiden sie über den Kot aus, wobei der Serotyp O:9 vorherrschend zu sein scheint (ALEKSIC und BOCKEMÜHL 1996, KLEE 2002b). Im Zusammenhang mit einer Yersinieninfektion bei Rindern sind verschiedene

Erkrankungsformen wie Mastitis, Endokarditis, mesenteriale Lymphadenitis, Enterokolitis, einhergehend mit profusem, übelriechendem, mit Schleim und Blut versetztem Durchfall sowie Septikämie, die bei trächtigen Tieren mit fortgeschrittener Gravidität zu Aborten führen kann, zu beobachten (NATTERMANN et al. 1986, KLEE 2002b). Bei den **kleinen Wiederkäuern** sind vor allem die Jungtiere betroffen, die durch Kümmern, blutigen Durchfall, mesenteriale Lymphadenitis sowie Enterokolitis auffallen (NEUBAUER et al. 2001a, SELBITZ 2002c). Mutterschafe zeigen bei *Y. enterocolitica*-Infektionen Plazentitiden, die zu Totgeburten oder aber zu Geburten lebensschwacher Lämmer, bei denen generalisierte Infektionen auftreten, führen (NEUBAUER et al. 2001a). Ähnlich wie beim Menschen sind bei **Hunden** eher die Welpen als erwachsene Tiere betroffen (SUTER 2001), und ebenso erfolgt die Infektion wie beim Menschen mit *Y. enterocolitica* 4/O:3 über rohes oder unzureichend erhitztes Schweinefleisch (CHRISTENSEN 1987, FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 2001). Durch ihr Sozialverhalten infizieren sich in Gruppen gehaltene Tiere, wie zum Beispiel in großen Zwingeranlagen oder in Hundezuchten, gegenseitig (FANTASIA et al. 1985). Die orale Infektionsdosis liegt für vier Monate alte Welpen bei 10^6, für ein- bis zweijährige Hunde bei 10^9 Bakterien. Die Tiere zeigen dann meistens schleimig-blutigen Durchfall. Die Ausscheidungsrate für *Y. enterocolitica* liegt bei 10^2 bis 10^6 Bakterien pro Gramm Kot (FANTASIA et al. 1985, HAYASHIDANI et al. 1995). Es werden aber auch Infektionen der Analdrüsen, abdominale Zysten und mesenteriale Adenitis beschrieben, doch oft scheint die Infektion asymptomatisch zu verlaufen (FANTASIA et al. 1985, HAYASHIDANI et al. 1995, SUTER 2001). Infektionen bei **Kaninchen** und **Hasen** werden durch *Y.enterocolitica* 5/O:2a,2b,3b,c, den sogenannten „Hasentyp“, ausgelöst (SELBITZ 2002c). Die Tiere zeigen dabei neben Kachexie und Splenomegalie die Symptome einer hämorrhagischen Enterokolitis, fibrinösen Pleuritis sowie mesenterialen Lymphadenitis (NEUBAUER et al. 2001a). Bei **Chinchillas** wird die *Y. enterocolitica*-Infektion durch den sogenannten „Chinchillatyp“ 3/O:1,2a,3 ausgelöst (SELBITZ 2002c). Betroffene Tiere leiden an einer fibrinösen Enterokolitis und zeigen Granulome in Leber, Milz, Lunge und der

intestinalen Mukosa. Deshalb ist diese Infektion sehr leicht mit der Rodentiose zu verwechseln, deren Erreger jedoch nicht *Y. enterocolitica* sondern *Y. pseudotuberculosis* ist (NEUBAUER et al. 2001a).

3.3.7 Nachweismethoden für *Y. enterocolitica*

I. Konventionelle Nachweismethoden

Es existieren zahlreiche Methoden zum Nachweis von *Y. enterocolitica*, wobei nur eine Kombination mehrerer Isolierungsverfahren eine zufriedenstellende Sensitivität in der Routinediagnostik bewirken kann (ALDOVA et al. 1990). Hinsichtlich Isolierung und Identifizierung basiert der *Y. enterocolitica*-Nachweis auf einer selektiven Anreicherung der Erreger, dann einer Subkultivierung auf Selektivnährböden und zum Schluss der biochemischen Untersuchung verdächtiger Kolonien (DE BOER und NOUWS 1991, PICHHARDT 1998, NEUBAUER et al. 2001c). Eine amtliche Methode nach § 35 Lebensmittel-Bedarfsgegenständegesetz (LMBG) fehlt für den Yersinien-Nachweis, weshalb hier auf ISO/DIS 10273 „General guidance for the detection of presumptive *Y. enterocolitica*“, einer standardisierten Methode zum Nachweis von pathogenen *Y. enterocolitica* zurückzugreifen ist (DRAFT INTERNATIONAL STANDARD 1993). Als Anreicherungsmedium findet das Irgasan-Ticarcillin-Kaliumchlorat-Medium (ITC) Verwendung (NEUBAUER et al. 2001c). Eine weitere Referenzmethode zum Nachweis von *Y. enterocolitica* in Lebensmitteln stellt die Methode des Nordischen Komitees für Lebensmitteluntersuchung, NORDIC COMITTEE ON FOOD ANALYSIS (NCFA), dar (NESBAKKEN 1992). Der entscheidende Unterschied zur ISO/DIS 10273 liegt in der Anwendung der Modifizierten-Rappaport-Bouillon (MRB) an Stelle von ITC. Diese Methode setzt sich aus einer Kälteanreicherung, einer Anreicherung in einem wenig selektiven Medium und einer Anreicherung in einem stark selektiven Medium wie MRB anstelle von ITC, zusammen (NFCA 1996).

1. Anreicherungsverfahren:

   Bei den Anreicherungsverfahren für *Y. enterocolitica* ist zwischen der sogenannten Kälteanreicherung und der Selektivanreicherung zu unterscheiden (SELBITZ 2002c)

   Die Kälteanreicherung bei +4°C kann als eine Art Selektivanreicherung angesehen werden, da sie auf den psychrotrophen Eigenschaften von *Y. enterocolitica* beruht. Dies ermöglicht den Yersinien im Gegensatz zur Begleitflora noch ein Wachstum bei den niedrigen Temperaturen. Meistens wird die Kälteanreicherung in 0,15 molarer, phosphatgepufferter Kochsalzlösung für die Dauer von 14 oder mehr Tagen durchgeführt (SCHIEMANN 1989, ALEKSIC und BOCKEMÜHL 1990, PICHHARDT 1998).

   Für die selektive Anreicherung von *Y. enterocolitica* werden diverse Anreicherungsmedien beschrieben. WAUTERS (1973) beschreibt eine mit Carbencillin supplementierte modifizierte Rappaport-Bouillon (MRB), in der die Probe für zwei bis vier Tage bei +25°C inkubiert wird. Eine weitere Bouillon zur selektiven Anreicherung entwickelten WAUTERS et al. (1988) und benannten diese nach ihrer Zusammensetzung als Irgasan-Ticarcillin-Kaliumchlorat (ITC)-Bouillon. Die ITC-Bouillon wird nach Beimpfung 24 Stunden bei +24°C bebrütet (ISO/DIS 10273). Beide Medien zeigen höchste Selektivität für die Serotypen O:3 und O:9 und können zur Isolierung aus stark kontaminiertem Untersuchungsmaterial herangezogen werden. Die Untersuchungsmethode nach ISO/DIS 10273 verlangt das ITC-Medium zur selektiven Voranreicherung.

2. Kultivierung bzw. Isolierung auf Selektivagar

   Y. enterocolitica ist in der Lage, auf den meisten Nährmedien, die auch bei der Isolierung von anderen *Enterobacteriaceae* zum Einsatz kommen, zu wachsen. Dabei handelt es sich unter anderem beispielsweise um *Salmonella-Shigella*-Agar (SSA), MacConkey-Agar (ALEKSIC und BOCKEMÜHL 1990, HEESEMANN 1994) sowie Desoxycholat-Citrat-Lactose-Agar (SCHIEMANN 1989), auf denen *Y. enterocolitica* gut, aber

nur sehr langsam wächst und in der Folge schnell durch die vorhandene Begleitflora überwuchert werden kann (NILÈHN 1969). Auf Grund dieser Tatsache wurde ein spezieller *Yersinia*-Selektivnährboden, der Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin (CIN)-Agar entwickelt (SCHIEMANN 1979), der als Selektivnährboden in der ISO/DIS 10273 (DRAFT INTERNATIONAL STANDARD 1993) empfohlen wird. Dieser Nährboden eignet sich aufgrund der in ihm enthaltenen Antibiotika besonders gut zum Nachweis von Yersinien aus Lebensmittel- und Kotproben (OXOID 1993). Das Antibiotikum Irgasan hemmt die gramnegativen Bakterien (wie *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*), und Cefsulodin wirkt gegen *Pseudomonas aeruginosa* (NEUBAUER et al. 2001c). Pathogene Kolonien von *Y. enterocolitica* wachsen nach einer Inkubation über 24 bis 48 Stunden bei +28°C auf CIN-Agar in Form von transparenten, ein bis zwei Millimeter großen, leicht erhabenen Kolonien mit rosa bis rotem Zentrum in der sogenannten „Kuhaugen"- oder „bull's eye"-Form (SCHIEMANN 1989). Neben *Yersinia* spp. können auch andere Darmbakterien wie *Enterobacter*-, *Aeromonas*-, *Klebsiella*-. *Proteus*- und *Citrobacter*-Arten wachsen, die eine ähnliche Kolonienmorphologie aufweisen und deshalb den Nachweis erschweren (DE BOER und SELDAM 1987).

Ein weiterer, speziell für virulente *Y. enterocolitica*-Isolate entwickelter fester Nährboden ist das Virulent-*Y. enterocolitica* (VYE)-Agarmedium, dem außer Cefsulidon-Irgasan noch zusätzlich Josamycin, Oleandomycin und Äskulin zugesetzt werden. Nach einer Bebrütung von 24 bis 48 Stunden bei +32°C wachsen pathogene Stämme in Form von roten Kolonien und apathogene Stämme aufgrund der Äskulinhydrolyse als dunkle Kolonien (FUKUSHIMA 1987a).

3. Identifizierung:

Für eine weitere Identifizierung von *Y. enterocolitica* eignet sich in erster Linie der positive Urease-Nachweis auf Harnstoff-Agar nach Christensen (SCHIEMANN 1989). Auf diesem kann die Hydrolyse von Harnstoff durch den rötlichen Farbumschlag des enthaltenen pH-Indikators Phenolrot von Gelb nach Purpurrot beurteilt werden (PICHHARDT 1998). Außerdem

stehen mehrere kommerzielle Testsysteme für die Identifizierung ureasepositiver *Y. enterocolitica*-Isolate zur Verfügung, mit denen eine biochemische Untersuchung in miniaturisierter Form leicht durchführbar ist. Zu diesen Testsystemen gehören unter anderem die API 20E (Biomérieux), mit der mehrere Stoffwechselleistungen gleichzeitig zu untersuchen sind (PICHHARDT 1989, NEUBAUER 2000).

4. Biotypisierung und Pathogenitätsnachweis:

   Isolate von *Y. enterocolitica* können anhand der Tests auf Pyrazinamidase und Tween-Esterase, der Hydrolyse von Äskulin, der Indolproduktion sowie der Fermentation von Salicin, Xylose und Trehalose biotypisiert werden (BUCHER 2001). Bei pathogenen *Y. enterocolitica* fallen sowohl die Salicinfermentation als auch die Hydrolyse von Äskulin sowie der Pyrazinamidasenachweis negativ aus (FARMER et al. 1992, BOTTONE 1997). Die plasmidabhängigen Eigenschaften, calciumabhängiges Wachstum bei +37°C und Kongorot-Bindungsfähigkeit, können mittels des Kongorot-Magnesium-Oxalat-(CRMOX)-Agarmediums nachgewiesen werden (RILEY und TOMA 1989). Nach der Bebrütung bei +37°C für 24 Stunden zeigen CRMOX-positive und somit pathogene *Y. enterocolitica*-Isolate ein Wachstum in Form kleiner roter Kolonien, wohingegen CRMOX-negative Kolonien groß und farblos erscheinen (RILEY und TOMA 1989).

II. Alternative Nachweismethoden

Neben den konventionellen Methoden der klassischen mikrobiologischen Diagnostik stehen auch moderne Verfahren wie beispielsweise die DNA-Hybridisierung oder PCR, die auf einem DNA-Nachweis beruhen, zur Verfügung (NEUBAUER et al. 2001c). Mittels PCR können kleinste Mengen von DNA nachgewiesen werden. Das haben sich FREDRIKSSON-AHOMAA et al. (1999) zunutze gemacht, indem sie bei Untersuchungen von Hackfleisch mittels PCR deutlich höhere Prävalenzen von *yad* A-positiven *Y. enterocolitica* nachweisen konnten als bei Verwendung konventioneller kultureller Methoden.

3.4 *Salmonella* spp.

3.4.1 Allgemeines

Salmonellen gehören zur großen Familie der *Enterobacteriaceae* und zählen weltweit betrachtet zu den wichtigsten bakteriellen Infektionserregern bei Menschen und Tieren (SELBITZ 2002c). Sie treten in einer sehr großen Zahl von Serotypen und Stämmen auf, die Unterschiede in der Wirtsanpassung und Virulenz aufweisen und von denen viele zu den Zoonoseerregern des Menschen zu rechnen sind (SELBITZ 2002c, DORN et al. 2003). Der Gattung *Salmonella* gehören nur 2 Spezies an, nämlich *S. enterica* mit den sechs Subspezies *enterica, salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* und *indica* sowie die Spezies *S. bongori* (LE MINOR und POPOFF 1987). Die fünf zuletzt aufgezählten Subspezies kommen vorzugsweise bei Kaltblütern vor und sind lebensmittelhygienisch ohne Bedeutung. Hingegen sind die zwei Serotypen *S. enterica* subsp. *enterica* Serotyp typhimurium (*S*. Typhimurium) und *S. enterica* subsp. *enterica* Serotyp *enteritidis* (*S*. Enteritidis) lebensmittelhygienisch wichtig (KLEER 2004c). Von besonderer epidemiologischer Bedeutung sind die Erkrankungen des Menschen mit *Salmonella* spp., die sogenannte Salmonellose oder Salmonella-Enteritis, früher Enteritis infectiosa genannt (ROBERT KOCH INSTITUT 2002, DORN et al. 2003). Die Salmonellose, vorwiegend ausgelöst durch die nicht wirtsadaptierten *S. Typhimurium* und *S. Enteritidis*, aber auch durch andere Serovaren der Gattung *Salmonella*, gehört zum Komplex der infektiösen Gastroenteritis. Sowohl der Verdacht als auch die Erkrankung sind gemäß § 6 Abs. 1 Nr. 2 IfSG meldepflichtig (ROBERT KOCH INSTITUT 2002, SELBITZ 2002c). Zu beachten ist, dass die Erkrankungen Typhus und Paratyphus, die durch die Serotypen *S.* Typhi und *S.* Paratyphi verursacht werden, nicht zu diesem Komplex gehören. Sie treten in Deutschland sowie in vielen anderen Industrieländern nur noch äußerst selten z.B. über die Einschleppung der Erreger durch den internationalen Reiseverkehr auf. (ROBERT KOCH INSTITUT 2002, SELBITZ 2002c).

3.4.2 Morphologie und kulturelle Eigenschaften

Salmonellen sind 0,7 bis 1,5 x 2,0 bis 5,0 µm große, ovoide, gramnegative, und fakultativ anaerobe, nicht sporenbildende mit Ausnahme von *S*. Gallinarum und *S*. Pullorum durch peritriche Begeißelung bewegliche Stäbchenbakterien (BISPING und AMTSBERG 1988, ULLMANN 1994, KLEE 2002c, SELBITZ 2002c, KLEER 2004b). Charakteristische Stoffwechselleistungen sind neben der Reduktion von Nitrat zu Nitrit unter anderem die Bildung von H_2S, wobei Sulfide entstehen, die die Salmonellen auf XLT4-Agar schwarz erscheinen lassen. Ein weiteres Charakteristikum der Salmonellen ist das Abbauvermögen von Propylenglykol, in dessen Folge Säure gebildet wird, die ein Indikator als Farbumschlag anzeigt und den Salmonellen auf Rambach-Agar eine charakteristische Rotfärbung verleiht. Schließlich gilt es noch zu erwähnen, dass der fehlende Lactoseabbau des Erregers neben der Verwendung von Citrat als alleinige Kohlenstoffquelle ein besonders wichtiges Merkmal für die Diagnostik darstellt (SELBITZ 2002c). Salmonellen wachsen in einem Temperaturbereich von +10°C bis +47°C und in manchen Fällen schon zwischen +6°C bis +8°C. Die optimale Bebrütungstemperatur liegt jedoch bei +37°C und kann bis +43°C angehoben werden, um das Vorkommen einer starken Begleitflora zu hemmen (BISPING und AMTSBERG 1988). Auf Grundlage der Struktur ihrer Oberflächen-(O)- und Geißel-(H)-Antigene können Salmonellen nach dem Kauffmann-White-Schema und mittels einer Seroformel in zur Zeit mehr als 2500 Serotypen eingeteilt werden. Davon sind nur etwa 20 bis 30 Erreger bei lebensmittelbedingten Erkrankungen von Interesse (NIELSEN und WEGENER 1997, SELBITZ 2002c, ROBERT KOCH INSTITUT 2002).

3.4.3 Vorkommen und geographische Ausbreitung

Salmonellen-assozierte Erkrankungen des Menschen sind weltweit verbreitet (KLEE 2002c) und verursachen beispielsweise in Amerika bei 1,5 Millionen Menschen eine Salmonellose. Bei 31% aller Todesfälle in den USA, die auf eine akute Gastroenteritis zurückgehen, waren *Salmonella* spp. die Ursache

(KORSAK et al. 2003). In Belgien zeigen Zahlen aus dem Jahr 2001, dass die Serotypen *S*. Enteritidis und *S*. Typhimurium 64,2 bzw. 21,5% der *Salmonella*-Infektionen des Menschen hervorrufen (BOTTELDOORN et al. 2003). Nach einem stetigen Anstieg bis 1992, dem Höhepunkt der Enteritis infectiosa mit mehr als 195.000 amtlich gemeldeten Erkrankungsfällen, ist die Salmonellose seit 1993 rückläufig, wobei 1999 noch bei über 85.000 Personen eine Salmonellose nachzuweisen war (SELBITZ 2002c, KLEER 2004b). Im Vergleich zu den Jahren 2001 und 2002 mit 77.365 bzw. 72.377 gemeldeten Fällen (ROBERT KOCH INSTITUT 2003, 2004a) ist die Salmonellose auch 2003 (62.836 Erkrankungen) und 2004 (56.760 Erkrankungen) immer noch weiter rückläufig (**Tabelle 12**), bleibt jedoch weiterhin die am häufigsten nach dem IfSG gemeldete Erkrankung in Deutschland. Es sind deutliche regionale Unterschiede zu verzeichnen. Die jährliche bundesweite Inzidenzrate lag im Jahr 2003 bei 76 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner und ist im Jahr 2004 auf 69 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner zurückgegangen (**Tabelle 12**) (ROBERT KOCH INSTITUT 2004a, 2005).

Tabelle 12: Vorkommen der Salmonellose in Deutschland

Bundesland	Salmonellose 2003		Salmonellose 2004	
	n	Fälle pro 100.000 Einwohner	n	Fälle pro 100.000 Einwohner
Baden-Württemberg	6.635	62,2	6.644	62,3
Bayern	8.617	69,6	8.542	69,0
Berlin	2.211	65,2	2.038	60,1
Brandenburg	2.790	108,1	2.478	96,0
Bremen	327	49,4	297	44,9
Hamburg	1.250	72,3	1.208	69,9
Hessen	4.320	70,9	3.777	62,0
Mecklenburg-Vorp.	1.908	109,3	1.474	84,5
Niedersachsen	5.584	70,0	5.000	62,7
Nordrhein-Westfalen	11.590	64,1	9.445	52,3
Rheinland-Pfalz	3.801	93,7	4.057	100,0
Saarland	768	72,1	738	69,3
Sachsen	5.057	116,3	4.285	98,5
Sachsen-Anhalt	2.827	110,9	2.558	100,3
Schleswig-Holstein	2.039	72,4	1.740	61,8
Thüringen	3.112	130,1	2.479	103,6
Deutschland	**62.836**	**76,1**	**56.760**	**68,8**

3.4.4 Reservoir und Infektionswege von *Salmonella* spp.

Salmonellenerkrankungen können nahezu bei allen Tierarten nachgewiesen werden. Das Spektrum reicht von Reptilien über Vögel, Rinder, kleine Wiederkäuer, Schweine, Pferde, Hunde und Katzen sowie Zoo- und Wildtiere bis hin zum Menschen (SELBITZ 2002c). Ein Habitat von Salmonellen ist der Darm von Tieren und Menschen. Ihre hohe Tenazität ermöglicht ihnen ein

Überleben für Wochen und Monate in der kontaminierten Umwelt, wobei das wirkliche Ausmaß der Umweltkontamination wahrscheinlich unbekannt ist (SELBITZ 2002c).

Die Infektion bei Tieren erfolgt meistens auf oralem Weg über Futtermittel und Wasser, die durch Ausscheidungen (Kot, Speichel, Nasensekret) infizierter Tiere oder durch Jauche, Mist, Siedlungsabwässer oder auf eine andere Art verunreinigt worden sind (ULLMANN 1994, KLEE 2002c, SELBITZ 2002c). Es besteht auch die seltene Möglichkeit der Übertragung durch Kontaktinfektionen von Tier zu Tier oder Tier zu Mensch. Dieser Übertragungsweg wird häufiger bei Heimtieren beobachtet (SELBITZ 2002c, ROBERT KOCH INSTITUT 2002). Hunde infizieren sich über rohes Fleisch, ungekochte Schlachtabfälle und Koprophagie. Vor allem die Haltung mehrerer Tiere auf engem Raum, wie in Tierpensionen, Zuchtanlagen und Tierkliniken, birgt die Gefahr fäkal-oraler Infektionen von Tier zu Tier (SUTER 2001, SELBITZ 2002c). Als Infektionsquelle für Schweine kommt neben freilebenden Vögeln und Schadnagern vor allem die ungenügende Reinigung und Desinfektion der Ställe und Transportfahrzeuge in Betracht (STEINBACH und KROELL 1999, DORN et al. 2003). Schließlich gibt es neben dem hauptsächlichen oralen Infektionsweg auch noch einen aerogenen und konjunktivalen Weg über den Nasen-Rachen-Raum. Bei Vögeln besteht auch die Möglichkeit, dass die *Salmonella* spp. über den germinativen Weg in den Organismus einwandern (SELBITZ 2002c).

Die Salmonellose des Menschen gehört zu den klassischen lebensmittelbedingten Infektionskrankheiten. Da das Schwein als Salmonellenträger zu einer der vielen möglichen Infektionsquellen zählt, spielt hier mit *Salmonella* spp. kontaminiertes Schweinefleisch eine große Rolle (BORCH et al. 1996, LETELLIER et al. 1999, OFFERMANN et al. 1999, KÄSBOHRER et al. 2000, SWANENBURG et al. 2001, BOTTELDOORN et al. 2003). Weitere Risiken für den Endverbraucher bestehen durch den Verzehr roher oder nicht richtig durcherhitzter von Geflügel, Rindern und Schweinen stammender Lebensmittel, wie Hackfleisch, Rohwurstsorten, hier vor allem frischer Mettwurst (ULLMANN 1994, ROBERT KOCH INSTITUT 2002, DORN

et al. 2003, KLEER 2004b). An der Spitze der Infektionsursachen stehen ebenso rohe Eier und Speisen, die Rohei enthalten, z.B. Konditoreiwaren, Cremes, Speiseeis, Milcherzeugnisse und Mayonnaise. Letztere stellen vor allem bei mangelhafter Kühlung und Lagerung gute Nährmedien für diese Bakterien dar und repräsentieren unter entsprechenden Bedingungen durch das Erreichen hoher Keimzahlen ein Infektionsrisiko (ULLMANN 1994, KRÄMER 2002, ROBERT KOCH INSTITUT 2002, KLEER 2004b). Daneben spielen Kreuzkontaminationen bei der Salmonellenübertragung, vor allem als Rekontaminationen von bereits erhitzten verzehrsfertigen Speisen eine besondere Rolle. Die Erreger können durch die Hände, durch Kontakt mit kontaminierten Rohwaren oder über verunreinigte Arbeitsflächen und Gerätschaften in das Produkt gelangen (DORN et al. 2003, KLEER 2004b). Die direkte oder indirekte Übertragung von Mensch zu Mensch kommt als Hospitalinfektion bei disponierten Personen oder unter bedenklichen hygienischen Bedingungen vor (ROBERT KOCH INSTITUT 2002).

3.4.5 Erkrankungen beim Menschen

Die Infektion des Menschen erfolgt durch den Verzehr kontaminierter Lebensmittel, wobei die Infektionsdosis für gesunde Erwachsene und oraler Aufnahme bei 10^4 bis 10^6 Salmonellen liegt (ULLMANN 1994, KRÄMER 2002, SELBITZ 2002c, KLEER 2004b). Wenn es sich um abwehrgeschwächte Personen wie alte Menschen, Kleinkinder und Säuglinge bzw. nicht voll immunkompetente Personen handelt, so sollen sogar Infektionsdosen mit weniger als 100 Erregern für das Auslösen von Erkrankungen ausreichen (KRÄMER 2002, ROBERT KOCH INSTITUT 2002, SELBITZ 2004c). Nach einer Inkubationszeit von fünf bis 72 Stunden, in Ausnahmen bis zu sieben Tagen, setzt plötzlich ein akuter Brechdurchfall mit häufigem wässrigem, zu Beginn noch nicht blutigem Stuhlgang ein (KRÄMER 2002, ROBERT KOCH INSTITUT 2002, KLEER 2004c). Fieber, selten über +38°C, Übelkeit, Erbrechen und Kopfschmerzen sind die weiteren Symptome einer Salmonellose, die zumeist nach wenigen Stunden oder Tagen wieder abklingen (ULLMANN 1994, SELBITZ 2002c, KLEER 2004). Die

Salmonellenausscheidung endet normalerweise spätestens nach sechs Wochen, bei Säuglingen hält sie länger an, jedoch selten mehr als sechs Monate. In äußerst seltenen Fällen sind Komplikationen, wie Perikarditis, neurologische Erkrankungen, reaktive Arthritis, Spondylitis und Osteomyelitis zu beobachten (ROBERT KOCH INSTITUT 2002). Nur selten kommen auch an bestimmte Tiere adaptierte Erreger wie *S. Cholerasuis* (Schwein) und *S. Dublin* (Rind) als Erreger beim Menschen vor, allerdings verursachen sie schwere Erkrankungen mit oft letalem Ausgang (KLEE 2002c, SELBITZ 2002c, KLEER 2004b).

3.4.6 Erkrankungen bei Tieren

1. Salmonellosen beim Schwein:

   An Schweine sind die Serotypen *S.* Cholerasuis und *S.* Thyphisuis adaptiert, wobei *S.* Cholerasuis in Osteuropa, den USA, in Asien sowie dem östlichen Teil Deutschlands weit verbreitet ist, in Westdeutschland aber fast bedeutungslos erscheint. *S*. Thyphisuis weist generell nur eine geringe Verbreitung auf (SELBITZ 2002c). Insbesondere verursacht der Serotyp *S. Cholerasuis* die wirtschaftlichen Verluste in der Schweineproduktion und äußert sich bei allen Altersgruppen, vor allem aber bei den acht bis 16 Wochen alten Tieren, nach einer Inkubationszeit von 24 bis 48 Stunden in Form einer fiebrigen septikämischen Allgemeinerkrankung. Die Infektion geht mit einer Zyanose der Rüsselscheibe, Ohrmuscheln, Bauchdecken und Gliedmaßen sowie mit Symptomen einer Pneumonie, Meningitis, Enzephalitis und Enterokolitis einher (WALDMANN und PLONAIT 1997, STEINBACH und KROELL 1999, SELBITZ 2002c). Im allgemeinen liegt die Morbidität zwischen 50 und 80%, die Mortalität bei nur 5 bis 10, manchmal allerdings bei bis zu 70% der Schweine eines Bestandes (KRAMER 1995).

2. Salmonellosen bei anderen Tieren:

   Die Salmonellose der **Rinder** wird zu über 90% durch den an das Rind adaptierten Serotyp *S*. Dublin und durch den Serotyp *S*. Typhimurium

ausgelöst (FERKING et al. 1995, KLEE 2002c). Obwohl alle Altersgruppen an einer Salmonellose erkranken können, sind die Kälber am anfälligsten für eine Infektion, die sich dahingehend äußert, dass die Tiere das Bild einer akuten Enterokolitis sowohl ohne als auch mit wesentlichen Störungen des Allgemeinbefindens zeigen können (KLEE 2002c, SELBITZ 2002c). Die septikämische Verlaufsform mit Endotoxämie kann der enterokolitischen Form folgen und führt schließlich zum Tod der Tiere (FERKING et al. 1995, KLEE 2002c). Im Gegensatz zu den pflanzenfressenden Tieren gibt es keine an **Hund** und **Katze** adaptierten artspezifischen *Salmonella*-Serotypen. Die Salmonellose kann ganz unterschiedliche Verläufe nehmen, wobei die latente (subklinische) Infektion am häufigsten zu sehen ist (SELBITZ 2002). Die Enterokolitisform ist mit Brechdurchfall und zumeist milden extraintestinalen Symptomen verbunden, wohingegen die Septikämieform, die vor allem bei Jungtieren auftritt, die schwerste Form der Salmonellose darstellt (FREUDIGER 1993, SUTER 2001, SELBITZ 2002c). Bei **Hühnern** sind zwei Varianten von *Salmonella*-Infektionen zu unterscheiden. Der Serotyp *S.* Gallinarum besteht aus den beiden Biotypen Pullorum und Gallinarum, ist an Hühner adaptiert, kann aber auch bei Puten sowie anderen Vogelarten, aber nicht bei Säugetieren vorkommen (SELBITZ 2002c). Der Biotyp Pullorum führt bei Küken zu akuten septikämischen Infektionen, die als weiße Kükenruhr bzw. Pullorumseuche bezeichnet werden, wohingegen der Biotyp Gallinarum bei älteren Hühnern den sogenannten Hühnertyphus verursacht (SIEGMANN 1993, SELBITZ 2002c). Außerdem können sehr viele nicht an Hühner adaptierte *Salmonella*-Serotypen bei diesen Tieren nachgewiesen werden, die zumeist nur latente Infektionen auslösen, aber eine wichtige Ursache für lebensmittelbedingte Infektionen beim Menschen darstellen. Hierbei spielen vor allem die Serotypen *S*. Typhimurium und *S*. Enteritidis eine Rolle (SELBITZ 2002c).

3.4.7 Nachweismethoden für Salmonellen

I. Konventionelle Nachweismethoden

Es existiert eine große Zahl verschiedener Methoden des kulturellen Nachweises von Salmonellen. In der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz (LMBG) werden Referenzverfahren aufgezeigt, wodurch einheitliche und vergleichbare Untersuchungsbedingungen beim Salmonellennachweis aus Lebensmitteln ermittelt wurden. Die in § 35 LMBG L 00.00-20 vorgeschriebenen Methoden werden zu den konventionellen kulturellen Nachweisverfahren gerechnet und lassen sich in fünf Abschnitte unterteilen.

1. Voranreicherung:
   Durch die Verwendung einer hemmstofffreien, nichtselektiven Voranreicherung wie des gepufferten Peptonwassers gelingt es, die Menge an Salmonellen auch in einem nur gering belasteten Probenmaterial zu vergrößern und so eine ausreichend große Zahl an intakten Salmonellen in die Selektivanreicherung überführen zu können (VASSILIADIS 1974, SCHLUNDT und MUNCH 1993, SELBITZ 2002c). Vor allem bei der Untersuchung von Lebensmittel- und Futtermittelproben wird die Voranreicherung angewendet (SELBITZ 2002c).

2. Selektivanreicherung:
   Nach § 35 LMBG L 00.00-20 können zur selektiven Anreicherung die selektiven flüssigen Nährmedien nach Rappaport-Vassiliadis (RV) und Selenit-Cystin-Bouillion (SC) eingesetzt werden. Einige Studien haben jedoch bewiesen, dass bei Verwendung der Rappaport-Vassiliadis-Anreicherungslösung bessere Ergebnisse hinsichtlich der selektiven Anreicherung von Salmonellen zu erzielen sind als bei Verwendung des Selenit-Cystin-Mediums (RAPPAPORT et al. 1956, VASSIALIDIS 1983, SCHLUNDT und MUNCH 1993, ATANASSOVA et al. 1998). Die Zusätze von Malachitgrün und Magnesiumchlorid sind für das selektive Prinzip des

RV-Mediums verantwortlich, wobei das Malachitgrün als Hemmstoff für die grampositive Keimflora fungiert und das Magnesiumchlorid durch Erhöhung des osmotischen Drucks verschiedene gramnegative Bakterien mit Ausnahme der Salmonellen im Wachstum hemmt (RAPPAPORT et al. 1956, ATANASSOVA et al. 1998). Bei der Rappaport-Vassiliadis (RV)-Anreicherungslösung ist zu beachten, dass das eingesetzte Inokulum klein genug gewählt wird, um die Selektivität nicht zu beeinträchtigen. Das Verhältnis Inokulum zu Anreicherungslösung sollte zwischen 1:100 und 1:2000 liegen (FRICKER 1987). Nach einer Inkubation für 24 Stunden bei +42°C wird das RV-Medium auf ein festes Selektivmedium ausgestrichen.

3. Kultivierung bzw. Isolierung auf Selektivagar:
   Nach der selektiven Anreicherung erfolgen Ausstrich und Isolierung auf einem Selektivagar, der möglichst alle Salmonellenspezies und –stämme erfassen und dabei das Wachstum anderer Bakterien hemmen soll (FRICKER 1987). Nach § 35 LMBG L 00.00-20 wird dafür der Brillantgrün-Phenolrot-Lactose-Saccharose-Agar (BPLS) und ein zusätzlicher aus einer Liste frei wählbarer brillantgrünfreier Selektivnährboden wie beispielsweise der Xylose-Lysin-Desoxycholat-Agar (XLD), der nach ISO 6579 jedoch an erster Stelle steht, eingesetzt.

   Der XLD-Agar wurde von TAYLOR (1965) entwickelt. Als Indikator wirkt Phenolrot zusammen mit Xylose, Laktose, Sacharose und Lysin. Der Abbau von Xylose, Laktose und Saccharose führt zu Säurebildung und bewirkt einen Farbumschlag des Phenolrots nach Gelb. Als Selektivfaktor ist Desoxycholat zugesetzt, das das Wachstum der grampositiven Bakterien hemmt. Das enthaltene Thiosulfat und die Eisen(III)-Salze zeigen die Schwefelwasserstoffbildung durch Ausfällung von schwarzem Eisensuifid in den Kolonien an, die sich schwarz färben. Bakterien, die Lysin zu Kadaverin decarboxylieren können, sind an einer purpurroten Färbung um die Kolonien durch die Erhöhung des pH-Wertes zu erkennen. Salmonellen bauen Xylose vollständig ab und decarboxylieren Lysin, wodurch es zum pH-Anstieg und zur zentralen Schwärzung der Kolonien kommt. Ein Nachteil des XLD-Mediums sind falsch-positive Ergebnisse, die

durch das Wachstum von *Proteus* und *Pseudomonaden* spp. verursacht werden. Die Inkubation der Selektivagarplatten erfolgt normalerweise bei +37°C für 18 bis 24 Stunden.

Das BPLS-Medium wurde ursprünglich von KRISTENSEN et al. (1925) zur selektiven Isolierung von *Salmonella*-Spezies beschrieben und später von KAUFFMANN (1935) in der Zusammensetzung modifiziert, um einen Selektivnährboden zur Isolierung und Identifizierung von Salmonellen aus Fäzes, anderem klinischen Material sowie aus Lebensmitteln und Molkereiprodukten zu erhalten. Die Selektivität dieses Agars basiert auf dem Vorhandensein von Brillantgrün, Laktose und Saccharose. Dabei verhindert das Brillantgrün weitgehend das Wachstum von Begleitkeimen. Da alle Salmonellen laktose- und saccharosenegativ sind, erscheinen ihre Kolonien rosarot mit einem strahlend rot gefärbten Hof. Bei Bakterien, die laktose- bzw. saccharosepositiv sind (z.B. *E. coli*, *Proteus* spp.), wachsen die Kolonien gelbgrün und werden von einer intensiv gelbgrün gefärbten Zone umgeben.

Neben diesen beiden, die in § 35 LMBG L 00.00-20 unter anderem genannt werden, besteht auch noch die Möglichkeit, andere Nährböden einzusetzen, wie den Wasserblau-Metachromgelb-Agar nach Gassner, der anhand des Farbumschlags eines Indikators die salmonellenverdächtigen lactosenegativen Kolonien von den lactosepositiven Kolonien (*E. coli*, *Klebsiella* spp.) zu unterscheiden vermag. Außerdem kann auch Rambach-Agar, auf dem Salmonellen infolge des Abbaus von Propylenglykol eine charakteristische Rotfärbung zeigen, verwendet werden. Ebenso wird der Xylose-Lysin-Tergitol (XLT4)-Agar, auf dem durch der Bildung von H_2S die salmonellenverdächtigen Kolonien schwarz erscheinen, herangezogen (SELBITZ 2002c).

4. Biochemische und serologische Untersuchung:
   Salmonella-verdächtige Kolonien sind durch biochemische Untersuchungen von anderen *Enterobacteriaceae* zu differenzieren. Hier erleichtern kommerzielle Testsysteme, wie z.B. der BBL®-Enterotube™ II

(Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland) die Anwendung, da mehrere biochemische Reaktionen gleichzeitig untersucht werden können. Der *Salmonella*-Nachweis mit der klassischen „Bunten Reihe“ ist im Vergleich dazu sehr aufwendig (BISPING und AMTSBERG 1988, PICHHARDT 1998). Auf Selektivagar isolierte und durch die biochemische Untersuchung identifizierte *Salmonella* spp. können mittels serologischer Tests weiter differenziert werden. Hierzu wird die Objektträgeragglutination mit omni- oder polyvalentem *Salmonella*-Antiserum durchgeführt. Bei Anwesenheit von Salmonellen kommt es zu einer sichtbaren Agglutination. Anhand des Kauffmann-White-Schematas ist der dazugehörige *Salmonella*-Serotyp zu ermitteln (BISPING und AMTSBERG 1988).

II. Alternative Nachweismethoden

Die Nachweismethoden werden immer weiter entwickelt. So gibt es mittlerweile zahlreiche unterschiedliche Techniken zum Nachweis von Salmonellen. Dazu gehören beispielsweise die Impedanzmessung, Capture-ELISA-Systeme zum Antigennachweis, immunologische Separations- und Konzentrationstechniken, die eine Selektivanreicherung überflüssig machen, sowie die Anwendung von Gensonden und PCRs (SELBITZ 2002c).

C EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Hintergrund und Ziel der Untersuchung

Am Institut für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs der Ludwig-Maximilians-Universität München wurden in den Jahren 1999/2000 und 2003 bereits Untersuchungen über das Vorkommen von pathogenen *Yersinia enterocolitica* in Tonsillen bei Schlachtschweinen durchgeführt. Da hierbei ein oft sehr hoher Durchseuchungsgrad der Mastschweine mit *Y. enterocolitica* festgestellt werden konnte, sollten mit dieser Studie, die von Januar bis März 2004 am Schlachthof München durchgeführt wurde, der Hygienestatus und der Grad der mikrobiellen Kontamination der Tonsillen mit weiteren humanpathogenen Keimen untersucht werden. Außerdem sollte aufgezeigt werden, inwieweit sich die humanpathogenen Keime auch im Kot finden lassen.

Hierbei waren insbesondere folgende vier Zoonoseerreger des Menschen, *Y. enterocolitica*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni* , *Listeria monocytogenes* und Salmonellen Gegenstand der Untersuchungen.

2. Material

2.1 Probenmaterial

Im Verlauf dieser Arbeit wurden am Schlacht- und Viehhof München in einem Zeitraum zwischen Januar und März 2004 jeweils die Tonsillen und der Kot von insgesamt 50 Schlachtschweinen untersucht. Die Probenentnahme erfolgte im Rahmen von fünf Besuchen im Abstand von jeweils 14 Tagen (**Tabelle 13**). Bei jedem Besuch wurden von 10 zufällig am Schlachtband ausgewählten Tieren zuerst die Tonsillen am Geschlinge und dann vom gleichen Tier der dazugehörige Kot aus dem Rektum entnommen.

Tabelle 13: Entnahmetag und Herkunft der Proben

Entnahmetag	Schwein	Besitzer
19.01.2004	1-4, 9	A
	5-8	B
	10	C
02.02.2004	11-14	D
	15-18	E
	19-20	F
16.02.2004	21-22	G
	23-26	H
	27-30	I
01.03.2004	31-33	A
	34-35	B
	36-38	J
	39-40	K
15.03.2004	41-44	L
	45-47	M
	48-50	N

2.2 Arbeitsmaterial

Die für die vorliegende Arbeit verwendeten Materialien sind im Anhang aufgeführt.

3. Methodik

Der bakterielle Kontaminationsgrad der Tonsillen wurde durch die Bestimmung der aeroben Gesamtkeimzahl nach § 35 LMBG L 06.00-19 und den Nachweis des *Escherichia coli*-Gehalts nach § 35 LMBG L 06.00-36 untersucht. Des weiteren war auch das Vorkommen von vier Zoonoseerregern des Menschen zu erbringen, wobei der Nachweis von Salmonellen und Listerien anhand der modifizierten Methoden nach § 35 LMBG L 00.00-20 bzw. § 35 LMBG L 00.00-22 erfolgte. Die Campylobacter konnten mittels einer modifizierten Methode nach ISO 10272 identifiziert werden. Die Nachweismethode für Yersinien beruhte auf einer modifizierten Methode des Internationalen Standards ISO 10273.

3.1 Probenentnahme

Die Probenentnahme erfolgte mittels UV-Licht sterilisierter Handschuhe während des laufenden Schlachtbetriebes. Jede Probe sowohl die Tonsillen- als auch die Kotproben wurde mit einem neuen sterilen Handschuh entnommen, in diesem durch Umstülpen verpackt und zur Identifizierung der Probe mit der laufenden Nummer beschriftet. Nach jeder Entnahme erfolgten eine Sterilisation der Messer im Heißwasserbecken bei einer Temperatur von +85°C sowie ein Auswechseln der Handschuhe.

Innerhalb von zwei Stunden wurde das Probenmaterial zum Zwecke der Untersuchung ins Labor des Institutes für Hygiene und Technologie der

Lebensmittel tierischen Ursprungs der LMU München nach Oberschleißheim verbracht. Die Bearbeitung der Proben fand noch am gleichen Tage statt.

3.2 Probenvorbereitung

Nach der Probenentnahme und dem Transport ins Labor haben alle 50 Tonsillen- bzw. Kotproben die gleichen Untersuchungsschritte durchlaufen.
Die Probenvorbereitung war sowohl für die Ermittlung der Gesamtkeim- und der *E. coli*-Zahl als auch für die weiteren Isolationsschritte zum Nachweis von Campylobacter, Listerien, Yersinien und Salmonellen erforderlich.

1. Tonsillen

Jeweils 10 g Tonsillenmaterial wurden unter sterilen Bedingungen den Plastikhandschuhen entnommen und in einen ebenfalls sterilen Stomacherbeutel überführt. Nach Zugabe von 90 ml gepuffertem Peptonwasser, so dass sich ein Mischungsverhältnis von 1:10 ergab, erfolgte eine gründliche Durchmischung des Ansatzes für zwei Minuten im Stomacher-Gerät.

2. Kot

Unter Berücksichtigung steriler Kautelen wurde jeweils 1 g Kot aus den Plastikhandschuhen in ein Reagenzglas, in dem bereits 9 ml steriles gepuffertes Peptonwasser vorgelegt waren, verbracht. Die gleichmäßige Durchmischung des Kot-Peptonwasser-Ansatzes im Verhältnis 1:10 erfolgte unter Verwendung eines Reagenzglas-Schüttelgerätes.

3.3 Bestimmung der Hygieneindikatoren aus Schweinetonsillen

3.3.1 Aerobe Gesamtkeimzahl

Zur Bestimmung der Gesamtkeimzahl (GKZ) wurde zuallererst eine Verdünnungsreihe mit sechs Verdünnungsstufen von 10^{-1} bis 10^{-6} angesetzt, wobei der Ansatz im Stomacherbeutel die Verdünnungsstufe 10^{-1} repräsentierte. Zur weiteren Durchführung der Untersuchung der GKZ mittels Tropfplattenverfahren nach § 35 LMBG L 06.00-19 wurden Plate-Count-Agar (PCA)-Platten verwendet, diese nicht selektiven Agarplatten in sechs gleichgroße Sektoren eingeteilt und dann tropfenweise mit jeweils 50 µl der Erstverdünnung sowie der weiteren Verdünnungen beimpft. Die Bebrütung der Platten erfolgte bei +30°C unter aeroben Bedingungen für 48 bzw. 72 Stunden. Danach ließen sich die Kolonienzahl in den einzelnen Sektoren auszählen und die aerobe Kolonienzahl auf die Anzahl der kolonienbildenden Einheiten je Gramm der Probe umrechnen. Die Untersuchung wurde als Doppelansatz durchgeführt.

3.3.2 *Escherichia coli*-Zahl

Die Bestimmung des *E. coli*-Gehalts erfolgte nach § 35 LMBG L 06.00-36.
Bei dieser Untersuchung konnte auf die schon bei der GKZ-Bestimmung verwendete angesetzte Verdünnungsreihe zurückgegeriffen werden. *E. coli* - Direktagar (ECD)-Platten wurden wie die PCA-Platten in sechs gleichgroße Sektoren eingeteilt, im Doppelansatz mit jeweils 50 µl aus der entsprechenden Verdünnungsstufe beimpft, für 24 Stunden bei +42°C aerob bebrütet und die Anzahl an unter UV-Licht blau-fluoreszierenden Kolonien bestimmt. Hierbei ließ sich die Fähigkeit der *E. coli* Bakterien dazu nutzen, den Stoff 4-Methylumbelliferyl-□-D-Glucuronid (MUG) spalten zu können. Bei Anregung durch UV-Licht mit einer Wellenlänge von 360 oder 366 nm waren die blau-fluoreszierenden Kolonien deutlich erkennbar und konnten ausgezählt werden.

3.4 Isolierungsverfahren für pathogene Bakterien

Bei der Isolierung der pathogenen Keime konnte auf die in gepuffertem Peptonwasser angesetzten Tonsillen- u. Kot-Voranreicherungen der Probenvorbereitung zurückgegriffen werden. Die einzelnen Untersuchungsschritte sind dem Isolationsschema (**Abbildung 4** und **Tabelle 14**) zu entnehmen.

Tag der Probennahme:

Es wurden jeweils 100 µl der Tonsillen- und Kotsuspension auf einer ganzen CCD-Agar-Platte und Oxford-Agar-Platte zum Nachweis von *Campylobacter* spp. bzw. *Listeria* spp. als Direktausstrich im Drei-Ösenausstrich-Verfahren angelegt. Zum Nachweis von *Yersinia* spp. bzw. *Salmonella* spp. wurde jeweils eine CIN- und XLD-Platte mit 100 µl der Tonsillen- und Kotsuspension beimpft. Die Bebrütung der CCD-Agar-Platten erfolgte bei +42°C für 48 Stunden unter mikroaerophilen Bedingungen (O_2-reduzierte und CO_2-angereicherte Gasatmosphäre) im Gastopf, die der Oxford- und XLD-Platten bei +37°C für 48 bzw. 24 Stunden sowie die der CIN-Agar-Platten für 24 Stunden bei +30°C unter aeroben Kautelen.

Am gleichen Tag konnten jeweils 1 ml des beimpften, gepufferten Peptonwassers der Tonsillen- und Kotanreicherung in 9 ml eines Selektiv-Anreicherungsmediums überführt werden. Um *Campylobacter* spp. nachweisen zu können, kam das Preston-Selektiv-Nährmedium zur Anwendung; die Bebrütung erfolgte bei +42°C für 48 Stunden unter mikroaerophilen Bedingungen im Gastopf. Zur Anreicherung von Listerien diente das Fraser-Selektivmedium, welches nach der Beimpfung bei +37°C für 48 Stunden bebrütet wurde. Im ITC-Selektiv-Medium ließen sich *Y. enterocolitica* bei +30°C über 48 Stunden und im Rappaport-Vassialidis-Medium die Salmonellen bei +42°C für 48 Stunden anreichern.

Nach dem Anlegen der Direktausstriche und der Beimpfung der Selektiv-Anreicherungsmedien wurde die in gepuffertem Peptonwasser angesetzte Tonsillen- und Kot-Voranreichung über Nacht im Kühlschrank bei +4°C inkubiert.

Tag 1:

Die nach 24 Stunden im Direktausstrich auf Yersinia- und Salmonella-Selektiv-Agar gewachsenen Kolonien ließen sich dann anhand der Morphologie und der Farbreaktionen auf den Platten beurteilen. Sowohl die für Yersinien als auch die für Salmonellen verdächtigen Kolonien wurden bis zur weiteren Differenzierung auf unspezifischem CASO-Agar ausgestrichen.

Aus den über Nacht bei Kühlschranktemperatur von +4°C in gepuffertem Peptonwasser inkubierten Tonsillen- und Kot-Voranreicherungen konnten die vom Direktausstrich bekannten Nährböden, CCD-, Oxford-, CIN- und XLD-Agar mittels Drei-Ösen-Ausstrich beimpft werden. Der Ausstrich von allerdings nur 10 µl pro Probe erfolgte jeweils auf einer halben Agarplatte, die anschließend bebrütet wurde (**Tabelle 14**).

Tag 2:

Die nach Direktausstrich und 48-stündiger Bebrütung auf Campylobacter- und Listeria-Selektiv-Nährmedien gewachsenen Kolonien ließen sich unter Berücksichtigung ihrer Morphologie bzw. Farbreaktionen auf den Platten beurteilen. Für Campylobacter verdächtige Kolonien wurden zur weiteren Untersuchung auf in vier gleichgroße Sektoren aufgeteilte Blut-Agar-Platten überführt. Diese Untersuchung auf Blut-Agar-Platten erfolgte im Doppelansatz. Beide Plattensätze wurden bei +37°C für 24 Stunden aerob bzw. mikroaerophil bebrütet. Kolonien, die unter mikroaerophilen Bedingungen ein Wachstum zeigten und gleichzeitig auf den aerob inkubierten Blut-Agar-Platten nicht wachsen konnten, galten als äußerst verdächtig für Campylobacter, so dass weitere Identifzierungsmaßnahmen in Betracht zu ziehen waren.
Kolonien, die für Listerien verdächtig erschienen, wurden entnommen und mittels Drei-Ösenausstrich-Verfahren auf unspezifischen CASO-Agar überführt. Die CIN- und XLD-Agar-Platten der Über-Nacht-Anreicherung konnten ebenfalls nach 24-stündiger Inkubation ausgewertet werden. Das besondere Augenmerk richtete

sich wie schon bei der Auswertung der Direktausstriche auf CIN-Agar-Platten auf das Vorhandensein für Yersinien typische Kolonien. Ebenso wurden die XLD-Agar-Platten ausgewertet, auf für Salmonellen verdächtige Kolonien überprüft und dann wie auch die für Yersinien typischen Kolonien bis zur weiteren Differenzierung bzw. Bestätigung des Verdachts auf CASO-Platten überimpft.

Aus den Selektiv-Anreicherungen wurden nach 48-stündiger Bebrütung jeweils 10 µl auf einer halben Selektivagar-Platte ausgestrichen und bebrütet (**Tabelle 14**).

Tag 3:

Die aerob und mikroaerophil inkubierten Blut-Agar-Platten wurden ausgewertet, Campylobacter verdächtige Kolonien isoliert und bis zur weiteren Differenzierung auf neue Blut-Agar-Platten überimpft, die bei +37°C für 24 Stunden erneut unter mikroaerophilen Kautelen zu bebrüten waren.

Die als Listerien verdächtigen Kolonien der Über-Nacht-Anreicherung konnten auf unspezifischen CASO-Agar-Platten bis zur Durchführung weiterer Identifizierungsmaßnahmen angezüchtet werden. Für die Campylobacter verdächtigen Kolonien der Über-Nacht-Anreicherung auf CCD-Agar-Platten kam dasselbe Schema, wie beim Direktausstrich beschrieben, zur Anwendung.

Nach 24-stündiger Inkubation konnten die mit 10 µl der ITC- bzw. Rappaport-Vassiliadis-Anreicherung beimpften Selektivagar-Platten auf das Auftreten von typischen Kolonien hin überprüft und die für Yersinien und Salmonellen verdächtigen Kolonien bis zur weiteren Identifikation auf CASO-Agar-Platten übertragen werden.

Tag 4:

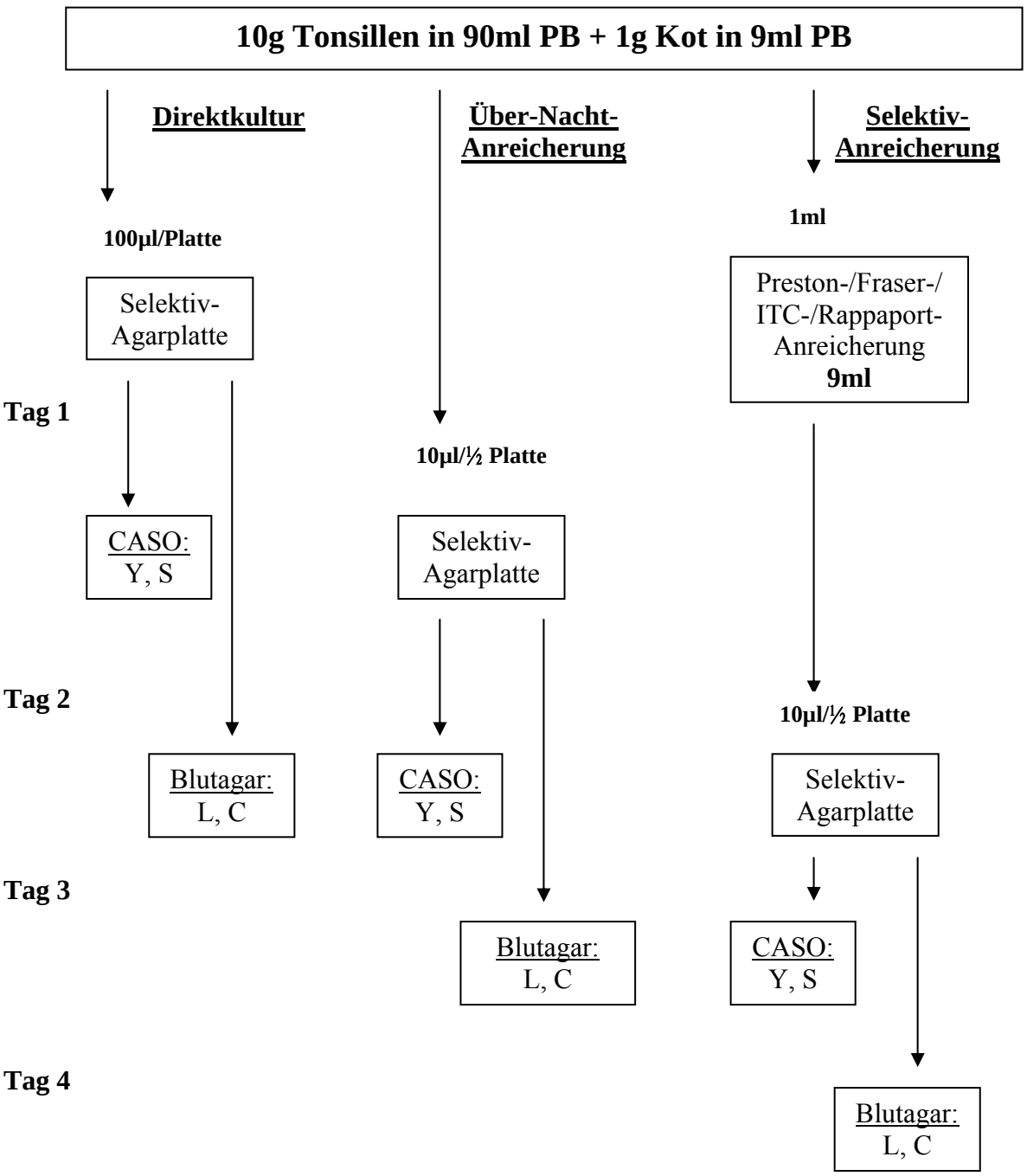
Die im Direktausstrich isolierten Kolonien von Campylobacter wurden auf Blut-Agar-Platten sowie die ebenfalls isolierten Listerien, Yersinien und Salmonellen auf unspezifischen CASO-Agar-Platten für die weiterführenden Untersuchungen bereitgehalten.

Nach der aeroben und mikroaerophilen Bebrütung der Blut-Agar-Platten zur Isolierung von Campylobacter aus der Über-Nacht-Anreicherung erfolgte die Überimpfung der Kolonien, die mit hoher Wahrscheinlichkeit als Campylobacter anzusprechen waren, auf Blutplatten, die, wie beim Direktausstrich beschrieben, weiter zu bearbeiten waren. Alle mittels der Über-Nacht-Anreicherung isolierten Kolonien, die als Listerien, Yersinien oder Salmonellen angesprochen werden konnten, wurden, wie oben beschrieben, auf CASO-Agar-Platten vorrätig gehalten.

Nach 48-stündiger Inkubation der mit 10 µl der Preston- bzw. Fraser-Anreicherung beimpften Selektivagar-Platten ließen sich diese auf das Wachstum typischer Kolonien hin überprüfen. Beim Wachstum von für Campylobacter verdächtigen Kolonien auf den CCD-Agar-Platten konnte wiederum nach demselben Schema wie beim Direktausstrich und der Über-Nacht-Anreicherung verfahren werden.

Eine Zusammenfassung der Isolierungsmethoden zeigt **Abbildung 4** und **Tabelle 14.**

Abb. 4: Verfahrensschritte zur Isolation von Campylobacter, Listerien, Yersinien und Salmonellen aus Tonsillen und Kot vom Schwein



PB gepuffertes Peptonwasser
ITC Irgasan-Ticarcillin-Kaliumchlorat-Nährbouillon
C Campylobacter
L Listerien
Y Yersinien
S Salmonellen
CASO Trypton Soja Agar

Tabelle 14: Inkubationstemperaturen und Dauer der Bebrütung

	Campylobacter	Listerien	Yersinien	Salmonellen
Über-Nacht-Anreicherung	Kühlschrank bei +4°C	Kühlschrank bei +4°C	Kühlschrank bei +4°C	Kühlschrank bei +4°C
Selektiv-Anreicherung	Preston: +42°C 2 Tage	Fraser: +37°C 2 Tage	ITC: +30°C 2 Tage	RV: +42°C 2 Tage
Isolation (Selektivplatten)	CCDA: +42°C 2 Tage	Oxford: +37°C 2 Tage	CIN: +30°C 1 Tag	XLD: +37°C 1 Tag
Identifikation (bis 4 Kolonien)				
Blutagar	+37°C; 1 Tag	+37°C; 1 Tag		
CASO			+30°C; 1 Tag	+37°C; 1 Tag

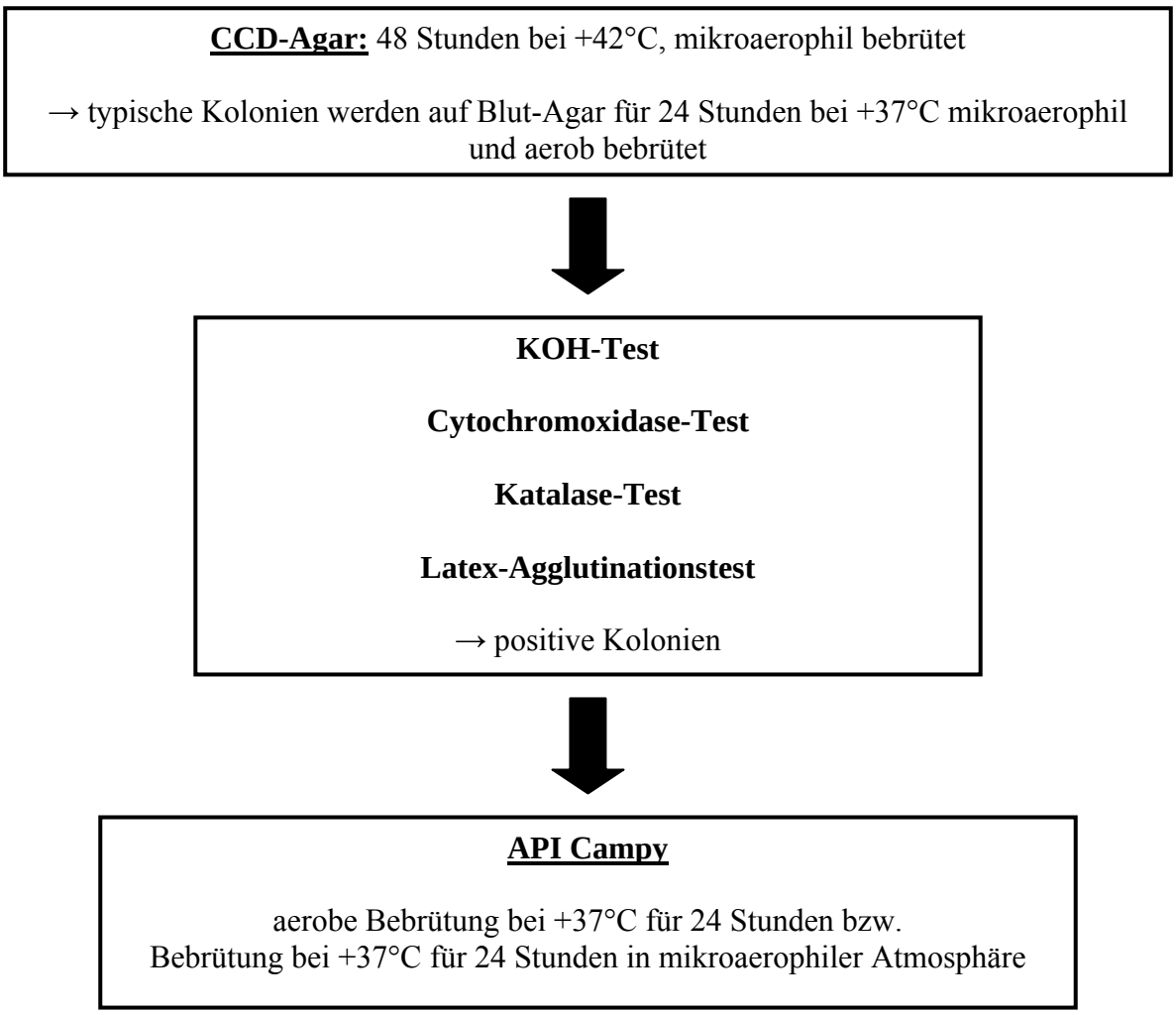
ITC Irgasan-Ticarcillin-Kaliumchlorat-Nährbouillon
RV Rappaport-Vassiliadis-Anreicherungsbouillon
CCDA Cefoperazon-Charcoal-Deoxycholat-Agar
CIN Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin-Agar
XLD Xylose-Lysin-Desoxycholat-Agar
CASO Trypton Soja Agar

3.5 Identifizierungsverfahren pathogener Mikroorganismen

3.5.1 Identifizierung von *Campylobacter coli* und *Campylobacter jejuni*

Typische Kolonien von *C. coli* stellen sich auf CCD-Agar nach 48-stündiger Bebrütung unter mikroaerophilen Bedingungen als kleine bis mittelgroße Kolonien von cremig-grauer Farbe dar. Sie sind leicht erhaben und wachsen als einzelne Kolonien. *C. jejuni* zeigen hingegen nach 48-stündiger Bebrütung auf CCD-Agar ein etwas anderes Wachstum. Diese Kolonien erscheinen grau, feucht, flach ausgebreitet und weisen einen dezenten metallischen Glanz auf.
Zur Identifizierung von *C. coli* und *C. jejuni* wurde nach **Abbildung 5** vorgegangen.

Abb. 5: Identifizierungsschema für *Campylobacter* spp.



KOH-Test

Campylobacter gehören zu den gramnegativen Bakterien. Mittels des KOH-Tests lässt sich das schnell und einfach nachweisen. Hierzu werden 1-2 Tropfen einer 3%-igen Kalilauge auf einem sauberen Objektträger mit einer Kolonie des zu untersuchenden Keims verrieben. Nach 5 bis 10 Sekunden wird die Impföse, mit der die zu prüfende Kolonie verrieben wurde, vorsichtig vom Tropfen abgehoben. Kommt es dabei zu einer Schleimbildung, die sich durch Fadenziehen auszeichnet, liegt eine positive Reaktion vor, d.h. dass die aufgenommene Kolonie als gramnegativ anzusehen ist. Die Schleimbildung bzw. das Fadenziehen ist auf die Zerstörung der Bakterienzellwand und die dadurch bedingte Freisetzung von Desoxyribonukleinsäure zurückzuführen.

Cytochromoxidase-Test

Campylobacter sind oxidasepositiv. Beim Cytochromoxidase-Test wird mittels einer Impföse Koloniematerial auf einem Testfeld zerrieben. Innerhalb von einigen Sekunden verfärbt sich das Testfeld blau, womit die Reaktion als positiv zu bewerten ist.

Katalase-Test

Da Campylobacter katalasepositiv sind, lässt sich diese positive Reaktion unter Verwendung von 3%-iger Wasserstoffperoxidlösung im Rahmen des Katalase-Tests untersuchen. Mit einer Impföse wird ein Teil der zu testenden Kolonie aufgenommen und in einem Tropfen 3%iger Wasserstoffperoxidlösung auf einem sauberen Objektträger vermischt. Bei sofortigem Auftreten von feinen Gasbläschen, die gut erkennbar sind, muss der Test als positiv bewertet werden.

Dryspot Campylobacter-Test

Der Dryspot Campylobacter-Test® (Oxoid) stellt einen Latex-Agglutinationstest zur Identifizierung von enteropathogenen *Campylobacter* spp. dar. Auf einer Testkarte des Latex-Agglutinationstests befinden sich immer zwei Reaktionsfelder. Das eine Feld ist mit einer Kontrollreagenz (positive Kontrolle), das zweite Testfeld (Reaktionsfeld) ist mit der Testreagenz beschichtet. Das Testreagenz weist blaue Latex-Partikel auf, an die Kaninchen-Antikörper gebunden sind, die mit bestimmten Oberflächenantigenen von *Campylobacter* spp. reagieren. Im Kontrollreagenz sind ebenfalls an blaue Latex-Partikel adaptierte Kaninchen-Antikörper enthalten, die aber keine Reaktion mit den Oberflächenantigenen eingehen. Zur Durchführung des Tests wird ein Extrakt aus den zu untersuchenden, typisch aussehenden Kolonien, die von Columbia-Blutagarplatten entnommen wurden, hergestellt und mit dem Testreagenz vermischt. Im positiven Fall kommt es nach dreiminütigem Schwenken der Testkarte zu einer Agglutination zwischen den Antigenen und den an die Latex-Partikel gebundenen Antikörpern. Hiermit wird die Anwesenheit von *Campylobacter* spp. angezeigt. Sollten im hergestellten Extrakt jedoch keine nachweisbaren Campylobacter-Oberflächen-Antigene zu finden sein, so bleibt die Agglutination aus, was dadurch gekennzeichnet ist, dass die Suspensionen in den Reaktionsfeldern nach dreiminütigem Schwenken immer noch homogen blau gefärbt sind. Der Test muss dann als negativ angesehen werden.

Testsystem API Campy

API Campy (Biomérieux) stellt ein standardisiertes Testsystem zur Identifizierung von *Campylobacter* spp. unter Verwendung von miniaturisierten Tests dar. Das Testsystem besteht aus zwei Streifen, die 20 mit dehydrierten Substraten gefüllte Mikroröhrchen enthalten. Der erste Streifen, der die enzymatischen und konventionellen Reaktionen beinhaltet, wird mit einer Keimsuspension nach McFarland 6 beimpft, die die Substrate rehydriert. Durch die aerobe Bebrütung bei +37°C für 24 Stunden entwickeln sich Stoffwechselprodukte, die entweder spontan oder erst nach Zugabe von Reagenzien Farbumschläge hervorrufen.

Der zweite Streifen, mit dem Assimilations- oder Inhibitionsreaktionen überprüft werden sollen, wird mit einem Minimalmedium beimpft. Dafür werden 150 µl aus der ersten Keimsuspension in das API AUX Medium überführt und die Kavitäten mit der hergestellten Suspension gefüllt. Die Inkubation des Streifens geschieht in mikroaerophiler Atmosphäre bei +37°C für 24 Stunden. Die Bakterien wachsen, wenn das entsprechende Substrat verstoffwechselt werden kann oder wenn sie gegenüber dem getesteten Antibiotikum Resistenzen aufweisen. Nach der Inkubation wird die Auswertung der einzelnen Reaktionen mittels einer Ablesetabelle durchgeführt. Die Identifizierung erfolgt anhand der Zahlencodetabelle oder mit der computergestützten Identifizierungssoftware.

Für die Durchführung der API Campy werden alle auf einer Blutplatte gewachsenen Kolonien verwendet und in API NaCl 0,85% suspendiert. Mit dieser Suspension werden die einzelnen Mikroröhrchen des ersten Streifens, wie es die Arbeitsanleitung fordert, beimpft. Aus der API NaCl-Suspension werden 150 µl in das API AUX-Medium überführt und damit die einzelnen Mikroröhrchen des zweiten Streifens, wie es die Arbeitsanleitung vorschreibt, befüllt.

Damit die Zusatzreaktionen abgelesen werden können, müssen bei einigen Kammern noch folgende Supplemente zugefügt werden.

Kaliumnitrat (Reduktion von Nitraten):	Zugabe von NIT 1 (Sulfanilsäure) Zugabe von NIT 2 (N-N-Dimethyl-1-Naphtylamin) und nach 2-5 min ablesen.
Natriumhippurat (Hippuratbildung):	Zugabe von NIN (Ninhydrin) und nach 5 min ablesen.
Pyroglutaminsäure-□-napthylamid (Pyrrolidonyl-Arylamidase):	Zugabe von FB-Reagenz
L-Arginin-4-methoxy-□-napthylamid (L-Arginin-Arylamidase):	Zugabe von FB-Reagenz
Aspartinsäure-□-napthylamid (L-Aspartat-Arylamidase):	Zugabe von FB-Reagenz

2-Naphthylphosphat (Alkalische Phosphatase): Zugabe von FB-Reagenz

Ablesen der Reaktionen nach 5 min.

Die Auswertung des Testsystems erfolgte entsprechend **Tabelle 15**.

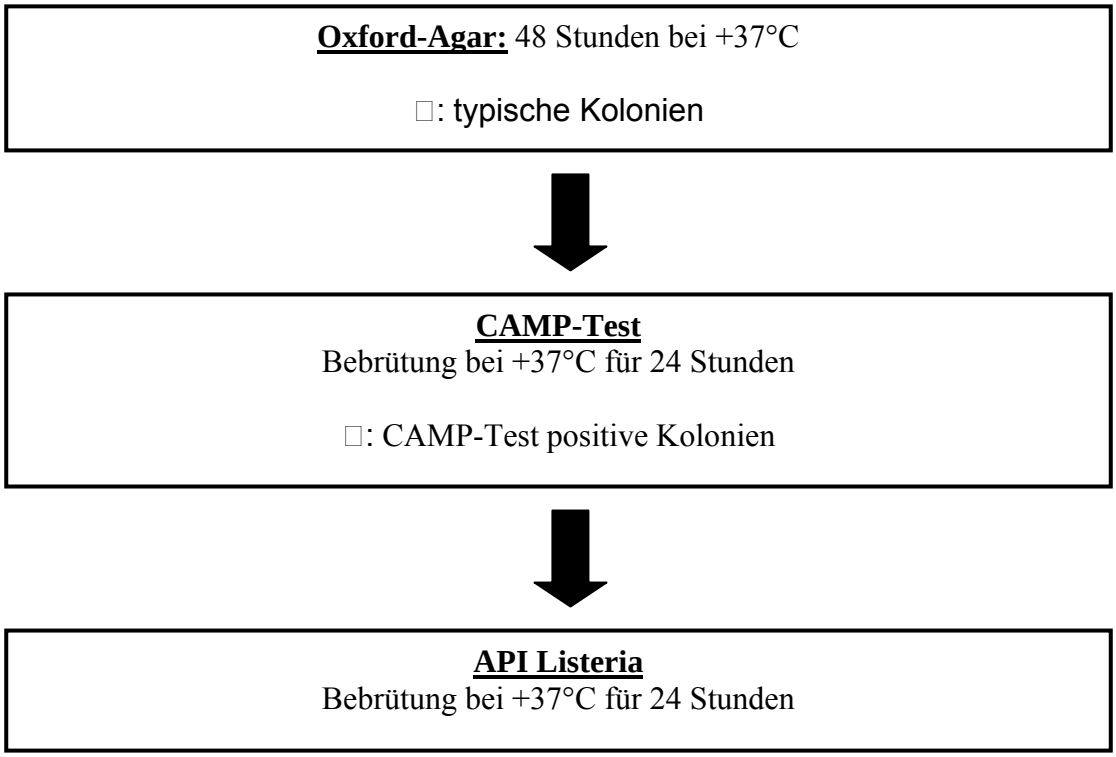
Tabelle 15: Ablesetabelle des Testsystems API Campy

Test	Reaktionen/Enzyme	Ergebnis			
		negativ	positiv	*C. coli*	*C. jejuni*
URE	UREase	gelb	orange/rot	gelb	gelb
NIT	Reduktion von NITraten	farblos	rosa/rot	rosa/rot	rosa/rot
EST	ESTerase	farblos hellblau	türkis	türkis	türkis
HIP	HIPpurat	farblos	violett	farblos	violett
GGT	Gamma-Glutamyl -Transferase	farblos	intensiv orange	farblos	Intensiv orange
TTC	Reduktion von TriphenylTetrazolium-Chlorid	farblos hellrosa	rosa/rot oder Niederschlag am Boden	rosa/rot, Niederschlag am Boden	rosa/rot, Niederschlag am Boden
PyrA	Pyrrolidonyl-Arylamidase	farblos	orange	farblos	farblos
ArgA	L-Arginin-Arylamidase	farblos	orange	orange	farblos
AspA	L-Aspartat-Arylamidase	farblos	orange	farblos	farblos
PAL	Alkalische Phosphatase	farblos	purpur	purpur	purpur
H_2S	Bildung von H_2S	farblos	schwarz	farblos	farblos
GLU	Assimilation (GLUkose)	transparent	trübe	transparent	transparent
SUT	Assimilation (NatriumSUccinaT)	transparent	trübe	trübe	trübe
NAL	Wachstumshemmung (NALidixinsäure)	transparent	trübe	transparent	transparent
CFZ	Wachstumshemmung (NatriumCeFaZolin)	transparent	trübe	trübe	trübe
ACE	Assimilation (NatriumACEtat)	transparent	trübe	trübe	trübe
PROP	Assimilation (PROPionsäure)	transparent	trübe	trübe	transparent
MLT	Assimilation (MaLaT)	transparent	trübe	transparent	trübe
CIT	Assimilation (TrinatriumCITrat)	transparent	trübe	trübe	trübe
ERO	Empfindlichkeit (ErythrOmycin)	transparent	trübe	transparent	transparent
CAT	Katalase	keine Reaktion	Schaumbildung	Schaum-bildung	Schaum-bildung

3.5.2 Identifizierung von *Listeria monocytogenes*

L. monocytogenes typische Kolonien stellen sich nach ihrer Anzucht auf Oxford-Agar-Platten und einer Inkubation von 48 Stunden bei + 37°C im Brutschrank als ca. 2,0 mm große, dunkelbraun-grau gefärbte Kolonien mit erhabenem Zentrum dar. Außerdem weisen sie eine charakteristische schwarze Hofbildung infolge der Aesculinspaltung auf. Die sichere Durchführung der Identifikation von *L. monocytogenes* wurde anhand des Schemas in **Abbildung 6** vorgenommen.

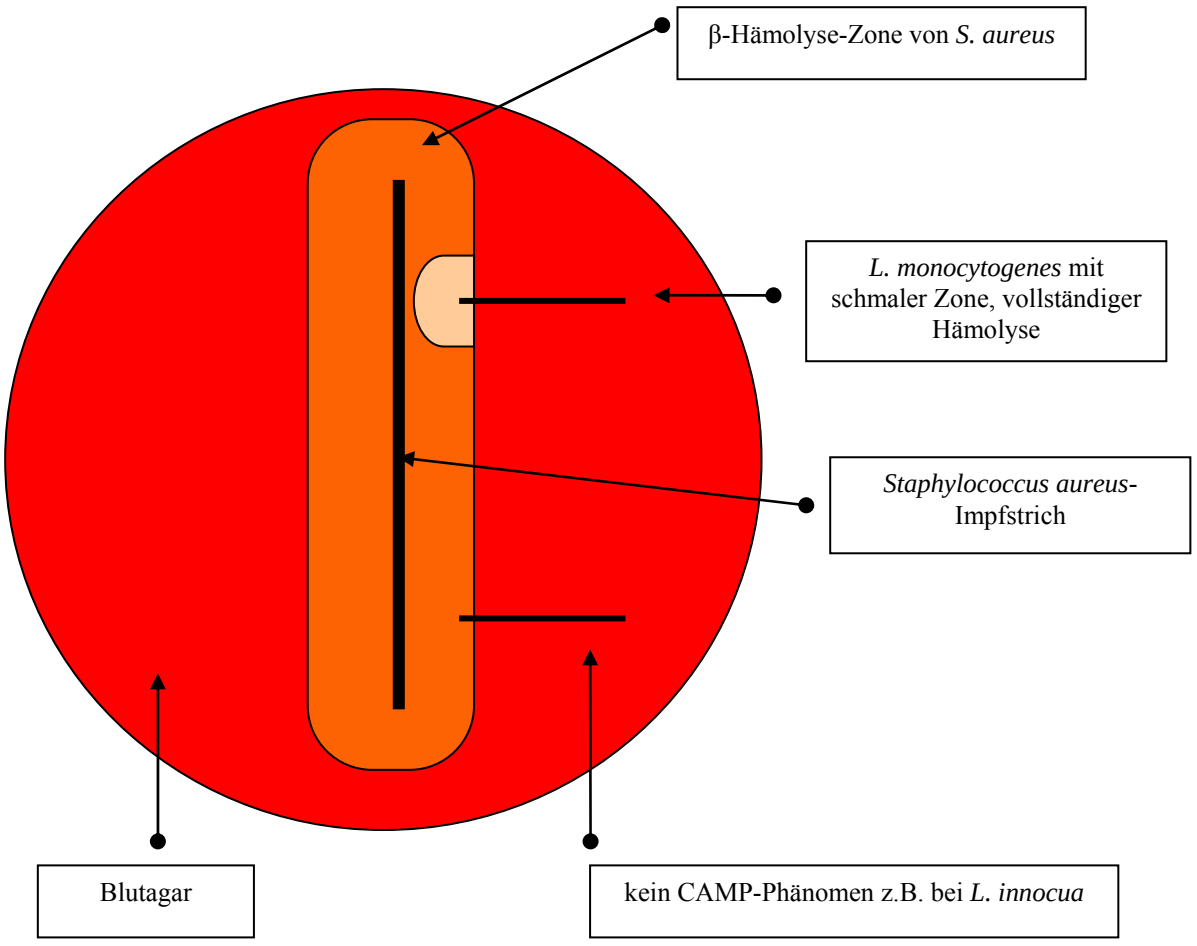
Abb. 6: Identifizierungsschema von *L. monocytogenes*



CAMP-Test

Der CAMP-Test, der von Christie, Atkins und Munch-Petersen entwickelt wurde, ermöglicht die Erkennung von *L. monocytogenes*. Bei diesem Test wird ein β-Hämolysin-bildender *Staphylococcus aureus*-Teststamm strichförmig über eine Blutagarplatte ausgeimpft. Die zu untersuchenden *L. monocytogenes* verdächtigen Isolate werden im rechten Winkel von der Plattenperipherie her mit einer Impföse so ausgestrichen, dass die Impfstriche knapp vor dem Staphylokokken-Impfstrich enden (**Abbildung 7**). Nach einer Bebrütung der Platten über 24 Stunden bei +37°C kann der Test ausgewertet werden. *L. monocytogenes* ist CAMP-positiv die anderen *Listeria* spp. sind CAMP-negativ.

Abb.7: Schematische Darstellung des CAMP-Tests



Testsystem API Listeria

Das standardisierte Testsystem API Listeria (Biomérieux) dient zur Identifizierung von *Listeria* spp. anhand von miniaturisierten Reaktionen. Der API Listeria Streifen umfasst 10 Mikroröhrchen, die dehydrierte Substrate enthalten, um die Enzymaktivität oder die Kohlenhydratfermentation untersuchen zu können. Die bei der Inkubation sich entwickelnden Stoffwechselprodukte führen zu direkten oder nach Zugabe von Reagenzien bedingten Farbumschlägen. Nach Ablesung der Reaktionsergebnisse wird die Identifizierung mit der Zahlencodetabelle oder der Identifizierungssoftware durchgeführt. Zur Beimpfung der einzelnen Mikroröhrchen wird eine Keimsuspension aus einigen Einzelkolonien nach McFarland 1 hergestellt. Die Substrate in den Kavitäten werden rehydriert und der Streifen bei +37°C für 24 Stunden unter aeroben Bedingungen bebrütet, wie es der Arbeitsanleitung zu entnehmen ist.

Nach Zugabe der Supplemente in die DIM-Kammer erfolgt die Auswertung des Testsystems entsprechend der **Tabelle 16**.

DIM	Differenzierung zwischen *L. innocua* und *L. monocytogens*	Zugabe von ZYM B-Reagenz und nach 3 min ablesen

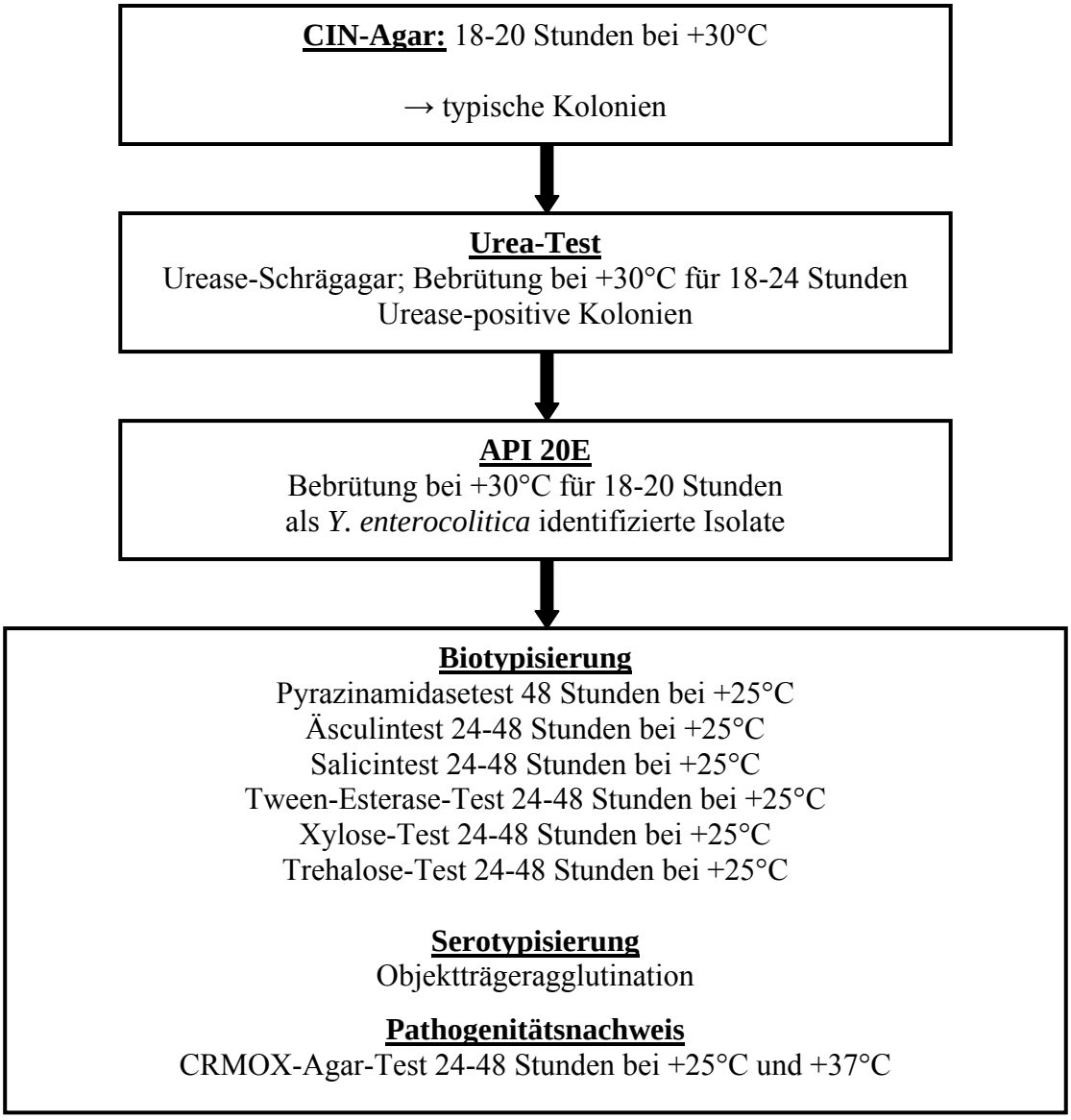
Tabelle 16: Ablesetabelle des Testsystems API Listeria

Test	Reaktionen	Ergebnis			
		negativ	positiv	*L. monocytogenes*	*L. innocua*
DIM	Differenzierung: L. innocua L. monocytogenes	hellorange, beige-rosa grau beige	orange	hellorange, beige-rosa grau beige	orange
ESC	Hydrolyse Aesculin	hellgelb	schwarz	schwarz	schwarz
□MAN	□-MANosidase	farblos	gelb	gelb	gelb
DARL	Säurebildung (D-ARabitoL)	rot/ rot orange	gelb/ gelb orange	gelb/ gelb orange	gelb/ gelb orange
XYL	Säurebildung (XYLose)	rot/ rot orange	gelb/ gelb orange	rot/ rot orange	rot/ rot orange
RHA	Säurebildung (RHAmnose)	rot/ rot orange	gelb/ gelb orange	gelb/ gelb orange	gelb/ gelb orange
MDG	Säurebildung (Methyl-□D-Glukopyranosid)	rot/ rot orange	gelb/ gelb orange	gelb/ gelb orange	gelb/ gelb orange
RIB	Säurebildung (RIBose)	rot/ rot orange	gelb/ gelb orange	rot/ rot orange	rot/ rot orange
G1P	Säurebildung (Glukose-1-Phosphat)	rot/ rot orange	gelb/ gelb orange	rot/ rot orange	rot/ rot orange
TAG	Säurebildung (TAGatose)	rot/ rot orange	gelb/ gelb orange	rot/ rot orange	rot/ rot orange
	□-Hämolyse			positiv	negativ

3.5.3 Identifizierung von *Yersinia enterocolitica*

Nach der Inkubation auf CIN-Agar-Platten für 18-20 Stunden bei + 30°C stellen sich *Y. enterocolitica* typische Kolonien in Form von kleinen (< 1,0 mm) Kolonien dar, die ein dunkelrotes Zentrum sowie einen schmalen, hellen und durchsichtigen Hof aufweisen. Auf Grund ihrer charakteristischen Morphologie, die einem Kuhauge gleicht, werden sie auch als sogenannte „Kuhaugen“ bezeichnet. Bei der Identifizierung von *Y. enterocolitica* wurde nach dem Schema in **Abbildung 8** vorgegangen.

Abb. 8: Identifizierungschema von *Y. enterocolitica*



Urea-Test

Humanpathogene Yersinien werden zu den ureasepositiven Bakterien gezählt, die Harnstoff spalten können. Dabei kommt es zur Bildung von Ammoniumcarbonat, das dann in Ammoniak und Kohlendioxid zerfällt. Die Reaktion findet im alkalischen Milieu statt, was sich durch den Farbumschlag des im Urea-Schrägagar enthaltenen pH-Indikators nachweisen lässt.

Beim Urea-Test wird der Harnstoff-Pepton-Schrägagar nach Christensen mit einer für *Y. enterocolitica* typischen Kolonie beimpft und für 24 Stunden bei +30°C inkubiert. Kommt es zu einer positiven Reaktion, die sich durch eine Alkalisierung und einen damit verbundenen Farbumschlag nach rosa auszeichnet, kann davon ausgegangen werden, dass es sich um Yersinien handelt. Diese positiv getesteten Kolonien werden zur weiteren Identifizierung in das API 20 E-Testsystem überführt.

Testsystem API 20E

Das Testsystem API 20E (Biomérieux) stellt ein standardisiertes System zur Identifizierung von *Enterobacteriaceae* und anderer gramnegativer, nicht anspruchsvoller Stäbchen dar. Die Identifikation erfolgt anhand von 20 miniaturisierten biochemischen Reaktionen. Das API 20E System setzt sich aus 20 Mikroröhrchen, die dehydrierte Substrate enthalten, zusammen. Die einzelnen Röhrchen werden mit einer Keimsuspension nach McFarland 5 beimpft, die dann die Substrate auflöst. Während der Inkubation entstehen Stoffwechselprodukte, die zu einem direkten oder indirekten Farbumschlag führen. Bei den indirekten Reaktionen kommt es nach Zugabe von Reagenzien zu einem Farbumschlag, der dann ebenfalls wie die direkten Reaktionen mit in die Auswertung eingeht. Schließlich geschieht die Auswertung der einzelnen Reaktionen mittels einer vorgegebenen Ablesetabelle. Die endgültige Identifizierung der einzelnen Isolate wird unter Zurhilfenahme eines Computerprogrammes oder einer speziellen Zahlencodetabelle durchgeführt.

Für die Durchführung der API 20E wurden vorzugsweise drei oder vier typische Einzelkolonien von einer CASO-Platte abgenommen und in 5 ml

sterilem Aqua destillata sorgfältig suspendiert. Danach wurden die einzelnen Mikroröhrchen mit der Suspension, wie es die Arbeitsanleitung fordert, beimpft. Manche Reaktionen müssen unter anaeroben Bedingungen ablaufen, so dass es erforderlich wurde, diese bestimmten Reaktionsgefäße mit Paraffinöl luftdicht zu verschließen. Die Inkubation des Teststreifens erfolgt dann bei +30°C für 20-24 Stunden in der feuchten Kammer. Nach der Bebrütung müssen noch einige Zusatzreaktionen durchgeführt werden, indem man einige Tropfen bestimmter Supplemente in die entsprechenden Kammern hinzugibt.

Tryptophan (Tryptophandesaminase):	Zugabe von TDA-Reagenz und sofort ablesen.
Tryptophan (Indolbildung):	Zugabe von JAMES-Reagenz und sofort ablesen.
Natriumpyruvat (Acetoinbildung):	Zugabe von VP 1-Reagenz (Kaliumhydroxid) Zugabe von VP 2-Reagenz (□-Naphtol) und nach 10 min ablesen.

Erst nach dem Ablesen der Spontanreaktion die Reagenzien bei GLU zugeben.

Glucose (NO_2-Produktion):	Zugabe von NIT 1 (Sulfanilsäure) Zugabe von NIT 2 (N-N-Dimethyl-1-Naphtylamin) und nach 2-5 min ablesen.

Die Auswertung des Testsystems erfolgte entsprechend der **Tabelle 17**.

Tabelle 17: Ablesetabelle des Testsystems API 20E

Test	Reaktionen/Enzyme	Ergebnis		
		negativ	positiv	*Y. enterocolitica*
ONPG	□-Galactosidase	farblos	gelb	gelb
ADH	Arginin DiHydrolase	gelb	rot/orange	gelb
LDC	Lysin DeCarboxylase	gelb	rot/orange	gelb
ODC	Ornithin DeCarboxylase	gelb	rot/orange	rot/orange
CIT	CITratverwertung	hellgrün/gelb	blau-grün/blau	hellgrün/gelb
H_2S	H_2S-Bildung	farblos	Niederschlag	farblos
URE	UREase	gelb	rot/orange	rot/orange
TDA	TryptophanDesAminase	gelb	rotbraun	gelb
IND	INDol-Bildung	farblos/gelb	rosa	farblos/gelb
VP	Acetoinbildung	farblos	rosa/rot	rosa/rot
GEL	Gelatinase	keine Diffusion	keine Diffusion	keine Diffusion
GLU	GLUkose	blau/blaugrün	gelb	gelb
MAN	MANnit	blau/blaugrün	gelb	gelb
INO	INOsit	blau/blaugrün	gelb	blau
SOR	SORbit	blau/blaugrün	gelb	gelb
RHA	RHAmnose	blau/blaugrün	gelb	blau
SAC	SACharose	blau/blaugrün	gelb	gelb
MEL	MELibiose	blau/blaugrün	gelb	blau
AMY	AMYgdalin	blau/blaugrün	gelb	gelb
ARA	ARAbinose	blau/blaugrün	gelb	gelb
NO_3-NO_2	NO_2-Bildung	gelb	rot	gelb

Weitere Untersuchungen

Die durch das API 20E Testsystem sicher identifizierten *Y. enterocolitica*-Isolate wurden biotypisiert und ein Pathogenitätsnachweis durchgeführt. Dazu waren die zu testenden Isolate der Mikrobank unter sterilen Bedingungen auf einer unspezifischen CASO-Agar-Platte auszustreichen. Die Bebrütung erfolgte für 24 Stunden bei +30°C im Brutschrank.

Biotypisierung

Die Biotypisierung umfasste die Untersuchungen der Fermentationsfähigkeit von Kohlenhydraten, die Tests auf Pyrazinamidase und Aesculin sowie die Spaltung von Tween-Esterase. Mittels nachfolgendem Schema (**Tabelle 18**) konnte zwischen pathogenen und apathogenen *Y. enterocolitica*-Isolaten unterschieden werden.

Tabelle 18: Biochemische Tests zur Biotypisierung von *Y. enterocolitica*

Test	Reaktionen nach Bebrütung von 48 Std. bei +25°C					
	1A	1B	2	3	4	5
Pyrazinamidase	+	-	-	-	-	-
Aesculin Spaltung	+	-	-	-	-	-
Salicin-Fermentation	+	-	-	-	-	-
Tween-Esterase	+	+	-	-	-	-
Indol-Bildung	+	+	+	-	-	-
Xylose-Fermentation	+	+	+	+	-	-
Trehalose-Fermentation	+	+	+	+	+	-

Pyrazinamidase:

Zur Durchführung dieses Tests musste ein Pyrazinamidase-Agar Schrägagar hergestellt werden. Mittels einer ausgeglühten Impföse wurden frisch auf CASO-Platten angezüchtete *Y. enterocolitica*-Kulturen auf den Schrägagar überimpft, die dann für die Dauer von 48 Stunden bei +25°C inkubiert wurden. Nach der Zugabe von 1 ml einer frisch hergestellten 1 %igen Ammoniumferrosulfat $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2$-Lösung konnte nach ca. 10 Minuten der Pyrazinamid-Abbau bewertet werden. Bei einer schmutzig rosa-braunen Verfärbung des Agars wurde die Reaktion als positv bewertet.

Aesculin-Spaltung:

Auf einer in vier gleichgroße Sektoren aufgeteilten Aesculin-Agar-Platte wurden einige Kolonien ausgeimpft und für 24 bis 48 Stunden bei +25°C bebrütet. Eine positive Aesculin-Spaltung zeichnete sich durch die Bildung eines schwarzen Ringes um die Kolonien aus.

Fermentation der Kohlenhydrate Salicin, Trehalose und Xylose:

Für diese drei Tests wurde jeweils eine Impföse mit der zu prüfenden Kultur in ein Reagenzglas mit Salicin-, Trehalose- bzw. Xylose-haltigen Nährmedien überführt. Nach einer Inkubation von jeweils 24 bis 48 Stunden bei +25°C waren ein eventueller Farbumschlag und die Gelbfärbung der Nährmedien als positive Reaktion zu registrieren.

Tween-Esterase-Test:

Auf Tween-Esterase-Agar wurden einige Kolonien in Form einer waagerechten Linie ausgestrichen und die Platten bei +25°C für 24 bis 48 Stunden bebrütet. Wenn sich um den Impfstrich eine gräulich bis trübe Zone gebildet hatte, konnte dieser Test als positiv angesprochen werden.

Pathogenitätstest

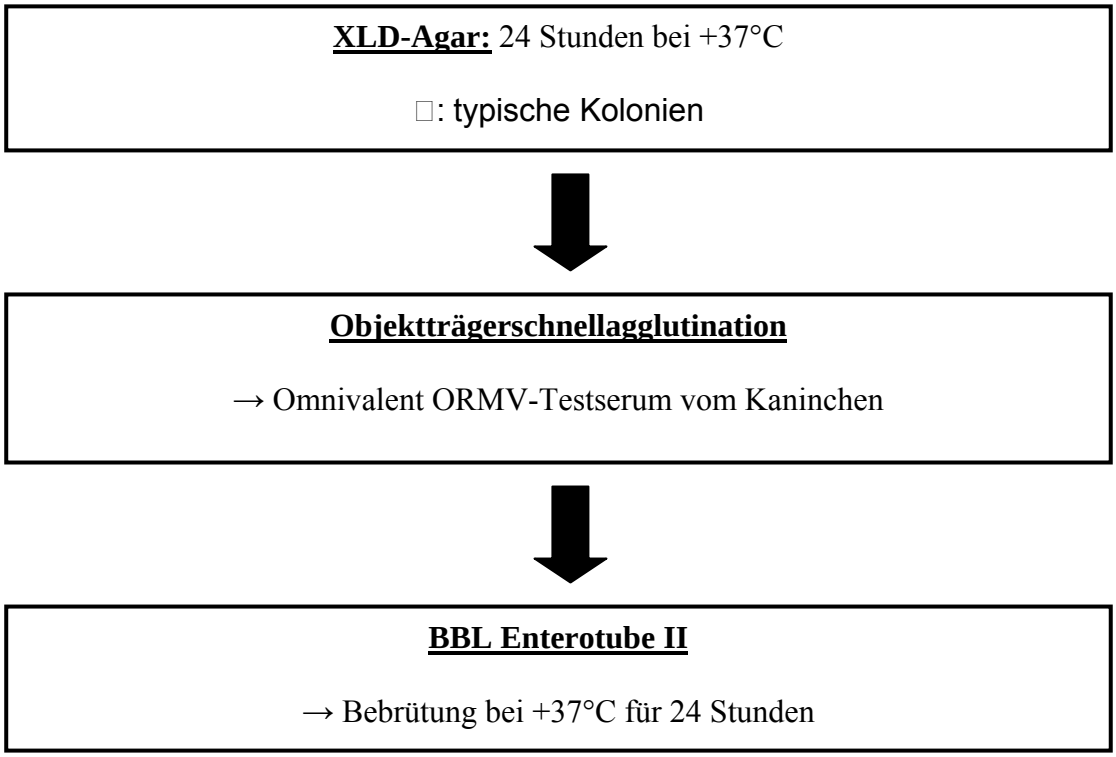
Der Pathogenitätsnachweis wurde mittels CRMOX-Agar durchgeführt.

Durch den Nachweis der Calciumabhängigkeit bei +37°C und unter Berücksichtigung der Adsorption von Kongorot erfolgte der indirekte Nachweis der plasmid-kodierten Eigenschaften. Zwei der CRMOX-Agar-Platten wurden in vier gleichgroße Sektoren aufgeteilt. Die Beimpfung eines Sektors erfolgte mit jeweils einer Kolonie; eine Platte war 24 Stunden bei +25°C sowie die andere Platte bei +37°C zu bebrüten. Eine positive Reaktion ließ sich registrieren, wenn auf beiden Platten sehr kleine, dunkelorange Kolonien gewachsen waren. Im Vergleich dazu stellte das Wachstum von großen, hellorangen Kolonien eine negative Reaktion dar.

3.5.4 Identifizierung von *Salmonella* spp.

Typische Salmonellen-Kolonien nach Anzucht auf XLD-Agar und einer Inkubation für 24 Stunden bei + 37°C im Brutschrank sind mittelgroß, gewölbt, elfenbeinfarben und weisen als weiteres charakteristisches Merkmal ein schwarzes Zentrum auf. Außerdem führt der nicht vorhandene Lactoseabbau der Salmonellen zu einem Farbumschlag des Indikators im XLD-Agar nach rot. Die Identifizierung der *Salmonella* spp. wurde unter Zurhilfenahme des Schemas in **Abbildung 9** vorgenommen.

Abb. 9: Identifizierungsschema von *Salmonella* spp.



Objektträgerschnellagglutination

Die Objektträgeragglutination zeigt durch den Ablauf einer Antigen-Antikörper-Reaktion, ob es sich bei dem zu testenden Keim um Salmonellen handeln könnte. Dazu wird eine halbe Bakterienkolonie mittels einer Impföse in einem Tropfen Antiserum auf einem sauberen Objektträger verrieben. Kommt es hierbei zu einer gut sichtbaren Klumpenbildung, kann davon ausgegangen werden, dass die untersuchte Kolonie Salmonellen repräsentiert. Im negativen Fall bleibt das Gemisch homogen milchig.

Testsystem BBL Enterotube II

Die BBL ® Enterotube ™ II (Becton Dickinson GmbH) stellt ein standardisiertes, gebrauchsfertiges Testsystem zur rationellen und sicheren Identifizierung von *Enterobacteriaceae* dar. In den Kammern des Teströhrchens befinden sich Spezialmedien, die es ermöglichen, gleichzeitig 15 verschiedene biochemische Leistungen von Bakterien zu untersuchen.
Alle 15 Kammern werden in einem Arbeitsgang beimpft und nach 24stündiger Bebrütung bei +37°C ausgewertet. Voraussetzung für den Gebrauch der BBL ® Enterotube ™ II sind isolierte Einzelkolonien. Der genaue Ablauf der Beimpfung ist der Arbeitsanleitung des Herstellers zu entnehmen. Nach der Inkubation müssen noch einige Zusatzreaktionen durchgeführt werden, wobei einige Tropfen bestimmter Reagenzien in die entsprechenden Kammern hinzugegeben werden. Die Auswertung der einzelnen Reaktionen erfolgt anhand einer Ablesetabelle, die endgültige Identifizierung dann mittels einer Zahlencodetabelle.

Indoltest (Abbau von Tryptophan): Zugabe von 3-4 Tropfen Kovacs-Reagenz

Voges-Proskauer-Test (Acetoinbildung): Zugabe von 2 Tropfen VP 1-Reagenz (Kaliumhydroxid)
Zugabe von 3 Tropfen VP 2-Reagenz (□-Naphtol) und nach 10 min ablesen.

Die Auswertung des Testsystems wurde entsprechend der **Tabelle 19** vorgenommen.

Tabelle 19: Ablesetabelle des Testsystems BBL Enterotube II

Test	Reaktionen/Enzyme	Ergebnis		
		negativ	positiv	*Salmonella spp*.
GLU	Glucose	rot	gelb	gelb
Gasproduktion		Wachs aufliegend	Wachs abgehoben	Wachs abgehoben
LDC	LysinDeCarboxylase	gelb	violett	violett
ODC	OrnithinDeCaeboxylase	gelb	violett	violett
H_2S	H_2S-Bildung	beige	schwarzbraun	schwarzbraun
IND	INDol-Bildung	farblos	rot	farblos
ADO	ADOnitol	rot	gelb	rot
LAC	LACtose	rot	gelb	rot
ARA	ARAbinose	rot	gelb	gelb
SOR	SORbit	rot	gelb	gelb
VP	Acetoinbildung	farblos	rot	farblos
Dulcit	Dulcitabbildung	grün	gelb	grün
Phenylalanin	Phenylpyruvat	grün	dunkelbraun	grün
URE	UREase	beige	purpur	beige
CIT	CITrat	grün	blau	blau

4. Lagerung der identifizierten Bakterien-Stämme

Nach Abschluss der Untersuchungsmethoden werden alle identifizierten Bakterienisolate bis zur weiteren Differenzierung in der Mikrobank aufbewahrt. Um auch noch nach längerer Lagerungszeit bei -20°C lebensfähige Kolonien anzüchten zu können, sind auf nichtselektiven Agarplatten frische Kolonien

von *Y. enterocolitica* und *L. monocytogenes* für 24 Stunden bei +30°C bzw. +37°C kultiviert worden. *C. coli* und *C. jejuni* wurden auf Blutagarplatten bei +37°C für 24 Stunden in mikroaerophiler Atmosphäre angezüchtet. Danach wurde das gesamte auf den CASO-bzw. Blutagarplatten gewachsene Kolonienmaterial, um Kontaminationen zu vermeiden, unter der Laminaflow-Sicherheits-Arbeitsbank in die speziellen Mikrobankröhrchen überführt. Nach einer Wartezeit von 30-45 Minuten war die überstehende Flüssigkeit mit Ausnahme der *Campylobacter* spp. beinhaltenden Röhrchen mittels einer Kolbenhubpipette zu entfernen. Die nun an den enthaltenen Keramikkügelchen fixierten Bakterienstämme wurden bei -20°C eingefroren. Zur Durchführung weiterführender Untersuchungen kann ein Kügelchen unter sterilen Kautelen entnommen und auf entsprechendem Agar rekultiviert werden.

5. Verwendetes Untersuchungsmaterial

Die Nährmedien, Reagenzien, Geräte, kommerzielle Schnelltests und der Laborbedarf, die im Rahmen der Untersuchungen eingesetzt wurden, sind im Anhang aufgeführt.

D ERGEBNISSE

1. Untersuchung der Schweinetonsillen

Für die Untersuchung von Schweinetonsillen wurden 50 Tiere beprobt. Dabei hat man Tonsillenmaterial entnommen, die aerobe Gesamtkeimzahl und die *E. coli*-Zahl bestimmt sowie eventuell vorhandene pathogene Bakterien nachgewiesen.

1.1 Aerobe Gesamtkeimzahl

Der Kontaminationsgrad der 50 Schweinetonsillen wurde mittels der Bestimmung der aeroben Gesamtkeimzahl untersucht (Anhang **Tabelle 23**). Insgesamt gesehen war die Gesamtkeimzahl als hoch zu bewerten. Die Höhe der aeroben Gesamtkeimzahl bewegte sich zwischen im Minimum 2,5 x 10^6 KbE/g und im Maximum 6,6 x 10^7 KbE/g Tonsillenmaterial. Im Mittel lag die Gesamtkeimzahl der 50 untersuchten Tonsillen bei 1,3 x 10^7 KbE/g (**Tabelle 20**).

1.2 *Escherichia coli*-Zahl

Die *E. coli*-Zahl wurde zur Bestimmung der fäkalen Kontamination der 50 Schweinetonsillen herangezogen und muss als hoch bewertet werden (Anhang **Tabelle 23**). In dieser Untersuchung schwankte die *E. coli*-Zahl bei den 50 beprobten Schweinen im Minimum zwischen 2,4 x 10^4 KbE/g und im Maximum 3,4 x 10^6 KbE/g Tonsillenmaterial. Der Mittelwert lag bei 3,7 x 10^5 KbE/g (**Tabelle 20**).

Tabelle 20: Kontaminationsgrad von 50 Schweinetonsillen aus dem Schlachthof in München unter Berücksichtigung der Gesamtkeimzahl und der *E. coli*-Zahl

Proben	**Gesamtkeimzahl KbE / g**	Min. – Max.	***E. coli* KbE / g**	Min. – Max.
Schwein 1-10	$1{,}3 \times 10^7$	$2{,}5 \times 10^6$ - $4{,}8 \times 10^7$	$3{,}0 \times 10^6$	$2{,}4 \times 10^4$ - $3{,}1 \times 10^6$
Schwein 11-20	$1{,}3 \times 10^7$	$6{,}5 \times 10^6$ - $2{,}1 \times 10^7$	$1{,}9 \times 10^5$	$3{,}8 \times 10^4$ - $7{,}5 \times 10^5$
Schwein 21-30	$1{,}3 \times 10^7$	$5{,}7 \times 10^6$ - $4{,}7 \times 10^7$	$2{,}6 \times 10^5$	$3{,}0 \times 10^4$ - $3{,}4 \times 10^6$
Schwein 31-40	$1{,}2 \times 10^7$	$4{,}0 \times 10^6$ - $2{,}0 \times 10^7$	$5{,}1 \times 10^5$	$9{,}9 \times 10^4$ - $1{,}9 \times 10^6$
Schwein 41-50	$1{,}4 \times 10^7$	$4{,}5 \times 10^6$ - $6{,}6 \times 10^7$	$4{,}1 \times 10^5$	$1{,}2 \times 10^5$ - $9{,}5 \times 10^5$
	$1{,}3 \times 10^7$	$2{,}5 \times 10^6$ – $6{,}6 \times 10^7$	**$3{,}7 \times 10^5$**	$2{,}4 \times 10^4$ – $3{,}4 \times 10^6$

1.3 Nachweis von pathogenen Bakterien aus Schweinetonsillen

1.3.1 Nachweisrate von *Campylobacter coli* und *Campylobacter jejuni*

Bei der Untersuchung der 50 Tonsillenproben war die Nachweishäufigkeit von *Campylobacter* spp. sehr gering. Nur bei insgesamt zwei Schweinen konnte aus den Tonsillen *C. coli* isoliert werden. Der Nachweis von *C. jejuni* aus Tonsillen gelang bei keiner der untersuchten Proben. (**Tabelle 21**).

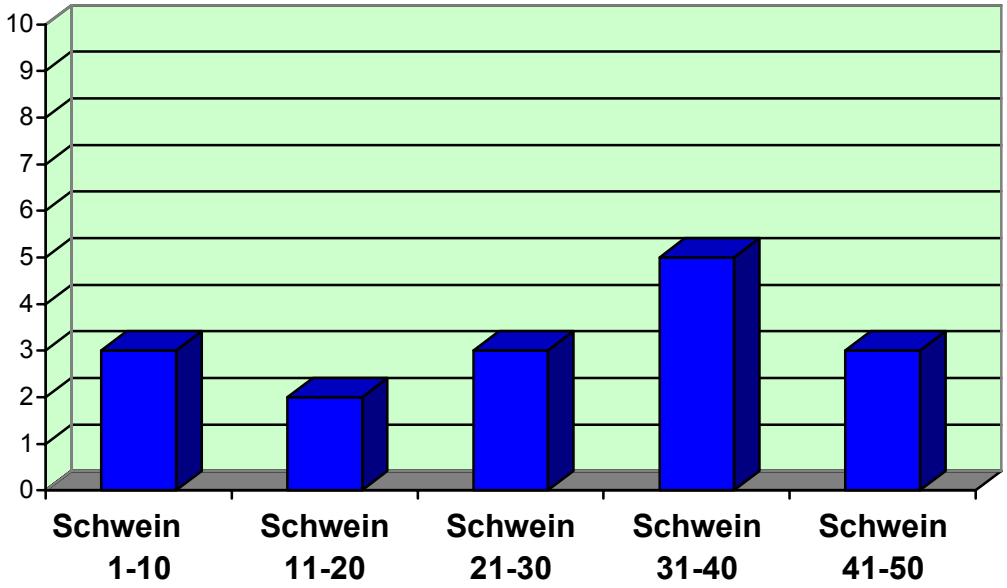
Tabelle 21: Nachweishäufigkeit von *C. coli* und *C. jejuni* aus Schweinetonsillen

	C. coli	*C. jejuni*
Schwein 1-10	1	0
Schwein 11-20	0	0
Schwein 21-30	0	0
Schwein 31-40	0	0
Schwein 41-50	1	0

1.3.2 Nachweisrate von *Listeria monocytogenes*

Bei der Untersuchung der 50 Schlachtschweine konnte aus den Tonsillen *L. monocytogenes* in annähernd ähnlicher Häufigkeit in den einzelnen Sammeldurchgängen isoliert werden. Bei insgesamt 16 Tieren konnte *L.* monocytogenes nachgewiesen werden. Die Nachweishäufigkeit bewegte sich zwischen zwei und fünf für *L. monocytogenes* positiv getesteten Tonsillenproben je Probendurchgang (**Abbildung 10**).

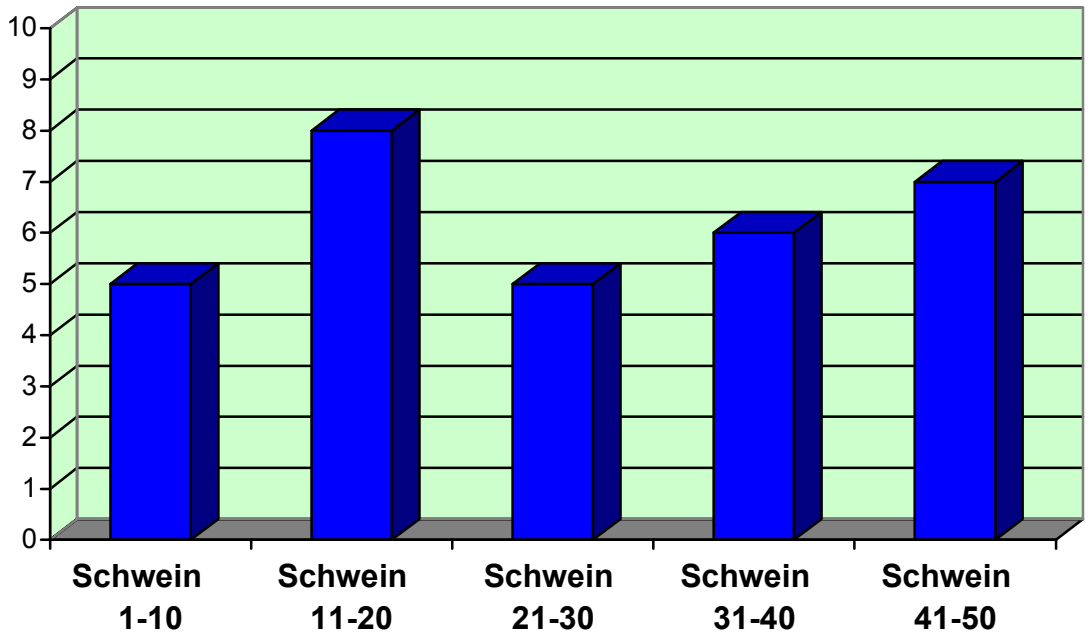
Abb. 10: Nachweishäufigkeit von *L. monocytogenes* aus Schweinetonsillen



1.3.3 Nachweisrate von *Yersinia enterocolitica*

Die Untersuchung der 50 Schweinetonsillen ergab eine schwankende Nachweisrate von *Y. enterocolitica*. Von den 50 untersuchten Tonsillen waren insgesamt 31 Proben positiv für *Y. enterocolitica*. Die Nachweishäufigkeit je Probeentnahmedurchgang bewegte sich im Minimum zwischen fünf und im Maximum acht für *Y. enterocolitica* positiv getesteten Tonsillenproben (**Abbildung 11**).

Abb. 11: Nachweishäufigkeit von *Y. enterocolitica* aus Schweinetonsillen



1.3.4 Nachweisrate von *Salmonella* spp.

Die Untersuchung der Tonsillen der 50 Schlachtschweine erbrachte keinen Nachweis für *Salmonella* spp..

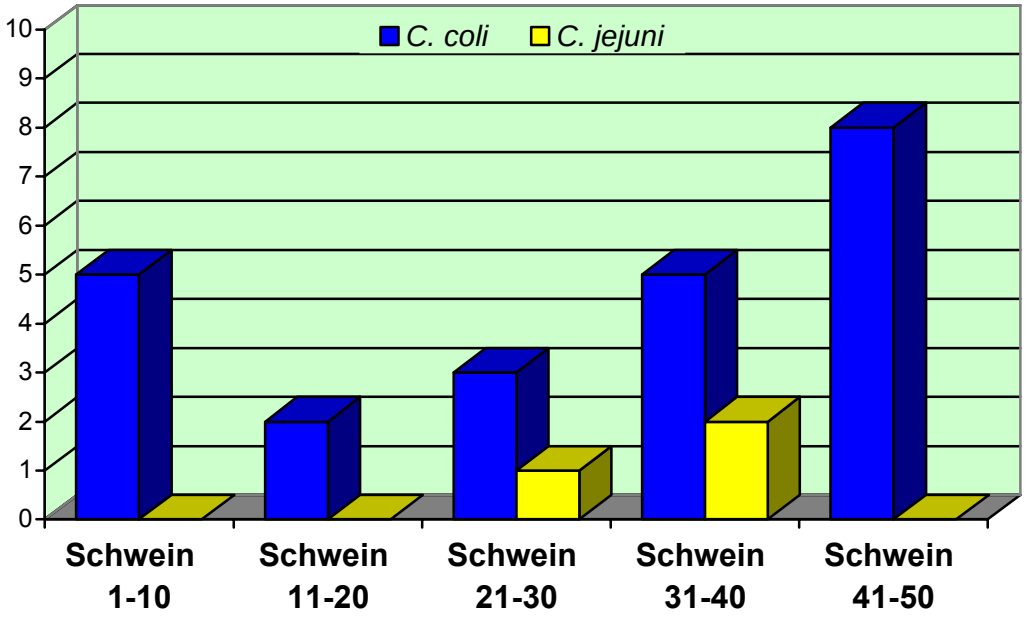
2. Nachweis von pathogenen Bakterien aus Schweinekot

Aus dem Kot der 50 Schlachtschweine, deren Tonsillen schon untersucht wurden, erfolgte auch der Nachweis von pathogenen Bakterien. Die Probennahme erfolgte ebenfalls im Rahmen von fünf Besuchen, bei denen jeweils von 10 Tieren der Kot aus dem Rektum entnommen worden ist.

2.1 Nachweisrate von *Campylobacter coli* und *Campylobacter jejuni*

Im Kot der 50 Schlachtschweine wurden *C. coli* und *C. jejuni* in unterschiedlicher Häufigkeit gefunden. Insgesamt konnten aus dem Kot von 23 Schweinen *C. coli* und aus dem Kot von drei Schweinen *C. jejuni* isoliert werden. Die Nachweisrate schwankte im Minimum zwischen zwei und im Maximum acht für *C. coli* positiven Kotproben je Probenentnahme. Bei *C. jejuni* konnten nur erheblich niedrigere Nachweishäufigkeiten festgestellt werden. Hierbei bewegte sich die Nachweisrate zwischen 0 und 2 für *C. jejuni* positive Kotproben je Sammeldurchgang (**Abbildung 12**).

Abb. 12: Nachweishäufigkeit von *C. coli* und *C. jejuni* aus Schweinekot



2.2 Nachweisrate von *Listeria monocytogenes*

Bei der Untersuchung des Schweinekots wurde ebenfalls *L. monocytogenes* isoliert. Allerdings war die Nachweisrate erheblich geringer als in den Tonsillen. Es wurde nur insgesamt bei zwei Tieren *L. monocytogenes* im Kot isoliert. Die Nachweishäufigkeit schwankte jedoch hier zwischen null und zwei für *L. monocytogenes* positive Kotproben im Maximum (**Tabelle 22**).

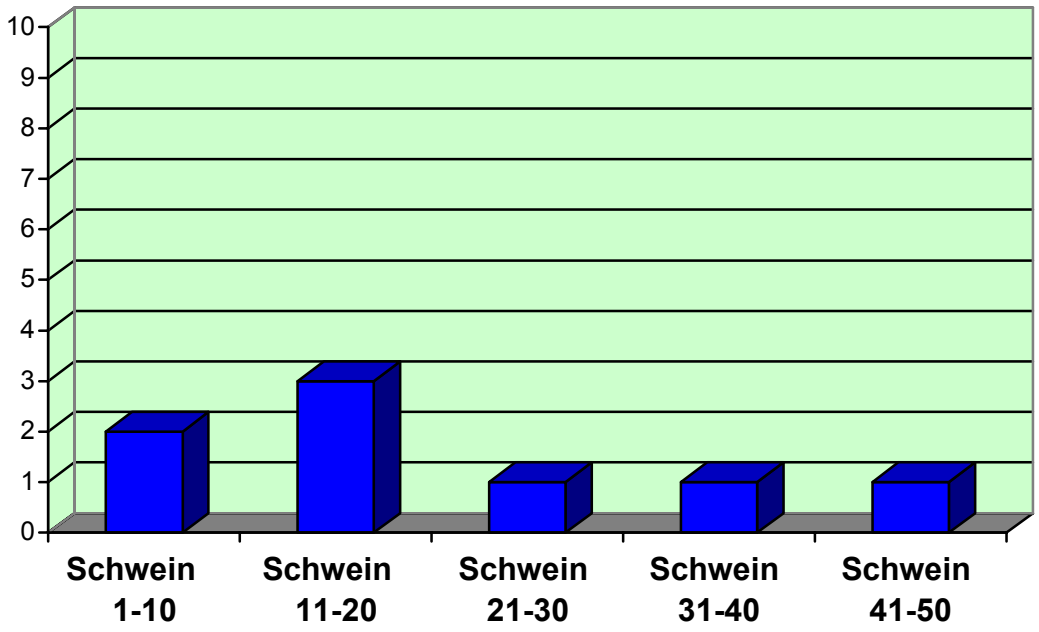
Tabelle 22: Nachweishäufigkeit von *L. monocytogenes* aus Schweinekot

	L. monocytogenes
Schwein 1-10	0
Schwein 11-20	0
Schwein 21-30	0
Schwein 31-40	0
Schwein 41-50	2

2.3 Nachweisrate von *Yersinia enterocolitica*

Auch die Untersuchung des Schweinekots erbrachte positive Ergebnisse für *Y. enterocolitica*. Bei den 50 untersuchten Kotproben konnte in acht Proben *Y. enterocolitica* nachgewiesen werden. Die Nachweishäufigkeit in den einzelnen Probedurchgängen bewegte sich zwischen eins im Minimum und drei im Maximum positiv für *Y. enterocolitica* getesteten Schweinekotproben (**Abbildung 13**).

Abb. 13: Nachweishäufigkeit von *Y. enterocolitica* aus Schweinekot



2.4 Nachweisrate von *Salmonella* spp.

Aus den Kotproben der 50 Schlachtschweine waren keine *Salmonella* spp. nachzuweisen.

3. Vergleich der Nachweishäufigkeiten von humanpathogenen Bakterien bei der Untersuchung von Tonsillen- und Kotproben

3.1 Nachweis von *Campylobacter coli* und *Campylobacter jejuni*

Bei der Untersuchung der Tonsillen- und Kotproben der 50 Schlachtschweine fällt auf, dass aus den Tonsillen in einem viel geringeren Ausmaß *C. coli* und *C. jejuni* isoliert werden konnten als aus dem Kot der gleichen Schweine. *C. coli* wurde nur in zwei Tonsillenproben gefunden; denen stehen 23 positiv für *C. coli* getestete Schweinekotproben gegenüber. Nur bei einem Schlachtschwein konnte sowohl in den Tonsillen als auch im Kot *C. coli* gefunden werden. Ein ähnliches Bild zeigt sich beim Nachweis von *C. jejuni*. Allerdings wurde diese Spezies in einem nur ganz geringen Umfang isoliert. In den Tonsillen der 50 Schlachtschweine wurde in keiner Probe *C. jejuni* nachgewiesen und auch nur bei drei der 50 Tiere konnte aus dem Kot *C. jejuni* angezüchtet werden (Anhang **Tabelle 23** und **Abb. 14**).

3.2 Nachweis von *Listeria monocytogenes*

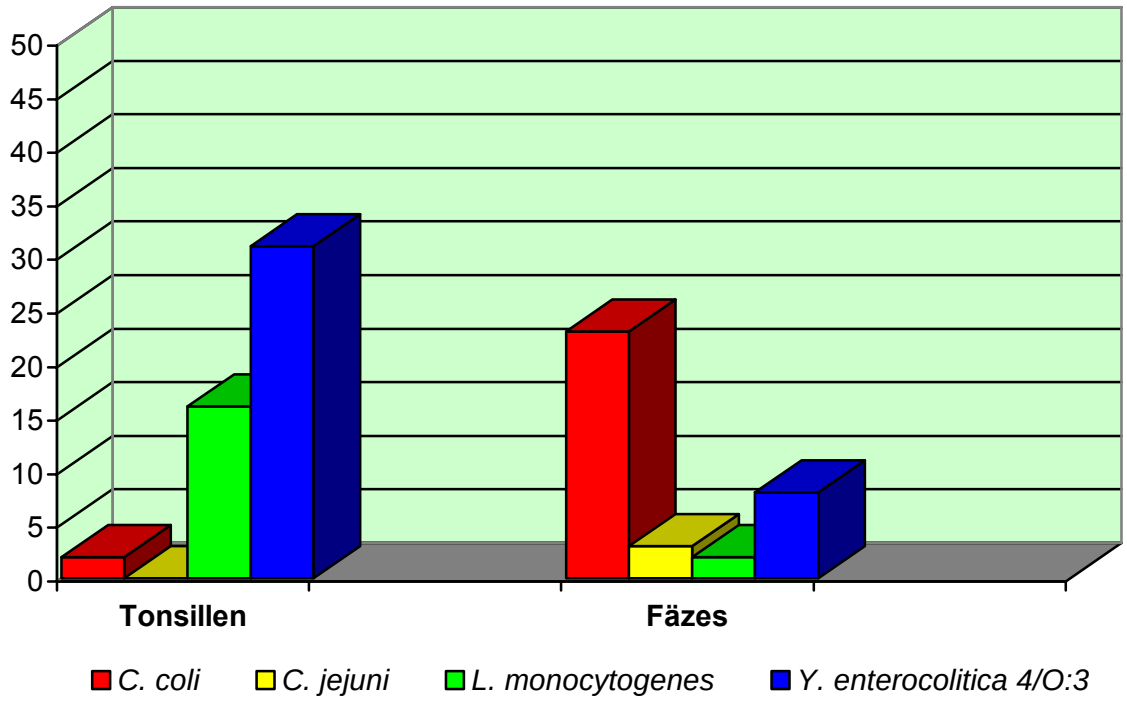
Der Nachweis von *L. monocytogenes* aus den Tonsillen als auch aus dem Kot der 50 untersuchten Schweine ist sehr unterschiedlich ausgefallen. Konnte doch in den Tonsillen bei 16 Tieren *L. monocytogenes* nachgewiesen werden, waren es beim Kot nur noch zwei Tiere, die ein positives Ergebnis gezeigt haben. Allerdings konnte bei diesen beiden Schweinen auch aus den Tonsillen *L. monocytogenes* isoliert werden (Anhang **Tabelle 23** und **Abb. 14**).

3.3 Nachweis von *Yersinia enterocolitica*

Die Untersuchung der 50 Schlachtschweine erbrachte folgendes Ergebnis. In den Tonsillen von 31 Tieren wurde *Y. enterocolitica* gefunden. Dieser Anzahl von Tieren stehen acht Schweine gegenüber, bei denen im Kot *Y. enterocolitica* gefunden werden konnte. Sechs dieser acht Schweine wiesen

sowohl in den Tonsillen als auch im Kot *Y. enteroclitica* auf (Anhang **Tabelle 23** und **Abb. 14**).

Abb. 14: Verteilung von pathogenen Keimen in Tonsillen und Fäzes bei 50 untersuchten Schlachtschweinen

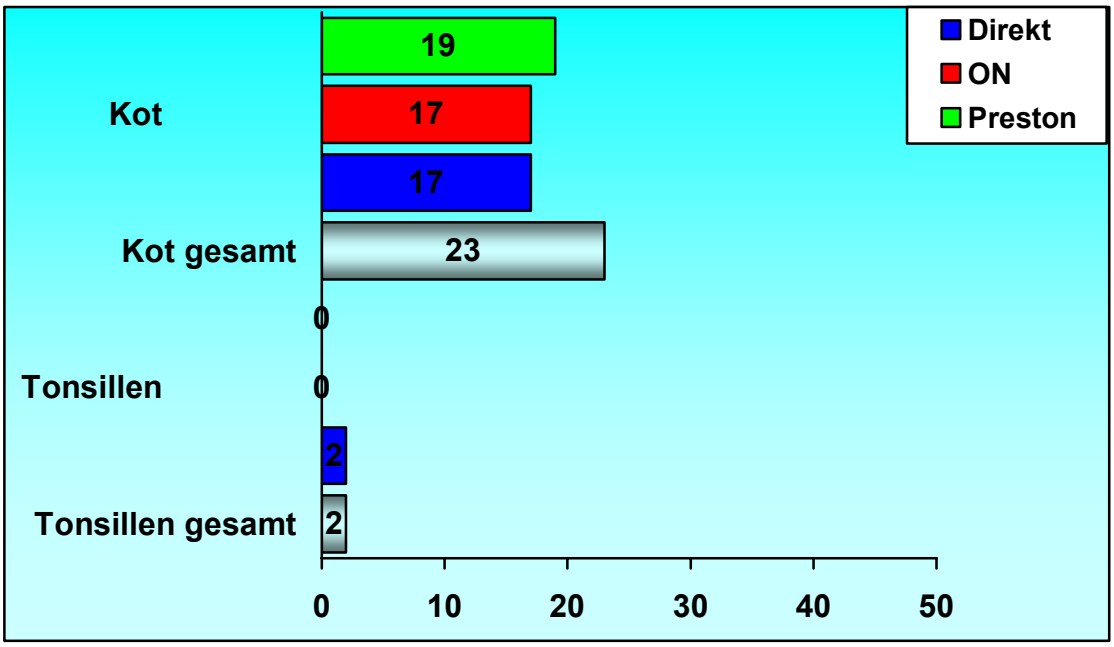


4. Vergleich der drei angewandten Nachweisverfahren

4.1 Nachweis von *Campylobacter coli*

Die Untersuchung von 50 Schlachtschweinen erbrachte folgendes Ergebnis. Aus den Tonsillen von zwei Tieren und aus den Fäzes von 23 Tieren gelang es, *C. coli* nachzuweisen. Beim Vergleich der drei Nachweisverfahren, die zur Anwendung gebracht worden sind, fällt auf, dass nur mit der Direktausstrichmethode *C. coli* aus den Tonsillen isoliert werden konnte. Weder mit der Über-Nacht-Anreicherung noch mit der Preston-Selektivanreicherung konnten positive Ergebnisse erzielt werden. Bei der Untersuchung des Kots wurden am häufigsten mit der Preston-Selektiv-Anreicherung positive Ergebnisse registriert. Von den insgesamt 23 für *C. coli* positiv getesteten Proben wurden 19 mit der Selektiv-Anreicherung nachgewiesen. Die beiden anderen Methoden, der Direktausstrich und die Über-Nacht-Anreicherung, führten nur jeweils bei 17 Schweinen zu einem positiven Nachweis für *C. coli* (**Abbildung 15**).

Abb. 15: Vergleich der drei Anreicherungsverfahren zum Nachweis von *C. coli* aus Tonsillen und Kot

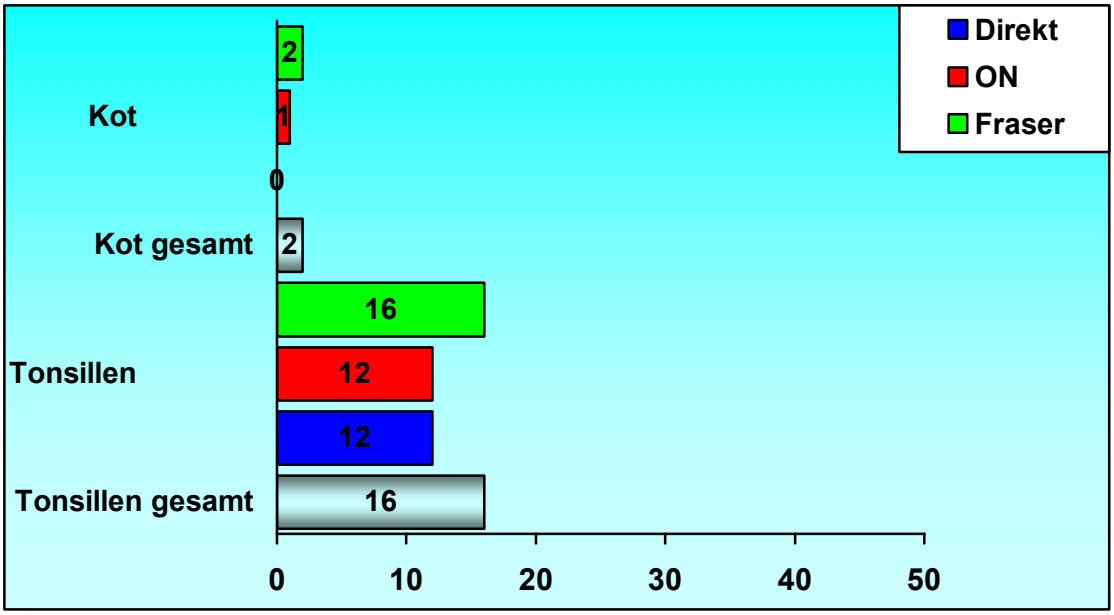


Direkt	Direktausstrichmethode
ON	Über-Nacht-Anreicherung bei +4°C
Preston	Preston-Selektiv-Anreicherung

4.2 Nachweis von *Listeria monocytogenes*

Im Rahmen der Untersuchung der 50 Mastschweine wurde aus den Tonsillen von insgesamt 16 Tieren *L. monocytogenes* isoliert. Dabei konnte jeweils bei 12 Schweinen mit der Direktausstrichmethode sowie nach Über-Nacht-Anreicherung und mittels der Selektiv-Anreicherung bei 16 Tieren *L. monocytogenes* nachgewiesen werden. Die Kotuntersuchung erbrachte nur bei insgesamt zwei Tieren ein positives Ergebnis, wobei mit der Direktausstrichmethode sich in keinem Fall *L. monocytogenes* isolieren ließ. Nur nach Über-Nacht-Anreicherung konnte in einem Fall und nach Fraser-Selektiv-Anreicherung in zwei Fällen *L. monocytogenes* aus den Kotproben isoliert werden. Das bedeutet, dass mit Hilfe der Selektiv-Anreicherung alle Tonsillen- bzw. Kotproben, die positiv für *L. monocytogenes* waren, erkannt werden konnten (**Abbildung 16**).

Abb. 16: Vergleich der drei Anreicherungsverfahren zum Nachweis von *L. monocytogenes* aus Tonsillen und Kot

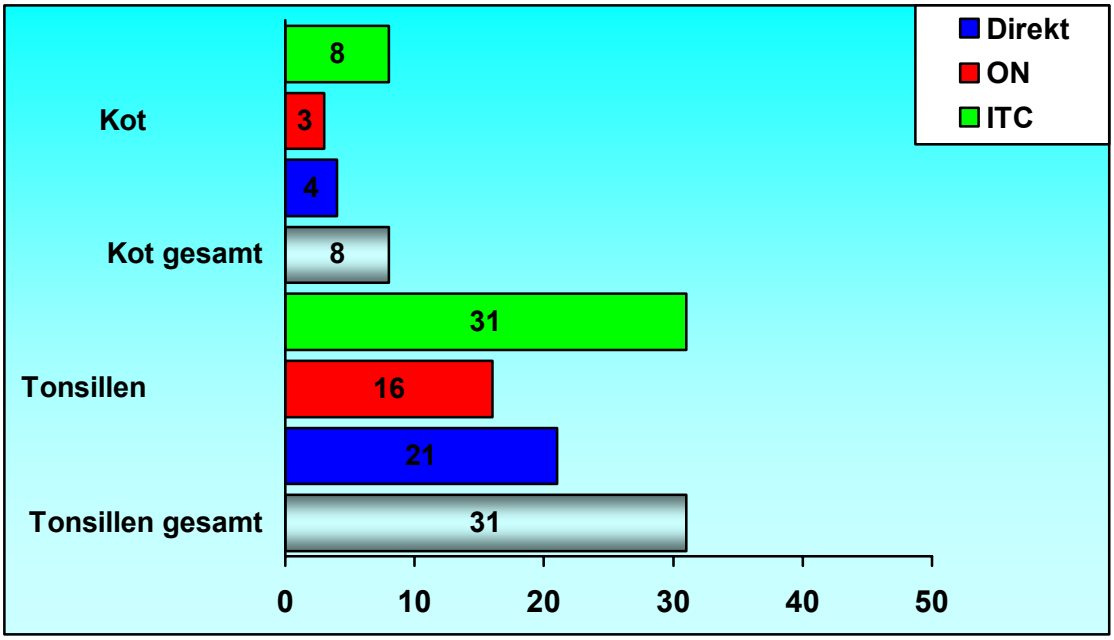


Direkt	Direktausstrichmethode
ON	Über-Nacht-Anreicherung bei +4°C
Fraser	Fraser-Selektiv-Anreicherung

4.3 Nachweis von *Yersinia enterocolitica*

Bei insgesamt 31 der 50 untersuchten Schweine wurde *Y. enterocolitica* Bioserotyp 4/O:3 aus den Tonsillen und bei acht der 50 Schweine aus dem Kot nachgewiesen. Die Untersuchung der Tonsillen erbrachte mit der Direktausstrichmethode bei 21 Tieren, mit der Über-Nacht-Anreicherung bei 16 und mit der Selektiv-Anreicherung bei 31 Schlachtschweinen *Y. enterocolitica* als Ergebnis. Bei der Kotuntersuchung zeigte sich ein ähnliches Bild. Hier lag die Nachweishäufigkeit mit Direktausstrich bei vier und nach Über-Nacht-Anreicherung bei drei für *Y. enterocolitica* positiven Tieren. Mit der ITC-Selektiv-Anreicherung konnten acht Schlachtschweine positiv getestet werden. Hierbei zeigte sich, dass mit der Selektiv-Anreicherung alle für *Y. enterocolitica* positiv getesteten Schweine herausgefiltert werden konnten (**Abbildung 17**).

Abb. 17: Vergleich der drei Anreicherungsverfahren zum Nachweis von *Y. enterocolitica* aus Tonsillen und Kot



Direkt	Direktausstrichmethode
ON	Über-Nacht-Anreicherung bei +4°C
ITC	Selektiv-Anreicherung (Irgasan-Ticarcillin-Kaliumchlorat-Nährboullion)

5. Identifikation von pathogenen Bakterien

5.1 Campylobacter

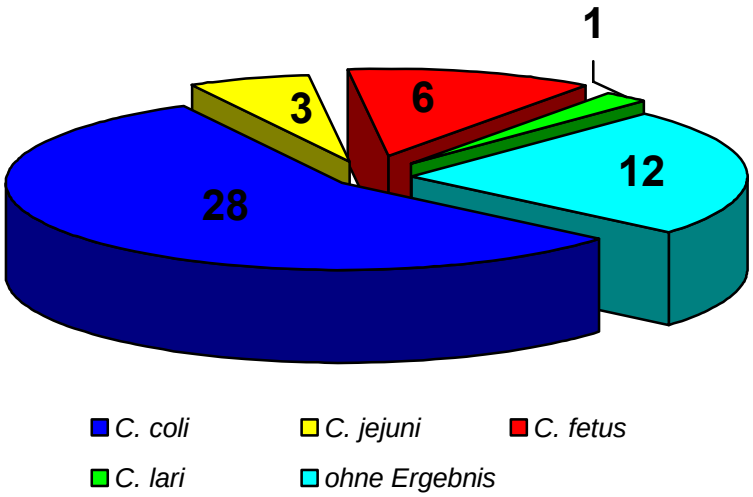
5.1.1 **Latex-Agglutinationstest** (Dryspot Campylobacter Test®)

Bei insgesamt 123 Isolaten, die von 46 der insgesamt 50 beprobten Schweinen stammten und ein für *Campylobacter* spp. verdächtiges Wachstum auf CCD-Agarplatten aufgewiesen haben, wurde der Latex-Agglutinationstest durchgeführt. Der Test fiel bei 32 Isolaten negativ aus. Bei der Untersuchung von 91 Isolaten von 41 Schweinen konnte eine Agglutination festgestellt werden, die somit als positiv für *Campylobacter* spp. anzusprechen war (Anhang **Tabelle 24**).

5.1.2 Testsystem API Campy

Eine Erregeridentifizierung mit dem Testsystem API Campy wurde bei 50 Isolaten der 41 Schweinen durchgeführt. Hierbei konnten insgesamt 38 (76,0%) Isolate von 41 Schweinen als *Campyloabacter* spp. identifiziert werden. *C. coli* wurde in 28 (73,7%) Isolaten, die von 24 Schweinen stammten, nachgewiesen. Bei drei (7,9%) Isolaten von drei Schweinen handelte es sich um *C. jejuni* und bei sechs (15,8%) Isolaten von sechs Schweinen um *C. fetus*. Nur ein (2,6%) Isolat, das aus einem Schwein isoliert werden konnte, wurde als *C. lari* identifiziert (Anhang **Tabelle 25**). Bei den restlichen 12 Isolaten handelte es sich entweder um eine andere Bakterienspezies als Campylobacter, oder aber es konnte dem ermitteltem API-Zahlencode kein passendes Ergebnis zugeordnet werden (**Abbildung 18**).

Abb. 18: Nachweis von *Campylobacter* spp. mit API Campy



5.2 Listerien

5.2.1 CAMP-Test

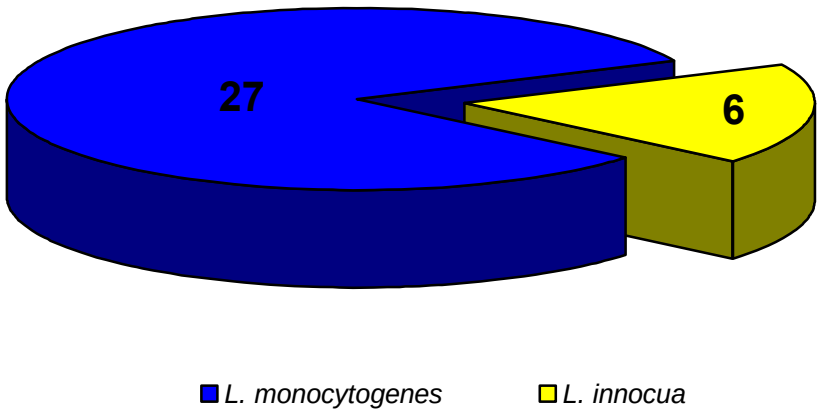
Von den 94 Isolaten der 17 Schweine der insgesamt 50 untersuchten Tiere, bei denen Listerien durch Anzucht auf Oxford-Agarplatten nachgewiesen worden sind, wurden 52 Isolate der 17 Schweine mittels CAMP-Test untersucht. Dabei zeigte der Test bei 46 Isolaten von 16 Schweinen ein positives CAMP-Phänomen. Bei den übrigen sechs Isolaten, die von drei Schweinen stammten, ist der Test negativ ausgefallen (Anhang **Tabelle 24**).

5.2.2 Testsystem API Listeria

Mit dem API Listeria-Testsystem wurden 33 Isolate von insgesamt 17 Schweinen der 52 mit CAMP-Test untersuchten Isolate einer Erregeridentifizierung unterzogen. Dabei konnte bei 27 (81,8%) Isolaten von 16 Schweinen der Zahlencode 6510 bestimmt werden, der eindeutig laut API-Zahlencodetabelle *L. monocytogenes* identifiziert. Dem stehen sechs (18,2%)

Isolate von drei Schweinen gegenüber, bei denen der API-Zahlencode 7510 bzw. 7710 ermittelt werden konnte, der jeweils *L. innocua* repräsentiert (**Abbildung 19** und Anhang **Tabelle 26**).

Abb. 19: Ergebnisse der API Listeria



5.3 Yersinien

5.3.1 Urea-Test

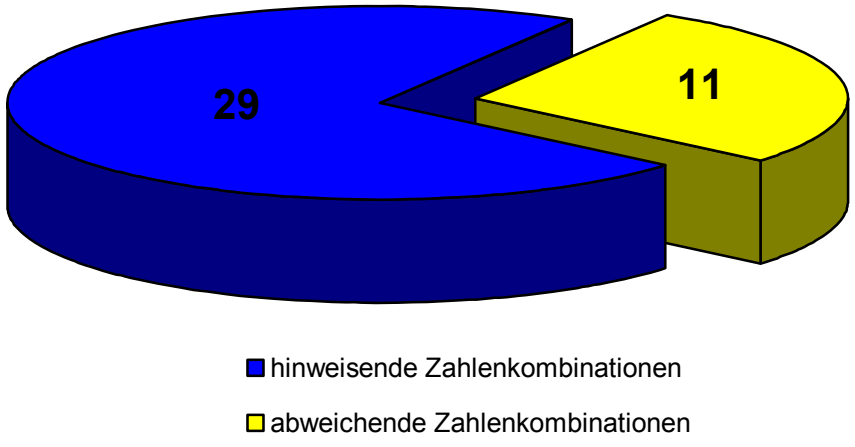
Der Urea-Test wurde bei allen 164 Isolaten durchgeführt, die von 33 der 50 beprobten Schweinen stammten, deren Proben ein verdächtiges Kolonienwachstum auf CIN-Agar zeigten. Dabei ergab der Test bei allen 164 Isolaten ein positives Ergebnis (Anhang **Tabelle 24**).

5.3.2 Testsystem API 20 E

Von den Insgesamt 164 Isolaten, die sich mit 134 auf Tonsillen und mit 30 Isolaten auf Kot verteilten, wurden mit dem API 20E-Testsystem insgesamt 40 Isolate einer Erregeridentifizierung unterzogen, deren Herkunft sich folgendermaßen aufteilt. 31 Isolate entfielen auf Tonsillenmaterial, neun auf Kot. Bei der Identifizierung zeigte sich, dass 9 (22,5%) der 40 als

Y. enterocolitica-positiv gewerteten Proben eine Zahlenkombination (10155231) aufwiesen, die eindeutig auf den Biotyp 4 zutrifft; wobei sechs Isolate aus Tonsillen- und drei Isolate aus Kotproben stammten. Zwölf (30,0 %) von 40 Isolaten und somit die höchste Anzahl entfielen auf die Zahlenkombination 10155230, wobei bis auf zwei alle dem Tonsillenmaterial entstammten. Die Zahlenkombination 10155220 wies mit acht (20,0%) Isolaten, davon stammten sieben aus Tonsillen- und eine aus Kotproben, ein ebenfalls hohes Vorkommen auf (**Abbildung 20**). Insgesamt konnte also bei 29 (72,5%) der Isolate eine Zahlenkombination bestimmt werden, die hinweisend für *Y. enterocolitica* ist.

Abb. 20: Ergebnisse der API 20E für *Y. enterocolitica*



Bei insgesamt 11 (27,5%) Isolaten wurde ein sehr hoher Abweichungsgrad von den genannten Zahlenkombinationen festgestellt. Allerdings konnten diese wie auch die anderen 29 Isolate nach der Biotypisierung zu *Y. enterocolitica* Bioserotyp 4/O:3 gezählt werden (Anhang **Tabelle 27**).

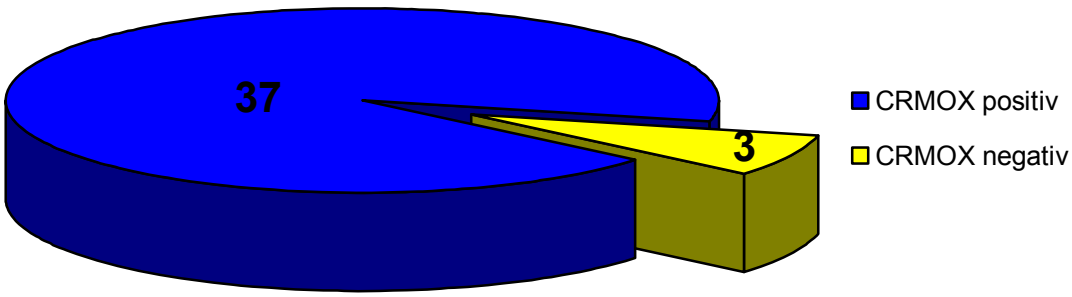
5.3.3 Ergebnis der Biotypisierung

Insgesamt erfolgte die Biotypisierung der 40 *Y. enterocolitica*-Isolate, die auch schon mit dem API 20E-Testsystem untersucht und als *Y. enterocolitica* identifiziert worden waren. Jedes zu testende Isolat wurde auf Tween-Agar, Aesculin-Agar und Pyrazinamidase-Agar ausgestrichen. Gleichzeitig wurde ein Fermentations-Nachweis mit Salicin, Xylacin und Trehalose durchgeführt. Alle 40 Isolate konnten eindeutig als Biotyp 4 bestimmt werden (Anhang **Tabelle 24**).

5.3.4 Ergebnis der Untersuchung auf Pathogenität

Der Pathogenitätsnachweis kam ebenso wie die Biotypisierung bei den gleichen 40 Isolaten zur Anwendung. Bei 37 Isolaten konnten ein calciumabhängiges Wachstum sowie eine Aufnahme von Kongorot durch den CRMOX-Agar nachgewiesen werden, und somit waren sie als pathogen einzustufen. Nur drei der Isolate wurden als potenziell pathogen bewertet, da sich bei ihnen mit diesem Test kein Plasmid nachweisen ließ (**Abbildung 21**).

Abb. 21: Anzahl der CRMOX-positiven/-negativen Isolate



E DISKUSSION

1. Untersuchung der Schweinetonsillen

1.1 Aerobe Gesamtkeimzahl

Die aerobe Gesamtkeimzahl wurde bei insgesamt 50 Schweinetonsillen bestimmt. Dabei bewegte sie sich im Bereich zwischen 2,5 x 10^6 und 6,6 x 10^7 KbE/g Tonsillenmaterial, wobei die aerobe Gesamtkeimzahl im Mittel bei 1,3 x 10^7 KbE/g lag (**Tabelle 20**). Tonsillen sind nicht für den menschlichen Verzehr geeignet. Jedoch kann es vorkommen, dass im Verlauf der Schlachtung bei der Entfernung des Geschlinges Tonsillenreste am Schlachttierkörper bzw. Kopf verbleiben, die im weiteren Verlauf zu einer Kontamination mit Bakterien führen können. Das gleiche gilt für die Fleischuntersuchung, in deren Rahmen die Tonsillen zu entfernen sind; dabei kann es bei schneller und nicht sorgfältig durchgeführter Manipulation passieren, dass Tonsillenreste zurückbleiben und es im Anschluss zu einer Kontamination des übrigen Geschlinges oder des Tierkörpers kommen kann. Ein hoher Keimgehalt aus Tonsillenresten führt in der Folge zu einem Anstieg der Gesamtkeimzahl beispielsweise in Fleischerzeugnissen. Auf diese Weise wird durch eine erhöhte Gesamtkeimzahl dem Verderb Vorschub geleistet, und die Dauer der Haltbarkeit eines Produktes sinkt somit ab.

In der Literatur existieren keine Vergleichswerte für die Gesamtkeimzahl in Tonsillenmaterial von Schlachtschweinen. Deshalb muss hier auf Orientierungswerte aus anderen Produkten zurückgegriffen werden. Laut Fleischygieneverordnung (FlHV) gilt eine Gesamtkeimzahl in Hackfleisch bis 5,0 x 10^6 KbE/g als annehmbar. Gesamtkeimzahlwerte, die über 5,0 x 10^6 KbE/g liegen, gelten als nicht zufriedenstellend. Trotzdem können nach FEHLHABER (1992) in Produkten wie Rohwurst aufgrund der Starterkulturen und in Hackfleisch wegen des hohen Zerkleinerungsgrades Gesamtkeimzahlwerte ermittelt werden, die sich im Bereich zwischen 10^5 und 10^7 KbE/g bewegen. In älteren Untersuchungen waren Werte von 2,9 x 10^5 bis 4,9 x 10^7 KbE/g (KARCHES und TEUFEL 1988) bzw. zwischen 10^4 und 10^8

KbE/g (SCHELLHAAS 1982) in Hackfleisch zu ermitteln. In neueren Untersuchungen wird auch von deutlich niedrigeren Werten berichtet, die bei 5,4 x 10^4 KbE/g in Hackfleischproben (SCHALCH et al. 1996) bzw. zwischen 1,2 x 10^3 und 6,7 x 10^3 KbE/g in unbehandeltem Schweinefleisch (MAHLER 2004) angesiedelt sind. Auch die Untersuchung von Schweinekopffleisch zeigte mit 3,3 x 10^4 KbE/g deutlich niedrigere Gesamtkeimzahlwerte (LAUBACH et al. 1998), wobei zu erwähnen ist, dass es sich bei Kopffleisch um die äußeren Muskelpartien am Kopf handelt, die in der Regel nicht in direkten Kontakt mit den Tonsillen kommen sollten. Bei Betrachtung dieser Werte wird deutlich, welche Bedeutung den in dieser Studie ermittelten Gesamtkeimzahlwerten beizumessen ist. Kommt es, ausgehend von den Tonsillen, zu Kontaminationen des Schlachttierkörpers bzw. des Geschlinges, oder werden Tonsillenreste bei der Verarbeitung verschleppt, so können Gesamtkeimzahlwerte erreicht werden, die über denen in der FlHV empfohlenen Werten für frisches Fleisch liegen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die in dieser Studie ermittelten Gesamtkeimzahlwerte in Tonsillen vor allem für Kontaminationen von Fleisch und Fleischerzeugnissen während der Schlachtung und Zerlegung von Bedeutung sein können. Dies kann entweder durch das direkte Verschleppen von Tonsillenresten in Fleischerzeugnisse oder durch Kreuzkontaminationen, die im Rahmen des Handlings von Schlachttierkörpern bzw. Geschlingen stattfinden, erfolgen. Hierbei spielen sowohl die Arbeitsgeräte als auch die Beschaffenheit der Arbeitsplätze eine Rolle. Eine damit verbundene möglicherweise Erhöhung der Gesamtkeimzahl kann zu einem schnelleren Verderb und anschließend zu Problemen bezüglich Haltbarkeit des Lebensmittels führen. Somit wird auch die Genusstauglichkeit des Lebensmittels für den Menschen eingeschränkt.

1.2 *Escherichia coli*-Zahl

Das Ergebnis der Untersuchung der 50 Schweinetonsillen auf das Vorhandensein von *E. coli* ist hoch ausgefallen, denn der Nachweis schwankte zwischen 2,4 x 10^4 und 3,4 x 10^6 KbE/g Tonsillenmaterial. Das arithmetische Mittel betrug 3,7 x 10^5 KbE/g (**Tabelle 20**). Die Höhe der *E. coli*-Zahl gerade in den Schweinetonsillen ist überraschend und zeigt, dass die Tonsillen eine sehr wichtige Kontaminationsquelle für *E. coli* darstellen. Bisher wurde davon ausgegangen, dass die Spezies *E. coli* als obligater Dickdarmbewohner während des Schlachtprozesses nur über Kotkontaminationen verbreitet wird.

Dass *E. coli* in diesem Ausmaß aus allen Tonsillen zu isolieren ist, hängt möglicherweise damit zusammen, dass die Schweine entweder den Kot ihrer Artgenossen bzw. Stallgenossen oder anderer Tierspezies schon im Bestand während des Transports bzw. im Wartestall vor der Schlachtung durch Koprophagie aufnehmen. Die Unterbindung der Koprophagie ist während dieser Phasen kaum möglich. Allerdings ist es mit Sicherheit möglich, durch ein gutes und konsequent durchgeführtes Reinigungs- und Desinfektionsregime der genannten Örtlichkeiten (Stall und Transportfahrzeuge) den Kontaminationsdruck durch *E. coli* zu reduzieren bzw. ganz zu beseitigen.

E. coli stellt im Rahmen der Schlachtung einen Hygieneindikator dar, und so ist die Isolierung ein Hinweis auf fäkale Verunreinigung. Dadurch ist die Anwesenheit von pathogenen Bakterien oder Viren nicht auszuschließen (KRÄMER 2002, KLEER 2004a). Somit sind die in dieser Studie ermittelten *E. coli*-Gehalte der Tonsillen insbesondere für die Sorgfalt bei der Weiterverarbeitung des Fleisches von Interesse, da es bei einer unvollständigen Entfernung der Tonsillen zu Kontaminationen des Geschlinges und der Schlachttierkörper kommen kann. TEUFEL et al. (1982) und SCHALCH et al. (1996) haben in Hackfleisch mit 10^3 KbE/g bzw. mit 1,7 x 10^1 KbE/g geringe Zahlen von *E. coli* festgestellt. Die FlHV bezeichnet eine *E. coli*-Zahl von 1,5 x 10^2 KbE/g in Hackfleisch als zufriedenstellend bzw. bis 5,0

x 10^2 KbE/g als noch annehmbar. Bereits ein Wert über 5,0 x 10^2 KbE/g gilt als nicht zufriedenstellend. Eine Untersuchung von Schweinekopffleisch durch LAUBACH et al. (1998) erbrachte ebenfalls mit 1,8 x 10^2 KbE/g eine niedrige Nachweisrate. Die in dieser Untersuchung mit durchschnittlich 3,7 x 10^5 KbE/g aus Tonsillenmaterial eruierte Nachweisrate für *E. coli* zeigt, dass auch von den Tonsillen und nicht nur, wie bisher angenommen, vor allem vom Kot eine Kontaminationsgefahr ausgehen kann. Dies führt dann zu Verunreinigungen der aus diesem Fleisch hergestellten Erzeugnisse.

1.3 Prävalenzen von pathogenen Bakterien in den untersuchten Schweinetonsillen

Die Prävalenzen für die in dieser Studie untersuchten pathogenen Bakterien waren in den 50 untersuchten Schweinetonsillen unterschiedlich hoch. Am häufigsten gelang der Nachweis von *Y. enterocolitica*, gefolgt von *L. monocytogenes* und *Campylobacter* spp.. Es konnten jedoch keine *Salmonella* spp. aus Tonsillen isoliert werden.

Aus 31 (62%) der 50 Schweinetonsillen war *Y. enterocolitica* nachzuweisen, wobei es sich dabei immer um den humanpathogenen Bioserotyp 4/O:3 handelte (Anhang **Tabelle 24**). Damit ist die Nachweisrate als sehr hoch einzustufen. Sie lag teilweise deutlich über den in der Literatur angegebenen Werten. Die Isolierungsraten für *Y. enterocolitica* aus Tonsillen in den anderen weltweit durchgeführten Untersuchungen bewegten sich im Bereich zwischen 7% und 41% und waren damit wesentlich niedriger angesiedelt (**Tabelle 1**). Die Autoren verwendeten dabei unterschiedliche, zum Teil auch modifizierte Nachweismethoden. Sie richteten sich nach den Anreicherungsmethoden in der ISO/DIN 10271, ISO/DIS 10273 oder nach der Methode der NFCA. Teilweise wurde auch nur auf die Kälteanreicherung zurückgegriffen. Nur BUCHER (2001) hat mit 85% positiv für *Y. enterocolitica* 4/O:3 getesteten Schweinetonsillen aus Sammelproben eine höhere Nachweisrate erreichen können. Diese Tatsache lässt sich womöglich damit erklären, dass in dieser Studie mit der Modifizierten Rappaport-Bouillon (MRB) eine zusätzliche

Selektivanreicherung zur Anwendung gebracht und außerdem der Nachweis aus Sammelproben geführt wurde. Dagegen konnten FREDRIKSSON-AHOMAA et al. (2001) nach Anreicherung in einer ITC-Bouillon sowie in einer MRB-Selektivanreicherung mit 60%, WAUTERS et al. (1988) unter Verwendung der MRB-Selektivanreicherung mit 61%, und KORTE et al. (2004) mit 56% nach Anreicherung in einer ITC-Bouillon ähnlich hohe Keimzahlen von *Y. enterocolitica* 4/O:3 aus Schweintonsillen isolieren. Der Grund, weshalb in dieser Studie aus 62% der Schweinetonsillen *Y. enterocolitica* 4/O:3 zu isolieren waren, ist wahrscheinlich darin zu sehen, dass mit der ITC-Bouillon und dem CIN-Agar jeweils nur eine Selektivanreicherung und nur ein Selektivagar verwendet worden sind.

Es konnte aus 16 (32%) der 50 Tonsillenproben *L. monocytogenes* isoliert werden (Anhang **Tabelle 24**). Die Literatur berichtet sowohl von niedrigeren als auch höheren Nachweisraten. So wiesen FRIES et al. (2002) in einer Untersuchung nach ISO 11290 aus Poolproben von 146 Schweinetonsillen in 26,7% der Proben *Listeria* spp. und hierbei in der Mehrzahl *L. monocytogenes* nach. Aus Finnland werden Nachweisraten für *L. monocytogenes* von 12% (AUTIO et al. 2000) bei Verwendung der Methode der NFCA, aber in einer neueren Untersuchung auch von 22% (AUTIO et al. 2004), wenn nach der ISO 11290 untersucht wurde, gemeldet. KANUGANTI et al. (2002) berichten mit 7,1% von noch deutlich niedrigeren Nachweisraten für *L. monocytogenes* aus Schweinetonsillen. Die Ursache dafür ist wahrscheinlich darin zu suchen, dass in dieser Studie nur eine Voranreicherung in gepuffertem Peptonwasser erfolgte und anschließend der Nachweis auf Palcam-Agarplatten geführt wurde. Eine Ausnahme stellt hier die Untersuchung von BUNCIC (1991) aus Jugoslawien dar. Er eruierte eine Nachweisrate für *L. monocytogenes* aus Schweinetonsillen von 45%. Dieser im Vergleich sehr hohe Wert lässt sich nicht allein mit der Nachweismethodik erklären, sondern begründet sich mit der Art und Weise der Nutztierhaltung bzw. Fütterung der Tiere. Die Schweine wurden nämlich im Gegensatz zu anderen europäischen Staaten inklusive Deutschland mit Silage gefüttert, die bekanntlich nicht selten *L. monocytogenes* enthält. Schon geringe Mengen von *L. monocytogenes* im Futter führen offensichtlich dazu, dass sich der Erreger im lymphatischen

Gewebe des Oropharyngealtrakts festsetzen kann. Die im Vergleich mit KANUGANTI et al. (2002) doch relativ hohe Nachweisrate von 32% positiv für *L. monocytogenes* getesteten Tonsillenproben hängt womöglich damit zusammen, dass anstatt des gepufferten Peptonwassers die speziell für *Listeria* spp. bestimmte Selektivanreicherung nach Fraser angewandt wurde. FRIES et al. (2002) sowie AUTIO et al. (2004) haben ebenfalls eine spezielle Selektivanreicherung für Listerien verwendet. Das dürfte der Grund dafür sein, weshalb mit 26,7% bzw. 22% ähnlich hohe Nachweisraten für *L. monocytogenes* wie in der vorliegenden Studie möglich waren.

Der Nachweis von *Campylobacter* spp. gelang nur sehr selten. So konnte *C. coli* nur aus zwei (4%) Tonsillenproben isoliert werden. Der Nachweis für *C. jejuni* aus Schweinetonsillen verlief immer negativ (Anhang **Tabelle 24**). Damit lagen die Nachweisraten für *Campylobacter* spp. deutlich unter den in der Literatur angegebenen Werten. FRIES et al. (2002) konnten im Rahmen einer Studie in Norddeutschland in 46,6% von Tonsillensammelproben *Campylobacter* spp. nachweisen. Die Untersuchung wurde anhand der Methode nach ISO/DIS 10272 durchgeführt. Diese deutlich höhere Nachweisrate beruht auf der Untersuchung von Tonsillenpoolproben. NESBAKKEN et al. (2003) haben in Norwegen aus 66,7% der untersuchten Schweinetonsillen *Campylobacter* spp. isoliert. Die hohe Nachweisrate von NESBAKKEN et al. (2003) ist damit zu erklären, dass der Campylobacter-Nachweis mittels PCR nach Preston-Selektivanreicherung geführt wurde. In beiden Studien haben *C. coli* in der Nachweishäufigkeit überwogen.

Die mit 4% äußerst geringe Nachweisrate von *C. coli* im Vergleich zu den in der Literatur angegebenen deutlich höheren Nachweisraten von *Campylobacter* spp. bzw. *C. coli* kann eventuell damit begründet werden, dass mit der Preston-Selektivanreicherung und dem CCD-Selektivagar jeweils nur ein flüssiges bzw. festes Nährmedium Anwendung gefunden hat. Ein weiterer Grund für die sehr geringe Isolationsrate könnte auch sein, dass *Campylobacter* spp. in nur geringer Zahl in den Schweinetonsillen vorhanden waren und so die geringe Isolationsrate nicht unbedingt allein mit der Nachweismethode zu erklären ist.

Die Untersuchung auf *Salmonella* spp. erbrachte bei allen 50 Schweinetonsillen ein negatives Ergebnis. GREIL (2001) hat ebenfalls bei der Untersuchung von Tonsillen, die von Schlachtschweinen aus Südbayern stammten, keine *Salmonella* spp. nachweisen können und bekräftigt somit das negative Nachweisergebnis für Salmonellen in dieser Studie. In der Literatur sind aber durchaus Nachweisraten zwischen 14,7% (BONARDI et al. 2003) und 19,7% (SWANENBURG et al. 2001) in Schweinetonsillen zu finden. Eine Studie aus Deutschland berichtet von 17,1% der Tonsillen, die *Salmonella* spp. enthielten (FRIES et al. 2002). BONARDI et al. (2003) verwendeten beispielsweise neben der Rappaport-Vassiliadis-Bouillon noch das Selenit-Cystin-Medium als zusätzliche Selektivanreicherung sowie im Anschluss daran das BPLS-Medium zum Nachweis von Salmonellen. Ebenso verhält es sich bei der Studie von SWANENBURG et al. (2001), in der ebenfalls auf die Rappaport-Vassiliadis-Selektivanreicherung und das BPLS-Medium zurückgegriffen wurde. Dass in vorliegender Studie keine Salmonellen aus Tonsillen nachzuweisen waren, hat womöglich seine Ursache darin, dass mit der Rappaport-Vassiliadis-Bouillon nur eine Selektivanreicherung und dem XLD-Nährmedium ebenfalls nur ein Selektivagar zum Nachweis herangezogen worden sind. Schließlich muss noch erwähnt werden, dass die seit einigen Jahren europaweit durchgeführten Salmonellen-Monitoring-Programme bzw. Salmonellen-Sanierungskonzepte eventuell eine Ursache dafür sein können, dass die Salmonellenprävalenz in den Betrieben stetig abnimmt.

Im Rahmen der Schlachtung bestehen zahlreiche Kontaminationsmöglichkeiten sowohl für die Schlachttierkörper selbst als auch für das Geschlinge. Dies zeigt die Studie insbesondere bei Betrachtung der Untersuchungsergebnisse der Schweinetonsillen. Schon die Höhe der ermittelten aeroben Gesamtkeimzahl sowie der *E. coli*-Zahl in den Schweinetonsillen lässt vermuten, dass die bakterielle Belastung der Tonsillen mit pathogenen Bakterien nicht unerheblich ist. So konnte aus 38 (72%) von 50 Tonsillen mindestens eine Art humanpathogener Bakterien isoliert werden. Interessant ist, dass insbesondere wiederum die Tonsillen und nicht der Kot eine Quelle für *Y. enterocolitica* 4/O:3 darstellen. Nach *Y. enterocolitica* 4/O:3 konnte vor allem noch *L. monocytogenes* aus den Tonsillen isoliert werden.

Campylobacter spp. spielten bei der Untersuchung hinsichtlich der Kontamination der Tonsillen keine bedeutende Rolle. Die hohen Nachweisraten von *Y. enterocolitica* 4/O:3 und *L. monocytogenes* zeigen, dass die Tonsillen durchaus für Kontaminationen des Geschlinges, Tierkörpers und Kopffleisches sowie der Umgebung verantwortlich sein können. In einigen Untersuchungen konnte bereits aufgezeigt werden, dass es beispielsweise, ausgehend von den Tonsillen, zu einer Verbreitung von pathogenen Bakterien wie *Y. enterocolitica* 4/O:3 aber auch *L. monocytogenes* auf oben angesprochene Bereiche kommen kann (FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 2000, BUCHER 2001, AUTIO et al. 2004). Denn die Tonsillen repräsentieren eine erste Barriere beim Eintritt pathogener Mikroorganismen in einen Organismus. Ihnen kommt somit eine Art Filterfunktion zu, um den Eintritt von Krankheitserregern zu verhindern und Infektionskrankheiten abzuwenden. Die Keimbelastung betroffener Tonsillen stellt dann wiederum ein Kontaminationsrisiko während des Schlachtprozesses dar, denn insbesondere beim Herauslösen der Zunge werden die Tonsillen regelmäßig angeschnitten. Dabei kommt es zu Kontaminationen der Messer und/oder der Hände, und somit ist eine Weiterverbreitung der pathogenen Bakterien möglich. Es zeigt sich, dass beispielsweise ein unregelmäßiger Messerwechsel bzw. ein unzureichendes Desinfektionsregime von Messern, Händen und Schutzkleidung zu einer Verteilung von pathogenen Bakterien aus den Tonsillen auf andere Organe und den gesamten Schlachttierkörper führen kann. Weiterhin ist es möglich, dass die Tonsillen entgegen den Anweisungen der Fleischhygiene-Verordnung im Verlauf der Fleischuntersuchung unvollständig bzw. nicht entfernt werden. Die zurückbleibenden, möglicherweise infizierten bzw. kontaminierten Tonsillen oder Tonsillenreste können während des Handlings der Geschlinge zu einer Verteilung von pathogenen sowie apathogenen Bakterien führen. PETERSEN et al. (2002) berichtet, dass im Rahmen der Fleischuntersuchung bis zu 35% der Kontaminationen geschehen.

2. Prävalenzen von pathogenen Bakterien im untersuchten Schweinekot

Wie bei den Schweinetonsillen waren auch in den 50 untersuchten Schweinekotproben die Prävalenzen der pathogenen Bakterien unterschiedlich hoch ausgeprägt. Allerdings überwog hier der Nachweis von *Campylobacter* spp., gefolgt von *Y. enterocolitica* und *L. monocytogenes*. Aus Schweinekot konnten ebenso wie aus den Tonsillen keine *Salmonella* spp. isoliert werden.

Die Prävalenz von *Campylobacter* spp. im Schweinekot war wesentlich höher als in den Schweinetonsillen. Im Kot der 50 Schlachtschweine wurden *C. coli* und *C. jejuni* in unterschiedlicher Häufigkeit gefunden. Aus 23 (46%) der 50 Schweinekotproben konnte *C. coli* isoliert werden. Demgegenüber stehen lediglich drei (6%) für *C. jejuni* positiv getestete Kotproben (Anhang **Tabelle 24**). Die Nachweisraten lagen sowohl für *C. coli* als auch für *C. jejuni* demnach unter den in der Literatur angegebenen Werten. ROSEF et al. (1983) bzw. MAFU et al. (1989) konnten beispielsweise bei der Untersuchung von Schweinekot in 100% bzw. 99% der Proben *C. coli* nachweisen. In anderen weltweit durchgeführten Studien wurden in bis zu 79% der Proben *C. coli* isoliert (**Tabelle 2**). Ebenso sind in der Literatur für *C. jejuni* höhere Nachweisraten zu finden. So wird von bis zu 50% für *C. jejuni* positiv getesteten Schweinekotproben berichtet (**Tabelle 2**).

Die Isolierungsrate von *Y. enterocolitica* 4/O:3 ist mit 16% nicht außergewöhnlich hoch. In der Literatur wird sowohl von deutlich niedrigeren, jedoch selten auch von wesentlich höheren Nachweisraten gesprochen. Dabei zeigte eine Untersuchung von BOCKEMÜHL et al. (1979) eine Prävalenz für *Y. enterocolitica* 4:O/3 in Kotproben von 27,3%. In einer Studie von ANDERSEN (1988) lag die Prävalenz bei 24,7%. Die meisten Untersuchungen, die weltweit in einem Zeitraum zwischen 1975 und 2003 angefertigt wurden, weisen Nachweisraten auf, die sich im Minimum zwischen 0,2% und im Maximum 17% bewegten (**Tabelle 4**). Damit wird gezeigt, dass sich die in dieser Studie gefundene Prävalenz von 16% für *Y. enterocolitica* 4/O:3 durchaus im Rahmen der in der Literatur angegebenen Werte befindet.

Die Untersuchung des Schweinekots auf das Vorhandensein von Listerien erbrachte eine sehr niedrige Prävalenz von nur 4% für *L. monocytogenes*. Damit lag die Nachweisrate ähnlich niedrig, wie in der Literatur berichtet. Nur AMTSBERG (1979) und ADESIYUN und KRISHNAN (1995) konnten mit 13,4% bzw. 5% unwesentlich höhere Prävalenzen für *L. monocytogenes* in Schweinekot nachweisen (**Tabelle 3**).

Wie schon bei den Schweinetonsillen waren auch in den Kotproben keine *Salmonella* spp. nachzuweisen. GREIL (2001) berichtet in einer Studie von unter 1% positiv für *Salmonella* spp. getesteten Schweinekotproben aus Südbayern. Diese Untersuchung bestätigt somit die niedrige Nachweisrate für Salmonellen. Weitere in Deutschland durchgeführte Untersuchungen ergaben mit 1% bis 8,4% positiv für Salmonellen getestete Kotproben nur unwesentlich höhere Prävalenzen. International betrachtet, fällt vor allem die Studie von BONARDI et al. (2003) auf, in der von einer Prävalenz für *Salmonella* spp. von 36,7% gesprochen wird. Diverse andere Untersucher berichteten von Prävalenzen, die sich zwischen 1,2% und 25,6% bewegten (**Tabelle 5**).

Die Ursachen für die entweder höheren oder niedrigeren Nachweisraten von *Campylobacter* spp., *Y. enterocolitica*, *L. monocytogenes* und *Salmonella* spp. aus Schweinekot in dieser Studie im Vergleich mit den in der Literatur angegebenen Nachweishäufigkeiten sind vergleichbar mit den Ursachen, die bereits bei den Tonsillen erwähnt wurden. Hauptgründe dürften sein, dass in dieser Studie beim Nachweis der pathogenen Bakterien aus Schweinekot jeweils immer nur eine Selektivanreicherung und im Anschluss daran nur ein Selektivagar beimpft worden ist.

Somit zeigt sich, dass nicht nur von den Tonsillen ein Kontaminationsrisiko für den Schlachttierkörper ausgeht, sondern ebenso der Schweinekot, der im Verlauf des Schlachtvorgangs auf den Tierkörperhälften auf unterschiedlichste Art und Weise verteilt werden kann, eine Rolle dabei spielt. Insbesondere im Rahmen der Eviszeration mit der Entfernung des Darmkonvoluts, wobei dieses schnell beschädigt werden kann, besteht ein Risiko für Kreuzkontaminationen durch mit pathogenen Bakterien belastetes Kotmaterial.

So werden nicht nur auf den Tierkörper, sondern auch im weiteren Zerlegungsprozess bis hin zum fertigen Produkt auf diesem Wege Bakterien verschleppt. Im Verlauf der Eviszeration erfolgen nämlich 55-90% der Kontaminationen mit pathogenen Bakterien (BERENDS et al. 1997, PETERSEN et al. 2002). Wie schon in der Literatur mehrfach beschrieben, konnte auch in dieser Studie gezeigt werden, dass im Kot humanpathogene Bakterien, wie *C. coli*, *C. jejuni*, *L. monocytogenes* und *Y. enterocolitica* 4/O:3 in unterschiedlicher Häufigkeit vorhanden sind. Somit stellen die Kotkontaminationen der Schlachttierkörper durchaus eine Gefahr für die Gesundheit des Menschen dar.

3. Vorschläge zur Vermeidung der Kontaminationen und Lösungsmöglichkeiten

Auf Grund der nachweislich hohen aeroben Gesamtkeimzahl und hohen *E. coli*-Zahl sowie des häufigen Vorhandenseins von pathogenen Bakterien, wie *L. monocytogenes* und *Y. enterocolitica* 4/O:3 in den Schweinetonsillen, sollte überlegt werden, ob es nicht sinnvoll erscheint, in deutschen Schlachthöfen weitere Prophylaxemaßnahmen zur Vermeidung von Kontaminationen, die von Tonsillen ausgehen, zu ergreifen.

Die Anwendung der Zwei-Messer-Methode, bei der das Messer zwischen zwei Arbeitsschritten gegen ein im Heißwasserbad sterilisiertes Messer ausgewechselt wird, ist nur dann ein probates Mittel zur Vermeidung von Kontaminationen durch Tonsillen, wenn sie konsequent und regelmäßig durchgeführt werden kann. Durch ein schlechtes Zeitregime am Schlachtband kann es zur Vernachlässigung der Vorgaben kommen und so zur Kontamination von Schlachttierkörper, Geschlinge und Arbeitsmaterial führen. Der Grund dafür ist, dass ein genügend langes Verbleiben im Wasserbad nicht mit Sicherheit gewährleistet werden kann, um eventuell anhaftende pathogene Bakterien sicher abzutöten. Die letzte Novellierung der Fleischhygieneverordnung sieht vor, dass die Tonsillen mit einem separaten

Instrumentarium zu entfernen sind (FRIES et al. 2002). Allerdings darf bezweifelt werden, ob diese Methode in ausreichendem Umfang vermittelt werden kann, da schon mit der sogenannten Zwei-Messer-Methode nicht der gewünschte Erfolg bei der Verhinderung von Kreuzkontaminationen zu erzielen war.

Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen ist somit die korrekte Einhaltung von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen der Arbeitswerkzeuge und Gegenstände sowie der Hände der Schlachthofmitarbeiter und der Fleischkontrolleure nach jedem Schlachttierkörper unumgänglich. Obwohl in den Betrieben die Arbeitsanweisungen entsprechend lauten, ist häufig ein Defizit in der Umsetzung zu beobachten. Daher sollte darüber nachgedacht werden, als weiteren Sicherungsaspekt eine modifizierte Ausschlachttechnik zur Anwendung zu bringen, bei der Tonsillen und Zunge im Kopf verbleiben.

Der heutige Stand der Technik lässt durchaus eine andere Arbeitsmethode zu. Dabei werden der Kopf zusammen mit den Tonsillen und Zunge schon vor der Halbierung des Schlachttierkörpers in der Medianen in toto abgesetzt und die weitere Untersuchung, Bearbeitung und Verarbeitung des Kopfes einschließlich Tonsillen und Zunge in einem separaten Raum fortgeführt (BORCH et al. 1996, FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 2000, 2001). Auf diese Weise sind Kreuzkontamination zwischen Tonsillen und Geschlinge sowie dem Tierkörper auszuschließen.

Eine weitere Überlegung wäre, dass die Zunge vor ihrer Weiterverarbeitung einer Pasteurisierung unterzogen wird, um so den Gehalt von pathogenen Bakterien auf der Zungenoberfläche zu reduzieren. Auf eine ähnliche Weise könnte auch mit dem Kopffleisch verfahren werden. Dabei ist es nicht sinnvoll, den gesamten Kopf zu pasteurisieren, sondern vielmehr bietet es sich an, Kopffleisch nur für solche Produkte zu verwenden, die bei der Herstellung einer Hitzebehandlung unterzogen werden.

Neben den Tonsillen kann auch vom Kot ein Kontaminationsrisiko ausgehen. Vor allem beim Umschneiden des Rektums im Rahmen der Eviszeration der

Bauchorgane können Bakterien auf dem Tierkörper verteilt werden. Hierbei gibt es mehrere Möglichkeiten, die Verbreitung von Bakterien zu verringern bzw. ganz zu unterbinden. In einigen Schlachthöfen in den nordeuropäischen Ländern Dänemark, Norwegen und Schweden wird das Rektum vor der Eviszeration mit einem Plastikbeutel verschlossen. Durch diese einfache Methode konnte die Kontaminationsrate der Schlachttierkörper erheblich reduziert werden. Bei Anwendung eines sogenannten „Bung Cutters“ zusätzlich zum Plastikbeutel wurde die Kontaminationsrate nochmals um ein Vielfaches gesenkt. Eine weitere mechanische Variante zur Vermeidung der Verbreitung von Bakterien aus dem Rektum ist der Verschluss desselben mit einem gefrorenen Stab, der vor dem Herauslösen in den Anus eingeführt wird. Warum diese Verfahren, die die Kontaminationsraten der Schlachttierkörper mit pathogenen Bakterien nachweislich deutlich absenken können, in Deutschland nicht zur Anwendung kommen, bedarf der Diskussion.

Schließlich soll hier noch erwähnt werden, dass es durch die Einführung einer Dampfpasteurisation, durch das Absprühen bzw. das Waschen der Schlachttierkörper mit heißem Wasser oder auch durch die Sprühanwendung von organischen Säuren zu einer signifikanten Verringerung des Keimgehaltes kommen kann. Insbesondere wenn diese Maßnahmen nach der Halbierung der Schlachttierkörper in der Medianen vorgenommen werden, lassen sich Kreuzkontaminationen mit pathogenen Bakterien und Fäkalkeimen, die sowohl vom Kot, aber natürlich auch von den Tonsillen stammen können, vermeiden. Allerdings sind diese Verfahren nach geltendem Recht z. Zt. in Deutschland nicht bzw. noch nicht zulässig.

F ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel dieser Studie war es, den Grad der mikrobiellen Kontamination von Schweinetonsillen in Süddeutschland zu untersuchen. Dazu wurden aerobe Gesamtkeimzahl und *E. coli*-Zahl bestimmt. Außerdem sollte das Vorkommen folgender vier Zoonoseerreger des Menschen *C. coli*, *C. jejuni*, *L. monocytogenes, Y. enterocolitica* und *Salmonella* spp. in Tonsillen und Kot von Schweinen nachgewiesen werden.

Im Zeitraum von Januar 2004 bis März 2004 wurden am Städtischen Schlacht- und Viehhof München während der Schweineschlachtung insgesamt 50 Tonsillen- und Kotproben gesammelt. Die Probenentnahme erfolgte im Rahmen von fünf Besuchen im Abstand von jeweils 14 Tagen. Bei jedem Besuch wurden von 10 zufällig am Schlachtband ausgewählten Tieren zuerst die Tonsillen am Geschlinge und anschließend vom gleichen Tier der dazugehörige Kot dem Rektum entnommen.

Bei der Untersuchung der Tonsillen erfolgte zuerst die Bestimmung der aeroben Gesamtkeimzahl und der *E. coli*-Zahl nach § 35 Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz (LMBG). Dabei wurden im Mittel eine aerobe Gesamtkeimzahl von $1{,}3 \times 10^7$ Kolonien bildenden Einheiten pro Gramm (KbE/g) und eine *E. coli*-Zahl im Mittel von $3{,}7 \times 10^5$ KbE/g aus Tonsillenmaterial ermittelt. Diese nachgewiesenen Werte sind als hoch einzustufen.

Der Nachweis der pathogenen Bakterien aus Schweinetonsillen und Schweinekot wurde mittels Direktausstrich auf Selektivagarplatten, nach Kälteanreicherung in gepuffertem Peptonwasser bzw. Anreicherung in Selektivnährmedien mit jeweils anschließendem Ausstrich auf Selektivagarplatten durchgeführt. Zur Isolierung von *Campylobacter* spp. wurden die Preston-Selektivanreicherung und der CCD-Agar verwendet. *Listeria* spp. wurden mittels Fraser-Selektivanreicherung und Oxford-Agar-Platten nachgewiesen. Die Isolierung von *Y. enterocolitica* erfolgte durch Anreicherung in ITC-Bouillon und auf CIN-Agar; bei *Salmonella* spp. unter Verwendung des Rappaport-Vassiliadis-Mediums und Ausstrich auf XLD-Agar.

Die Nachweisrate für pathogene Bakterien war relativ hoch. Insgesamt konnte aus 31 (62%) der Tonsillenproben und aus acht (16%) der Kotproben *Y. enterocolitica* 4/O:3 isoliert werden. Von Campylobacter waren zwei Spezies, nämlich *C. coli* und *C. jejuni* zu isolieren. Dabei wiesen die Tonsillen in nur zwei (4%) Proben *C. coli* auf, im Gegensatz dazu konnte in 23 (46%) Schweinekotproben *C. coli* nachgewiesen werden. Der Nachweis von *C. jejuni* war aus Tonsillen nicht möglich, jedoch fiel er bei drei (6%) Kotproben positiv aus. *L. monocytogenes* ließ sich insgesamt aus 16 (32%) Tonsillenproben und aus zwei (4%) Kotproben isolieren. *Salmonella* spp. waren weder in den Schweinetonsillen noch in den entsprechenden Kotproben festzustellen.

Diese Untersuchung zeigt, dass die mikrobielle Kontamination der Schweinetonsillen stark ausgeprägt ist und die Tonsillen eine wichtige Quelle für *E. coli* darstellen. *Y. enterocolitica* 4/O:3 und *L. monocytogenes* sind regelmäßig aus Tonsillen zu isolieren, wohingegen *C. coli* insbesondere aus Kot nachzuweisen ist.

G SUMMARY

Study on the hygienic quality of pig tonsils with special emphasis on zoonotic bacteria

This work was conducted to study the degree of bacterial contamination of pig tonsils in Southern Germany. The number of indicator bacteria including mesophilic aerobic bacteria and *E. coli* were determined in tonsils of slaughter pigs. Furthermore, the most common human pathogenic bacteria occurring in pigs including *C*. *coli*, *C. jejuni*, *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* and *Salmonella* spp. were determined in both pig tonsils and faeces.

A total of 50 slaughter pigs were examined. On each sampling day tonsil and a faeces sample each were collected from 10 pigs. The samples were obtained from a slaughterhouse in Munich between January and March 2004. The indicator bacteria were determined using national reference methods of the Official Collection of Examination Methods according to §35 Law on Food Hygiene and Commodities. The pathogenic bacteria were detected using conventional culture methods including direct plating on selective agar plates, selective enrichment and cold enrichment. Selective enrichment in Preston, Fraser, ITC and Rappaport Vassiliadis Bouillons were used for campylobacter, listeria, yersinia and salmonella respectively. Cold enrichment in buffered peptone water was used for all pathogens. CCD, Oxford, CIN and XLD agar plates were used for isolation of campylobacter, listeria, yersinia and salmonella respectively.

The average numbers of mesophilic aerobic bacteria and *E. coli* in 50 tonsils of slaughter pigs were 1.3 x 10^7 CFU/g and 3.7 x 10^5 CFU/g, respectively. *Y. enterocolitica* 4/O:3 and *L. monocytogenes* were the most common pathogens in pig tonsils. *Y. enterocolitica* was found in 31 (62%) and *L. monocytogenes* in 16 (32%) tonsil samples. No salmonella and only 2 (4%) campylobacter-positive tonsil samples were detected. The most common pathogen in pig faeces was campylobacter. *C. coli* and *C. jejuni* were found in 23 (46%) and 3 (6%) samples, respectively. *Y. enterocolitica* 4/O:3 was isolated from 8 (16%) and *L. monocytogenes* from 2 (4%) faeces samples. No faeces samples were positive for salmonella.

The results of this study show that bacterial contamination of pig tonsils is in general high. The tonsils of slaughter pigs were shown to be an important source of *E. coli* in the slaughterhouse. *Y. enterocolitica* 4/O:3 and *L. monocytogenes* were demonstrated to be common pathogens in pig tonsils whereas in faeces *C. coli* was shown to be the most common in pathogen.

H ANHANG

1. Nährmedium zur Voranreicherung

1.1 Peptonwasser gepuffert nach ISO 6579 (MERCK 1.07228.0500)

Pepton aus Casein	10,0 g
Natriumchlorid	5,0 g
Kaliumdihydrogenphosphat	1,5 g
di-Natriumhydrogenphosphat-Dodecahydrat	9,0 g
Destilliertes Wasser	ad 1000 ml

- Mischen und zum Lösen erhitzen
- Abfüllen zu je 9 ml in Reagenzglasröhrchen und zu je 90 ml in kleine Erlenmeyerkolben und autoklavieren für 15 min bei +121°C
- pH: 7,0 ± 0,2 bei 25°C

2. Nährmedien zur Anreicherung, Isolierung und Identifizierung der zu untersuchenden pathogene Mikroorganismen

2.1 Flüssige Medien

***Campylobacter* spp.**

Preston-Selektiv-Anreicherung

1. Nährbouillon Nr. 2 (OXOID, CM 67)

Fleischextrakt „Lab-Lemco“	10,0 g
Pepton	10,0 g
Natriumchlorid	5,0 g
Destilliertes Wasser	ad 1000 ml

- Mischen und zum Lösen erhitzen
- Abfüllen zu je 9 ml in Reagenzglasröhrchen
- Autoklavieren für 15 min bei +121°C
- pH: 7,5 ± 0,2 bei 25°C

2. *Campylobacter*-Selektiv- Supplement (Preston) (OXOID SR 117)
   - Zugabe vor Beimpfung der Röhrchen

L. monocytogenes

Fraser-Selektiv-Anreicherung

1. Fraser-*Listeria*-Selektiv-Anreicherungsbouillon (Basis)
   (MERCK 1.10398.05000)

Proteose Pepton	5,0 g
Pepton aus Casein	5,0 g
Hefeextrakt	5,0 g
Fleischextrakt	5,0 g
Natriumchlorid	20,0 g
di-Natriumhydrogenphosphat	9,6 g
Kaliumhydrogenphosphat	1,35 g
Äsculin	1,0 g
Lithiumchlorid	3,0 g
Destilliertes Wasser	ad 1000 ml

   - Mischen und zum Lösen erhitzen
   - Abfüllen zu je 9 ml in Reagenzglasröhrchen
   - Autoklavieren für 15 min bei +121°C
   - pH: 7,2 ± 0,2 bei 25°C

2. Fraser-*Listeria*-Supplement (MERCK 1.10399.)
- Zugabe erst vor Beimpfung der Röhrchen
- durch vorsichtiges Umschwenken homogen in Bouillon verteilen

Y. enterocolitica

ITC-Selektiv-Anreicherung (MERCK 1.16723)

1. ITC-Bouillon (Basis) (Irgasan-Ticarcillin-Kaliumchlorat-Nährbouillon)

Peptone aus Casein	10,0 g
Hefeextrakt	1,0 g
Magnesiumchlorid (wasserfrei)(MERCK 105833)	28,1 g
Natriumchlorid	5,0 g
Malachitgrün	0,01 g
Destilliertes Wasser	ad 1000 ml

- Mischen und zum Lösen erhitzen
- Abfüllung von jeweils 9,6 ml in Reagenzglasröhrchen
- Autoklavieren für 15 min bei +121°C
- pH: 6,9 ± 0,2 bei 25°C

2. ITC-Selektiv-Supplement (MERCK 1.16725.0001)

Irgasan	0,5 mg
Ticarcillin	0,5 mg
Kaliumchlorat	500 mg

- Lyophilisat durch Zugabe von 18 ml sterilem demineralisierten Wasser
- und 2 ml Ethanol absolut lösen;
- Lösung ist nach kurzem, kräftigem Schütteln klar bis schwach opaleszent

Medien für die Fermentation von Kohlenhydraten

Basismedium

Peptonwasser gepuffert (MERCK 107228)	10,0 g
Natriumchlorid (NaCl) (MERCK 106404)	5,0 g
Phenolrot (SIGMA P-4133)	0,02 g
Destilliertes Wasser	ad 1000 ml

- Mischen der Komponenten, wenn nötig erhitzen
- Einstellung des pH-Wertes bei ca. +25°C auf 6,8
- Abfüllung von je 5 ml in Reagenzglasröhrchen
- Sterilisieren für 15 min bei +121°C

Kohlenhydrat-Lösung (Trehalose, Xylose, Salicin)

D(+)-Xylose (SIGMA X-3877-25G)
Salicin (SIGMA S-0625-25G)
D(+)-Trehalose (SIGMA T-5251)

- Zubereitung von Trehalose- und Xylose-Lösung je 10%ig (10 g Zucker/100 ml H_2O) und Salicin 5%ig (10g Zucker/200 ml H_2O)
- Sterilisation durch Filtration mit Sterilfilter unter der Lamina-Flow-Arbeitsbank

Gebrauchsfertige Lösung

- dem Basismedium werden 500 µl Xylose- oder Trehalose-Lösung bzw. 1 ml der Salicin-Lösung steril zu gegeben
- Röhrchen bei +30°C für 2-3 Tage lagern, um eine Kontamination des Mediums ausschließen zu können, die im positiven Fall durch eine Farbveränderung der Lösung erkennbar wäre

***Salmonella* spp.**

Salmonella Anreicherungsbouillon nach RAPPAPORT und VASSILIADIS

(MERCK 1.07700.0500)

Pepton aus Sojamehl	4,5 g
Magnesiumchlorid-Hexahydrat	28,6 g
Natriumchlorid	7,2 g
di-Kaliumhydrogenphosphat	0,18 g
Kaliumdihydrogenphosphat	1,26 g
Malachitgrün-Oxalat	0,036 g
Destilliertes Wasser	ad 1000 ml

- Mischen und zum Lösen erhitzen
- jeweils 9,0 ml in Reagenzglasröhrchen abfüllen
- Autoklavieren für 15 min bei +121°C
- pH: 5,2 ± 0,2 bei 25°C

2.2 Feste Medien

***Campylobacter* spp.**

CCDA-Selektivnährboden, blutfrei

1. Basismedium

   Campylobacter-Agar-Basis, blutfrei (OXOID CM 739)

Nährbouillon Nr. 2	25,0 g
Bakteriologische Kohle	4,0 g
Casein-Hydrolysat	3,0 g
Natriumdesoxycholat	1,0 g
Eisen(II)-sulfat	0,25 g
Natriumpyruvat	0,25 g
Agar	12,0 g
Destilliertes Wasser	ad 1000 ml

   - Mischen und zum Lösen erhitzen
   - autoklavieren für 15 min bei +121°C
   - pH: 7,4 ± 0,2 bei 25°C

2. Supplement

   CCDA-Selektiv-Supplement (OXOID SR 155), (1Röhrchen je 500 ml)

Cefoperazon	16 mg
Amphotericin	5 mg
Steriles destilliertes Wasser	2 ml

   - gelösten Inhalt eines Röhrchens CCDA-Selektiv-Supplement aseptisch zu 500 ml auf +50°C abgekühlte *Campylobacter*-Agar-Basis, blutfrei geben
   - gut mischen und jeweils ca. 12,5 ml in sterile Petrischalen abfüllen und erstarren lassen

L. monocytogenes

Oxford-*Listeria*-Selektivagar

1. Basismedium

   Oxford-*Listeria*-Selektivagar-Basis (MERCK 1.07004.0500)

Pepton	23,0 g
Stärke	1,0 g
Natriumchlorid	0,5 g
Agar-Agar	13,0 g
Aesculin	1,0 g
Ammoniumeisen(III)-citrat	0,5 g
Lithiumchlorid	15,0 g
Destilliertes Wasser	ad 1000 ml

   - Mischen und zum Lösen erhitzen
   - autoklavieren für 15 min bei +121°C
   - pH: 7,0 ± 0,2 bei 25°C

2. Supplement

   Oxford-*Listeria*-Selektiv-Supplement (MERCK 1.07006.0001)

Cycloheximid	200,0 mg
Colistinsulfat	10,0 mg
Acriflavin	2,5 mg
Cefotetan	1,0 mg
Fosfomycin	5,0 mg
Steriles Ethanol/Wasser-Gemisch (1:1)	5 ml

   - gelösten Inhalt eines Fläschchens Oxford-*Listeria*-Selektiv-Supplement aseptisch zu 500 ml auf +50°C abgekühlte Oxford-*Listeria*-Selektivagar-Basis geben
   - durch vorsichtiges Umschwenken das Selektivsupplement homogen in die Nährbodenlösung einmischen
   - jeweils ca. 12,5 ml in sterile Petrischalen abfüllen und erstarren lassen

Y. enterocolitica

***Yersinia* Selektivagar** nach Schiemann (Basis) (**CIN-Agar**)
(Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin-Agar)

1. Basismedium

Pepton aus Casein	10,0 g
Pepton aus Fleisch	10,0 g
Hefeextrakt	2,0 g
D(-)-Mannit	20,0 g
Natriumpyruvat	2,0 g
Natriumchlorid	1,0 g
Magnesiumchlorid	0,01 g
Gallesalzmischung	1,0 g
Neutralrot	0,03 g
Kristallviolett	0,001 g
Agar-Agar	12,5 g
Destilliertes Wasser	ad 1000 ml

- Mischen und zum Lösen erhitzen
- Autoklavieren für 15 min bei +121°C
- pH: 7,4 ± 0,2 bei 25°C

2. Supplement

Yersinia-Selektivsupplement (CIN) (MERCK 1.16466.0001)

Cefsulodin	7,5 mg
Irgasan	2,0 mg
Novobiocin	1,25 mg
Ethanol absolut (vergällt) (MERCK 100974)	1 ml
Destilliertes Wasser	1 ml

- Gelösten Inhalt eines Fläschchens *Yersinia*-Selektivsupplement aseptisch zu 500 ml auf +50 bis +45°C abgekühlte *Yersinia*-Selektivagar Basis geben

- durch vorsichtiges Umschwenken das Selektivsupplement homogen in die Nährbodenlösung einmischen
- jeweils ca. 20 ml in sterile Standard-Petrischalen abfüllen und erstarren lassen

UREA-Agar

1. Basismedium

Harnstoff-Pepton-Agar-Basis nach Christensen	
(OXOID CM 53)	2,4 g
Destilliertes Wasser	ad 95 ml

- Zum Lösen erhitzen
- Sterilisieren 15 min bei +121°C
- pH: 6,8 ± 0,2 bei 25°C

2. zugeführte Lösung

Harnstoff-Lösung 40% (OXOID SR 020U)	5 ml

- jeweils 10 ml in sterile Reagenzglasröhrchen abfüllen
- zum Trocknen schräg lagern

Aesculin Agar

Nutrient Agar Bacto® (DIFCO 213000)	40 g
Esculin (SIGMA E-8250)	1 g
Destilliertes Wasser	ad 1000 ml

- Mischen und erhitzen
- Autoklavieren 15 min bei +121°C
- Abfüllen von jeweils ca. 15 ml in sterile Petrischalen

Tween-Esterase-Agar

Nutrient Agar Bacto® (DIFCO 213000)	14,0 g
Destilliertes Wasser	ad 500 ml

- zum Lösen erhitzen

Tween 80 zur Synthese (MERCK 822187)	5 ml

- nach der Zugabe von Tween 80 nochmals für 5 min erhitzen
- Sterilisieren für 15 min bei +121°C

Pyrazinamidase Agar

CASO-Agar (MERCK 105458)	30,0 g
Pyrazinamid (SIGMA P-7136)	1,0 g
Tris-Hydrochlorid (SIGMA T-3253)	31,5 g
Destilliertes Wasser	ad 1000 ml

- Komponenten mit ca. 800 ml destilliertem Wasser vermischen
- Einstellung des pH-Wertes auf 6,0
- Ggf. Angleichung des pH-Wertes mit 1N NaOH
- mit destilliertem Wasser auf 1 Liter auffüllen
- in Reagenzglasröhrchen zu je 5 ml abfüllen
- bei +121°C für 15 min sterilisieren
- in schräger Position abkühlen lassen

Indikator

Ammoniumferrosulfat-Lösung $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2$	
(MERCK 103792)	1,0 g
Destilliertes Wasser	ad 100 ml

CRMOX-Agar (Kongorot-Magnesium-Oxalat-Medium)

CASO-Agar (MERCK 105458)	40,0 g
Natriumoxalat (SIGMA S-9265)	3,0 g
Magnesiumchlorid-Hexahydrat ($MgCl_2x6H_20$) (MERCK 105833)	4,0 g
D(+)-Glucose (MERCK 108337)	2,0 g
Kongorot (100%) (SIGMA C-6767)	50 mg
Destilliertes Wasser	ad 1000 ml

- zum Lösen erhitzen
- bei +121°C für 15 min autoklavieren
- jeweils ca. 15 ml in sterile Petrischalen abfüllen

***Salmonella* spp.**

XLD-Agar (Xylose-Lysin-Desoxycholat-Agar), (MERCK 1.05287.0500)

Hefeextrakt	3,0 g
Natriumchlorid	5,0 g
D(+)-Xylose	3,5 g
Lactose	7,5 g
L(+)-Lysin	5,0 g
Natriumdesoxycholat	2,5 g
Natriumthiosulfat	6,8 g
Ammoniumeisen(III)-citrat	0,8 g
Phenolrot	0,08 g
Agar-Agar	13,5 g
Destilliertes Wasser	ad 1000 ml

- schnell und vollständig lösen
- nicht autoklavieren!!!
- Platten gießen, ca. 15 ml in sterile Petrischalen abfüllen
- pH: 7,4 ± 0,2 bei 25°C

2.3 Weitere Nährmedien

TSA-Agar (Tryptic soy agar/CASO-Agar), (MERCK 105458)

Pepton aus Casein	15,0 g
Pepton aus Sojamehl	5,0 g
Natriumchlorid	5,0 g
Agar-Agar	15,0 g
Destilliertes Wasser	ad 1000 ml

- Mischen und zum Lösen erhitzen
- bei +121°C für 15 min autoklavieren
- Platten gießen, ca. 15 ml in sterile Petrischalen abfüllen
- pH: 7,3 ± 0,2 bei 25°C

Columbia-Agar mit Schafblut (OXOID PB5039A)

- komerzieller Nährboden

Plate-Count-Agar (MERCK 1.05463.0500)
(Caseinpepton-Glucose-Hefeextrakt-Agar)

Pepton aus Casein	5,0 g
Hefeextrakt	2,5 g
D(+)-Glucose	1,0 g
Agar-Agar	14,0 g
Destilliertes Wasser	ad 1000 ml

- Mischen zum Lösen erhitzen
- bei +121°C für 15 min autoklavieren
- Platten gießen, ca. 15 ml in sterile Petrischale abfüllen
- pH: 7,0 ± 0,2 bei 25°C

Fluorocult® ECD-Agar (*Escherichia-Coli*-Direkt-Agar),
(MERCK 1.04038.0500)

Pepton aus Casein	20,0 g
Lactose	5,0 g
Tryptophan	1,0 g
Natriumchlorid	5,0g
Gallensalze	1,5 g
di-Kaliumhydrogenphosphat	4,0 g
Kaliumhydrogenphosphat	1,5 g
4-Methylumbelliferyl-□-D-Glucuronid (MUG)	0,07 g
Agar-Agar	18,0 g
Destilliertes Wasser	ad 1000 ml

- Bestandteile zum Lösen erhitzen
- bei +121°C für 15 min autoklavieren
- Platten gießen und ca. 15 ml in sterile Petrischalen abfüllen
- pH: 7,0 ± 0,2 bei 25°C

2.4 Aufbewahrungsmedium

Mikrobank

Cryobank™ (MASTDIAGNOSTICA; Laboratoriums-Präparate GmbH; Reinfeld) zur Aufbewahrung von Bakterien

3. Testsysteme und Reagenzien

API Campy (REF 20 800)
Testsystem zur Identifizierung von *Campylobacter*
bioMérieux® sa, Marcy-l´Étoile, France

Das Testsystem beinhaltet folgende Reaktionen:

Urease, Reduktion von Nitraten, Esterase, Hippurat, Gamma-Glutamyl-Transferase, Reduktion von Triphenyl-Tetrazolium-Chlorid, Pyrrolidonyl-Arylamidase, L-Arginin-Arylamidase, L-Aspartat-Arylamidase, Alkalische Phosphate, Bildung von H_2S, Assimilation von Glukose, Assimilation von Natrium-Succinat, Wachstumshemmung durch Nalidixinsäure, Wachstumshemmung durch Natrium-Cefazolin, Assimilation von Natriumacetat, Assimilation von Propionsäure, Assimilation von Malat, Assimilation von Tri-Natriumcitrat, Erythromycinempfindlichkeit

Zusatzreaktionen:

NIT 1 Reagenz	70440 (bioMérieux)
NIT 2 Reagenz	70450 (bioMérieux)
NIN Reagenz	70490 (bioMérieux)
FB Reagenz	70562 (bioMérieux)

API Listeria (REF 10 300)

Testsystem zur Identifizierung von *Listeria*
bioMérieux® sa, Marcy-l´Étoile, France

Das Testsystem beinhaltet folgende Reaktionen

Differenzierung *L. innocua*/*L. monocytogenes*, Hydrolyse von Aesculin, □-Manosidase, Säurebildung durch D-Arabitol, Xylose, Rhamnose, Methyl-□D-Glukopyranosid, Ribose, Glukose-1-Phosphat, Tagatose

Zusatzreaktionen:

ZYM B Reagenz 70472 (bioMérieux)

API 20E (REF 20 100)

Testsystem zur Identifizierung von *Enterobacteriaceae*
bioMérieux® sa, Marcy-l´Étoile, France

Das Testsystem beinhaltet folgende Reaktionen:

□-Galaktosidase, Argininhydrolase, Lysindecarboxylase, Ornithindecarboxylase, Citratverwertung, H_2S-Bildung, Urease, Tryptophandesaminase, Indolproduktion, Acetoinproduktion, Gelatinase, Fermentation/Oxidation von: Glucose, Mannit, Inosit, Sorbit, Rhamnose, Saccharose, Melibiose, Amygdalin, Arabinose

Zusatzreaktionen:

TDA Reagenz	70400 (bioMérieux)
JAMES Reagenz	70540 (bioMérieux)
VP 1 Reagenz	70420 (bioMérieux)
VP 2 Reagenz	70430 (bioMérieux)
NIT 1 Reagenz	70440 (bioMérieux)
NIT 2 Reagenz	70450 (bioMérieux)

Paraffin dickflüssig (MERCK 107160)

OXOID Dryspot *Campylobacter*-Test (DR 150 M)

Latex-Agglutinationstest zur Identifizierung enteropathogener *Campylobacter* spp.
OXOID Limited, Basingstoke, Hampshire, England

KOH-Lösung

Potasiumhydroxid (KOH) (SIGMA P-1767)	2,5 g
Natriumchlorid (NaCl) (MERCK 106404)	8,5 g
Destilliertes Wasser	ad 1000 ml

H_2O_2-Lösung

Bactident ® Katalase (MERCK 111351)
Wasserstoffperoxid 3%

- Reagenz zum Nachweis der Katalase bei Mikroorganismen

Oxidase-Test

BD BBL™ Dry Slide™ REF 231746

- zur Bestimmung der Oxidasreaktion von Bakterien

***Salmonella*-Testserum**

Omnivalent ORMV vom Kaninchen (DADE BEHRING Marburg GmbH/Deutschland)

- für die Objektträgeragglutination

4. Geräte und Hilfsmittel

Aludeckel

- Aludeckel Ø 8 cm	MERCK
- Aludeckel Ø 10 cm	MERCK
- Aludeckel Ø 13 cm	MERCK

Aufbewahrungsgefäße

- Erlenmeyerkolben 100 ml	MERCK
- Erlenmeyerkolben 200 ml	MERCK
- Erlenmeyerkolben 500 ml	MERCK
- Erlenmeyerkolben 1000 ml	MERCK

Autoklav

- Tischautoklav Typ 3850EL	TUTTNAUER SYSTEC
- Hochdruckdampf-Sterilisator Typ 112	KSG STERILISATOREN GmbH

Brutschränke

- Typ B 6060	HERAEUS INSTRUMENTS
- Typ B 6200	HERAEUS INSTRUMENTS

- Typ B 6420 HERAEUS INSTRUMENTS

Dispensierhilfe

- Dispensette® 0-10ml BRAND

Filter

- Sterilfilter Einmal Filterhalter 0,2 µm SCHLEICHER & SCHUELL

Glaspipetten

- Silberbrand-Eterna, Klasse B, 5 ml BENDER & HOBEIN
- Silberbrand-Eterna, Klasse B, 10 ml BENDER & HOBEIN

Handschuhe

- Einmal-Handschuhe PE gehämmert MERCK

Kühlschränke

- Kühl-Gefrier-Kombination Typ „Premium“ LIEBHERR
- FKS 5000 Index 10C Typ 200071 LIEBHERR

Magnetrührer mit Heizplatte

- Typ RCT JANKE & KUNKEL IKA-LABORTECHNIK
- Typ RCH JANKE & KUNKEL IKA-LABORTECHNIK
- Magnetrührwerk MR 2002 HEIDOLPH
- Mikromagnetrührstäbchen WWR INTERNATIONAL

Messzylinder

- Messzylinder 20 ml BRAND
- Messzylinder 100 ml BRAND
- Messzylinder 500 ml BRAND
- Messzylinder 1000 ml BRAND

Mikrobank

- Microbank™Product Code PL 160 PRO-LAB DIAGNOSTICS

Mikrowelle

- Typ NN-K448 W — PANASONIC

Objektträger

- Objektträger einfach 76 x 26 mm — MENZEL-GLÄSER

Ösen

- Platin/Iridium-Ösen 90/10 — BENDER & HOBEIN

Petrischalen

- sterile Petrischalen Nr.100 — WALDECK

pH-Meter

- pH 535 Miltical mit Temperaturabgleich — WTW

Pipetten

- Reference® fix 1000 µl — EPPENDORF
- Referncee® variabel 10-100 µl — EPPENDORF
- Reference® variabel 100-1000 µl — EPPENDORF

Pipettierhilfe

- Pipetus®-akku — HIRSCHMANN

Pipettenspitzen

- Standartips 100 µl — EPPENDORF
- Standartips 1000 µl — EPPENDORF

Plastikbeutel

- sterile Kunststoffbeutel (Stomacher 400 Bags) — SEWARD

Reagenzgläser

- Reagenzgläser 160 x 16 mm — SCHOTT

Reagenzglas-Schüttelgerät

- Vibro-FixVF 2 JANKE & KUNKEL IKA-LABORTECHNIK

Sicherheitsbrenner

- Fireboy S 1000 TECNOMARA AG
- Gasi Fabrik-Nr.: 94113 SCHÜTT

Spritzen

- Injekt 10 ml Luer BRAUN

Sicherheitswerkbank

- Hera Safe HERAEUS

Waagen

- Laborwaage MC1 Typ LC 6200 D SARTORIUS
- Laborwaage Typ L 2200 P SARTORIUS
- Laborwaage BABA 200 SARTORIUS

Wattestopfen

- STERI-Wattestopfen Nr. 14 SCHUBERT

5. Übersichtstabellen zu den Untersuchungsergebnissen

Tabelle 23: Ergebnisübersicht der 50 am Schlachthof München untersuchten Schlachtschweine

Proben	Gesamtkeimzahl (KBE/g)	*E. coli* (KBE/g)	*Campylobacter* spp.	*Listeria* spp.	*Yersinia* spp.
Schwn. 01					
Tonsillen	$1,4 \times 10^7$	$3,8 \times 10^5$		*L. monocytogenes*	
Kot			*C. coli*		
Schwn. 02					
Tonsillen	$1,5 \times 10^7$	$3,6 \times 10^5$			*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot					*Y. enterocolitica* 4/O:3
Schwn. 03					
Tonsillen	$6,6 \times 10^6$	$1,4 \times 10^5$			
Kot					*Y. enterocolitica* 4/O:3
Schwn. 04					
Tonsillen	$4,8 \times 10^7$	$3,1 \times 10^6$		*L. monocytogenes*	*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot			*C. coli*		
Schwn. 05					
Tonsillen	$5,6 \times 10^6$	$2,0 \times 10^5$			
Kot			*C. fetus*		
Schwn. 06					
Tonsillen	$2,4 \times 10^7$	$1,3 \times 10^5$	*C. coli*		*Y. enterocolitica* 4/O:3
Schwn. 07					
Tonsillen	$2,5 \times 10^6$	$2,4 \times 10^4$			
Kot			*C. coli*		
Schwn. 08					
Tonsillen	$1,1 \times 10^7$	$2,2 \times 10^6$		*L. monocytogenes*	*Y. enterocolitica* 4/O:3
Schwn.09					
Tonsillen	$2,4 \times 10^7$	$8,5 \times 10^5$			*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot			*C. coli*		
Schwn. 10					
Tonsillen	$2,3 \times 10^7$	$4,2 \times 10^5$			
Kot			*C. coli*		
Schwn. 11					
Tonsillen	$6,5 \times 10^6$	$1,9 \times 10^5$			*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot			*C. coli*		
Schwn. 12					
Tonsillen	$6,9 \times 10^6$	$2,0 \times 10^5$			*Y. enterocolitica* 4/O:3

Fortsetzung Tabelle 23:

Proben	Gesamtkeimzahl (KBE/g)	*E. coli* (KBE/g)	*Campylobacter* spp.	*Listeria* spp.	*Yersinia* spp.
Schwn. 13					
Tonsillen	$2,0 \times 10^7$	$9,5 \times 10^4$			*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot					*Y. enterocolitica* 4/O:3
Schwn. 14					
Tonsillen	$2,0 \times 10^7$	$6,4 \times 10^5$			
Kot			*C. coli*		
Schwn. 15					
Tonsillen	$2,0 \times 10^7$	$1,9 \times 10^5$			*Y. enterocolitica* 4/O:3
Schwn. 16					
Tonsillen	$2,1 \times 10^7$	$1,8 \times 10^5$			*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot					*Y. enterocolitica* 4/O:3
Schwn. 17					
Tonsillen	$1,8 \times 10^7$	$7,5 \times 10^5$			
Kot					*Y. enterocolitica* 4/O:3
Schwn. 18					
Tonsillen	$7,5 \times 10^6$	$2,9 \times 10^5$	*C. fetus*		*Y. enterocolitica* 4/O:3
Schwn. 19					
Tonsillen	$1,1 \times 10^7$	$1,5 \times 10^5$		*L. monocytogenes*	*Y. enterocolitica* 4/O:3
Schwn. 20					
Tonsillen	$1,9 \times 10^7$	$3,8 \times 10^4$		*L. monocytogenes*	*Y. enterocolitica* 4/O:3
Schwn. 21					
Tonsillen	$9,6 \times 10^6$	$8,1 \times 10^4$			*Y. enterocolitica* 4/O:3
Schwn. 22					
Tonsillen	$1,9 \times 10^7$	$7,1 \times 10^5$			*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot			*C. fetus*		
Schwn. 23					
Tonsillen	$1,3 \times 10^7$	$8,2 \times 10^5$		*L. monocytogenes*	
Schwn. 24					
Tonsillen	$5,7 \times 10^6$	$1,3 \times 10^5$		*L. monocytogenes*	
Schwn. 25					
Tonsillen	$3,0 \times 10^7$	$3,4 \times 10^6$			
Kot			*C. jejuni*	*L. innocua*	
Schwn. 26					
Tonsillen	$7,3 \times 10^6$	$8,6 \times 10^5$		*L. innocua*	
				L. monocytogenes	
Kot				*L. innocua*	

Fortsetzung Tabelle 23:

Proben	Gesamtkeimzahl (KBE/g)	*E. coli* (KBE/g)	*Campylobacter* spp.	*Listeria* spp.	*Yersinia* spp.
Schwn. 27					
Tonsillen	$2,4 \times 10^7$	$2,9 \times 10^5$			*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot			*C. coli*		
Schwn. 28					
Tonsillen	$6,0 \times 10^6$	$2,6 \times 10^5$			*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot			*C. coli*		
Schwn. 29					
Tonsillen	$4,7 \times 10^7$	$4,8 \times 10^4$			*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot			*C. coli*		*Y. enterocolitica* 4/O:3
Schwn. 30					
Tonsillen	$7,8 \times 10^6$	$3,0 \times 10^4$			
Kot			*C. lari*		
Schwn. 31					
Tonsillen	$7,3 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$		*L. monocytogenes*	
Kot			*C. coli*		
Schwn. 32					
Tonsillen	$2,4 \times 10^7$	$4,9 \times 10^5$		*L. monocytogenes*	*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot			*C. jejuni*		
Schwn. 33					
Tonsillen	$4,0 \times 10^6$	$1,9 \times 10^6$		*L. monocytogenes*	*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot			*C. coli*		
Schwn. 34					
Tonsillen	$4,1 \times 10^6$	$2,1 \times 10^5$		*L. monocytogenes*	*Y. enterocolitica* 4/O:3
Schwn. 35					
Tonsillen	$2,0 \times 10^7$	$2,9 \times 10^5$		*L. monocytogenes*	
Kot			*C. jejuni*		
Schwn. 36					
Tonsillen	$4,3 \times 10^7$	$8,2 \times 10^5$			*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot			*C. coli*		*Y. enterocolitica* 4/O:3
Schwn. 37					
Tonsillen	$3,2 \times 10^7$	$3,3 \times 10^5$			*Y. enterocolitica* 4/O:3
Schwn. 38					
Tonsillen	$4,4 \times 10^6$	$9,9 \times 10^4$			*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot			*C. coli*		
Schwn. 39					
Tonsillen	$8,2 \times 10^6$	$1,4 \times 10^6$			
Kot			*C. coli*		

Fortsetzung Tabelle 23:

Proben	Gesamtkeimzahl (KBE/g)	*E. coli* (KBE/g)	*Campylobacter* spp.	*Listeria* spp.	*Yersinia* spp.
Schwn. 40					
Tonsillen	2,2 x 10^7	4,2 x 10^5			
Schwn. 41					
Tonsillen	6,1 x 10^6	7,1 x 10^5			*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot			*C. coli*		*Y. enterocolitica* 4/O:3
Schwn. 42					
Tonsillen	4,5 x 10^6	1,9 x 10^5	*C. coli*		
Kot			*C. coli*		
Schwn. 43					
Tonsillen	6,0 x 10^6	3,0 x 10^5			
Kot			*C. coli*		
Schwn. 44					
Tonsillen	2,2 x 10^7	8,9 x 10^5			
Kot			*C. fetus*		
Schwn. 45					
Tonsillen	9,1 x 10^6	1,2 x 10^5		*L. monocytogenes*	*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot			*C. fetus*	*L. monocytogenes*	
			C. coli		
Schwn. 46					
Tonsillen	6,6 x 10^7	2,7 x 10^5		*L. monocytogenes*	*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot			*C. coli*	*L. innocua*	
Schwn. 47					
Tonsillen	1,1 x 10^7	4,9 x 10^5		*L. monocytogenes*	*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot			*C. coli*	*L. monocytogenes*	
Schwn. 48					
Tonsillen	3,5 x 10^7	4,7 x 10^5			*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot			*C. fetus*		
Schwn. 49					
Tonsillen	1,7 x 10^7	9,5 x 10^5			*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot			*C. coli*		
Schwn. 50					
Tonsillen	2,5 x 10^7	6,5 x 10^5			*Y. enterocolitica* 4/O:3
Kot			*C. coli*		

Tabelle 24: Gesamtübersicht der Ergebnisse

Proben	GKZ	*E. coli*	*Campylobacter*						*Listeria*				*Yersinia*			
	(KBE/g)	(KBE/g)	Isolat	KOH	CO	Latex	API	Ergebnis	Isolat	Camp	API	Ergebnis	Isolat	Urea	API	Bio-/Serotyp	Ergebnis
Schwein	1																
Tonsillen	1,4 x 10^7	3,8 x 10^5							MLT 1.1D	+							
									MLT 1.2D								
									MLT 1.1ON	+							
									MLT 1.2ON								
									MLT 1.1Fr	+	6510	Lm					
									MLT 1.2Fr	+							
Kot			MCK 1.1D	+	+	+	6401534	Cc									
			MCK 1.1ON	+	+	+		Cc									
			MCK 1.1Pr	+	+	+		Cc									
Schwein	2																
Tonsillen	1,5 x 10^7	3,6 x 10^5											MYT 2.1D	+	10155230	4/O:3	Ye
													MYT 2.2D	+			
													MYT 2.1ON	+			
													MYT 2.2ON	+			
													MYT 2.1ITC	+			
													MYT 2.2ITC				
Kot													MYK 2.1D	+	12155221	4/O:3	Ye
													MYK 2.2D	+			
			MCK 2.1ON	+	+	-							MYK 2.1ON	+			
													MYK 2.2ON				
			MCK 2.1Pr	+	+	+	6004775	???					MYK 2.1ITC				
													MYK 2.2ITC	+			
Schwein	3																
Tonsillen	6,6 x 10^6	1,4 x 10^5															
Kot			MCK 3.1D	+	+	+	2401535	???					MYK 3.1D	+	10155231	4/O:3	Ye
			MCK 3.1ON	+	+	-							MYK 3.2D	+			
			MCK 3.1Pr	+	+	-							MYK 3.1ON				
													MYK 3.2ON	+			
													MYK 3.1ITC	+			
													MYK 3.2ITC				

Fortsetzung Tabelle 24:

Schwein	**4**																								
Tonsillen	**4,8 x 10⁷**	**3,1 x 10⁶**	MCT 4.1D	+	+	+	2424735	**???**	MLT 4.1D	+			MYT 4.1D	+	10155231	4/O:3	**Ye**								
									MLT 4.2D				MYT 4.2D	+											
									MLT 4.1ON	+			MYT 4.1ON												
									MLT 4.2ON				MYT 4.2ON	+											
									MLT 4.1Fr	+	6510	**Lm**	MYT 4.1ITC	+											
									MLT 4.2Fr	+			MYT 4.2ITC												
Kot			MCK 4.1D	+	+	+	6421535	**Cc**																	
			MCK 4.1 Pr	+	+	+		**Cc**																	
Schwein	**5**																								
Tonsillen	**5,6 x 10⁶**	**2,0 x 10⁵**																							
Kot			MCK 5.1ON	+	+	+	2400144	**Cf**																	
			MCK 5.1Pr	+	+	+		**Cf**																	
Schwein	**6**																								
Tonsillen	**2,4 x 10⁷**	**1,3 x 10⁵**	MCT 6.1D	+	+	+	6401534	**Cc**					MYT 6.1ITC	+	10155231	4/O:3	**Ye**								
													MYT 6.2ITC	+											
Kot			MCK 6.1D	+	+	-																			
			MCK 6.1ON	+	+	+	6404575	**???**																	
			MCK 6.1Pr	+	+	-																			
Schwein	**7**																								
Tonsillen	**2,5 x 10⁶**	**2,4 x 10⁴**																							
Kot			MCK 7.1D	+	+	+	2401134	**Cc**																	
			MCK 7.1ON	+	+	+		**Cc**																	
			MCK 7.1Pr	+	+	+		**Cc**																	
Schwein	**8**																								
Tonsillen	**1,1 x 10⁷**	**2,2 x 10⁶**							MLT 8.1Fr	+	6510	**Lm**	MYT 8.1D	+	00155231	4/O:3	**Ye**								
									MLT 8.2Fr	+			MYT 8.2D	+											
													MYT 8.1ON	+											
													MYT 8.2ON												
													MYT 8.1ITC	+											
													MYT 8.2ITC												
Kot			MCK 8.1D	+	+	+	6401114	**A. cry.**																	
			MCK 8.1ON	+	+	-																			
			MCK 8.1Pr	+	+	-																			

Fortsetzung Tabelle 24:

| | | |

Fortsetzung Tabelle 24:

Schwein	**15**																														
Tonsillen	**2,0 x 10^7**	**1,9 x 10^5**	MCT 15.1D	+	+	-											MYT 15.1ITC	+	10145231	4/O:3	Ye									
																	MYT 15.2ITC	+													
Schwein	**16**																														
Tonsillen	**2,1 x 10^7**	**1,8 x 10^5**															MYT 16.1D	+	10155231	4/O:3	Ye									
																	MYT 16.2D	+													
Kot																	MYK 16.1ITC	+	10147230	4/O:3	Ye									
																	MYK 16.2ITC														
Schwein	**17**																														
Tonsillen	**1,8 x 10^7**	**7,5 x 10^5**																													
Kot			MCK 17.1D	+	+	-											MYK 17.1ITC	+													
																	MYK 17.2ITC	+	10145231	4/O:3	Ye									
Schwein	**18**																														
Tonsillen	**7,5 x 10^6**	**2,9 x 10^5**	MCT 18.1D	+	+	+	2000104	Cf									MYT 18.1D	+	10155231	4/O:3	Ye									
																	MYT 18.2D	+													
																	MYT 18.1ITC	+													
																	MYT 18.2ITC														
Kot			MCK 18.1D	+	+	-																									
Schwein	**19**																														
Tonsillen	**1,1 x 10^7**	**1,5 x 10^5**															MYT 19.1D	+	10155221	4/O:3	Ye									
																	MYT 19.2D	+													
Kot			MCK 19.1D	+	+	-																									
			MCK 19.1Pr	+	+	-																									
Schwein	**20**																														
Tonsillen	**1,9 x 10^7**	**3,8 x 10^4**															MLT 20.1D														
																	MLT 20.2D	+	6510	Lm											
																	MLT 20.1ON	+													
																	MLT 20.2ON														
																	MLT 20.1Fr	+	6510	Lm											
																	MLT 20.2Fr														
Kot			MCK 20.1D	+	+	+	7425730	???																								
			MCK 20.1Pr	+	+	-																										

Fortsetzung Tabelle 24:

| | | |

Fortsetzung Tabelle 24:

| | | |

Fortsetzung Tabelle 24:

Schwein	**30**																																		
Tonsillen	**7,8 x 10⁶**	**3,0 x 10⁴**																																	
Kot				MCK 30.1D	+	+	+	2021004	**CI**																												
				MCK 30.1ON	+	+	+		**CI**																												
				MCK 30.1Pr	+	+	+		**CI**																												
Schwn. 31																																			
Tonsillen	**7,3 x 10⁶**	**1,5 x 10⁶**										MLT 31.1D	+	651 0	**Lm**																				
												MLT 31.2D																							
												MLT 31.1Fr	+	651 0	**Lm**																				
												MLT 31.2Fr																							
Kot				MCK 31.1D	+	+	+		**Cc**			MLT 32.1D	+	651 0	**Lm**	MYT 32.1D	+	00155220	4/O:3	**Ye**																
				MCK 31.1Pr	+	+	+	6401534	**Cc**			MLT 32.2D				MYT 32.2D	+																				
Schwein	**32**											MLT 32.1D	+	651 0	**Lm**	MYT 32.1ON	+																			
Tonsillen	**2,4 x 10⁷**	**4,9 x 10⁵**										MLT 32.2D				MYT 32.2ON	+																			
												MLT 32.1ON	+	651 0	**Lm**	MYT 32.1ITC	+																			
												MLT 32.2ON				MYT 32.2ITC	+																			
												MLT 32.1Fr	+	651 0	**Lm**																				
												MLT 32.2Fr																							
Kot				MCK 32.1D	+	+	+		**Cj**							MYT 33.1D	+	10155230	4/O:3	**Ye**																
				MCK 32.1Pr	+	+	+	6501555	**Cj**			MLT 33.1D	+			MYT 33.2D	+																				
Schwein	**33**											MLT 33.2D				MYT 33.1ON	+																			
Tonsillen	**4,0 x 10⁶**	**1,9 x 10⁶**										MLT 33.1ON	+	651 0	**Lm**	MYT 33.2ON	+																			
												MLT 33.2ON				MYT 33.1ITC	+																			
												MLT 33.1Fr	+	651 0	**Lm**	MYT 33.2ITC	+																			
												MLT 33.2Fr																							
Kot				MCK 33.2D	+	+	+	6421574	**Cc**																												
				MCK 33.1ON	+	+	+	6421574	**Cc**																												
				MCK 33.2ON	+	+	+		**Cc**																												
				MCK 33.1Pr	+	+	-																														

Fortsetzung Tabelle 24:

Schwein	**34**																									
Tonsillen	**4,1 x 10^6**	**2,1 x 10^5**									MLT 34.1D	+	6510	**Lm**	MYT 34.1D	+	10155230	4/O:3	**Ye**							
											MLT 34.2D				MYT 34.2D	+										
											MLT 34.1ON	+	6510	**Lm**	MYT 34.1ON	+										
											MLT 34.2ON				MYT 34.2ON	+										
											MLT 34.1Fr	+	6510	**Lm**	MYT 34.1ITC	+										
											MLT 34.2Fr				MYT 34.2ITC	+										
Kot				MCK 34.1D	+	+	2400534	**???**																			
Schwein	**35**																									
Tonsillen	**2,0 x 10^7**	**2,9 x 10^5**									MLT 35.1D	+	6510	**Lm**												
											MLT 35.2D															
											MLT 35.1Fr	+	6510	**Lm**												
											MLT 35.2Fr															
Kot				MCK 35.1D	+	+		**Cj**																			
				MCK 35.1ON	+	+	6501554	**Cj**																			
				MCK 35.1Pr	+	+		**Cj**																			
Schwein	**36**																									
Tonsillen	**4,3 x 10^7**	**8,2 x 10^5**													MYT 36.1D	+	10155220	4/O:3	**Ye**							
															MYT 36.2D	+										
															MYT 36.1ON	+										
															MYT 36.2ON	+										
															MYT 36.1ITC	+										
															MYT 36.2ITC	+										
Kot				MCK 36.1D	+	+	6021534	**Cc**							MYK 36.1D	+	10155220	4/O:3	**Ye**							
															MYK 36.2D	+										
				MCK 36.1Pr	+	+									MYK 36.1ITC	+										
															MYK 36.1ITC	+										
Schwein	**37**																									
Tonsillen	**3,2 x 10^7**	**3,3 x 10^5**													MYT 37.1ON	+										
															MYT 37.2ON											
															MYT 37.1ITC	+	10155220	4/O:3	**Ye**							
															MYT 37.2ITC	+										
Kot				MCK 37.1D	+	+																					
				MCK 37.1Pr	+	+	2001134	**A. cy.**																			

Fortsetzung Tabelle 24:

Schwein	**38**																							
Tonsillen	**4,4 x 10⁶**	**9,9 x 10⁴**														MYT 38.1ITC	+	10155220	4/O:3	**Ye**				
																MYT 38.2ITC	+							
Kot				MCK 38.2D	+	+			**Cc**															
				MCK 38.1ON	+	+	+		**Cc**															
				MCK 38.1Pr	+	+	+	6401534	**Cc**															
Schwein	**39**																							
Tonsillen	**8,2 x 10⁶**	**1,4 x 10⁶**																						
Kot				MCK 39.2D	+	+	+	2401134	**Cc**															
				MCK 39.1ON	+	+	+	2001134	**A. cry.**															
Schwein	**40**																							
Tonsillen	**2,2 x 10⁷**	**4,2 x 10⁵**																						
Kot				MCK 40.1D	+	+	-																	
				MCK 40.1ON	+	+	+	6004114	**A. cry.**															
				MCK 40.1Pr	+	+	-																	
Schwein	**41**																							
Tonsillen	**6,1 x 10⁶**	**7,1 x 10⁵**														MYT 41.1ITC	+	10155230	4/O:3	**Ye**				
																MYT 41.2ITC	+							
Kot				MCK 41.1D	+	+	+	6401534	**Cc**							MYK 41.1D	+	10155230	4/O:3	**Ye**				
																MYK 41.2D	+							
				MCK 41.1ON	+	+	+		**Cc**							MYK 41.1ON	+							
																MYK 41.2ON	+							
				MCK 41.1Pr	+	+	-									MYK 41.1ITC	+							
																MYK 41.2ITC	+							
Schwein	**42**																							
Tonsillen	**4,5 x 10⁶**	**1,9 x 10⁵**	MCT 42.1D	+	+	+	6421574	**Cc**																
Kot				MCK 42.1D	+	+	+	6401534	**Cc**																
				MCK 42.2D	+	+	+		**Cc**																
				MCK 42.1ON	+	+	+		**Cc**																
				MCK 42.1Pr	+	+	+		**Cc**																
Schwein	**43**																							
Tonsillen	**6,0 x 10⁶**	**3,0 x 10⁵**																						
Kot				MCK 43.1D	+	+	+	6421536	**Cc**															
				MCK 43.1ON	+	+	+		**Cc**															
				MCK 43.1Pr	+	+	+		**Cc**															

Fortsetzung Tabelle 24:

| | | |

Fortsetzung Tabelle 24:

Schwein	**47**																		
Tonsillen	**1,1 x 10⁷**	**4,9 x 10⁵**						MLT 47.1ON	+			MYT 47.1D	+	10155230	4/O:3	**Ye**			
								MLT 47.2ON				MYT 47.2D	+						
								MLT 47.1Fr	+	6510	**Lm**	MYT 47.1ON	+						
								MLT 47.2Fr				MYT 47.2ON	+						
												MYT 47.1ITC	+						
												MYT 47.2ITC	+						
Kot			MCK 47.1D	+	+	+	**Cc**												
			MCK 47.1ON	+	+	+	6421574	**Cc**											
			MCK 47.1Pr	+	+	+		**Cc**	MLK 47.1Fr	+	6510	**Lm**							
									MLK 47.2Fr										
Schwein	**48**																		
Tonsillen	**3,5 x 10⁷**	**4,7 x 10⁵**										MYT 48.1ITC	+	10155230	4/O:3	**Ye**			
												MYT 48.2ITC	+						
Kot			MCK 48.1D	+	+	+	**Cf**												
			MCK 48.1ON	+	+	+		**Cf**											
			MCK 48.1Pr	+	+	+	2420314	**Cf**											
Schwein	**49**																		
Tonsillen	**1,7 x 10⁷**	**9,5 x 10⁵**										MYT 49.1D	+	10155230	4/O:3	**Ye**			
												MYT 49.2D	+						
												MYT 49.1ON	+						
												MYT 49.2ON	+						
												MYT 49.1ITC	+						
												MYT 49.2ITC	+						
Kot			MCK 49.1ON	+	+	+	**Cc**												
			MCK 49.1Pr	+	+	+	6021524	**Cc**											
Schwein	**50**																		
Tonsillen	**2,5 x 10⁷**	**6,5 x 10⁵**										MYT 50.1ITC	+	10155230	4/O:3	**Ye**			
												MYT 50.2ITC	+						
Kot			MCK 50.1D	+	+	+	**Cc**												
			MCK 50.1ON	+	+	+		**Cc**											
			MCK 50.1Pr	+	+	+	2421534	**Cc**											

A. cry. = *A. cryaerophilus* Cc = *C. coli* Cj = *C. jejuni* Cl = *C. lari* Cf = *C. fetus*
Lm = *L. monocytogenes* Li = *L. innocua*
Ye = *Y. enterocolitica*

Tabelle 25: Übersicht der API-Ergebnisse zur Erregeridentifizierung von Campylobacter

Proben	Tonsillen	Kot	API	Ergebnis
Schwein 1-10		MCK 1.1D	6401534	*C. coli*
		MCK 4.1D	6421535	*C. coli*
		MCK 5.1ON	2400144	*C. fetus*
	MCT 6.1D		6401534	*C. coli*
		MCK 7.1D	2401134	*C. coli*
		MCK 9.1D	2421534	*C. coli*
		MCK 10.1D	6421534	*C. coli*
Schwein 11-20		MCK 11.1ON	6421574	*C. coli*
		MCK 11.1Pr	6421574	*C. coli*
		MCK 14.1Pr	6421536	*C. coli*
	MCT 18.1D		2000104	*C. fetus*
Schwein 21-30		MCK 22.1D	0000134	*C. fetus*
		MCK 25.1D	2501555	*C. jejuni*
		MCK 27.1Pr	6421525	*C. coli*
		MCK 28.1Pr	6421534	*C. coli*
		MCK 29.1ON	6021514	*C. coli*
		MCK 29.1Pr	6421534	*C. coli*
		MCK 30.1D	2021004	*C. lari*
Schwein 31-40		MCK 31.1Pr	6401534	*C. coli*
		MCK 32.1Pr	6501555	*C. jejuni*
		MCK 33.2D	6421574	*C. coli*
		MCK 33.1ON	6421574	*C. coli*
		MCK 35.1ÔN	6501554	*C. jejuni*
		MCK 36.1D	6021534	*C. coli*
		MCK 38.1Pr	6401534	*C. coli*
		MCK 39.2D	2401134	*C. coli*
Schwein 41-50		MCK 41.1D	6401534	*C. coli*
	MCT 42.1D		6421574	*C. coli*
		MCK 42. 1D	6401534	*C. coli*
		MCK 43.1D	6421536	*C. coli*
		MCK 44.1Pr	2400114	*C. fetus*
		MCK 45.1ON	2000754	*C. fetus*
		MCK 45.1Pr	6421574	*C. coli*
		MCK 46.1Pr	2421534	*C. coli*
		MCK 47.1ON	6421574	*C. coli*
		MCK 48.1Pr	2420314	*C. fetus*
		MCK 49.1Pr	6021524	*C. coli*
		MCK 50.1Pr	2421534	*C. coli*

Tabelle 26: Übersicht der API-Ergebnisse zur Erregeridentifizierung von Listerien

Proben	Tonsillen	Kot	API	Ergebnis
Schwein 1-10	MLT 1.1Fr		6510	*L. monocytogenes*
	MLT 4.1Fr		6510	*L. monocytogenes*
	MLT 8.1Fr		6510	*L. monocytogenes*
Schwein 11-20	MLT 19.1ON		6510	*L. monocytogenes*
	MLT 19.1Fr		6510	*L. monocytogenes*
	MLT 20.2D		6510	*L. monocytogenes*
	MLT 20.1Fr		6510	*L. monocytogenes*
Schwein 21-30	MLT 23.1Fr		6510	*L. monocytogenes*
	MLT 24.1Fr		6510	*L. monocytogenes*
		MLK 25.1Fr	7510	*L. innocua*
		MLK 25.2Fr	7510	*L. innocua*
	MLT 26.1D		7710	*L. innocua*
	MLT 26.1Fr		6510	*L. monocytogenes*
		MLK 26.1Fr	7510	*L. innocua*
		MLK 26.2Fr	7510	*L. innocua*
Schwein 31-40	MLT 31.1D		6510	*L. monocytogenes*
	MLT 31.1Fr		6510	*L. monocytogenes*
	MLT 32.1D		6510	*L. monocytogenes*
	MLT 32.1ON		6510	*L. monocytogenes*
	MLT 32.1Fr		6510	*L. monocytogenes*
	MLT 33.1ON		6510	*L. monocytogenes*
	MLT 33.1Fr		6510	*L. monocytogenes*
	MLT 34.1D		6510	*L. monocytogenes*
	MLT 34.1ON		6510	*L. monocytogenes*
	MLT 34.1Fr		6510	*L. monocytogenes*
	MLT 35.1D		6510	*L. monocytogenes*
	MLT 35.1Fr		6510	*L. monocytogenes*
Schwein 41-50	MLT 45.1ON		6510	*L. monocytogenes*
		MLK 45.1Fr	6510	*L. monocytogenes*
	MLT 46.1ON		6510	*L. monocytogenes*
		MLK 46.1Fr	7710	*L. innocua*
	MLT 47.1Fr		6510	*L. monocytogenes*
		MLK 47.1Fr	6510	*L. monocytogenes*

Tabelle 27: Übersicht der API-Ergebnisse zur Erregeridentifizierung von *Yersinia enterocolitica*

Proben	Tonsillen	Kot	API
Schwein 1-10	MYT 2.1D		10155230
		MYK 2.1D	12155221
		MYK 3.1D	10155231
	MYT 4.1D		10155231
	MYT 6.1ITC		10155231
	MYT 8.1D		00155231
	MYT 9.1ITC		10145230
Schwein 11-20	MYT 11.1D		10155231
	MYT 12.1D		10145230
	MYT 13.1D		12155231
		MYK 13.2ITC	10155230
	MYT 15.1ITC		10155231
	MYT 16.1D		10155231
		MYK 16.1ITC	10147730
		MYK 17.2ITC	10145231
	MYT 18.1D		10155231
	MYT 19.1D		10155221
	MYT 20.1D		10155221
Schwein 21-30	MYT 21.1D		10155220
	MYT 22.1D		10155220
	MYT 27.1D		10155220
	MYT 28.1D		10155220
	MYT 29.1ITC		10155221
		MYK 29.1ITC	10155231
		MYK 29.2ITC	10155231
Schwein 31-40	MYT 32.1D		00155220
	MYT 33.1D		10155230
	MYT 34.1D		10155230
	MYT 36.1D		10155220
		MYK 36.1D	10155220
	MYT 37.1ITC		10155220
	MYT 38.1ITC		10155220
Schwein 41-50	MYT 41.1ITC		10155230
		MYK 41.1D	10155230
	MYT 45.1ITC		10155230
	MYT 46.1D		10155230
	MYT 47.1D		10155230
	MYT 48.1ITC		10155230
	MYT 49.1D		10155230
	MYT 50.1ITC		10155230

I LITERATURVERZEICHNIS

ADESIYUN AA., KRISHNAN C. (1995)
Occurence of Yersinia enterocolitica O:3, Listeria monocytogenes O:4 and thermophilic Campylobacter spp. in slaughter pigs and carcasses in Trinidad
Food Microbiol. 1995; 12: 99-107

ALDOVA E., SVANDOVA E., VOTYPKA J., SOUREK J. (1990)
Coparative study of culture methods to detect Yersinia enterocolitica serogroup O:3 on swine tongues
Zbl. Bakt. 1990; 272: 306-312

ALEKSIC S., BOCKEMÜHL J. (1990)
Mikrobiologie und Epidemiologie der Yersiniosen
Immun. Infekt. 1990; 18: 178-185

ALEKSIC S., BOCKEMÜHL J. (1996)
Untersuchungen von Yersinia-Stämmen aus Deutschland, 1993-1994
Bundesgesundheitsblatt 3/96: 94-97

ALLERBERGER F. (2003)
Listeria: growth, phenotypic differentiation and molecular microbiology
FEMS Immunol. Med. Microbiol. 35; 2003: 183-189

AMTSBERG G. (1979)
Epidemiologie und Diagnostik der Listeriose: Teil 1
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 1979; 86: 253-257

AMTSBERG G. (1979)
Epidemiologie und Diagnostik der Listeriose: Teil 2
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 1979; 86: 293-332

ANDERSEN J.K. (1988)
Contamination of freshly slaughtered pig carcasses with human pathogenic Yersinia enterocolitica
Int. J. Food Microbiol. 1988; 7: 193-202

ANDERSEN J.K., SÖRENSEN R., GLENSBJERG M. (1991)
Aspects of the epidemiology of Yersinia enterocolitica: a review
Int. J. Food Microbiol. 1991; 13: 231-238

ASPLUND K., TUOVINEN V., VEIJALAINEN P., HIRN J. (1990)
The prevalence of Yersinia enterocolitica O:3 in Finnish pigs and pork
Acta Vet. Scand. 1990; 31: 39-43

ATANASSOVA V., ALTEMEIER J., KRUSE K., DOLZINSKI B. (1998)
Nachweis von Salmonella und Campylobacter aus frischem Geflügelfleisch – vergleichende Untersuchung über kulturelle Methoden
Fleischwirtschaft 1998; 78: 364-366

AUTIO T., MARKKULA A., HELLSTRÖM S., NISKANEN T., LUNDEN J., KORKEALA H. (2004)
Prevalence and Genetic Diversity of Listeria monocytogenes in the Tonsils of Pigs
J. Food Prot. 2004; 67: 805-808

AUTIO T., SÄTERI T., FREDRIKSSON-AHOMAA M., RAHKIO M., LUNDEN J., KORKEALA H. (2000)
Listeria monocytogenes Contamination Pattern in Pig Slaughterhouses
J. Food Prot. 2000; 63: 1438-1442

BAGGESEN D.L., WEGENER HC., BAGER F., STEGE H., CHRISTENSEN J. (1996)
Herd prevalence of Salmonella Enterica infections in danish slaughter pigs determined by microbiological testing
Prev. Vet. Med. 1996; 26: 201-213

BAUMGART J., BECKER H, BOCKEMÜHL J., EHRMANN M., LEHMACHER A., MÄRTLBAUER E., VOGEL R.F. (1999)
Nachweis von Mikroorganismen
In: BAUMGART J.
Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln
4., aktualisierte und erweiterte Auflage
Behr Verlag, Hamburg

BELOEIL P.A., FRAYALO P., CHAUVIN C., FABLET C., SALVAT G. MADEC F. (2003)
Listeria spp. Contamination in Piggeries: Comparison of three Sites of Environmental Swabbing for Detection and Risk Factor Hypothesis
J Vet Med 2003; B50: 155-160

BERCOVIER H., BRAULT J., BAARÉ N., TREIGNIER M., ALONSO J.M., MOLLARET H.H. (1978)
Biochemical, serological andphage typing characteristics of 459 Yersinia strains isolated from a terrestrial ecosystem
Curr. Microbiol. 1978; 1: 353-357

BERENDS B.R., VAN KNAPEN F., SNIJDERS J.M.A., MOSSEL D.A. (1997)
Identification and quantification of risk factors regarding Salmonella spp. on pork carcasses
Int. J. Food. Microbiol. 1997; 36: 199-206

BILLE J., CATIMEL B., BANNERMANN E., JACQUET C., YERSIN M.-N., CANIAUX I., MONGET D., ROCOURT J. (1992)
API Listeria, a new and promising one-day System to identify Listeria Isolates
Appl. Envir. Microbiol. 1992; 58: 1857-1860

BISPING W., AMTSBER G. (1988)
Farbatlas zur Diagnose bakterieller Infektionserreger der Tiere
Verlag Paul Parey; Berlin und Hamburg 1988

BLACK R.E., LEVINE M.M., CLEMENTS M.L., HUGHES T.P., BLASER M.J. (1988)
Experimental Campylobacter jejuni infections in humans
J. Infect. Dis. 1988; 157: 472-479

BLASER M.J., HARDESTY H.L., POWERS B., WANG W.-L.L. (1980)
Survival of Campylobacter fetus subsp. jejuni in Biological milieus
J. Clin. Microbiol. 1980; 11: 309-313

BOCKEMÜHL J., SCHMITT H., ROTH J., SAUPE E. (1979)
Die jahreszeitliche Häufigkeit der Ausscheidung von Yersinia enterocolitica im Kot gesunder Schlachtschweine
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 1979; 244: 494-505

BOLTON F.J., HUTCHINSON D.N., COATES D. (1984)
Blood-Free Selective Medium for Isolation of Campylobacter jejuni from Faeces
J. Clin. Microbiol. 1984; 19: 169-171

BOLTON F.J., HUTCHINSON D.N., PARKER G. (1988)
Reassessment of selective agars and filtration techniques for isolation of Campylobacter species from faeces
Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1988; 7:155-160

BOLTON F.J., SAILS A.D., FOX A.J., WAREING D.R., GREENWAY D.C. (2002)
Detection of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in foods by enrichment culture and polymerase chain reaction enzyme-linked immunosorbent assay
J. Food Prot. 2002; 65: 760-767

BONARDI S., BRINDANI F., PIZZIN G., LUCIDI L., D'INCAU M., LIEBANA E., MORABITO S. (2003)
Detection of Salmonella spp., Yersinia enterocolitica and verocytotoxin-producing Escherichia coli O 157 in pigs at slaughter in Italy
Int. J. Food Microbiol. 2003; 85: 101-110

BONARDI S., PIZZIN G., LUCIDI L., BRINDANI F., PATERLINI F., TAGLIABU E. (2003)
Isolation of Salmonella enterica from Slaughtered Pigs
Vet. Res. Commun. 27 Suppl. 1; 2003, 281-283

BORCH E., NESBAKKEN T., CHRISTENSEN H. (1996)
Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria
Int. J. Food Microbiol. 1996; 30: 9-25

BOTH G., MÖLLER K., BUSSE F.W., NITZSCHKE E., JONAS D. (1982)
Untersuchungen über das Vorkommen von Salmonellen in klinisch unverdächtigen Schweinezuchtbeständen
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 1982; 89: 3-6

BOTTELDOORN N., HEYNDRICKX M., RIJPENS N., GRIJSPEERDT K., HERMAN L. (2003)
Salmonella on pig carcasses: positive pigs and cross contamination in the slaughterhouse
J. Appl. Microbiol. 2003; 95: 891-903

BOTTONE E.J. (1997)
Yersinia enterocolitica: The Charisma Continues
Clin. Microbiol. Rev. 1997; 10: 257-276

BROMAN T., PALMGREN H., BERGSTRÖM S., SELLIN M., WALDENSTRÖM J., DANIELSSON M.L., OLSEN B. (2002)
Campylobacter jejuni in Black-Headed Gulls (Larus ridibundus): Prevalence, Genotypes, and Influence on C. jejuni Epidemiology
J. Clin. Microbiol. 2002; 40: 4594-4602

BRYANT J., BRERETON D.A., GILL C.O. (2003)
Implementation of a validated HACCP system for the control of microbiological contamination of pig carcasses at a small abattoir
Can Vet J 2003; 44: 51-55

BUCHER M. (2001)
Ein Beitrag zur Epidemiologie von Yersinia enterocolitica in Schlachtnebenprodukten vom Schwein unter besonderer Berücksichtigung methodischer Aspekte
Diss. med. vet., LMU München

BÜLTE M. (2004a)
Enterovirulente Escherichia coli (EVEC)
In: SINELL H.J. (Hrsg.)
Einführung in die Lebensmittelhygiene
4., neu bearbeitete Auflage
Parey Verlag, Stuttgart 2004

BÜLTE M. (2004b)
Campylobacter spp.
In: SINELL H.J. (Hrsg.)
Einführung in die Lebensmittelhygiene
4., neu bearbeitete Auflage
Parey Verlag, Stuttgart 2004

BÜLTE M. (2004c)
Listeria monocytogenes
In: SINELL H.J. (Hrsg.)
Einführung in die Lebensmittelhygiene
4., neu bearbeitete Auflage
Parey Verlag, Stuttgart 2004

BÜLTE M., KLEIN G., REUTER G. (1991)
Schweineschlachtung
Fleischwirtsch. 1991; 71: 1411-1416

BUNCIC S. (1991)
The incidence of Listeria monocytogenes in slaughtered animals, in meat, and in meat products in Yugoslavia
Int. J. Food Microbiol. 1991; 12: 173-180

CHRISTENSEN S.G. (1987)
The Yersinia enterocolitica Situation in Denmark
Contr. Microbiol. Immunol. 1987; 9: 93-97

CHRISTENSEN S.G. (1980)
Yersinia enterocolitica in Danish pigs
J. Appl. Bact. 1980; 48: 377-382

CHRISTENSEN H., LUTHJE H. (1994)
Reduced spread of pathogens as a result of changed pluck removal technique.
Int. Cong. Meat Sci. Technol., The Hague, Holland, Proc. S.III.06

CLOAK O.M., FRATAMICO P.M. (2002)
A Multiplex Polymerase Chain Reaction for the Differentiation of Campylobacter jejuni and Campylobaceter coli from a Swine Processing Facility and Characterization of Isolates by Pulsed-Field Gel Electrophoresis and Antibiotic Resistance Profiles
J. Food Prot. 2002; 65: 266-273

COVER T., ABER R. (1989)
Yersinia enterocolitica
N. Engl. J. Med. 1989; 321: 16-24

COWART R.E., FOSTER B.G. (1985)
Differential effects of iron on the growth of Listeria monocytogenes: minimum requirements and mechanism of acquisition
J. Infect. Dis. 1985; 151: 721-730

COWDEN J.M. (1993)
Campylobacter: Some Epidemiological Puzzles
Food Forum 1993; 2: 2-3

CURTIS G.D.W., MITCHELL R.G., KING A.F., GRIFFIN E.J. (1989)
A selective differential medium for the isolation of Listeria monocytogenes
Lett. Appl. Microbiol. 1989; 8: 95-98

DAVIES P., MORROW W.E.M., JONES F.T., DEEN J., FEDORKACRAY P.J., HARRIS I.T. (1997)
Prevalence of Salmonella in finishing swine raised in different production system in North-Carolina. USA.
Epidem. Infect. 1997; 119: 237-244

DAVIES R.H., DALZIEL R., GIBBENS J.C., WILESMITH J.W., RYAN J.M.B., EVANS S.J., BYRNE C., PAIBA G.A., PASCOE S.J.S., TEALE C.J. (2004)
National survey for Salmonella in pigs, cattle and sheep at slaughter in Great Britain (1999-2000)
J Appl. Microbiol. 2004; 96: 750-760

DE BOER E., NOUWS J.F. (1991)
Slaughter pigs and pork as a source of human pathogenic Yersinia enterocolitica
Int. J. Food Microbiol. 1991; 12: 375-378

DE BOER E., SELDAM W.M., OOSTEROM J. (1986)
Characterisation of Yersinia enterocolitica and related species isolated from foods and porcine tonsils in the Netherlands
Int. J. Food Microbiol. 1986; 3: 217-224

DE BOER E., SELDAM W.M. (1987)
Comparison of methods for the isolation of Yersinia enterocolitica from porcine tonsils and pork
Int. J. Food. Microbiol. 1987; 5: 95-101

DEDISTE A., VANDENBERG O., VLAES L., EBRAERT A., DOUAT N., BAHWERE P., BUTZLER J.P. (2003)
Evaluation of teh ProSpecT Microplate Assay for detection of Campylobacter: a routine laboratory perspective
Clin. Microbiol. Infect. 2003; 9: 1085-1090

DE GIUSTI M., DE VITO E., SERRA A., QUATTRUCCI B., BOCCIA A., PACIFICO L., RANUCCI A., RAVAGNAN G., CIESA C. (1995)
Occurence of pathogenic Yersinia enterocolitica in slaughtered pigs and pork products
Contr. Microbiol. Immun. 1995; 13: 126-129

DEVRIESE L.A., HOMMEZ J., HAESEBROUCK F. (1994)
Identification and composition of the streptococcal and enterococcal flora of tonsils, intestines and faeces of pigs
J. Appl. Bacteriol. 1994; 77: 31-36

DOGANAY M. (2003)
Listeriosis: Clinical presentation
FEMS Immunol. Med. Microbiol. 35; 2003: 173-175

DONNELLY C.W., BAIGENT G.J. (1986)
Method of flow cytometric detection of Listeria monocytogenes in milk
Appl. Environ. Microbiol. 1986; 52: 689-695

DORN CHR., SCHROETER A., HELMUTH R. (2003)
Salmonellenvorkommen beim Schwein – epidemiologische Situation und Bewertung des Verbraucherschutzrisikos
Praktischer Tierarzt 2003; 84: 930-936

FANTASIA M., MINGRONE M.G., CROTTI D., BOSCATO C. (1985)
Isolation of Yersinia enterocolitica Biotype 4 Serotype O3 from Canine Sources in Italy
J. Clin. Microbiol. 1985; 22: 314-315

FARMER III J.J., CARTER G.P., MILLER V.L., FALKOW S., WACHSMUTH I.K. (1992)
Pyrazinamidase, CR-MOX Agar, Salicin Fermentation-Esculin, Hydrolysis, and D-Xylose Fermentation for Identifying Pathogenic Serotypes of Yersinia enterocolitica
J. Clin. Microbiol. 1992; 30: 2589-2594

FEHLHABER K. (1992)
Anforderung an ein Lebensmittel
Lebensmittelverderb
In: FEHLHABER K., JANETSCHKE P.
Veterinärmedizinische Lebensmittelhygiene
Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart S.19-22 und S.126-137

FERKING H., GEYER K., ROSENBERGER G. (1995)
Infektionskrankheiten
In: ASSMUS G., FERKING H., GEYER K., LIEBISCH A., MEERMANN A., ROSENBERGER G. (1995)
Buiatrik – Band II
5., überarbeitete und erweiterte Auflage S.52-92
Verlag M.&H. Schaper Alfeld - Hannover

FEY H., VALLETTE H. (1961)
Nachweis von Salmonellen in Fluss- und Abwässern sowie bei gesunden Schlachtschweinen in Genf
Schweiz. Arch. Tierheilk. 1961; 103: 519-529

FOX J.G., MOORE R., ACKERMANN J.I. (1983)
Canine and feline campylobacteriosis: Epizootiology and clinical and public health features
JAVMA 1983; 183, 15: 1420-1424

FRASER J.A., SPERBER W.H. (1988)
J. Food Prot. 1988; 51:762-765

FREDRIKSSON-AHOMAA M., BUCHER M., HANK CHR., STOLLE A., KORKEALA H. (2001)
High Prevalence of Yersinia enterocolitica 4:O3 on Pig Offal in Southern Germany: A Slaughtering Technique Problem
System. Appl. Microbiol. 2001; 24: 457-463

FREDRIKSSON-AHOMAA M., HIELM S., KORKEALA H. (1999)
High Prevalence of yadA-Positive Yersinia enterocolitica in Pig Tongues and Minced Meat at the Retail Level in Finland
J. Food Prot. 1999; 62: 123-127

FREDRIKSSON-AHOMAA M., KORTE T., KORKEALA H. (2000)
Contamination of carcasses, offals, and the environment with yadA-positive Yersinia enterocolitica in a pig slaughterhouse
J. Food Prot. 2000; 63: 31-35

FREDRIKSSON-AHOMAA M., KORTE T., KORKEALA H. (2001)
Transmission of Yersinia enterocolitica 4/O:3 to pets via contaminated pork
Lett. Appl. Microbiol. 2001; 32: 375-378

FREUDIGER U. (1993)
Infektionskrankheiten
In: FREUDIGER U., GRÜNBAUM E.G., SCHIMKE E. (Hrsg.)
Klinik der Hundekrankheiten
2., überarbeitete Auflage S.871-928
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart 1997

FRICKER C. (1987)
The isolation of salmonellas and campylobacters
J. Appl. Bacteriol. 1987; 63: 99-116

FRIES R., HILBERT C., JAEGER D., OETJEN M. (2002)
Zoonoseerreger in der Gewinnung von Schweinefleisch – Herkunftsbezogene Aufschlüsselung
In: DVG Tagungsband 2002: 43. Arbeitstagung des „Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene“ Teil I: Vorträge

FUKUSHIMA H. (1987a)
New selective agar medium for isolation of virulent Yersinia enterocolitica
J. Clin. Microbiol. 1987; 25: 1068-1073

FUKUSHIMA H., MARUYAMA K., OMORI I., ITO K., IORIHARA M. (1989)
Bedeutung kontaminierter Schweinehaut für die Verunreinigung von Schweinetierkörpern mit fäkalen Yersinien bei der Schlachtung
Fleischwirtsch. 1989; 69: 409-413

FUNK J.A., TROUTT H.F., ISAACSON R.E., FOSSLER C.P. (1998)
Prevalence of Pathogenic Yersinia enterocolitica in Groups of Swine at Slaughter
J. Food Prot. 1998; 61: 677-682

GILL C.O., BRYANT J. (1992)
The contamination of pork with spoilage bacteria during commercial dressing, chilling and cutting of pig carcasses
Int. J. Food Microbiol. 1992; 16: 51-62

GILL C.O., BRYANT J. (1993)
The presence of Eschericia coli, Salmonella and Campylobacter in pig carcasses dehairing equipment
Food Microbiol. 1993; 10: 337-344

GILL C.O., JONES T. (1997)
Assessment of the hygienic characteristics of a process for dressing pasteurized pig carcasses
Food Microbiol. 1997; 14: 81-91

GREIL B. (2001)
Vergleichende Untersuchungen zur selektiven Erfassung von Salmonellen bei Schlachtschweinen unterbesonderer Berücksichtigung des Salmonellen-Antikörperstatus in Schweinebeständen
Diss. med. vet., LMU München

GUEVREMONT E., HIGGINS R., QUESSY S. (2004)
Characterization of Campylobacter Isolates Recovered from Clinically Healthy Pigs and from Sporadic Cases of Campylobacteriosis in Humans
J. Food Prot. 2004; 67: 228-234

GURGUI FERRER M., MIRELIS OTERO B., COLL FIGA P., PRATS G. (1987)
Yersinia enterocolitica infections and pork
Lancet 1987; 8: 334

HAMMER P., HAHN G., KIRCHHOFF H., HEESCHEN W. (1990)
Vergleich der Eignung von Oxford- und PALCAM-Medium zur Isolierung von Listeria monocytogenes aus Weichkäse
Dtsch. Milchwirtsch. 1990; 41: 334-336

HANK CHR. (2003)
Ein Beitrag zum Vorkommen von Yersinia enterocolitica in Hackfleisch und Fleischerzeugnissen vom Schwein im Hinblick auf die eingesetzten Kultur- und Isolierungsverfahren
Diss. med. vet., LMU München

HANNA M.O., SMITH G.C., HALL L.C., VANDERZANT C., CHILDERS A.B. (1980)
Isolation of Yersinia enterocolitica from Pig Tonsils
J Food Prot. 1980; 43: 23-25

HARIHARAN H., GILES J.S., HEANEY S.B., LECLERC S.M., SCHURMAN R.D. (1995)
Isolation, Serotypes, and virulence-associated properties of Yersinia enterocolitica from Tonsils of Slaughter Hogs
Can. J. Vet. Res. 1995; 59: 161-166

HARTUNG M., GERIGK K. (1991)
Yersinia in effluents from the food-processing industry
Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz. 1991; 10: 799-811

HAYASHIDANI H., KANEKO K., SAKURAI K., OGAWA M. (1995)
Experimental infection with Yersinia enterocolitica serovar O:8 in Beagle dogs
Vet. Microbiol. 1995; 47: 71-77

HEESEMANN J. (1994)
Die Gattung Yersinia – Yersiniosen
In: BRANDIS H., EGGERS H.J., KÖHLER W., PULVERER G.
Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie
7., völlig neubearbeitete Auflage S.424-436
Gustav Fischer Verlag Stuttgart, Jena, New York 1994

HOF H. (1994)
Listeria monocytogenes; Listeriose
In: BRANDIS H., EGGERS H.J., KÖHLER W., PULVERER G.
Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie
7., völlig neubearbeitete Auflage S.518-521
Gustav Fischer Verlag Stuttgart, Jena, New York 1994

HOF, H. (2003)
History and epidemiology of Listeriosis
FEMS Immunol. Med. Microbiol. 2003; 35: 199-202

HUNTER D., HUGHES S. (1983)
Isolation of Yersinia enterocolitica from pigs in United Kingdom
Vet. Rec. 1983; 112: 322-323

HUTCHINSON D.N., BOLTON F.J. (1984)
Improved blood-free selective medium for the isolation of Campylobacter jejuni
J. Clin. Path. 1984; 34: 956-957

IIDA T., KANZAKI M., NAKAMA A., KOKUBO Y., MARUYAMA T., KANEUCHI C. (1998)
Detection of Listeria monocytogenes in Humans, Animals and Foods
J. Vet. Med. Sci. 1998; 60: 1341-1343

JANVIER B., AYRAUD S., BEBY-DEFAUX A., FAUCHERE J.L. (2000)
Immunogens of interest for the diagnosis of Campylobacter jejuni infections
FEMS Immunol. Med. Microbiol. 2000; 27: 263-268

KANUGANTI S.R., WESLEY I.V., REDDY P.G., MCKEAN J., HURD H.S. (2002)
Detection of Listeria monocytogenes in Pigs and Porks
J. Food Prot. 2002; 65: 1470-1474

KAPPERUD G. (1991)
Yersinia enterocolitica in food hygiene
Int. J. Food Microbiol. 1991; 12: 53-66

KAPPERUD G., BERGAN T. (1984)
Biochemical and serological characterization of Yersinia enterocolitica
In: BERGAN T., NORRIS J.R. (Hrsg.)
Methods in microbiology
Academic Press, London, 15: 295-344

KARCHES H., TEUFEL P. (1988)
Listeria monocytogenes
Vorkommen in Hackfleisch und Verhalten in frischer Zwiebelmettwurst
Fleischwirtschaft 1988; 68: 1388-1392

KARMALI M.A., SIMOR A.E., RASCOE M., FLEMING P.C., SMITH S.S., LANE J. (1986)
Evaluation of a blood-free, charcoal-based, selective medium for the isolation of Campylobacter organisms from faeces
J. Clin. Microbiol. 1986; 23: 456-459

KAUFFMANN F. (1935)
Weitere Erfahrungen mit den kombinierten Anreicherungsverfahren für Salmonella Bazillen
Zeit. Hyg. Infektionskrnk. 1935; 117: 26-34

KETLEYJ.M. (1997)
Pathogenesis of enteric infection by Campylobacter
Microbiol. 1997; 143: 5-21

KIST M. (1994)
Die Gattungen Streptobacillus, Campylobacter und Helicobacter
In: BRANDIS H., EGGERS H.J., KÖHLER W., PULVERER G.
Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie
7., völlig neubearbeitete Auflage S.489-495
Gustav Fischer Verlag Stuttgart, Jena, New York 1994

KLEE W. (2002a)
Campylobacter-Enteritis
In: DIRKSEN G., GRÜNDER H.D., STÖBER M. (Hrsg.)
Innere Medizin und Chirurgie des Rindes
4., vollständig neubearbeitete Auflage S.595-596
Parey Buchverlag, Berlin 2002

KLEE W. (2002b)
Yersiniose
In: DIRKSEN G., GRÜNDER H.D., STÖBER M. (Hrsg.)
Innere Medizin und Chirurgie des Rindes
4., vollständig neubearbeitete Auflage S.593-594
Parey Buchverlag, Berlin 2002

KLEE W. (2002c)
Salmonellose
In: DIRKSEN G., GRÜNDER H.D., STÖBER M. (Hrsg.)
Innere Medizin und Chirurgie des Rindes
4., vollständig neubearbeitete Auflage S.582-586
Parey Buchverlag, Berlin 2002

KLEER J. (2004a)
Mikroorganismen in Lebensmitteln
In: SINELL H.J. (Hrsg.)
Einführung in die Lebensmittelhygiene
4., neu bearbeitete Auflage
Parey Verlag, Stuttgart 2004

KLEER J. (2004b)
Mikroorganismen in Lebensmitteln – Salmonella
In: SINELL H.J. (Hrsg.)
Einführung in die Lebensmittelhygiene
4., neu bearbeitete Auflage
Parey Verlag, Stuttgart 2004

KLEER J. (2004c)
Mikroorganismen in Lebensmitteln – Yersinia enterocolitica
In: SINELL H.J. (Hrsg.)
Einführung in die Lebensmittelhygiene
4., neu bearbeitete Auflage
Parey Verlag, Stuttgart 2004

KÖPKE U., REUTER G. (1995)
Zusammensetzung der psychrotrophen Hackfleischmischflora
36. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der DVG, Tagungsbericht
Teil II; 151-158

KORSAK N., JACOB B., GROVEN B., ETIENNE G., CHINA B., GHAFIR Y., DAUBE G. (2003)
Salmonella contamination of pigs and pork in an integrated pig production system
J. Food Prot. 2003; 66: 1126-1133

KORTE T., FREDRIKSSON-AHOMAA M., NISKANEN T., KORKEALA H. (2004)
Low Prevalence of yadA-positive Yersinia enterocolitica in Sows
Foodb. Path. Dis. 2004; 1: 45-52

KRAMER T.T. (1995)
Swine Sallmonellosis: What is new about?
AGRI-PRACTICE 1995; 16: 13-16

KRÄMER J. (2002)
Lebensmittelmikrobiologie
4., neu bearbeitete Auflage
Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart 2002

KRISTENSEN M., LESTER V., JURGENS A. (1925)
Use of the trypsinized casein, bromthymol blue, brom-cresol-purple, phenol red and brilliant green for bacteriological nutrient media
Brit. J. Exp. Pathol. 1925; 6: 291-297

KURSTEINER P., SCHIFFERLI D., LANZ E., BURGI I., ERB C. (1985)
Isolation of Campylobacter species in slaughter animals and in a slaughterhouse environment
Schweiz. Arch. Tierheilkd. 1985; 127: 231-8

LAUBACH C., RATHGEBER J., OSER A., PALUMBO S. (1998)
Microbiology of the Swine Head Meat Deboning Process
J. Food Prot. 1998; 61: 249-252

LAUWERS S., DE BOECK M., BUTZLER J.P. (1978)
Campylobacter enteritis in Brussels
Lancet 1978; 1: 604-605

LEMINOR L., POPOFF M.Y. (1987)
Request for an opinion. Designation of Salmonella enterica sp. nov., nom., rev., as the type and only species of the genus Salmonella
Internat. J. Syst. Bacteriol. 1987; 37: 465-468

MAHLER C. (2004)
Untersuchungen zur hygienischen und mikrobiologischen Qualität von marinierten Fleischzubereitungen zur Festlegung von Richtwerten bei der Kontrolle des Mindeshaltbarkeitsdatums (MHD)
Diss. med. vet., LMU München

MÄNNL M. (1994)
Betäubung und Entblutung von Schwein und Rind
In: Institut für Technologie der Bundesanstalt für Fleischforschung Kulmbach (Hrsg.) Schlachten von Schwein und Rind
Kulmbacher Reihe Band 13, S. 62-83

MAFU A.A., HIGGINS R., NADEAU M., COUSINEAU G. (1989)
The Incidence of Salmonella, Campylobacter, and Yersinia enterocolitica in Swine Carcasses and the Slaughterhouse Environment
J. Food Prot. 1989; 52: 642-645

MARUYAMA T. (1987)
Yersinia enterocolitica infection in humans and isolation of the organisms from pigs in Japan
Contr. Microbiol. Immunol. 1987; 9: 48-55

MCCLAIN D., LEE W.H. (1988)
Development of USDA-FSIS method for isolation of Listeria monocytogenes from raw meat and poultry
J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1988; 71: 660-664

MEILE L. (2002)
Campylobacter: Eigenschaften, Epidemiologie und Bedeutung in Lebensmitteln
Mitt. Lebensm.. Hyg. 2002; 93: 1-3

MERILAHTI-PALO R., LAHESMAA R., GRANFORS K.,
GRIPENBERGE-LERCHE C.H., TOIVANENE P. (1991)
Risk of Yersinia Infection among Butchers
Scand J. Infect. Dis. 1991; 23: 55-61

NATTERMANN H., HORSCH F., DEE W., ORTMANN G. (1986)
Die Yersinia enterocolitica-Infektion bei landwirtschaftlichen Nutztieren
Mh. Vet. Med. 1986; 41: 23-26

NEUBAUER H. (2000)
A miniaturised semiautomated system for the identification of Yersinia species within genus Yersinia
Clin. Lab. 2000; 46: 561-567

NEUBAUER H., SPRAGUE L.D., SCHOLZ H., HENSEL A. (2001a)
Yersinia enterocolitica-Infektionen: 1. Bedeutung bei Tieren
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 2001; 114: 8-12

NEUBAUER H., SPRAGUE L.D., SCHOLZ H., HENSEL A. (2001b)
Yersinia enterocolitica-Infektionen: 2. Bedeutung bei Menschen
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 2001; 81-87

NEUBAUER H., SPRAGUE L.D., SCHOLZ H., HENSEL A. (2001c)
Die Diagnostik der Yersinia enterocolitica-Infektionen: Eine Übersicht über klassische Nachweistechniken und neue molekularbiologische Methoden
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 2001; 114: 1-7

NESBAKKEN T. (1988)
Enumeration of Yersinia enterocolitica O:3 from the porcine oral cavity, and its occurrence on cut surfaces of pig carcasses and the environment in a slaughterhouse
Int. J. Food Microbiol. 1988 6: 287-293

NESBAKKEN T. (1992)
Epidemiological and food hygiene aspects of Yersinia enterocolitica with special reference to the pig as a suspected source of infection
Diss. med. Vet., Oslo, Norwegen

NESBAKKEN T., ECKNER K., HOIDAL H.K., ROTTERUD O.J. (2003)
Occurence of Yersinia enterocolitica and Campylobacter spp. in Slaughter pigs and consequences for meat inspection, slaughtering, and dressing procedures
Int. J. Food Microbiol. 2003; 80: 231-240

NESBAKKEN T., KAPPERUD G. (1985)
Yersinia enterocolitica and Yersinia enterocolitica-like bacteria in Norwegian slaughter pigs
Int. J. Food Microbiol. 1985; 1: 301-309

NESBAKKEN T., NERBRINK E., ROTTERUD O.J., BORCH E. (1994)
Reduction of Yersinia enterocolitica and Listeria spp. on pig carcasses by enclosure of the rectum during slaughter
Int. J. Food Microbiol. 1994; 23: 197-208

NESBAKKEN T., SKJERVE E. (1996)
Interruption of Microbial Cycles in Farm Animals from Farm to Table
Meat Science 1996; 43: 47-57

NIELSEN B., WEGENER H.C. (1997)
Public health and pork and pork products: regional perspectives of Denmark
Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 1997; 16: 513-524

NILÈHN B. (1969)
Studies on Yersinia enterocolitica: Growth on various solid media at 37°C and 25°C
Acta Path. Microbiol. Scand. 1969; 77: 685-697

OOSTEROM J., DEKKER R., DE WILDE G.J., VAN KEMPEN-DE TROYE F., ENGELS G.B. (1985)
Prevalence of Campylobacter jejuni and Salmonella during pig slaughtering
Vet. Q. 1985; 7: 31-34

PEARCE R.A., BOLTON D.J., SHERIDAN J.J., MCDOWELL D.A., BLAIR I.S., HARRINGTON D. (2004)
Studies to determine the critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point systems
Int. J. Food Microbiol. 2004; 90: 331-339

PEARCE R.A., WALLACE F.M., CALL J.E., DUDLEY R.L., OSER A., YODER L., SHERIDAN J.J., LUCHANSKY J.B. (2003)
Prevalence of Campylobacter within a Swine Slaughter and Processing Facility
J. Food Prot. 2003; 66: 1550-1556

PEDERSEN K.B., WINBLAD S. (1979)
Studies on Yersinia enterocolitica isolated from swine and dogs
Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B. 1979; 87: 137-140

PETERSEN J.V., ANDERSEN J.K., SORENSEN F., KNUDSEN H. (2002)
Food safety on the slaughterline: inspection of pig heads
Vet. Rec. 2002; 150: 782-784

PICHHARDT K. (1998)
Lebensmittelmikrobiologie: Grundlagen für die Praxis
4. Auflage
Sprinter Verlag; Berlin Heidelberg New York

RAHKIO M., KORKEALA H. (1997)
Airborne Bacteria and Carcass Contamination in Slaughterhouses
J. Food Prot. 1997; 60: 38-42

RAPPAPORT F., KONFORTI N., NAVON B. (1956)
A new enrichment medium for certain salmonellae
J. Clin. Pathol. 1956; 9: 261-266

RILEY G., TOMA S. (1989)
Detection of Pathogenic Yersinia enterocolitica by Using Congo Red-Magnesium Oxalate Agar Medium
J. Clin. Microbiol. 1998; 27: 213-214

ROBINSON I.M., WHIPP S.C., BUCKLIN J.A., ALLISON M.J. (1984)
Characterization of Predominant Bacteria from the Colons of Normal and Dysenteric Pigs
Appl. Environ. Microbiol. 1984; 48: 964-969

ROSEF O., GONDROSEN B., KAPPERUD G., UNDERDAL B. (1983)
Isolation and Characterization of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli from Domestic and Wild Mammals in Norway
Appl. Environ. Microbiol. 1983; 46: 855-859

RUSSEL E.G. (1979)
Types and distribution of anaerobic bacteria in the large intestine of pigs
Appl. Environ. Microbiol. 1979; 37: 187-193

SALANITRO J.P., BALKE I.G., MUIRHEAD P.A. (1977)
Isolation and identification of fecal bacteria from adult swine
Appl. Environ. Microbiol. 1977; 33: 79-84

SAMMARCO M.L., RIPABELLI G., RUBERTO A., IANNITTO G., GRASSO G.M. (1997)
Prevalence of Salmonellae, Listeriae, and Yersiniae in the Slaughterhouse Environment and on Work Surfaces, Equipment, and Workers
J. Food Prot. 1997; 60: 367-371

SCHALCH B. EISGRUBER H., STOLLE A. (1996)
Praktische Erfahrungen mit den mikrobiologischen Anforderungen der EG-Hackfleischrichtlinie
Fleischwirtschaft 1996; 76: 883-886

SCHELLHAAS G. (1982)
Zur mikrobiologischen Beschaffenheit von Hackfleisch und anderen Erzeugnissen aus frischem Fleisch
Fleischwirtschaft 1982; 62: 582-587

SCHIEMANN D.A. (1979)
Synthesis of a selective agar medium for Yersinia enterocolitica
Can. J. Microbiol. 1979; 25: 1298-1304

SCHIEMANN D.A. (1989)
Yersinia enterocolitica und Yersinia pseudotuberculosis
In DOYLE M.O. (Hrsg.),
Foodborne bacterial pathogens
Marcel Dekker, New York, S.601-672

SCHLUNDT J., MUNCH B. (1993)
A comparison of the efficiency of Rappaport Vassiliadis, tetrathionate and selenit broths with and without pre enrichmnent for the isolation of Salmonella in animal waste bigas plants
Zlbl. Bakteriol. 1993; 34: 686-688

SELBITZ H.J. (2002a)
Bakterielle Krankheiten Tiere:
Infektionen und Krankheiten durch gramnegative Bakterien: Campylobacter, Arcobacter, Helicobacter
In: ROLLE M., MAYR A. (2002)
Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre S. 427-432
7., völlig neu bearbeitete Auflage
Enke-Verlag Stuttgart; 2002

SELBITZ H.J. (2002b)
Bakterielle Krankheiten Tiere:
Infektionen und Krankheiten durch grampositive Bakterien: Regelmäßige, sporenlose grampositive Stäbchen
In: ROLLE M., MAYR A. (2002)
Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre S.537-540
7., völlig neu bearbeitete Auflage
Enke-Verlag Stuttgart; 2002

SELBITZ H J. (2002c)
Bakterielle Krankheiten Tiere:
Infektionen und Krankheiten durch gramnegative Bakterien: Gramnegative, fakultativ anaerobe Stäbchen
In: ROLLE M., MAYR A. (2002)
Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre S.462-481
7., völlig neu bearbeitete Auflage
Enke-Verlag Stuttgart; 2002

SHIZAWA K., NISHINA T., MIWA Y., MORI T., AKAHANE S., ITO K. (1991)
Colonization of the tonsils of swine by Yersinia enterocolitica
Contr. Microbiol. Immunol. Vol. 12, (Karger, Basel) S.63-67

SIEGMANN O. (1993)
Kompendium der Geflügelkrankheiten
5., vollständig neubearbeitet und erweiterte Auflage 1993
Verlag Paul Parey – Berlin und Hamburg

SCHIEMANN D.A. (1989)
Yersinia enterocolitica and Yersinia pseudotuberculosis
In: DOYLE M.P. (Ed.);
Foodborne Bacterial Pathogens
Macel Dekker, New York 1989; S.601-672

SCHMID H. (2002)
Der Epidemiologie von Campylobacter in der Schweiz
Mitt. Lebensm. Hyg. 2002; 93:24-31

SCHMIDHOFER T. (1988)
Untersuchunungsmethoden
In: PRÄNDL O., FISCHER A., SCHMIDHOFER T., SINELL H.J.
Handbuch der Lebensmitteltechnologie
Fleisch – Technologie und Hygiene der Gewinnung und Verarbeitung
Ulmer Verlag Stuttgart S.679-753

SMITH J.L. (2002)
Campylobacter jejuni Infection during Pregnancy:
Long-Term Consequences of Associated Bacteremia, Guillain-Barré Syndrome, and Reactive Arthritis
J. Food Prot 2002; 65: 696-708

SKIRROW M.B. (1977)
Campylobacter enteritis: a "new" disease
Brit. Med. J. 1977, 2: 9-11

SKIRROW M.B. (1991)
Epidemiology of Campylobacter enteritis
Int. J. Food Microbiol. 1991; 12: 9-16

SKOVGAARD N., NORRUNG B. (1989)
The incidence of Listeria spp. in faeces of Danish pigs and in minced pork meat
Int. J. Food Microbiol. 1989; 8: 59-63

STICHT-GROH V. (1982)
Campylobacter in healthy slaughter pigs:
a possible source of infection for man
Vet. Rec. 1982; 110: 104-106

STOLLE A., MÄRTLBAUER E. (1995)
Ein altes und ein neues Problem der Lebensmittelhygiene
Bemerkungen zu Salmonellen und enterohämorrhagischen E. coli (EHEC)
Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle 1995; 2: 275-281

STÖBER M. (2002)
Listeriose
In: DIRKSEN G., GRÜNDER H.D., STÖBER M. (Hrsg.)
Innere Medizin und Chirurgie des Rindes
4., vollständig neubearbeitete Auflage S.1239-1244
Parey Buchverlag, Berlin 2002

SUTER P.F. (2001)
Infektionskrankheiten
In: NIEMAND H.G., SUTER P.F. (2001)
Praktikum der Hundeklinik
9., neubearbeitete und erweiterte Auflage S.319-378
Parey Buchverlag Berlin 2001

SVEDHEIM A., GUNNARSSON H., KAIJSER B. (1983)
Diffusion-in-gel enzyme-linked immunosorbent assay for routine detection of Ig G and Ig M antibodies to Campylobacter jejuni
J. Infect. Dis. 1983; 148: 82-92

SVOBODA P., JÄGGI N. (2002)
Untersuchungen zum Vorkommen von Campylobacter spp. in verschiedenen Lebensmitteln
Mitt. Lebensm. 2002; 93:32-43

SWAMINATHAN B., HARMON M.C., MEHLMANN I.J. (1982)
A review – Yersinia enterocolitica
J. Appl. Bact. 1982; 52: 151-183

SWANENBURG M., URLINGS H.A.P., SNIJDERS J.M.A., KEUZENKAMP D.A., VAN KNAPEN F. (2001)
Salmonella in slaughter pigs:
prevalence, serotypes and critical control points during slaughter in two slaughterhouses
Int. J. Food Microbiol. 2001; 70: 243-254

SWANENBURG M., VAN DER WOLF P.J., URLINGS H.A.P., SNIJDERS J.M.A., VAN KNAPEN F. (2001)
Salmonella sin slaughter pigs:
the effect of logistic slaughter procedures of pigs on the prevalence of Salmonella in pork
Int. J. Food Microbiol. 2001; 70: 231-234

TAYLOR W.I. (1965)
Isolation of shigellae. I. Xylose lysine-agars: new media for the isolation of enteric pathogens
Am. J. Clin. Path. 1965; 44: 471-475

THIBODEAU V., FROST E.H., CHENIER S., QUESSAY S. (1999)
Presence of Yersinia enterocolitica in tissues of orally inoculated pigs and the tonsils and faeces of pigs at slaughter
Can. J. Vet. Res. 1999; 63: 96-100

TOMA S., DEIDRICK V.R. (1975)
Isolation of Yersinia enterocolitica from swine
J. Clin. Microbiol. 1975; 2: 478-481

ULLMANN U. (1994)
Die Gattungen Salmonella und Shigella – Typhus, Paratyphus, Enteritis und Ruhr –
In: BRANDIS H., EGGERS H.J., KÖHLER W., PULVERER G.
Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie
7., völlig neubearbeitete Auflage S.390-408
Gustav Fischer Verlag Stuttgart, Jena, New York 1994

VAN NETTEN P., PERALES J., VAN DE MOOSDIJK A., CURTIS G.D.W., MOSSEL D.A.A. (1989)
Liquid and solid selective differential media for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes
Int. J. Food. Microbiol. 1989; 8: 299-316

VASSILIADIS P., PATERAKI E., PAPADAKIS J., TRICHOPOULOS D. (1974)
Evaluation of the growth of Salmonellae in Rappaport's broth and in Muller-Kauffmann's Tetrathionate broth
J. Appl. Bacteriol. 1974; 3: 411-418

VASSILIADIS P. (1983)
The Rappaport-Vassiliadis (RV) enrichment medium for the isolation of salmonellas:
An overview
J. Appl. Bacteriol. !983; 54: 69-76

VERHAEGEN J., CHARLIER J., LEMMENS P., DELMEE M., VAN NOYEN R., VERBIST L., WAUTERS G. (1998)
Surveillance of Human Yersinia enterocolitica Infections in Belgium: 1967-1996
Clin. Inf. Dis. 1998; 27: 59-64

WALDMANN K.H., PLONAIT H, (1997)
Salmonelleninfektionen und Salmonellose
(Salmonella infection, Salmonellosis)
In: PLONAIT H., BICKHARDT K. (Hrsg.)
Lehrbuch der Schweinekrankheiten
2., neubearbeitete Auflage S.344-348
Parey Buchverlag Berlin 1997

WARRINER K., ALDSWORTH T.G., KAUR S., DODD C.E.R. (2002)
Cross-Contamination of carcasses and equipment during pork processing
J. Appl. Microbiol. 2002; 93: 169-177

WASSENAAR T.M. (2000)
Molekularmethoden als Nachweis, Spezifizierung und Subtypisierung von *Campylobacter* spp.
Lohmann Information 2000; 2: 17-24

WAUTERS G. (1973)
Improved methods for the isolation and the recognition of Yersinia enterocolitica
Contr. Microbiol. Immunol. 1973; 2: 68-70

WAUTERS G. (1979)
Carriage of Yersinia enterocolitica serotype 3 by pigs as a source of human infection.
In: CARTER .PB, LALEUR L, TOMA S, eds.
Contribution to microbiology and immunology.
Vol. 5. Basel, Switzerland: Karger, 1979: 249-252

WAUTERS G., KANDOLO K., JANSSENS M. (1987)
Revised biogrouping of Yersinia enterocolitica
Contr. Microbiol. Immunol. 1987; 9: 14-21

WAUTERS G., GOOSENS V., JANSSENS M., VANDEPITTE J. (1988)
New enrichment method for isolation of pathogenic Yersinia enterocolitica serogroup O:3 from pork
Appl. Environ. Microbiol. 1988; 54: 851-854

WEBER A. (1985)
Vorkommen von Campylobacter jejuni bei Tieren und die Bedeutung für den Menschen
Tierärztl. Prax. 1985; 13: 151-157

WEBER A., KNAPP W. (1981)
Über die jahreszeitliche Abhängigkeit des Nachweises von Yersinia enterocolitica und Yerisinia pseudotuberculosis in Tonsillen gesunder Schlachtschweine
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. 1981; A 250: 78-83

WEBER A., LEMBKE C., SCHAFER R. (1985)
Nachweis von Campylobacter jejuni und Campylobacter coli in Kotproben gesunder Schlachtschweine in Abhängigkeit von der Jahreszeit
Zentralbl. Veterinärmed. B. 1985; 32: 40-45

WENDT A., BICKHARDT K. (1997)
Listeriose
In: PLONAIT H., BICKHARDT K. (Hrsg.)
Lehrbuch der Schweinekrankheiten
2., neubearbeitete Auflage S.219
Parey Buchverlag Berlin 1997

WITTENBRINK M. (2002)
Campylobacter:
Vorkommen und pathogene Bedeutung bei Mensch und Tier
Mitt. Lebensm. Hyg. 2002, 93: 4-8

WOLTERSDORF W. (1994)
Technik und Hygiene beim Schlachten von Schweinen
In: Institut für Technologie der Bundesanstalt für Fleischforschung Kulmbach (Hrsg.), Schlachten von Schwein und Rind Kulmbacher Reihe 1994; Band 13, S. 84-110

WUTHE H.H., SCHULZ-LELL G., BÖHLCK I., ALEKSIC S. (1982)
Ergebnisse von kulturellen Untersuchungen auf Yersinia enterocolitica in Proben von Menschen und Schweinen in Schleswig-Holstein
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 1982; 95: 288-292

YOUNG C.R., HARVEY R., ANDERSON R., NISBET D. STANKER L.H. (2000)
Enteric colonisation following natural exposure to Campylobacter in pigs
Res . Vet. Sci. 2000; 68: 75-78

ZRENNER K.M., HAFFNER R. (1999)
Lehrbuch für Fleischkontrolleure
Enke-Verlag, Stuttgart 1999

SONSTIGE LITERATURQUELLEN

DRAFT INTERNATIONAL STANDARD (1993)
Microbiology – General guidance fort the detection of presumptive pathogenic Yersinia enterocolitica (ISO/DIS 10273)
International Organization for Standardization, S. 1-15

ISO DIS 10273 (1993)
Allgemeine Anleitung zum Nachweis als pathogen suspekter *Yersinia enterocolitica*-Stämme
Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

ISO DIS 10272 (1994)
Allgemeine Anleitung zum Nachweis von thermotoleranten *Campylobacter*-Species
Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin

NORDIC COMITEE ON FOOD ANALYSIS (NFCA) (1996)
Yersinia enterocolitica – Detection in foods
Nordic committee on food analysis, 117, 3rd edition

ROBERT KOCH INSTITUT (1999a)
Ratgeber Infektionskrankheiten – Merkblätter für Ärzte
7. Folge: Campylobacter-Infektionen
Aktualisierte Version: Oktober 2001
Epidemiologisches Bulletin 35/1999
(www.rki.de/INFEKT/INFEKT.HTM)

ROBERT KOCH INSTITUT (2000)
Ratgeber Infektionskrankheiten – Merkblätter für Ärzte
Listeriose
Aktualisierte Version: März 2003
Epidemiologisches Bulletin 16/2000
(www.rki.de/INFEKT/INF_A-Z/RAT_MBL/Listeriose.PDF)

ROBERT KOCH INSTITUT (2002)
Ratgeber Infektionskrankheiten – Merkblätter für Ärzte
Salmonellose
Erstveröffentlichung im Bundesgesundheitsblatt 01/1997
Aktualisierte Version: Dezember 2002
(www.rki.de/INFEKT/INFEKT.HTM)

ROBERT KOCH INSTITUT (2003)
Aktuelle Statistik meldepflichtiger Infektionskrankheiten
Epidemiologisches Bulletin Nr.3; 52. Woche 2002; (Stand v. 15.01.2003)

ROBERT KOCH INSTITUT (2004a)
Aktuelle Statistik meldepflichtiger Infektionskrankheiten
Epidemiologisches Bulletin Nr.2; 52. Woche 2003; (Stand v. 14.01.2004)

ROBERT KOCH INSTITUT (2004b)
Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2003
Robert Koch-Institut, Berlin, 2004

ROBERT KOCH INSTITUT (2005)
Aktuelle Statistik meldepflichtiger Infektionskrankheiten
Epidemiologisches Bulletin Nr.3, 53. Woche 2004; (Stand v. 19.01.2005)

OXOID Handbuch (1993)
5., aktualisierte Auflage 1993
Unipath GmbH

J TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Nachweis von *Y. enterocolitica*-Stämmen aus Schweinetonsillen 13

Tabelle 2: Nachweis von *Campylobacter* spp.-Stämmen aus Schweinekotproben 16

Tabelle 3: Nachweis von *Listeria* spp.-Stämmen aus Schweinekotproben 17

Tabelle 4: Nachweis von *Y. enterocolitica*-Stämmen aus Schweinekotproben 18

Tabelle 5: Nachweis von *Salmonella* spp.-Stämmen aus Schweinekotproben 19

Tabelle 6: Vorkommen der Campylobacteriose in Deutschland 34

Tabelle 7: Vorkommen der invasiven und konnatalen Listeriose in Deutschland in den Jahren 2001 bis 2004 47

Tabelle 8: Biochemische Parameter zur Unterscheidung von *Y. enterocolitica* und *Y. enterocolitica*-like Bakterien 60

Tabelle 9: Virulenz von *Y. enterocolitica* in Abhängigkeit von Biotyp und Serotyp (modifiziert nach BOTTONE, 1997) 62

Tabelle 10: Herkunft, Verbreitung und Pathogenität von *Y. enterocolitica* (nach ALEKSIC und BOCKEMÜHL (1990), HARTUNG und GERIGK (1991), NEUBAUER (2001)) 63

Tabelle 11: Vorkommen der Yersiniose in Deutschland 64

Tabelle 12: Vorkommen der Salmonellose in Deutschland 76

Tabelle 13: Entnahmetag und Herkunft der Proben 86

Tabelle 14: Inkubationstemperaturen und Dauer der Bebrütung 95

Tabelle 15: Ablesetabelle des Testsystems API Campy 100

Tabelle 16: Ablesetabelle des Testsystems API Listeria 104

Tabelle 17: Ablesetabelle des Testsystems API 20E 108

Tabelle 18: Biochemische Tests zur Biotypisierung von *Y. enterocolitica* 109

Tabelle 19: Ablesetabelle des Testsystems BBL Enterotube II 114

Tabelle 20: Kontaminationsgrad von 50 Schweinetonsillen aus dem Schlachthof in München unter Berücksichtigung der Gesamtkeimzahl und der *E. coli*-Zahl 117

Tabelle 21: Nachweishäufigkeit von *C. coli* und *C. jejuni* aus Schweinetonsillen 118

Tabelle 22: Nachweishäufigkeit von *L. monocytogenes* aus Schweinekot 122

Tabelle 23: Ergebnisübersicht der 50 am Schlachthof München untersuchten Schlachtschweine 171

Tabelle 24: Gesamtübersicht der Ergebnisse 175

Tabelle 25: Übersicht der API-Ergebnisse zur Erregeridentifizierung von Campylobacter 186

Tabelle 26: Übersicht der API-Ergebnisse zur Erregeridentifizierung von Listerien 187

Tabelle 27: Übersicht der API-Ergebnisse zur Erregeridentifizierung von *Yersinia enterocolitica* 188

K ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1:	Hygieneaspekte und Präventivmaßnahmen hinsichtlich des bakteriellen Risikos im Verlauf der Schweineschlachtung (modifiziert nach BORCH et al. 1996)	9
Abbildung 2:	Infektionswege von *Campylobacter* spp. (modifziert nach KRÄMER 2002)	36
Abbildung 3:	Infektionswege von *L. monocytogenes* (modifiziert nach KRÄMER 2002)	49
Abbildung 4:	Verfahrensschritte zur Isolation von Campylobacter, Listerien, Yersinien und Salmonellen aus Tonsillen und Kot vom Schwein	94
Abbildung 5:	Identifizierungsschema für *Campylobacter* spp.	96
Abbildung 6:	Identifizierungsschema von *L. monocytogenes*	101
Abbildung 7:	Schematische Darstellung des CAMP-Tests	102
Abbildung 8:	Identifizierungschema von *Y. enterocolitica*	105
Abbildung 9:	Identifizierungsschema von *Salmonella* spp.	112
Abbildung 10:	Nachweishäufigkeit von *L. monocytogenes* aus Schweinetonsillen	119
Abbildung 11:	Nachweishäufigkeit von *Y. enterocolitica* aus Schweinetonsillen	120
Abbildung 12:	Nachweishäufigkeit von *C. coli* und *C. jejuni* aus Schweinekot	121

Abbildung 13: Nachweishäufigkeit von *Y. enterocolitica* aus Schweinekot 123

Abbildung 14: Verteilung von pathogenen Keimen in Tonsillen und Fäzes bei 50 untersuchten Schlachtschweinen 125

Abbildung 15: Vergleich der drei Anreicherungsverfahren zum Nachweis von *C. coli* aus Tonsillen und Kot 126

Abbildung 16: Vergleich der drei Anreicherungsverfahren zum Nachweis von *L. monocytogenes* aus Tonsillen und Kot 127

Abbildung 17: Vergleich der drei Anreicherungsverfahren zum Nachweis von *Y. enterocolitica* aus Tonsillen und Kot 128

Abbildung 18: Nachweis von *Campylobacter* spp. mit API Campy 130

Abbildung 19: Ergebnisse der API Listeria 131

Abbildung 20: Ergebnisse der API 20E für *Y. enterocolitica* 132

Abbildung 21: Anzahl der CRMOX-positiven/-negativen Isolate 133

DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt Herrn Univ.-Prof. Dr. A. Stolle für die Überlassung dieses Themas und die jederzeit gewährte, freundliche Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Ganz besonders möchte ich mich bei meiner Betreuerin Frau Dr. M. Fredriksson-Ahomaa bedanken, die stets für die Besprechung von Fragen zur Verfügung stand und beim Auftreten von Problemen immer ein offenes Ohr für mich hatte. Außerdem gab Sie mir wertvolle Ratschläge und stand mir immer mit Rat und Tat zur Seite; das hat mir die Durchführung der Arbeit sehr erleichtert.

Weiterhin gilt mein besonderer Dank Herrn Dr. M. Bucher für die fachbezogene Durchsicht und Korrektur der Arbeit sowie seine konstruktiven Verbesserungsvorschläge und für seine Unterstützung bei der Lösung jeglicher Probleme, die bei der Anfertigung dieser Dissertation aufgetreten sind.

Ebenfalls möchte ich mich bei Frau Dr. B. Sperner für die freundliche Unterstützung im Rahmen meiner Arbeit bedanken.

Ein ganz lieber Dank gilt den Mitarbeiterinnen der Mikrobiologischen Abteilung des Instituts Frau H. Dietz, Frau C. Wendt da Cruz, Frau S. Holzmann, Frau I. Fietzek und Frau U. Scheffler für die nette Atmosphäre und die mir jederzeit gewährte Hilfe im Bereich der Mikrobiologie. Ebenso möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des Instituts für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs der Ludwig-Maximilians-Universität München für die mir entgegengebrachte Hilfsbereitschaft bei Problemen und die freundliche Zusammenarbeit bedanken.

Ein weiterer Dank gilt allen Freunden und Bekannten für die motivierenden und aufbauenden Worte sowie die Hilfe bei zeitweise aufgetretenen Computerproblemen. Ganz besonders herzlich möchte ich mich bei meinen Eltern für die finanzielle Unterstützung und den seelischen Rückhalt bedanken, die mir die Anfertigung der Dissertation ermöglicht und erleichtert haben.

LEBENSLAUF

Name:	**Matthias GERHARDT**
Geburtsdatum:	17. Januar 1974
Geburtsort:	Freiburg im Breisgau
Eltern:	Walter GERHARDT und Annegret GERHARDT-RÜPPELL, geb. RÜPPELL

Schulausbildung:

1980 – 1984	Grund- und Hauptschule in Badenweiler
1984 – 1993	Markgräfler Gymnasium in Müllheim/Baden

Berufliche Ausbildung:

08/1993 – 07/1995	Ausbildung zum Veterinär-Medizinischen-Assistenten (VMTA) am Tierhygienischen Institut (THI) in Freiburg im Breisgau

Studium:

10/1995 – 11/2001	Studium der Veterinärmedizin an der Ludwig Maximilians-Universität München
01/2003	Approbation
ab 01/2004	Doktorand am Institut für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs der Tierärztlichen Fakultät der LMU München