

6 Schlussfolgerungen

1. Hohe Nachweisraten aus mit thermophilen *Campylobacter* spp. natürlich kontaminierten Lebensmittelproben von Geflügelfleisch und -innereien waren zu verzeichnen. Die konsequente Überwachung dieses Pathogens ist weiterhin anzuraten, da aufgrund der Ergebnisse eine hohe Keimbelastung dieser Produktgruppe zu erwarten ist.

Hohe *Campylobacter*-Nachweisraten aus Putenkottupferproben waren festzustellen. Es ist mit stark belasteten Herden am Schlachthof zu rechnen.

Signifikant höhere Nachweisraten von *Campylobacter* spp. ließen sich aus frischen Geflügelproben gegenüber gefrorenen Produkten isolieren (Angebotszustand).

Bei der Produktgruppe gefrorene Putenerzeugnisse wurden signifikant weniger *Campylobacter*-Keime isoliert als bei gefrorenen Hähnchenerzeugnissen.

Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen der Nachweisrate aus Fleisch und Innereien (Probenart).

2. Die immunologischen Protokolle des ELFA und GLISA sind mit geringer Einarbeitungszeit erlernbar und problemlos durchführbar.

3. Der *Campylobacter*-Nachweis über das GLISA- sowie ELFA-System ist sehr spezifisch.

4. Mit *Campylobacter jejuni* hochdotierte ($> 1,0 \times 10^8$ KbE/ml) und niedrigdotierte (0,4 bis 8,5 KbE/g) Proben werden von den drei alternativen Systemen positiv detektiert.

Andere thermophile *Campylobacter* spp. werden auch bei hoher Dotierung von den immunologischen Testsystemen nachgewiesen.

5. Der ELFA stellt sich als sehr sensitives und zuverlässiges Testsystem dar. Es ist für die Routinediagnostik als Screeningmethode für den Nachweis von *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* und *Campylobacter lari* in Proben von Geflügelfleisch und Geflügelinnereien (Sensitivität 98,3 %) sowie Geflügelkot (Sensitivität 100 %) einsetzbar.

Der Nachweis der Zielkeime im ELFA wird schnell durch das Gerät selbst durchgeführt und das Ergebnis dokumentiert (Automatisierung).

6. Das GLISA-System ist zum schnellen Nachweis von *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari* geeignet. Es ist ein einfach durchzuführendes Verfahren, das ohne weitere Detektionseinheit auskommt.

Der GLISA ist im Vergleich zum ELFA ein geringfügig weniger sensitives Nachweissystem. Die Anreicherungszeiten sind zu beachten und strikt einzuhalten.

Die gerätespezifische Nachweisgrenze des GLISA für *Campylobacter coli* und *Campylobacter jejuni* liegt eine Zehnerpotenz höher als beim ELFA.

Niedrigere Keimdichten ($\leq 2,9 \times 10^5$ KbE *Campylobacter jejuni*/ml) führten zu keiner oder aber sehr schwachen Bande im GLISA, die nicht mehr als eindeutig rotgefärbte Linie erkennbar war.

Der *Campylobacter*-Nachweis über den GLISA ist abweichend vom Herstellerprotokoll problemlos mit der Anreicherungsbouillon nach Preston durchführbar.

Weiterführende Untersuchungen zum *Campylobacter*-Nachweis aus natürlich kontaminierten Proben sind wünschenswert.

7. Die PCR-Methode ist für die Routinediagnostik in einem spezialisierten Labor für den sensitiven und schnellen Nachweis von *Campylobacter coli* und *Campylobacter jejuni* aus Proben von Geflügelfleisch, Geflügelinnereien sowie Geflügelkot geeignet. Dabei sind positive Amplifikate zu verifizieren.

Die PCR-Methode mit dem Primersystem pg3/pg50 detektiert thermophile *Campylobacter* spp. im Vergleich zu den immunologischen Systemen in dotierten Proben mit deutlich geringeren *Campylobacter*-Konzentrationen.

Die gerätespezifische Nachweisgrenze inklusive eventueller DNA-Verluste bei der DNA-Extraktion liegt ca. zwei bis drei Zehnerpotenzen niedriger als bei den immunologischen Systemen.

Da in der PCR auch mögliche DNA toter *Campylobacter*-Keime nachgewiesen werden können und auch, im Gegensatz zu Geflügelkot, geringe *Campylobacter*-Keimkonzentrationen im Lebensmittel zu erwarten sind, sollte auf einen Anreicherungsschritt im PCR-Protokoll nicht verzichtet werden. Die gerätespezifische Nachweisgrenze des Verfahrens kann dann sicher erreicht werden.

Es sind weiterführende Untersuchungen beim molekularbiologischen Nachweis von *Campylobacter* spp. aus Kotproben wünschenswert, wobei eine Reduktion der Anreicherungszeit oder aber der direkte *Campylobacter*-Nachweis aus Kot zu verfolgen wären.

Das kommerzielle DNA-Extraktionskit erweist sich insbesondere bei der Matrix „Kot“ für den molekularbiologischen Nachweis von *Campylobacter* spp. als zuverlässig.

8. Das molekularbiologische Nachweissystem ist von den alternativen Systemen am sensitivsten (98,2 %). Das immunologische GLISA-System ist am wenigsten sensitiv (90,7 %). Das ELFA-System stellte sich als das sensitivere von beiden immunologischen Methoden heraus (94,4 %).

Der *Campylobacter*-Nachweis aus natürlich kontaminierten Geflügelproben und artifiziell kontaminierten Proben durch den ELFA und die PCR zeigten korrelierende Resultate gegenüber der Referenzmethode.

Für den GLISA ist eine zufriedenstellender Übereinstimmungsgrad für artifiziell kontaminierte Proben zum Referenzverfahren ermittelt worden.

Im Vergleich der alternativen Systeme (ELFA, GLISA, PCR) sind in artifiziell kontaminierten Proben keine Spezifitätsverluste zu verzeichnen.

Im Vergleich der alternativen Systeme konnten in mit *Campylobacter jejuni* artifiziell kontaminierten Proben unterschiedliche Sensitivitäten ermittelt werden.

9. Die immunologischen und molekularbiologischen Nachweissysteme reduzieren deutlich die Nachweiszeit von *Campylobacter* spp. im Vergleich zum kulturellen Referenzverfahren. Eine Reduktion der Nachweiszeit durch die Verkürzung der Anreicherungsdauer von 48 h auf 24 h in beiden immunologischen Systemen (GLISA, ELFA) ist nicht empfehlenswert. Eine Anreicherung über die herstellerseitig verlangte Zeit ist aufgrund der individuellen Nachweisgrenzen der Systeme einzuhalten. Falschnegative Probenergebnisse sind ansonsten nicht auszuschließen.

Eine Verlängerung der Anreicherungszeit in der kulturellen Referenzmethode von 24 h auf 48 h ist aufgrund der ermittelten signifikant höheren Nachweisrate in über 48 h angereicherten Proben sinnvoll. Die aktuelle Version der ISO 10272 empfiehlt eine Anreicherungszeit über 24 h bis 48 h.

Positive immunologische Testergebnisse sind kulturell zu bestätigen, da auch andere Keimspezies aus der Familie *Campylobacteraceae* durch den ELFA und GLISA detektiert werden.

10. Das verwendete modifizierte Transportmedium nach Cary-Blair erfüllt die Anforderungen zum Transport von Kottupferproben. Auch nach längerem Transport gelingt der *Campylobacter*-Nachweis problemlos, sodass eine ausreichend viable *Campylobacter*-Keimkonzentration auch nach über drei Tagen angenommen bzw. erwartet werden kann.

Die angewandte Dotierungstechnik erwies sich als vorteilhaft. Mit Hilfe des Kutters können *Campylobacter jejuni*-Keime in geringer Konzentration in ein Modellbrät eingemischt werden.

Einmischkonzentrationen von $4,5 \times 10^0$ KbE/g in das Modellbrät führen innerhalb eines Versuchsansatzes zu unregelmäßigen Ergebnissen im *Campylobacter*-Nachweis. In diesem Keimkonzentrationsbereich ist unter den definierten Versuchsbedingungen eine inhomogene Keimverteilung nicht auszuschließen.