

**Aus dem Bundesinstitut für Risikobewertung
und
dem Institut für Lebensmittelhygiene des Fachbereiches Veterinärmedizin der
Freien Universität Berlin**

**Zur quantitativen Bestimmung von *Campylobacter* spp. auf der Oberfläche und im
Muskel von Hähnchenfleisch aus dem Handel; Vergleich von verschiedenen
Isolierungstechniken und Zählverfahren**

**Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von
Kathrin Scherer
Tierärztin aus Heidelberg**

Berlin 2006

Journal-Nr.: 3095

**Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg

Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Goetz Hildebrandt

Zweiter Gutachter: PD Dr. Lüppo Ellerbroek

Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Dr. Mohamed Hafez Ahmed Hafez

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

Campylobacter; chicken meat; microbial contamination; sampling; bacterial count

Tag der Promotion: 08.02.2007

Meinen Eltern und meinem Mann István,
die mir helfen, Träume zu verwirklichen

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| 1. EINLEITUNG | 1 |
| 2. LITERATURÜBERSICHT | 2 |
| 2.1. HISTORISCHER ÜBERBLICK..... | 2 |
| 2.2. TAXONOMIE..... | 3 |
| 2.3. EIGENSCHAFTEN VON <i>CAMPYLOBACTER</i> SPP. | 4 |
| 2.3.1. Bakterien- und Koloniemorphologie..... | 4 |
| 2.3.2. Physiologische und biochemische Reaktionen | 5 |
| 2.3.3. Identifizierung und Differenzierung | 6 |
| 2.3.3.1. Phänotypische Differenzierung..... | 6 |
| 2.3.3.2. Identifizierung und Differenzierung mittels kommerzieller Testkits..... | 9 |
| 2.3.3.3. Genotypische Differenzierung..... | 9 |
| 2.4. ISOLIERUNG UND KULTIVIERUNG..... | 10 |
| 2.5. QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON <i>CAMPYLOBACTER</i> SPP. | 12 |
| 2.6. TENAZITÄT VON <i>CAMPYLOBACTER</i> SPP. | 17 |
| 2.6.1. Temperatur..... | 17 |
| 2.6.2. NaCl..... | 18 |
| 2.6.3. Desinfektions-und Konservierungsmittel | 18 |
| 2.6.4. Trockenheit..... | 19 |
| 2.6.5. Antibiotika | 19 |
| 2.6.6. Überleben von <i>Campylobacter</i> spp. in modifizierter Atmosphäre- und Vakuumverpackung..... | 20 |
| 2.6.7. Bestrahlung | 20 |
| 2.6.8. Oxidativer Stress | 21 |
| 2.7. VIABLE BUT NON-CULTURABLE (VBNC)-ZELLEN BEI <i>CAMPYLOBACTER</i> SPP. | 21 |
| 2.8. EPIDEMIOLOGIE VON <i>CAMPYLOBACTER</i> SPP..... | 22 |
| 2.8.1. Vorkommen und Verbreitung | 22 |
| 2.8.2. Klinik | 24 |
| 2.8.3. Therapie | 25 |
| 2.8.4. Pathogenese der Campylobacteriose..... | 26 |
| 2.9. VORKOMMEN VON <i>CAMPYLOBACTER</i> SPP. BEI MASTGEFLÜGEL | 28 |
| 2.10. VORKOMMEN VON <i>CAMPYLOBACTER</i> SPP. IN DER GEFLÜGELSCHLACHTUNG | 30 |
| 2.11. SAISONALE SCHWANKUNGEN DER KONTAMINATIONSRATE THERMOPHILER | |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| CAMPYLOBACTER SPP. BEI MASTGEFLÜGEL..... | 32 |
| 2.12. VORKOMMEN VON <i>CAMPYLOBACTER</i> SPP. IN HÄHNCHEN ALS ENDPRODUKT | 33 |
| 3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN | 40 |
| 3.1. VERSUCHSPLANUNG..... | 40 |
| 3.2. MATERIAL UND METHODEN..... | 41 |
| 3.2.1. Untersuchungsmaterial | 41 |
| 3.2.2. Nährmedien und Reagenzien | 42 |
| 3.2.2.1. Feste Nährmedien..... | 42 |
| 3.2.2.2. Halbfeste Nährmedien | 43 |
| 3.2.2.3. Kontrolle und Haltbarkeit der Nährmedien | 44 |
| 3.2.2.4. Reagenzien für die biochemische Identifizierung und Speziesdifferenzierung von <i>Campylobacter</i> spp. | 45 |
| 3.2.2.5. Geräte..... | 46 |
| 3.2.2.6. Referenzstämme | 46 |
| 3.2.3. Methoden..... | 47 |
| 3.2.3.1. Probenentnahme..... | 47 |
| 3.2.3.1.1. Hautprobe..... | 47 |
| 3.2.3.1.2. Muskelprobe..... | 48 |
| 3.2.3.1.3. Beprobung der medialen Schenkelfläche (Tupferprobe) | 49 |
| 3.2.3.1.4. Spülprobe | 49 |
| 3.2.3.2. Anfertigen der Verdünnungsstufen | 50 |
| 3.2.3.3. Qualitativer Nachweis von <i>Campylobacter</i> spp. | 50 |
| 3.2.3.4. Quantitative Bestimmung von <i>Campylobacter</i> spp. | 51 |
| 3.2.3.4.1. Keimzahlbestimmung mittels MPN–Technik | 51 |
| 3.2.3.4.2. Keimzahlbestimmung mittels Spatelverfahren | 53 |
| 3.2.3.5. Biochemische Identifizierung und Speziesdifferenzierung..... | 53 |
| 3.2.3.6. Stammsammlung der <i>Campylobacter</i> -Isolate | 57 |
| 3.2.3.7. Berechnung der Keimzahl und statistische Methoden | 58 |
| 4. ERGEBNISSE | 60 |
| 4.1. <i>CAMPYLOBACTER</i> -KEIMZAHLEN AUF HÄHNCHENSCHENKELN INNERHALB EINER HANDELS-PACKUNG | 60 |
| 4.2. VERGLEICHSUNTERSUCHUNGEN..... | 61 |
| 4.2.1. Vergleich der Haut- und Spülproben | 63 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.2.1.1. Prävalenz und Anzahl von <i>Campylobacter</i> spp. in den Hautproben | 63 |
| 4.2.1.2. Prävalenz und Anzahl von <i>Campylobacter</i> spp. in den Spülproben | 63 |
| 4.2.2. Vergleich des Spatelverfahren und der MPN-Technik | 65 |
| 4.2.2.1. Prävalenz und Anzahl von <i>Campylobacter</i> spp. in Hautproben..... | 65 |
| 4.2.2.2. Prävalenz und Anzahl von <i>Campylobacter</i> spp. in Spülproben | 65 |
| 4.3. PRÄVALENZ UND KEIMZAHL VON <i>CAMPYLOBACTER</i> SPP. AUF DER HAUT VON HÄHNCHENSCHENKELN VON NOVEMBER 2003 BIS DEZEMBER 2004 | 68 |
| 4.4. PRÄVALENZ UND KEIMZAHLEN VON <i>CAMPYLOBACTER</i> SPP. IM MUSKEL VON HÄHNCHENSCHENKELN | 71 |
| 4.5. VERGLEICH DES VORKOMMENS VON <i>CAMPYLOBACTER</i> SPP. AUF DER HAUT UND IN DER ZUGEHÖRIGEN MUSKULATUR VON HÄHNCHENSCHENKELN | 72 |
| 4.6. TUPFERPROBEN DER MEDIALEN SCHENKELFLÄCHE | 73 |
| 4.7. ISOLATIONSRATE VON <i>CAMPYLOBACTER</i> SPP. AUF DER HAUT UND IN DER MUSKULATUR VON HÄHNCHENSCHENKELN IN ABHÄNGIGKEIT DES BEPROBUNGSMONATS | 73 |
| 4.8. <i>CAMPYLOBACTER</i> -KEIMZAHLEN AUF DER HAUT VON HÄHNCHENSCHENKELN IN ABHÄNGIGKEIT DES BEPROBUNGSMONATS | 74 |
| 5. DISKUSSION | 77 |
| 5.1. VERTEILUNG DER <i>CAMPYLOBACTER</i> -KEIMZAHL AUF HÄHNCHENSCHENKELN INNERHALB EINER HANDELS-PACKUNG | 78 |
| 5.2. VERGLEICHSUNTERSUCHUNGEN..... | 78 |
| 5.2.1. Vergleich von Haut- und Spülprobe | 78 |
| 5.2.2. Vergleich von Spatelverfahren und MPN-Technik | 80 |
| 5.3. VORKOMMEN UND ANZAHL THERMOPHILER <i>CAMPYLOBACTER</i> SPP. AUF DER HAUT UND IN DER MUSKULATUR VON HÄHNCHENSCHENKELN..... | 82 |
| 5.4. SAISONALER TREND DES VORKOMMENS UND DER ANZAHL THERMOPHILER <i>CAMPYLOBACTER</i> SPP. AUF HÄHNCHENSCHENKELN UND IN DER MUSKULATUR | 85 |
| 6. SCHLUSSFOLGERUNGEN | 88 |
| 7. ZUSAMMENFASSUNG | 89 |
| 8. SUMMARY | 92 |
| 9. LITERATURVERZEICHNIS..... | 94 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|--------------|--------------------------------------------------------|
| Abb. | Abbildung |
| a_w - Wert | Wasseraktivität |
| bp | Basenpaar |
| °C | Grad Celsius |
| C. | <i>Campylobacter</i> |
| D.Z. | Direktes Zählverfahren |
| DSM | Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen |
| GBS | Guillain-Barré-Syndrom |
| ISO | International Organization for Standardization |
| k.A. | Keine Angaben |
| KbE | Koloniebildende Einheiten |
| log | Dekadischer Logarithmus |
| MPN | Most Probable Number |
| N | Anzahl |
| NaCl | Natriumchlorid |
| PB | Preston Bouillon |
| PCR | Polymerase Chain Reaction |
| r | Resistent |
| s | Sensibel |
| spp. | Spezies |
| Tab. | Tabelle |
| v | Variabel |
| VBNC | viable but non culturable |

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. E. Bartelt für die allseits gewährte Hilfsbereitschaft und Unterstützung bei der Planung und Durchführung der vorliegenden Arbeit.

Herrn Prof. Dr. G. Hildebrandt danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas und die wissenschaftliche Betreuung sowie für die jederzeit gewährte fachlich kompetente Unterstützung.

Ganz herzlich bedanke ich mich bei

- Frau Vogt für die tatkräftige Hilfe im Labor
- Frau C. Sommerfeld für die statistische Betreuung
- Allen Mitarbeitern der Fachgruppe 42 des Bundesinstituts für Risikobewertung für jegliche Unterstützung sowie das gute Arbeitsklima
- Meinem Mann, István Szabó, der mir mit seinem analytischen Verstand zur Seite stand und mich in schwierigen Phasen der Doktorarbeit stets liebevoll umsorgt hat.
- Meinen Eltern und Freunden für ihre Hilfe und Unterstützung