

2. Literaturübersicht

2.1. Historischer Überblick

In einer 1886 veröffentlichten Publikation beschrieb THEODOR ESCHERICH ein spiralförmiges Bakterium aus dem Stuhl und Darm von an Durchfall erkrankter junger Katzen. Er nannte diese Keime daraufhin „*Vibrio felinus*“. Im gleichen Jahr berichtete er über den Nachweis ähnlicher Spirillen im Colon von Säuglingen, die an der „cholera infantum“ gestorben waren. Dabei beobachtete er spiralförmige Organismen in den Stuhlproben durchfallkranker Säuglinge unter dem Mikroskop, eine Kultivierung misslang jedoch. Trotz zunehmender Häufigkeit derartiger Befunde wurde den spiralförmigen Bakterien vorerst keine Rolle in der Ätiologie der enteraler Erkrankungen zugesprochen. Im Jahr 1913 beschrieben die Tierärzte MCFADYEAN und STOCKMAN ein unbekanntes, *Vibrio*-ähnliches Bakterium, das sich im Zusammenhang mit dem seuchenhaften Verwerfen der Schafe aus abortierten Lämmern isolieren ließ. In den darauffolgenden Jahren konnten im Rahmen der Untersuchung des infektiösen Aborts der Rinder morphologisch ähnliche, spiralförmige Bakterien aus dem Magen- und Darminhalt abortierter Rinderföten angezüchtet werden, die man als „*Vibrio fetus*“ bezeichnete (SMITH und TAYLOR, 1919). JONES et al. (1931) isolierten *Vibrio fetus*-ähnliche Bakterien aus dem Jejunum von Kälbern und Rindern, die an Winterdysenterie erkrankt waren, und nannten diese ihrem Fundort entsprechend *Vibrio jejuni*.

1944 gelang die Isolierung *Vibrio*-ähnlicher Bakterien aus dem Colon von an Dysenterie erkrankten Schweinen, worauf diese Mikroorganismen die Bezeichnung *Vibrio coli* erhielten (DOYLE, 1944). 1946 konnte LEVY den Erreger zum ersten Mal mikroskopisch in Stuhl- und Blutproben von an Enteritis erkrankten Menschen nachweisen, eine Kultivierung kam jedoch nicht zustande. Aufgrund der morphologischen Ähnlichkeit mit *V. coli* und *V. jejuni* nannte er diese Erreger *V. fetus*. Die erstmalige Isolierung von *Vibrio fetus* aus dem Blut und dem Geschlechtstrakt gravider Frauen mit Schwangerschaftskomplikationen wurde im darauffolgenden Jahr, d.h. 1947, von VINCENT und Mitarbeitern beschrieben. KING berichtete 1957 über einen aus dem Blut enteritiskranker Patienten isolierten Erreger, der zwar mit den morphologischen Merkmalen des von VINCENT et al. (1947) als *V. fetus* bezeichneten Organismus

übereinstimmte, jedoch ein Wachstumsoptimum bei höheren Temperaturen aufwies. Aus diesem Grund gab man diesen mit den Vibrionen verwandten Bakterien den Namen „related vibrios“. Einige Vibrionenstämme wurden später aufgrund des unterschiedlichen Guanosin-Cytosin-Gehaltes der DNA zu einer neuen Gattung zusammengefasst und unter dem Namen *Campylobacter* (griech. campylos = gebogen, bacterion = Stäbchen) geführt (SÉBALD und VÉRON, 1963). 1972 gelang erstmalig die Isolierung des Erregers aus Stuhlproben (DEKEYSER et al., 1972). Fünf Jahre darauf ermöglichte die Einführung antibiotikahaltiger Selektivnährböden durch SKIRROW (1977) die Isolation der Keime in der Routinediagnostik und führte somit zur Erkennung von *Campylobacter* als Erreger menschlicher Gastroenteritiden (BUTZLER et al., 1973; DE MOL und BOSMANS, 1978; BUTZLER und SKIRROW, 1979)

2.2. Taxonomie

Die taxonomische Einteilung der *Campylobacter* spp. erfolgte anfangs aufgrund morphologischer und biochemischer Eigenschaften, die Fortschritte in der Molekularbiologie und der Genomsequenzierung ermöglichten jedoch Anfang der 90er Jahre eine neue molekularbiologische Einteilung der *Campylobacter* spp. (VANDAMME et al., 1991; VANDAMME und DE LEY, 1991; VANDAMME und GOOSSENS, 1992). Die Familie der *Campylobacteriaceae* untergliedert sich nun nach Bergey's Manual[®] of Systematic Bacteriology (GARRITY et al., 2002) in Gattung I *Campylobacter*, Gattung II *Arcobacter* und Gattung III *Sulfospirillum* (Abb. 1). Die vier Spezies der Gattung *Arcobacter* zählten ehemals auch zur Gattung *Campylobacter*, da sie morphologisch sehr ähnlich sind. Sie unterscheiden sich jedoch von *Campylobacter* spp. hinsichtlich ihrer Sauerstofftoleranz und der Fähigkeit, auch bei niedrigen Temperaturen zu wachsen (15°C – 25°C) (VANDAMME et al., 1992). Eine Abgrenzung der Gattung *Helicobacter* und Zuordnung zu den *Helicobacteriaceae* aufgrund phänotypischer und genotypischer Unterschiede erfolgte bereits 1989 durch GOODWIN und Mitarbeiter.

Die Gattung *Campylobacter* umfasst derzeit 17 Spezies und 6 Subspezies. Neben *C. fetus fetus*, *C. sputorum* (mit subsp. *sputorum* und *bulbulus*), *C. hyointestinalis* (mit subsp. *hyointestinalis* und subsp. *lawsonii*) und *C. mucosalis* gehören die sogenannten thermophilen *Campylobacter* *C. jejuni* subsp. *jejuni*, *C. coli*, *C. lari* und *C. upsaliensis* zu den bedeutendsten Erregern, wobei *C. jejuni* und *C. coli* eine herausragende Rolle in der

Entstehung der Campylobacteriose des Menschen einnehmen. Die Bezeichnung „thermophil“ erklärt sich aus der optimalen Wachstumstemperatur von 42°C – 43°C, die über der anderer *Campylobacter*-Spezies liegt (SKIRROW, 1994). Es existieren zwei Subspezies von *C. jejuni*: zum einen subsp. *jejuni*, ein häufiger Auslöser der akuten Gastroenteritis, und zum anderen subsp. *doylei*, die weitaus seltener vorkommt, als anspruchsvoller gilt und nicht immer bei 42°C wächst.

Abb. 1: Taxonomie von *Campylobacter* (GARRITY et al., 2002)

Reich/Regum: Bacterial/Archaea
Abteilung/Phylum BXII: Proteobacteria phy. nov.
Klasse/Classis V: <i>Epsilonproteobacteria</i>
Ordnung/Ordo I: <i>Campylobacteriales</i>
Familie/Familia I: <i>Campylobacteriaceae</i>
Gattung/Genus I: <i>Campylobacter</i>
Gattung/Genus II: <i>Arcobacter</i>
Gattung/Genus III <i>Sulfospirillum</i>
Familie/Familia II: <i>Helicobacteriaceae</i>
Gattung/Genus I: <i>Helicobacter</i>

2.3. Eigenschaften von *Campylobacter* spp.

2.3.1. Bakterien- und Koloniemorphologie

Bakterien der Gattung *Campylobacter* sind gebogene bis spiralig gewundene, gelegentlich auch gerade, komma bis s- oder v- förmige, nicht sporenbildende gram-negative Stäbchen mit einem Durchmesser von 0,2 – 0,9 µm und einer Länge von 0,5 – 5 µm. Sie können sowohl kurze als auch lange Ketten ausbilden. Zellen alter Kulturen oder solche, die längere Zeit der Luft ausgesetzt waren, nehmen z. T. sphärische oder kokkoide Formen an (SMIBERT, 1978; KARMALI et al., 1981). *Campylobacter*-Keime sind beweglich durch

polare oder bipolare monotriche Begeißelung und zeigen dadurch eine charakteristische korkenzieherartige Bewegung (SMIBERT, 1984; URSING et al., 1994), die es ihnen ermöglicht, den Darm von warmblütigen Tieren und Vögeln zu besiedeln (PARK, 2002). Die Koloniemorphologie thermophiler *Campylobacter* hängt von der Art des Nährmediums und dessen Feuchtigkeitsgehalt ab. Bei relativ trockenem Agar wachsen die Bakterien als runde, erhabene, graue, seltener auch bräunliche, glänzende Einzelkolonien mit einem Durchmesser von 1 - 2 Millimetern. Auf frischem, feuchtem Nährboden bilden sie flache, unregelmäßige, teils zusammenfließende, grauglänzende Kolonien. Die Bildung von Schwärmmatten ist aufgrund ihrer Beweglichkeit ebenfalls möglich. Das Bakterienmaterial erscheint dann gelblich bis braun (HÄNNINEN, 1982). Die Kolonien wachsen geruchlos und erzeugen auf Blutagar keine Hämolyse (WANG et al., 1978; SKIRROW und BENJAMIN, 1980; NACHAMKIN et al., 2000; SCHULZE et al., 2000).

2.3.2. Physiologische und biochemische Reaktionen

Die Gattung *Campylobacter* ist microaerophil mit einem respiratorischen und chemoorganotrophischen Stoffwechsel. Die Sauerstofftoleranz der Spezies und Stämme zeigt sich variabel. Für eine optimale Kultivierung bieten sich Gasgemische mit Konzentrationen von 5% O₂, 10% CO₂ und 85% N₂ an (DOYLE und ROMAN, 1981; STERN et al., 1992; SCHULZE et al., 2000; HUNT et al., 2001).

Die Mikrophilie und die Fähigkeit, sich auch bei höheren Temperaturen zu vermehren, bilden vermutlich eine Folge der Anpassung der Keime an die atmosphärischen Verhältnisse im Verdauungstrakt von warmblütigen Tieren und insbesondere an die erhöhten Temperaturverhältnisse im Darm von Vögeln (LUECHTEFELD et al., 1981; KETLEY, 1997; PARK, 2002).

Campylobacter spp. sind asaccharolytisch, d.h. Kohlenhydrate werden weder fermentiert noch oxidiert. Zur Energiegewinnung werden Aminosäuren oder Zwischenprodukte des Tricarbonsäurezyklus genutzt.

Oxidase wird von allen *Campylobacter* spp. gebildet, die Katalasereaktion hingegen fällt unterschiedlich aus. Der optimale pH-Wert Bereich für das Wachstum liegt zwischen pH 6,5 und 7,5, unterhalb eines pH-Wertes von 4,9 findet keine Vermehrung statt (GILL und

HARRIS, 1983).

In Tabelle 1 ist die derzeit gültige Klassifizierung mit den wichtigsten biochemischen Eigenschaften von *Campylobacter* spp. dargestellt.

2.3.3. Identifizierung und Differenzierung

2.3.3.1. Phänotypische Differenzierung

Die häufigsten phänotypischen Untersuchungen, die in der Routinediagnostik zur Anwendung kommen, sind folgende: die Beurteilung der Bakterien- und Koloniemorphologie, der Beweglichkeit und des Wachstums von thermophilen *Campylobacter* spp. bei 43°C und 25°C, Katalasebildung, Hippurathydrolyse, Nitratreduktion, H₂S-Produktion und das Überprüfen der Antibiotikasensibilität (BARRETT et al., 1988; ON et al., 1995).

Die Unterscheidung der an gastroenteralen Erkrankungen des Menschen am häufigsten beteiligten Spezies *C. jejuni* und *C. coli* erfolgt mittels der Hippurat-Hydrolyse, zu der nur *C. jejuni* in der Lage ist (SKIRROW und BENJAMIN, 1980). Das Ergebnis des Tests muß jedoch vorsichtig beurteilt werden, da auch hippuratnegative *C. jejuni*-Isolate vorkommen (TOTTEN et al., 1987). Untersuchungen haben bei einigen Isolaten zum Nachweis des für die Hippurat-Hydrolyse verantwortlichen Gens geführt, nicht aber dessen Transkription (LINTON et al., 1997). Zudem konnte beobachtet werden, dass die Fähigkeit, Hippurat zu spalten, nach mehreren Passagen erlischt, weshalb es zu falsch negativen Ergebnissen kommen kann und dadurch eine biochemische Differenzierung unzuverlässig wird (BAR und FRICKE, 1987). Mit Hilfe molekularbiologischer Methoden, wie der PCR (Polymerase Chain Reaction) und PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), mussten biochemisch als *C. coli* identifizierte Isolate den hippuratnegativen *C. jejuni*-Stämmen zugeordnet werden (STEINHAUSEROVA et al., 2001).

Die Untersuchung der Antibiotikasensibilität stellt ein weiteres Differenzierungskriterium dar. Über eine Resistenzüberprüfung mit Nalidixinsäure und Cephalothin können die gegenüber Nalidixinsäure empfindlichen, Cephalothin resistenten *C. jejuni* und *C. coli*-Stämme gegen die Nalidixinsäure resistenten *C. lari*-Stämme abgegrenzt werden (LIOR,

1984; PIDDOCK, 1995). Allerdings sind auch diesem Verfahren Grenzen gesetzt, da sich in den letzten Jahren eine steigende Nalidixinsäureresistenz - bedingt durch den vermehrten Einsatz von Fluorochinolonen in der Veterinärmedizin - beobachten ließ (ENDTZ et al., 1991; RAUTELIN, 1991; JACOBS-REITSMA et al., 1994b; GEILHAUSEN et al., 1995).

Eine weitere phänotypische Methode bildet die Serotypisierung, wie sie häufig im Rahmen epidemiologischer Untersuchungen angewandt wird. Üblicherweise werden hierfür zwei Methoden eingesetzt, eine von PENNER entwickelte Methode, die auf dem Nachweis löslicher hitzelabiler oder somatischer Oberflächenantigene mittels passiver Hämagglutination basiert (PENNER und HENNESSY, 1980) und zum anderen das Verfahren von LIOR (LIOR et al., 1982), bei dem hitzelabile Oberflächenantigene mittels Objektträgeragglutination bestimmt werden. Aufgrund von Schwierigkeiten bei der passiven Hämagglutination war es erforderlich, die PENNER'sche Methode zu modifizieren und eine dritte, auf der aktiven Hämagglutination somatischer Oberflächenantigene basierende Technik zu entwickeln (FROST et al., 1998).

Die Aussagekraft der Serotypisierung begrenzt sich durch das Auftreten nicht typisierbarer Stämme oder solcher Isolate, bei denen die Typisierung aufgrund einer Antigenvariation unzuverlässige Ergebnisse liefert (NISHIMURA et al., 1996; ASRAT et al., 1997; NIELSEN et al., 1997; MCKAY et al., 2001). Zudem schränkt der Mangel an kommerziell erhältlichen Antiseren sowie mögliche Kreuzreaktionen zwischen den Antiseren den Einsatz der Serotypisierung im Rahmen epidemiologischer Untersuchungen ein (PRESTON und PENNER, 1987, 1989; MILLS, 1992).

Weitere phänotypische Methoden sind die Biotypisierung (BOLTON et al., 1984) und die Phagentypisierung (GRAJEWSKY et al., 1985; SALAMA et al., 1990; KHAKHIRA und LIOR, 1992). AARTS et al. (1995) sowie WASSENAAR und NEWELL (2000) empfehlen die Ergebnisse einer phänotypischen Technik durch eine zweite, gegebenenfalls genotypische Methode abzusichern.

Tab. 1: Kulturelle und biochemische Differenzierungsmerkmale für *Campylobacter* spp. (modifiziert nach VANDAMME und GOOSSENS, 1992; ON, 2001)

Spezies	Biochemische Reaktionen					Wachstumsbedingungen				Antibiotika-sensibilität	
	Oxidase	Katalase	Hippurathydrolyse	Indoxylacetat	Nitratreduktion	25°C	43°C	1% Glycin	3,5% NaCl	Nalidixinsäure	Cephalothin
<i>C. jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	+	+	+	+	+	-	+	+	-	s	r
<i>C. jejuni</i> subsp. <i>doylei</i>	+	v	v	+	-	-	+	+	-	s	s
<i>C. coli</i>	+	+	-	+	+	-	+	+	-	s	r
<i>C. lari</i>	+	+	-	-	+	-	+	+	-	r	r
<i>C. upsaliensis</i>	+	v	-	+	-	+	v	-	-	s	s
<i>C. hyointestinalis</i>	+	+	-	-	+	v	+		-	r	s
<i>C. mucosalis</i>	+	-	-	-	v	v	+	v	-	r	s
<i>C. rectus</i>	+	v	-	+	+	-	v	+	-	s	v
<i>C. helveticus</i>	+	-	-	+	+	-	+	v	-	s	s
<i>C. fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	+	+	-	-	+	+	-	+	-	r	s
<i>C. fetus</i> subsp. <i>veneralis</i>	+	+	-	-	+	+	-	+	-	v	s
<i>C. sputorum</i> subsp. <i>sputorum</i>	+	-	-	-	+	-	+	+	-	s	s
<i>C. sputorum</i> subsp. <i>faecalis</i>	+	+	-	-	+	-	+	+	-	r	s

+ = positive Reaktion; - = negative Reaktion; s = sensibel; r = resistent; v = variabel

2.3.3.2. Identifizierung und Differenzierung mittels kommerzieller Testkits

Bei dem kommerziell erhältlichen *Campylobacter*-Testkit Api-Campy (API –bioMérieux Ltd.; Mast ID Camp Identification Kit, Mast Diagnostics) können nicht nur achtzehn Stoffwechselleistungen sondern auch die Empfindlichkeit gegenüber drei Antibiotika überprüft werden. Ein Einsatz des Systems in der Routinediagnostik wird jedoch aufgrund der umstrittenen Auswertung und Zuverlässigkeit verschiedentlich abgelehnt (HUYSMANS et al., 1995).

Als geeigneter für eine schnelle und einfache Identifizierung von *Campylobacter* spp. gelten immunologische Verfahren, bei denen Antigen-Antikörper Komplexe auf einem Objektträger oder einer Mikrotiterplatte (Latex-Agglutinationskit, INDX-Campy, Integrated Diagnostics) nachgewiesen werden können (HOORFAR et al., 1999).

2.3.3.3. Genotypische Differenzierung

Das Genom von *Campylobacter* spp. ist verhältnismäßig klein, es umfasst ca. 1,6 Mio. bp, eine genotypische Identifizierung gestaltet sich demnach schwierig (PARKHILL et al., 2000). Es sind verschiedene molekularbiologische Methoden zur Speziesdifferenzierung entwickelt worden (WASSENAAR, 2000). Zur Typisierung von *Campylobacter* spp. im Rahmen epidemiologischer Untersuchungen werden folgende genotypischen Methoden eingesetzt: PFGE (Pulse Field Gel Electrophoresis), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), Ribotyping und Flagellin Typing (fla typing) (WASSENAAR und NEWELL, 2000) und die PCR (WEGMÜLLER et al., 1993; GONZALEZ et al., 1997).

Die konventionelle PCR-Methode beruht auf dem Nachweis chromosomaler Gensequenzen, die jedoch auch bei inaktivierten Zellen vorhanden sind. Mittels konventioneller PCR kann demnach keine Aussagen über die Lebensfähigkeit der Zellen getroffen werden. Aus diesem Grund relativiert sich der Einsatz dieser Methoden im Bereich der Lebendmittelmikrobiologie im Hinblick auf eine lebensmittelrechtliche Beurteilung (MOORE et al., 2005).

Um die Lebensfähigkeit der *C. jejuni*-Zellen nachzuweisen, setzten SAILS et al. (1998) die mRNA (messenger RNA) als Ansatzpunkt der RT-PCR (Reverse Transcriptase-PCR) ein.

Diese Methode ermöglichte eine Unterscheidung zwischen lebensfähigen und durch Hitze inaktivierten Zellen. Dennoch konnte keine zuverlässige Aussage getroffen werden, da die mRNA-Rate der Zellen durch die Art der Inaktivierung und die Aufbewahrung beeinflusst wurde. Für Ausbruchsuntersuchungen und im Zuge der Überwachung empfiehlt es sich, zur Speziesidentifizierung eine Kombination aus molekularbiologischen und serologischen oder phänotypische Methoden anzuwenden (PATTON et al., 1991; OYOFO et al., 1992).

2.4. Isolierung und Kultivierung

SKIRROW entwickelte 1977 das erste Selektivmedium auf Blutbasis für *Campylobacter* spp. In den darauffolgenden Jahren wurden zahlreiche Anreicherungsmedien, Nährböden und Methoden für die Isolierung von *Campylobacter* spp. etabliert. Durch den Zusatz von Antimykotika und verschiedenen Antibiotika-Kombinationen zur Unterdrückung der Begleitflora gelang es, die Isolationsrate von *Campylobacter* spp. stetig zu erhöhen. Heutzutage kommen verschiedene mit Blut oder Kohle versetzte selektive Nährböden mit unterschiedlichen Hemmstoff-Supplementierungen zur Anwendung. Als Blutzusatz wird häufig lysiertes, defibriniertes Schaf- oder Pferdeblut verwendet. Der Kohle wird Hämin oder Hämatin zugesetzt, um die Sauerstofftoleranz zu erhöhen und die Keime vor Licht und toxischen Sauerstoffderivaten wie Peroxiden oder Superoxidanionen zu schützen.

Zur Unterdrückung der Begleitflora werden den Selektivmedien verschiedene antimikrobiell wirksame Substanzen, wie z.B. Amphotericin B, Bacitracin, Cephalothin, Cefalozin, Cefoperazon, Colistin, Novobiocin, Polymyxin B, Rifampicin, Trimetoprim und Vancomycin zugesetzt (NACHAMKIN, 1999). Aufgrund des heterogenen Resistenzverhaltens von *Campylobacter* spp. wird empfohlen, zwei Selektivmedien parallel zu verwenden, um die Sensitivität zu steigern (GOOSENS und BUTZLER, 1991). Der pH-Wert der Nährmedien sollte zwischen 7,0 und 7,5 liegen (BUTZLER et al., 1983). In einer Studie von GUN-MUNRO et al. (1987) wurden verschiedene Selektivnährböden zur Isolierung thermophiler *Campylobacter* spp. verglichen, wobei sich der blutfreie modifizierte Charcoal-Cefoperazone-Desoxycholate-Agar (mCCDA) sowie der Karmali-Selektivagar den bluthaltigen Medien bezüglich der Reisolierung und der Hemmung der fäkalen Begleitflora als überlegen erwiesen.

Thermophile *Campylobacter* spp. sind meist nur in geringen Mengen in Lebensmitteln vorhanden und häufig durch äußere Einflüsse, wie Hitze, Sauerstoff, Trockenheit und UV-Licht, subletal geschädigt, so dass eine Resuszipation der Keime in flüssigen Anreicherungsmedien erforderlich ist (WANG et al., 1980; HOLLÄNDER, 1984; STEELE und MCDERMOTT, 1984). Als Selektiv- Anreicherungsmedien finden u.a. das Medium nach PRESTON, BOLTON und HUNT sowie die *Campylobacter*-Enrichment-Broth (CEB) Verwendung (HUNT et al., 2001).

Die Inkubation erfolgt unter microaeroben Bedingungen (5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂) (BOLTON und COATES, 1983; THOMPSON et al., 1990; HUNT et al., 2001), die mittels gasdichter Gefäße und bestimmter Gas-Entwickler-Kits, z.B. von Anaerokult C, Merck Oxoid oder Gas Pak BBL, erzeugt und aufrechterhalten werden (BUCK et al., 1982). Geeignet sind ebenfalls begasbare Zellbrutschränke mit Modular Atmosphere Control System, bei denen die benötigte Gaszusammensetzung eingestellt werden kann (ANNABLE et al., 1998). Das Temperaturoptimum thermophiler *Campylobacter* spp. liegt - wie bereits erwähnt - zwischen 37°C und 43°C. Um die Selektivität zu erhöhen, empfiehlt sich eine Bebrütungstemperatur von 42°C zur Unterdrückung der Begleitflora (BARROS-VELAZQUEZ et al., 1999).

Eine weitere Methode, *Campylobacter* spp. zu isolieren, bildet die Membranfiltration. Der Vorteil dieser Technik besteht darin, dass auf ein selektives Nährmedium verzichtet werden kann und somit auch *Campylobacter*-Spezies isoliert werden, die durch Hemmstoffe in den Selektivnährmedien unterdrückt und dadurch nicht erfasst werden können. Für die Durchführung des Verfahrens wird eine cellulosehaltige Filtermembran mit einer Porengröße von 0,65 µm oder 0,45 µm auf ein vorzugsweise bluthaltiges Nährmedium aufgebracht und eine kleine Menge der zu untersuchenden Probensuspension auf dem Filter verteilt. *Campylobacter* sind im Unterschied zu anderen Keimen in der Lage, die Membran zu durchdringen. Der Filter wird nach 30 bis 60 Minuten entfernt und die Inkubation unter microaeroben Bedingungen fortgesetzt. Mit 10⁵ KBE/ml besitzt die Membranfiltration jedoch eine vergleichsweise hohe Nachweisgrenze, so dass sie nur bei der Isolierung von *Campylobacter* spp. aus keimreichen Materialien Anwendung findet (STEELE und MCDERMOTT, 1984; CORRY et al., 1995; NACHAMKIN, 1999).

2.5. Quantitative Bestimmung von *Campylobacter* spp.

Bei der mikrobiologischen Beprobung ganzer Tierkörper oder von Teilstücken lassen sich nicht-destruktive Verfahren, bei denen das Äussere und die Qualität der Karkasse nicht beeinträchtigt werden, von destruktiven Verfahren, bei deren Anwendung die Beschaffenheit der Matrix verändert wird, unterscheiden.

Zu den nicht-destruktiven Verfahren zählt beispielsweise die Spülprobe. Hier wird die Karkassenoberfläche mit einem flüssigen Medium, das anschliessend für den qualitativen und quantitativen Keimnachweis herangezogen wird, abgespült. Ein weiteres nicht-destruktives Verfahren stellt die Tupferprobe dar, bei dem entweder die gesamte Karkassenoberfläche oder ein definiertes Areal mit einem Tupfer, einem Schwamm oder einer Gaze beprobt werden. Das zum Tupfern der Oberfläche verwendete Material wird in ein flüssiges Medium überführt, mit diesem mittels Stomacher oder manuell vermischt und anschliessend quantitativ bzw. qualitativ untersucht.

Die Gewinnung einer Gewebeprobe aus der Karkasse kann entweder über ein destruktives Verfahren, indem beispielsweise Muskulatur entnommen wird, oder im Fall des Geflügels auf nicht-destruktivem Weg durch Entfernen der Halshaut erfolgen (MCEVOY et al., 2005). Die Mehrheit der bisher publizierten Studien bezeichnen das Entnehmen und anschliessende Homogenisieren von Muskel oder Haut als das effektivste Verfahren für den mikrobiologischen Nachweis. Verglichen mit nicht-destruktiven Methoden ergeben sich verlässlichere Keimzahlen mit geringerer Streuung, zumal die meisten der fest an der Oberfläche haftenden Bakterien erfasst werden (SHARPE et al., 1996; GILL und JONES, 2000; CAPITA et al., 2004; MCEVOY et al., 2005).

In Tabelle 2 sind die Vor- und Nachteile destruktiver und nicht-destruktiver Verfahren für die Keimzahlbestimmung auf Geflügelkarkassen dargestellt.

In der Literatur finden sich zahlreiche Methoden zum Nachweis von thermotoleranten *Campylobacter* in Faeces, Wasser und Lebensmitteln (CORRY et al., 1995). Um einheitliche und vergleichbare Ergebnisse der im Rahmen des internationalen Handel untersuchten Lebensmittel zu gewährleisten, wurde 1996 ein horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Zählung von thermotoleranten *Campylobacter* (ISO 10272) geschaffen

(FEDERIGHI et al., 1999). Teil 1 beschreibt die mikrobiologische Technik (ANONYMUS, 2006a), Teil 2 enthält Verfahren zur Koloniezählung des Erregers (ANONYMUS, 2006b). Die 8. Ausgabe des FDA Bacteriological Analytical Manual (HUNT et al., 2001) enthält ebenfalls eine detaillierte Anweisung zur Isolation von *Campylobacter* aus Lebensmitteln und Wasser.

Die Untersuchung ganzer oder halber Geflügelkarkassen auf *Campylobacter* wird häufig mittels Spülprobe durchgeführt, hierbei wird die gesamte Oberfläche mit einem selektiven Anreicherungsmedium gespült und gegebenenfalls abmassiert. Die Spüllösung wird anschliessend entweder zentrifugiert und das resuspendierte Pellet in eine selektive Anreicherungsbouillon überführt oder direkt auf einen selektiven Festnährboden aufgebracht (BERRANG und DICKENS, 2000; LINE et al., 2001; DUFRENNE et al., 2001; JOSEFSEN et al., 2003; MUSGROVE et al., 2003; NORTH CUTT et al., 2003; STERN und ROBACH, 2003; MELDRUM et al., 2004; NANNAPANENI et al., 2005; OYARZABAL et al., 2005). Der Nachweis von *Campylobacter* auf der Oberfläche von Karkassen oder Teilstücken kann auch durch Überstreichen eines definierten Areal (cm²) mit einem Tupfer erfolgen (HOOD et al., 1988; BERNDTSON et al., 1992).

Eine weitere Modifikation der Probenaufbereitung für die Isolierung von *Campylobacter* stellt das direkte Einwiegen und anschliessende Homogenisieren von 25 g Muskulatur oder Haut in einem selektiven Anreicherungsmedium im Verhältnis von 1:10 dar (TOKUMARU et al., 1991; BERNDTSON et al., 1992; MEAD et al., 1995; JORGENSEN et al., 2002).

Die quantitative Bestimmung von *Campylobacter* erfolgt in der Regel über ein direktes Zählverfahren, bei dem die einzelnen Verdünnungsstufen auf einen selektiven Festnährboden ausgestrichen oder ausgespatelt und die Kolonien nach der Inkubation direkt ausgezählt werden. Die Keimzahl wird in der Regel über das gewogene arithmetische Mittel berechnet und in KbE pro g beim direkten Einwiegen von Probenmaterial bzw. in ml Spülflüssigkeit angegeben.

Die Keimzahl kann auch über ein MPN-Verfahren (Most Probable Number, deutsch: höchstwahrscheinliche Keimzahl) bestimmt werden. Bei dieser auf einer Kombination von Presence-Absence-Tests beruhenden Methode wird die Keimzahl einer Probe aus der

Relation positiver zu negativer Resultate geschätzt und nicht wie bei dem üblichen Plattenzählverfahren direkt ermittelt. Die Auswertung und Absicherung der Ergebnisse geschieht mit Hilfe entsprechender Tabellen. Für die praktische Bestimmung der Most Probable Number wird von dem Probenhomogenisat oder der Spülflüssigkeit zunächst eine Verdünnungsreihe angelegt. Aus jeder Verdünnungsstufe werden dann jeweils 1 ml in Reagenzgläser mit selektiver Nährbouillon überführt. Am häufigsten gewählt werden der Verdünnungsfaktor 1:10 sowie 3 Verdünnungsstufen bestehend aus jeweils 3 oder 5 Röhren. Nach entsprechender Inkubation kann das Keimwachstum anhand der Trübung abgelesen werden. Läßt sich die Trübung aufgrund der Farbe der selektiven Nährbouillon nicht eindeutig diagnostizieren, sollte aus jedem Röhren zusätzlich Material auf einen selektiven Festnährboden ausgestrichen werden.

Das Untersuchungsergebnis wird in Form eines Codes angegeben, der die Zahl der positiven Röhren in ansteigender Verdünnungsfolge angibt (z.B. 3/1/0 bei einem multiplen 3-Röhren-Test). Die zu dem Code gehörende Keimzahl kann einer statistischen MPN-Tabelle entnommen werden (DE MAN, 1983). Die Keimzahl wird als MPN/g bzw. ml angegeben und oftmals durch das 95% Konfidenzintervall des jeweiligen Wertes ergänzt.

Allerdings verlangt die MPN-Technik einen weit höheren Material- und Arbeitsaufwand als das direkte Zählverfahren. Darüber hinaus ist es diesem auch in seiner Genauigkeit deutlich unterlegen. Andererseits bietet die MPN-Technik auch einige Vorteile. Insbesondere bei geringen Keimzahlen wird ihr aufgrund der besseren Wachstumsbedingungen flüssiger Medien eine höhere Sensibilität zugesprochen als dem direktem Zählverfahren auf Festnährböden. Das flüssige Medium trägt vermutlich dazu bei, aufgrund der leichteren Verfügbarkeit der Nährstoffe die Isolierung sowie die Genesung subletal geschädigter Zellen zu verbessern. Ein weiterer Vorteil der MPN-Technik liegt im Einsatz großer Volumina, so werden meist in der ersten Stufe der Verdünnungsreihe Probenmengen von 10 ml inkubiert und auf diese Weise die Nachweisgrenze auf 0,03 MPN/g bzw. ml zu senken und somit die Empfindlichkeit des Verfahrens zu erhöhen. Folglich eignet sich die MPN-Technik besonders für den Nachweis geringer Keimmengen und/oder den Fall, dass die Bakterien auf Festnährböden schlecht anwachsen (HILDEBRANDT und ARNDT, 1982; PEELER et al., 1992; HILDEBRANDT und SCHOTT, 2001).

Eine Interpretation der Literaturdaten über *Campylobacter*-Zahlen auf und in Geflügelfleisch fällt indessen schwer, weil die Erhebungen zur quantitativen Bestimmung hinsichtlich des Probentyps (ganze Hähnchen oder Hähnchenteile, frischer oder gefrorener Zustand), der Probenaufbereitung (Spülprobe, Hautprobe oder Tupferprobe) und des Zählverfahrens (Direktes Zählverfahren oder Most Probable Number Technique) variieren. Je nach Probenaufbereitung erfolgt die Angabe der *Campylobacter*-Anzahl in koloniebildenden Einheiten pro ml (Spülprobe), pro g (Hautprobe) oder pro cm² (Tupferprobe), was den Vergleich zusätzlich erschwert.

Tab. 2: Vor- und Nachteile destruktiver und nicht-destruktiver Verfahren für die Keimzahlbestimmung auf Geflügelkarkassen (modifiziert nach CAPITA et al., 2004)

Verfahren	Vorteile	Nachteile
destruktiv ➤ Hautprobe ➤ Muskelprobe	<ul style="list-style-type: none"> - verlässliches Keimzahlergebnis mit geringer Streuung - Erfassung auch fest haftender Keime 	<ul style="list-style-type: none"> - Beeinträchtigung der äußeren Beschaffenheit der Karkasse - qualitätsmindernd - begrenzte Beprobungsfläche - ungeeignet für Routineuntersuchung
nicht-destruktiv ➤ Tupferprobe ➤ Spülprobe	<ul style="list-style-type: none"> - keine oder geringe Beschädigung der Karkasse - für großflächige Beprobung geeignet - keine oder geringe Beschädigung der Karkasse - ähnliche Keimzahlergebnisse wie mit Haut- und Spülprobe - 10-fach höhere Keimzahl als mit Tupferprobe 	<ul style="list-style-type: none"> - variable Keimzahlergebnisse, da nur oberflächlich haftende Keime erfasst werden - ermittelte Keimzahl von vielen Faktoren abhängig - nur für Hähnchenkarkassen oder Teilstücke geeignet

2.6. Tenazität von *Campylobacter* spp.

2.6.1. Temperatur

Thermophile *Campylobacter* sind nicht in der Lage, bei Temperaturen unter 30°C zu wachsen, so dass es im Unterschied zu vielen anderen lebensmittelassoziierten Erregern zu keinem Anstieg der Zellzahlen im Lebensmittel während der Verarbeitung oder der Lagerung kommt. Die Fähigkeit, sich unter 30°C zu vermehren, ist auf die Bildung sogenannter cold shock-Proteine zurückzuführen, und eine Analyse der Genomsequenz von *C. jejuni* hat gezeigt, dass der Keim diese Eiweiße nicht zu produzieren vermag (PHADTARE et al., 1999).

Campylobacter-Keime sind empfindlich gegenüber hohen Temperaturen und überleben nicht in Lebensmitteln, die pasteurisiert oder ausreichend erhitzt wurden (PARK, 2002). In Milch liegt der D-Wert von *C. jejuni* bei einer Temperatur von 48°C zwischen 7,2 und 12,8 Minuten und bei 55°C zwischen 0,74 und 1,0 Minuten (DOYLE und ROMAN, 1981). Eine Erhitzung von 50°C für ca. 6 Minuten führt in Fleisch zur Inaktivierung des Erregers, bei einer Temperatur von 60°C werden die Keime in weniger als 1 Minute inaktiviert (GILL und HARRIS, 1982; KOIDIS und DOYLE, 1983). Der D-Wert in zerkleinertem Hähnchenfleisch beträgt bei einer Temperatur von 49°C ca. 20 Minuten, bei 57°C hingegen nur 0,8 Minuten (BLANKENSHIP und CRAVEN, 1982).

Die Überlebensfähigkeit der Keime ist in gekühlten Lebensmitteln besser als in solchen, die bei Raumtemperatur gelagert werden (CHRISTOPHER et al., 1982; KOIDIS und DOYLE, 1983, 1984; HAZELEGER et al., 1998; PARK, 2002). *C. jejuni* kann bei 4°C in Flusswasser bis zu vier Wochen, in Kuhmilch drei Wochen und in Hähnchen- und Hackfleisch bis zu sieben Tage überleben (WUNDT et al., 1985). Die physiologischen Aktivitäten (ATP-Produktion, Chemotaxis, Katalaseaktivität, Zellatmung) bleiben auch bei 4°C bestehen, und die Keime sind weiterhin beweglich, so dass sie günstigere Umgebungsbedingungen aufsuchen können (HAZELEGER et al., 1998). Trotzdem kommt es bei Umgebungstemperaturen von 4°C und insbesondere beim Tiefgefrieren (-20°C) zu einer subletalen Schädigung der Zellen (CHAN et al., 2001; MOORHEAD und DYKES 2002; BHADURI und COTTRELL, 2004). In künstlich kontaminiertem Hähnchenfleisch,

das 17 Tage bei einer Temperatur von 4°C aufbewahrt wurde, trat eine Reduzierung der Keimzahl von log 1 bis log 2 koloniebildende Einheiten (KbE) auf. Für Proben, die bei 23°C aufbewahrt wurden, ließ sich sogar ein Keimrückgang von log 2,5 bis log 5,0 KbE nachweisen (BLANKENSHIP und CRAVEN, 1982).

STERN et al. (1984) fanden in gekühltem Geflügelfleisch eine bis zu 5-fach höhere *Campylobacter*-Keimzahl als in gefrorenem Material.

2.6.2. NaCl

Die optimale NaCl-Konzentration für das Wachstum von *C. jejuni* beträgt 0,5% (STERN und KAZMI, 1989). Bereits eine 2%-ige NaCl-Konzentration wirkt bakterizid (HÄNNINEN, 1981; ABRAM und POTTER, 1984).

2.6.3. Desinfektions-und Konservierungsmittel

Campylobacter-Keime reagieren empfindlich auf die gängigen Desinfektionsmittel, wie sie von der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) empfohlen und in der Lebensmittelindustrie eingesetzt werden. Bei sachgemäßer Anwendung und entsprechender Dosierung dieser Mittel werden *Campylobacter* in einer Konzentration von 10^5 - 10^7 KbE/ml bei einer Temperatur von 24°C bis 26°C und einem pH-Wert von 7 innerhalb einer Minute inaktiviert (WANG et al., 1983). Auch Chlor gilt als wirksam gegenüber *Campylobacter* (MCNAMARA, 1994; MEAD et al., 1995), dennoch konnten WEMPE et al. (1983) den Erreger im Geflügelschlachtbetrieb trotz chlorierten Kühlwassers nachweisen. Möglicherweise verliert Chlor seine desinfizierende Wirkung auf *Campylobacter*, die zuvor Gelegenheit hatten, sich an Geflügelhaut anzuheften (RHODEHAMEL und PIERSON, 1990).

Weiterhin konnte belegt werden, dass Ascorbinsäure bei einer Konzentration von 0,05% wachstumshemmend und ab 0,09% auch bakterizid wirkt. Hierbei ist der inhibierende Effekt auf Oxidationsprodukte der L- Ascorbinsäure zurückzuführen und nicht auf die Säure selbst (FLETCHER et al., 1983; JUVEN und KANNER, 1986).

2.6.4. Trockenheit

Campylobacter reagieren sehr empfindlich auf Wasserverlust, und die Überlebensrate der Keime auf trockenen Oberflächen ist gering (FERNANDEZ et al., 1985). Das Isolieren der Keime gelingt in der Regel nur von feuchten Oberflächen. Bei a_w -Werten unter 0,97 findet eine schnelle Keimreduzierung statt (DOYLE und ROMAN, 1982). Niedrige Temperaturen und hohe Feuchtigkeit begünstigen, erhöhte Temperatur und geringe Feuchtigkeit hingegen erschweren das Überleben von *Campylobacter* (BORNEMANN-ROHRIG, 1985).

2.6.5. Antibiotika

Es treten große Unterschiede in der Antibiotikasensibilität von *Campylobacter* auf. Der überwiegende Teil der von Menschen und Tieren gewonnenen Isolate weist eine hohe Empfindlichkeit gegenüber Erythromycin, Gentamycin, Clindamycin und Chloramphenicol auf. Schwache bis mäßige Resistenzen hingegen bestehen gegen Ampicillin, Cephalothin, Streptomycin und Tetrazykline (KANEUCHI et al., 1988; BOOSINGER et al., 1990; HARIHARAN et al., 1990).

Der Einsatz von Enrofloxacin in der Veterinärmedizin führte zu einer steigenden Resistenz von *Campylobacter* gegenüber Chinolonen (RAUTELIN et al., 1991). Einer niederländischen Studie zufolge stieg die Chinolonresistenz humaner *Campylobacter*-Isolate in den Jahren 1982 bis 1989 von 0% auf 11%. Parallel dazu war in den Jahren 1982 bis 1989 eine Zunahme der Chinolonresistenz bei Geflügel-Isolaten von 0% auf 14% zu verzeichnen. Hierbei erwiesen sich *C. coli*-Stämme häufiger resistent gegenüber Chinolonen als *C. jejuni*-Stämme, denn der Anteil unempfindlicher Isolate betrug 14% gegenüber 6% (ENDTZ et al., 1991). In Spanien konnte sogar bei 88% der *Campylobacter*-Isolate eine Resistenz gegenüber Chinolonen nachgewiesen werden (RUIZ et al., 1998). In den Vereinigten Staaten durchgeführte molekulare Subtypisierungen ergaben, dass *Campylobacter*-Isolate von Geflügelprodukten aus dem Handel und Humanisolate von klinisch erkrankten Patienten nahezu identische Resistenzmuster aufwiesen (SMITH et al., 1999, 2000).

In Deutschland kam es in den Jahren 1991 bis 2002 zu einem signifikanten Anstieg der Ciprofloxacin-, Ampicillin- und Tetracyclinresistenz humaner *Campylobacter*-Isolate. Bei

Campylobacter coli-Stämmen ließ sich zudem eine Zunahme der Erythromycinresistenz von 7,1% auf 29,4% dokumentieren (LUBER et al., 2003).

2.6.6. Überleben von *Campylobacter* spp. in modifizierter Atmosphäre- und Vakuumverpackung

Das Verpacken unter modifizierter Atmosphäre oder Vakuum wird bei Fleisch und Fleischerzeugnissen vielfach angewendet. Es besteht aber nur eine geringe hemmende Wirkung auf das Wachstum von *Campylobacter*.

Einige Studien zeigten, dass die Erreger auf Rind- und Geflügelfleisch, das unter Vakuum, verschiedenen modifizierten Gasatmosphären oder mit einer Sauerstoff durchlässigen Folie verpackt und bei 4°C gelagert wurde, durchaus überleben (HÄNNINEN et al., 1984; WESLEY und STADELMAN, 1985). In einer ähnlichen Erhebung konnte sogar eine höhere Überlebensrate von *Campylobacter* in künstlich kontaminiertem Truthahnfleisch, das bei 4°C und mit 40% bis 100% CO₂ inkubiert wurde, beobachtet werden (PHEBUS et al., 1991). STERN et al. (1986) isolierten aus vakuumverpacktem Rindfleisch eine größere Anzahl von *Campylobacter* als aus Proben, die in eine sauerstoffdurchlässige Folie eingeschlagen waren.

2.6.7. Bestrahlung

Campylobacter erwiesen sich als empfindlich gegenüber ultravioletter Strahlung und γ - Strahlung (WESLEY und STADELMAN, 1985). Die Zellen werden nach einer zehnminütigen UV-Bestrahlung inaktiviert und sind danach nicht mehr kultivierbar (OBIRI-DANSO et al., 2001). In Nährmedien werden *Campylobacter* durch eine Bestrahlungsdosis von 1 kGy abgetötet (TARJAN, 1984). *C. jejuni* reagiert gegenüber ultravioletter Strahlung empfindlicher als *E. coli* und *Y. enterocolitica* (BUTLER et al., 1987), durch γ -Strahlung lassen sich *Campylobacter* leichter inaktivieren als Salmonellen (LAMBERT und MAXCY, 1984; TARJAN, 1984).

2.6.8. Oxidativer Stress

Die Anwesenheit von Sauerstoff führt zur Bildung von toxischen Sauerstoffradikalen. Derartige Substanzen schädigen die Bakterienzelle, indem sie mit Nukleinsäuren, Proteinen und der Zellwand reagieren. Obwohl *Campylobacter* sich unter bestimmten Bedingungen in der Anwesenheit von O₂ vermehren können (JONES et al., 1993), gelten sie aufgrund ihrer Empfindlichkeit gegenüber Sauerstoff und dessen Radikalen als microaerophil, denn bei einer Sauerstoffkonzentration von 15% bis 21% findet kein Wachstum mehr statt (HODGE und KRIEG, 1994).

Zum Schutz vor Sauerstoffradikalen bilden *Campylobacter* verschiedene Enzyme aus. Dazu gehören SOD (Superoxiddismutase), Alkyl-Hydroperoxid Reduktase und Katalase (PURDY und PARK, 1994; PESCI et al., 1994; GRANT und PARK, 1995; PURDY et al., 1999; BAILLON et al., 1999). SOD besitzt insbesondere für das Überleben der Keime im Lebensmittel Bedeutung (STEAD und PARK, 2000).

2.7. Viable but non-culturable (VBNC)-Zellen bei *Campylobacter* spp.

Campylobacter verändern bei ungünstigen Umweltbedingungen ihre Zellmorphologie, indem sie von der spiralen Stäbchenform in eine kokkoide, runde Form übergehen (BUCK et al., 1983; ROLLINS and COLWELL, 1986; MORAN und UPTON, 1987). Diese Beobachtungen führten zu der Annahme, es handle sich bei dieser Metamorphose um einen "schlafenden" Zustand von *Campylobacter*, in dem die Zellen lebensfähig aber nicht kultivierbar sind und ungünstige Bedingungen überdauern. Ein solches VBNC-Stadium lösen verschiedene Stressfaktoren aus, darunter Nährstoffentzug, Temperaturveränderungen oder Sauerstoff. Über die Morphologie hinaus unterscheiden sich VBNC-Zellen von „normalen“ *Campylobacter*-Keimen hinsichtlich der Fettsäurezusammensetzung, der Enzymaktivität, des Energiestoffwechsels und der intrazellulären Ionenkonzentration. Zudem erscheinen das Zellvolumen größer und die Flagellen verkürzt (HAZELEGER et al., 1998; HÖLLER et al., 1998; THOLOZAN et al., 1999). Die Fähigkeit, während dieses Zustandes chemische Indikatoren umzusetzen, bestätigt die Lebensfähigkeit der Zellen (CAPPELIER et al., 1997; THOLOZAN et al., 1999).

Einige Studien hingegen halten die Interpretation des VBNC-Status als degenerative Form des anfänglichen Zelltodes mit einer verringerten Anzahl von Nukleinsäuren und Peptiden für zutreffender (MORAN and UPTON, 1987; BEUMER et al., 1992; BOUCHER et al., 1994). Mehrere Autoren berichteten über die Wiederbelebung der VBNC-Zellen unter Verwendung unterschiedlicher Tiermodelle (SAHA et al., 1991; JONES et al., 1991a; PEARSON et al., 1993), anderen Verfassern gelang eben dies nicht (BEUMER et al., 1992; MEDEMA et al., 1992).

Die widersprüchlichen Aussagen bezüglich der VBNC-Zellen sind vermutlich auf Unterschiede innerhalb der Stämme zurückzuführen. Die Infektiosität der VBNC-Zellen konnte bisher nicht bewiesen werden (STERN et al., 1994).

2.8. Epidemiologie von *Campylobacter* spp.

2.8.1. Vorkommen und Verbreitung

Die Campylobacteriose des Menschen ist eine weltweit verbreitete Zoonose. Thermophile *Campylobacter* leben bei vielen Haus- und Wildtieren als Kommensale im Darmtrakt, ohne dass die Wirte klinisch erkranken (BLASER et al., 1983; FRANCO, 1988; STERN und MEINERSMANN, 1989). Geflügel, wie Hühner, Enten, Puten, Tauben und Wachteln, sind am häufigsten infiziert (YOGASUNDRAM et al., 1989). Das Hauptreservoir für *Campylobacter* stellt Mastgeflügel dar, bei dem sich besonders häufig hohe Isolationsraten nachweisen lassen (GRIFFITHS und PARK, 1990).

In Entwicklungsländern und einigen industrialisierten Nationen (USA, Großbritannien, Dänemark, Schweden, Finnland, Norwegen, Niederlande) stellen *Campylobacter* noch vor den Salmonellen die häufigsten Erreger bakterieller Gastroenteritiden dar (TAUXE, 1992; MEAD et al., 1999; DE WIT et al., 2001). Die Anzahl der für Deutschland gemeldeten Campylobacteriose-Fälle lag im Jahr 2004 bei 52928, der Meldestand der Salmonellosen betrug für den gleichen Zeitraum 54902. Im Jahr 2005 überstieg die Anzahl der Campylobacteriose-Fälle mit 61991 erstmals die der Salmonellosen, bei denen 52109 Meldungen zu verzeichnen waren (ROBERT-KOCH-INSTITUT, 2005).

Die Campylobacteriose des Menschen tritt überwiegend sporadisch auf, wobei Kinder unter vier Jahren und Erwachsene im Alter von 15 bis 44 Jahren am häufigsten betroffen sind (BLASER et al., 1983; TAM, 2001). Des Weiteren besteht eine geschlechtbezogene Disposition, indem männliche Personen häufiger erkranken als weibliche (FRIEDMANN et al., 2000). Bei wiederholt exponierten Menschen, beispielsweise in Geflügelschlachtbetrieben beschäftigten, verläuft die Erkrankung meist subklinisch (MOORE et al., 2005).

Der überwiegende Teil der *Campylobacter*-Infektionen wird von *C. jejuni* (80% bis 90%) ausgelöst, *C. coli* ist nur in 10% bis 20% der Fälle beteiligt. Die übrigen thermophilen *Campylobacter*-Spezies spielen nur eine untergeordnete Rolle am Infektionsgeschehen der humanen Campylobacteriose (HUNT et al., 2001; MOORE et al., 2005).

In Entwicklungsländern ist das Vorkommen der Campylobacteriose endemisch und meist auf Kleinkinder beschränkt, die aufgrund wiederholter Expositionen sehr früh eine Immunität entwickeln. Hierbei treten klinisch manifeste Auswirkungen der Erkrankung insbesondere während des Abstillens auf und tragen erheblich zur Unterernährung der Kinder bei, die als größte Risikogruppe gelten. Der Kontakt zu kontaminierten Faeces im Haushalt lebender Hühner stellt neben verschmutztem Wasser den größten Risikofaktor dar (DE MOL et al., 1983; COKER et al., 2002). Die Mortalität fällt sehr gering aus, und Todesfälle treten überwiegend bei Kleinkindern, älteren Menschen oder Personen auf, die an chronischen Krankheiten leiden (TAUXE, 1992).

Die Hauptinfektionsquelle für den Menschen stellen Lebensmittel tierischen Ursprungs dar. Unzureichend erhitztes Geflügelfleisch und mangelnde Küchenhygiene, bei der es zu einer Keimübertragung von rohem Geflügelfleisch auf verzehrfertige Lebensmittel kommt, bilden das größte Risiko für den Verbraucher (HOPKINS und SCOTT, 1983; BUTZLER und OOSTEROM, 1991; SKIRROW, 1991; KAPPERUD et al., 1992; BRYAN und DOYLE, 1995; NEAL und SLACK, 1995; EBERHART-PHILLIPS et al., 1997; ALTEKRUSE et al., 1999). Zu den weiteren Risikofaktoren gehören Rohmilch, unsauberes Trinkwasser, Obst, Gemüse, Fisch und Meerestiere sowie Auslandsreisen in Verbindung mit unterschiedlichen Essgewohnheiten, Zubereitungsformen und Hygienestandards. Die Möglichkeit einer fäkal-oralen Keimübertragung durch Haustiere besteht, entsprechende Fälle kommen jedoch eher selten vor (NORKRANS und SVEDHEM, 1982; OOSTEROM et

al., 1984; MELBY et al., 1990; WILSON und MOORE, 1996; ENGBERG et al., 1998; RODRIGUES et al., 2001; TENKATE und STAFFORD, 2001).

Größere Ausbrüche wurden mit dem Genuss von Rohmilch und unbehandeltem Wasser in Verbindung gebracht und zeigen einen Erkrankungsgipfel im Sommer. Sporadische Erkrankungen treten überwiegend im Frühling und Herbst auf. Sie können meist auf die unsachgemäße Handhabung und den Verzehr von Geflügelfleisch zurückgeführt werden (HARRIS et al., 1986; DEMING et al., 1987; ANNAN-PRAH und JANC, 1988; TAUXE, 1992).

In Europa und Nordamerika wurde eine saisonale Abhängigkeit der Erkrankungshäufigkeit mit einem vermehrten Auftreten von Frühling bis Herbst beobachtet. Zugleich besteht eine jahreszeitliche Schwankung der Erregerdichte in der Umwelt und im Darm von Geflügel, die eine veränderte Belastung des Geflügelprodukts bewirkt (JACOBS-REITSMA, 1994a).

2.8.2. Klinik

Die Campylobacteriose des Menschen läuft in Form einer akuten, selbstlimitierenden, gastrointestinalen Erkrankung ab, gekennzeichnet durch wässrigen, selten blutigen Durchfall sowie einhergehend mit Fieber und Bauchkrämpfen; Erbrechen tritt meist nur bei Kindern auf. Die Erscheinungen sind nicht von den Symptomen vieler anderer bakterieller Enteritiden abzugrenzen (KARMALI und FLEMING, 1979; BLASER et al., 1979; BUTZLER et al., 1992). Die Inkubationszeit beträgt im Durchschnitt 1 bis 7 Tage. Bei 30% der Patienten treten zu Beginn der Erkrankung unspezifische grippeähnliche Symptome, wie Fieber, Kopf- und Muskelschmerzen sowie Schwindel auf.

Am Beginn der Krankheit stehen Bauchkrämpfe und schlagartig einsetzender wässriger Durchfall, der nach 2 bis 3 Tagen auch Schleim und Blut enthalten kann. Aufgrund der starken Bauchschmerzen fällt eine Abgrenzung zur akuten Blinddarmentzündung schwer (BUTZLER, 2004; MOORE et al., 2005). Die Prognose ist im Allgemeinen sehr gut und der Einsatz von Chemotherapeutika in der Regel nicht erforderlich. Allerdings werden *Campylobacter* mit dem Stuhl nach Abklingen der Erkrankung noch mehrere Wochen ausgeschieden (SKIRROW und BLASER, 2000).

Unterschiede zwischen einer Infektion mit *C. jejuni* und *C. coli* sind nicht eindeutig belegt und werden in der Literatur kontrovers diskutiert (POPOVIC-UROIC et al., 1988; FIGURA und GUGLIELMETTI, 1988).

Zu Komplikationen wie Appendizitis, Cholezystitis, Pankreatitis, Peritonitis oder Hepatitis sowie zu extraintestinalen Infektionen, darunter Meningitis (GOOSSENS et al., 1986) oder Osteomyelitis (VANDENBERG et al., 2003), kommt es sehr selten. Bei unter 1% der Erkrankten konnte eine Bakteriämie beobachtet werden (CRUSHELL et al., 2004). Als eine der bedeutendsten Sequelae gilt das Guillain-Barré-Syndrom (GBS) (SMITH, 1995; NACHAMKIN et al., 2002), eine Autoimmunerkrankung, die auf einer Ähnlichkeit der als Antigen fungierenden Bestandteilen der Zellmembran (Lipopolysacchariden) von *C. jejuni* und den GM1-Gangliosiden peripherer Nervenzellmembranen beruht (YUKI et al., 1997). Dadurch kommt es zu einer akuten Demyelinisierung der peripheren Nervenzellen und einer hieraus resultierenden aufsteigenden motorischen Lähmung. Beim Müller Fisher-Syndrom, eine seltener auftretende Form des GBS, können auch Ataxien und Ophthalmoplegien beobachtet werden. Für 30% bis 50% der GBS-Fälle wurde eine vorherige Infektion mit *C. jejuni* nachgewiesen. Schätzungsweise führt eine von dreitausend *C. jejuni*-Infektionen zu GBS (MOORE et al., 2005), und die Mortalität des GBS liegt zwischen 2% bis 3%, während bei 20% der Erkrankten schwerwiegende neurologische Schäden bestehen bleiben (BRISCOE et al., 1987).

2.8.3. Therapie

Als symptomatische Behandlung reicht meist eine Flüssigkeit- und Elektrolytzufuhr aus. Bei Patienten, die an einer akuten Enteritis mit persistierendem Fieber, blutigem Durchfall und mehr als acht Darmentleerungen pro Tag leiden, oder bei signifikanter Gewichtsabnahme und Durchfällen, die länger als 7 Tage anhalten, ist eine antibiotische Behandlung angezeigt. Das gleiche gilt für an HIV Erkrankte oder immungeschwächte Patienten. Als Mittel der Wahl gilt Erythromycin (BUTZLER et al., 1992; CRUSHELL et al., 2004). Fluorchinolone, wie Ciprofloxacin, wurden früher häufig eingesetzt, verlieren aber aufgrund einer weitverbreiteten Resistenz immer mehr an Wirkung (ENDTZ et al., 1991; PIDDOCK, 1995).

2.8.4. Pathogenese der Campylobacteriose

Hinsichtlich der Pathogenese der Campylobacteriose stehen noch einige Fragen offen. Nicht alle *C. jejuni*- oder *C. coli*-Stämme sind für den Menschen pathogen (KOROLIK et al., 1995), zudem treten stammspezifische Unterschiede in der Virulenz auf (EVEREST et al., 1992; HARVEY et al., 1999). Zu den wichtigsten Virulenzfaktoren pathogener *Campylobacter* zählen Motilität, Adhäsion und Invasion, Toxinbildung sowie Oberflächenantigenvariabilität (KIST, 2002).

Als wichtige Voraussetzung für die Kolonisation der Darmschleimhaut wurden die spiralförmige Form und die monopolare Geißelung identifiziert, weil sie dem Erreger eine korkenzieherartige Bewegung und somit ein Durchdringen des viskosen Darmschleims ermöglichen (LEE et al., 1986; DIKER et al., 1992). Ein weiterer Vorteil ergibt sich aus der Fähigkeit, Mucin, ein Bestandteil des Darmschleims, als Energiequelle zu nutzen (BEERY et al., 1988). Mucine, L-Fucose und L-Serin üben eine positive, Gallensaft hingegen eine negative chemotaktische Wirkung auf *Campylobacter* aus (HUGDAHL et al., 1988; KIST, 2002). TAKATA et al. (1992) beobachteten anhand von Tiermodellen, dass bei beweglichen, aber nicht zur Chemotaxis befähigten *Campylobacter*-Mutanten die Kolonisation ausbleibt. Aber auch flagellenlose *Campylobacter* können den Darm nicht kolonisieren (CALDWELL et al., 1985; BLACK et al., 1988). Die zur Besiedlung erforderlichen Geißeln werden durch die Gene *flaA* und *flaB* codiert (MOROOKA et al., 1985; HARRIS et al., 1987; LEE et al., 1987; NUIJTEN et al., 1990; GUERRY et al., 1991).

Weitere Oberflächenstrukturen, die neben den Geißeln zur Adhäsion beitragen, sind die Lipopolysaccharide (LPS) und die Membranproteine PEB 1, PEB 3 und CadF (MC SWEEGAN und WALKER 1986; KONKEL et al., 1997; PEI et al., 1998). Letzteres ermöglicht wohl die Bindung der Erreger an Fibronectin, da ohne CadF keine Kolonisation stattfindet (ZIPPRIN et al., 1999).

Bei der Invasion spielen die De-novo Synthese invasionsassoziierter Proteine und die Signaltransduktion der Wirtszelle eine Rolle (KONKEL et al., 1999). Des Weiteren sind *Campylobacter* zur Transzytose und zur parazellulären Bewegung zwischen den „tight junctions“ in der Lage (WELKOS, 1984).

Die Bedeutung der Toxinbildung für die Pathogenese ist noch nicht vollständig geklärt. *Campylobacter*-Keime produzieren eine Reihe unterschiedlicher Gifte, darunter Hämolsine sowie Cholera- und Shigatoxin ähnliche Substanzen (KETLEY, 1997). WASSENAAR (1997) unterschied sechs Zytotoxine und ein Enterotoxin. Die wichtigsten Zytotoxine sind das CDT (cytolethal distending toxin) und das CLT (cholera like toxin) (MCCARDELL et al., 1984; EYIGOR, 1999; PURDY et al., 2000; BANG et al., 2001). Das CDT blockiert vermutlich eukariotische Zellen in der G2-Phase ihres Zellzyklus und führt somit über Funktionsverlust und Erosionen der Zellschicht zur Durchfallsymptomatik (WHITEHOUSE et al., 1998).

Einen wesentlichen Einfluss auf die Pathogenese nimmt zudem die Induktion von Entzündungsmediatoren des Wirtes. So stimuliert *C. jejuni* beispielsweise die Interleukin-8 Sekretion der Darmzellen (HICKEY et al., 1999).

Eine Serumresistenz wird durch die Variabilität der Oberflächenantigene bewirkt und trägt zur Endotoxizität bei. Einige Oberflächenpolysaccharide weisen große Ähnlichkeiten zu denen humaner Nervenzellen auf, weshalb sie mit dem Entstehen des GBS in Zusammenhang gebracht werden (MCSWEEGAN and WALKER, 1986; PENN, 2001).

Eine weitere wichtige Eigenschaft thermophiler *Campylobacter* stellt die Fähigkeit dar, Eisen aus der Darmflora zu gewinnen sowie Hämin und Hämoglobin des Wirtes als Eisenquelle zu verwerten (PICKETT et al., 1992; PARK, 2002). Einige *Campylobacter*-Stämme sind zudem in der Lage, Siderophore anderer Bakterien zu nutzen oder selbst Siderophore zu produzieren (FIELD et al., 1986).

Obwohl die humane *Campylobacteriose* nur selten mit einer Bakteriämie einhergeht (TAUXE, 1992), konnten KIEHLBAUCH et al., (1985) nachweisen, dass *C. jejuni* bis zu einer Woche in Monozyten überleben kann und somit länger aktiv bleibt als „freie“ Keime.

Des Weiteren verfügen die Erreger über ein Superoxidschutzsystem, das es ihnen ermöglicht, toxische Sauerstoffverbindungen enzymatisch abzubauen. Wechselnden Umgebungstemperaturen können sie sich mittels Temperaturregulationsproteinen und Hitzeschockproteinen anpassen (KIST, 2001; PARK, 2002).

2.9. Vorkommen von *Campylobacter* spp. bei Mastgeflügel

Die Isolierungsraten von *Campylobacter* fallen beim Mastgeflügel häufig sehr hoch aus. Eine in den USA durchgeführte Studie zeigte, dass bis zu 90% der Herden *Campylobacter*-positiv reagierten (STERN et al., 2001). In Europa liegt die Herdenprävalenz zwischen 18% und 90%, dabei weisen die nördlichen Länder eine niedrigere Prävalenz auf als die südlich gelegenen (NEWELL und FEARNLEY, 2003).

Es treten demnach auch *Campylobacter*-freie Herden auf (SMITHERMAN et al., 1984; HUMPHREY et al., 1993). Tendenziell hängt die Keimbelastung von der jeweiligen Herdengröße (BERNDTSON et al., 1996) und Haltungsform ab, in ökologischer Freilandhaltung kann die Herdenprävalenz bis zu 100% betragen.

Mit 90% bis 100% kommt *C. jejuni* weitaus häufiger als *C. coli* vor, dessen Anteil ca. 5% bis 10% ausmacht (NIELSEN und NIELSEN, 1999; NADEAU et al., 2002). Bezogen auf das Einzeltier sind besonders hohe Keimzahlen von 10^5 bis 10^9 KbE/g Darminhalt in Blinddarm, Dickdarm und der Kloake zu finden. Dort besiedeln die Mikroorganismen bevorzugt die Krypten des Darmepithels, als Nahrungsquelle dient ihnen u.a. Muzin. *Campylobacter* waren jedoch auch in Leber, Gallenblase, Milz und Blut nachzuweisen. Solche Befunde lassen eine Translokation der Keime über die Magen-Darmschranke während der Kolonisation vermuten (BEERY et al., 1988; BERNDTSON et al., 1992).

Eine Verbreitung der Erreger von Tier zu Tier vollzieht sich sehr schnell, weshalb annähernd die gesamte Herde innerhalb weniger Tage positiv reagiert (SHREEVE et al., 2002). Experimentell konnte mit 40 *C. jejuni*-Zellen eine Kolonisation bei Hühnern erreicht werden (CAWTHRAW et al., 1996). Während der gesamten Lebensspanne eines Broilers, die in der Regel weniger als 47 Tage beträgt, hält die Besiedlung an; nach acht Wochen kann eine Reduktion sowohl in der Anzahl der befallenen Tiere als auch in der Keimdichte beobachtet werden (ACHEN et al., 1998). Mehrere Studien belegen einen altersabhängigen Anstieg der Infektion. In den meisten Herden ließ sich eine Kolonisation erst ab dem 10. Tag nachweisen, in einigen sogar erst ab einem Alter von zwei Wochen (JACOBS-REITSMA et al., 1995; EVANS und SAYERS, 2000). KAINO et al. (1988) zeigten, dass fünf Wochen alte Hühner eine höhere Empfänglichkeit gegenüber *Campylobacter* aufwiesen als Küken drei Tage nach dem Schlupf. Dieser Umstand ist

vermutlich auf den Verlust maternalen Antikörper nach zwei Wochen zurückzuführen (CATHRAW et al., 1994).

Die Epidemiologie der *Campylobacter* Übertragung birgt noch viele Unklarheiten. Vertikale Verbreitungswege über kontaminierte Eier scheinen eine untergeordnete Rolle zu spielen. Die Erreger konnten zwar aus verschiedenen Stellen des Reproduktionstraktes isoliert werden (CAMARDA et al., 2000; BUHR et al., 2002), die Nachweisrate aus natürlich oder experimentell infizierten Eiern fiel jedoch sehr gering aus (DOYLE, 1984; SHANE et al., 1986; SHANKER et al., 1986; BAKER et al., 1987; VAN DE GIESSEN et al., 1992; JACOBS-REITSMA et al., 1995). Früheren Studien ist zu entnehmen, dass keine infizierten Eier gelegt wurden und die daraus schlüpfenden Küken *Campylobacter*-negativ waren, obwohl die entsprechenden Legehennen die Keime fäkal ausschieden (SHANKER et al., 1986; SHANE et al., 1986; BAKER et al., 1987). In den wenigen Fällen, in denen *C. jejuni* in Eiern nachgewiesen werden konnte, waren die Bakterien nur in der inneren Schale und den Membranen lokalisiert (DOYLE, 1984). Dieser Umstand lässt eine fäkale Verunreinigung mit anschließender Penetration der Erreger durch die Eischale vermuten (DOYLE, 1984; NEILL et al., 1985).

Eine weitaus bedeutendere Rolle als Eier spielen horizontale Übertragungswege aus der unmittelbaren Umgebung für die Verbreitung von *Campylobacter*. Zu den möglichen Infektionsquellen zählen das Wiederverwenden von benutzter Einstreu (KAZWALA et al., 1990), nicht ausreichend gereinigte und desinfizierte Ställe (VAN DE GIESSEN et al., 1998) sowie verschmutztes Wasser (ENGVALL et al., 1986; PEARSON et al., 1993; KAPPERUD et al., 1993). Die Keimübertragung über Nagetiere und Wildvögel ist ebenso möglich (FERNIE und PARK, 1977; GENIGEORGIS et al., 1986; ANNAN-PRAH und JANC, 1988). Eine Genotypisierung zeigte, dass die aus dem Darm von Mäusen isolierten *Campylobacter*-Stämme identisch mit den Stämmen des jeweiligen Mastbetriebes waren (HIETT et al., 2002). Insekten, wie Fliegen (GREGORY et al., 1997), Käfer (JACOBS-REITSMA et al., 1995) und Schaben (UMUNNABUIKE et al., 1986), stellen weitere Übertragungsquellen dar. Auch über Hände, Schuhe und Arbeitskleidung des Personals können *Campylobacter* verbreitet werden (LINDBLOM et al., 1986; ANNAN-PRAH und JANC, 1988; KAZWALA et al., 1990). Ein erhöhtes Infektionsrisiko entsteht durch vorangegangenen Kontakt zu Schweinen oder anderen Geflügelarten (KAPPERUD et al., 1993).

Auch wenn in der Stallluft ebenfalls *Campylobacter* zu finden waren (KAZWALA et al., 1990), ist ein langes Überleben der Keime wegen des Wasserverlustes bei trockener Luft jedoch unwahrscheinlich. Bei feuchter Atmosphäre hingegen bleiben die Keime infektiös und können über weite Entfernungen verbreitet werden (NEWELL et al., 2001). Eine horizontale Übertragung des Erregers über nicht gechlortes Tränkwasser konnte ebenfalls beobachtet werden (PEARSON et al., 1993). Das Futter hingegen stellt ein eher unbedeutendes Risiko dar (DOYLE, 1984; BERNDTSON et al., 1996,).

2.10. Vorkommen von *Campylobacter* spp. in der Geflügelschlachtung

Während der Schlachtung kommt es leicht zu einem hohen Eintrag von *Campylobacter* in die Schlachtkette und einer damit verbundenen massiven Kontamination der Schlachttierkörper, die während des gesamten Schlachtprozesses erhalten bleibt (GENIGEORGIS et al., 1986; BERNDTSON et al., 1992; MEAD et al., 1995; BYRD et al., 2002).

Campylobacter-positive Herden können nachfolgend geschlachtete *Campylobacter*-negative Herden kontaminieren (GENIGEORGIS et al., 1986; RIVOAL et al., 1999) und führen dadurch zu einem Anstieg *Campylobacter*-positiver Karkassen während des Schlachtvorgangs (JONES et al., 1991b). Selbst von einer Keimübertragung auf *Campylobacter*-negative Herden, die nach der Reinigung und Desinfektion am darauf folgenden Tag geschlachtet wurden, wurde berichtet (GENIGEORGIS et al., 1986). Verständlich werden die Befunde wegen der massiven Keimbelastung, denn *Campylobacter* lässt sich in hoher Dichte im Darmtrakt von Geflügel, insbesondere im Colon und Caecum, nachweisen (STERN, 1995). In einer *Campylobacter*-positiven Herde kann die Keimzahl von 10^5 bis 10^9 KbE/g Caecuminhalt betragen (BERNDTSON et al., 1992; BERRANG et al., 2004). WALLACE et al. (1997) publizierten *Campylobacter*-Keimzahlen von über 10^{12} KbE/g.

Bereits vor der Schlachtung sind Kreuzkontaminationen der Tiere über verschmutzte oder unzureichend gereinigte Transportkäfige möglich, indem *Campylobacter* vom Kot auf Haut und Federn der Tiere übertragen werden. Während des Transports kommt es häufig zu einem Anstieg der *Campylobacter*-Keimzahl im Darm und auf den Tierkörpern (STERN et al., 1995; VAN DE GIESSEN et al., 1998). So wiesen BERRANG und DICKENS (2000)

bis zu log 5,4 KbE/g auf Federn und log 3,8 KbE/g auf der Haut vor dem Brühen nach.

Während der Schlachtung werden nicht nur die Karkassen mit *Campylobacter* belastet, auch Arbeitsflächen, Ausrüstung, Prozesswasser und die Luft der einzelnen Schlachtstationen sind von der Kreuzkontamination betroffen (AHO und HIRN, 1988, MEAD et al., 1995, WHYTE et al., 2001).

Bei Eintritt in den Brühtank kommt es durch Entleerungen der Kloake oftmals zu einer massiven Kontamination des Brühwassers und somit auch der Karkassen. Durch die hohen Brühtemperaturen wird zwar der Großteil der auf der Haut vorhandenen Keime abgetötet; im Unterhautbindegewebe wird jedoch nur eine Temperatur von ungefähr 42°C erreicht, was ein Überleben der Keime ermöglicht (HUMPHREY und LANNING, 1987; IZAT et al., 1988).

Während des Rupfens erfolgt die Keimverbreitung hauptsächlich über die Rupffinger, welche *Campylobacter* noch zusätzlich in die Haut einmassieren (BERRANG et al., 2001a). Von GENIGEORGIS et al. (1986) untersuchte Proben des beim Rupfvorgang anfallenden Abwassers erwiesen sich zu 94% als *Campylobacter*-positiv und besaßen Keimzahlen von bis zu log 3 KbE/ml. IZAT et al. (1988) beobachteten nach dem Rupfen eine Keimzahlerhöhung von 1 log KbE/cm² Tierkörperoberfläche. Bei der darauf folgenden Eviszeration können Rupturen des Intestinaltraktes und das Auslaufen von Darminhalt zur Übertragung von *Campylobacter* auf die Karkassen führen (BERNDTSON et al., 1992; BERRANG et al., 2004).

Während des Entfederns und der Eviszeration kommt es häufig zu einem Anstieg der *Campylobacter*-Keimzahl auf den Karkassen (IZAT et al., 1988). Brühen, Waschen und Kühlung hingegen führen zu einer Keimreduzierung (ACUFF et al., 1986). MEAD et al. (1995) beobachteten eine Keimreduzierung von *Campylobacter* auf der Haut, die ausgehend von log 3,7 nach dem Entbluten sich in log 1,8 nach dem Verpacken manifestierte.

Zahlreiche Studien belegen, dass sich Bakterien während des Schlachtprozesses fest an die Karkasse anheften (NOTERMANS und KAMPELMACHER, 1974; MCMEEKIN und THOMAS, 1978; LILLARD, 1985). Dies gilt in erster Linie für die Geflügelhaut, da hier

optimale Bedingungen für das Haften und Überleben der Keime herrschen (MCMEEKIN et al., 1984; CHANTARAPANONT et al., 2003). Durch Wasseraufnahme während des Schlachtprozesses verändert sich die Gewebestruktur und tiefer liegende Spalten und Kanäle in der Haut quellen auf. Mit dem Wasser in diesem „Kapillarsystem“ dringen die Bakterien in die Federfollikel ein. Das Aufquellen der Haut schließt die Keime nicht nur tief in der Cutis und Subcutis ein, sondern schützt sie auch vor negativen Einflüssen, wie Austrocknung und Sauerstoff (DUFRENNE et al., 2001).

Untersuchungen zeigten, dass *Campylobacter* bei 4°C und unter tiefgekühlten Bedingungen auf Hähnchenhaut überleben können (BHADURI und COTTRELL, 2004). Unter Schutzatmosphäre vermehren sie sich sogar bei Raumtemperatur (LEE et al., 1998).

2.11. Saisonale Schwankungen der Kontaminationsrate thermophiler *Campylobacter* spp. bei Mastgeflügel

Es gibt mehrere Hinweise auf eine saisonale Abhängigkeit der *Campylobacter*-Belastung bei Mastgeflügel mit einer erhöhten Infektionsrate im Sommer (BERNDTSON et al., 1992; KAPPERUD et al., 1993; JACOBS-REITSMA et al., 1994a; WALLACE et al., 1997; WILLIS und MURRAY, 1997). Die Ursachen hierfür sind noch weitgehend ungeklärt. Vermutlich wirkt die Temperatur auch auf Infektionsquellen innerhalb des Stalles, wie Zugvögel, Insekten und Nagetiere, ein (JACOBS-REITSMA et al., 1994a). Zudem beeinflussen wahrscheinlich Luftfeuchtigkeit und UV-Licht die Überlebensfähigkeit des Erregers in der Umgebung und somit die *Campylobacter*-Belastung bei Masthähnchen (DOYLE, 1984; STERN, 1995; WALLACE et al., 1997; KIST, 2001). Eine von PATRICK et al. (2004) durchgeführte Studie zeigte, dass der Einfluss der Temperatur auf das Vorkommen von *Campylobacter* in den wärmeren Monaten ausgeprägter ist als in den kälteren Monaten.

2.12. Vorkommen von *Campylobacter* spp. in Hähnchen als Endprodukt

Die Campylobacteriose des Menschen ist hauptsächlich lebensmittelbedingt, wobei kontaminiertes Geflügelfleisch als Hauptinfektionsquelle gilt. In Deutschland wurden im Jahr 2003 insgesamt 221690 t Hähnchenfleisch von privaten Haushalten gekauft. 75% der Hähnchen wurde als Teilstücke, d.h. in zerlegter Form, verkauft und nur 25% als ganze Karkassen (BÖTTCHER, 2004).

Epidemiologischen Studien zufolge besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen *Campylobacter*-Infektionen des Menschen und dem Umgang mit rohem Geflügelfleisch sowie dem Verzehr von unzureichend erhitztem Geflügelfleisch und Geflügelprodukten (OOSTEROM et al., 1984; STUDAHL und ANDERSSON, 2000; JACOBS-REITSMA, 2000; NEIMANN et al., 2003; FRIEDMANN et al., 2004).

Weiterhin belegen zahlreiche Studien, die zur Bestimmung der Anzahl und des Vorkommens von *Campylobacter* auf Hähnchen als Endprodukt durchgeführt wurden, dass ein großer Prozentsatz des frischen und gefrorenen Geflügelfleisches mit *Campylobacter* belastet ist. Eine Übersicht der in der Literatur beschriebenen Daten zur Prävalenz von *Campylobacter* auf Hähnchen als Endprodukt enthält Tabelle 3. Ergänzt werden diese Daten durch eine Darstellung der quantitativen Resultate von *Campylobacter*-Nachweisen in Abhängigkeit des Probenotyps, der Probenaufbereitung und der Zählmethode in Tabelle 4.

Weil Keime, die sich auf der Lebensmitteloberfläche befinden, in der Regel während des Garprozesses abgetötet werden, stellt die Übertragung von *Campylobacter* vom Rohprodukt vor dem Garen auf verzehrfertige Lebensmittel das höchste Infektionsrisiko dar. Empirisch ist vielfach bewiesen, dass *Campylobacter* während der Zubereitung von rohem Geflügelfleisch auf verzehrfertige Lebensmittel, Hände und Küchenutensilien übertragen werden können (COGAN et al., 2002; REDMOND et al., 2003; KUSUMANINGRUM et al., 2004; WANYENYA et al., 2004; LUBER et al., 2006). Es kann daher nicht verwundern, dass ein Großteil der Lebensmittelinfektionen ihren Ursprung im Privathaushalt nimmt. In den Niederlanden, Deutschland und Spanien konnten mehr als 50% der gemeldeten Lebensmittelinfektionen auf das Endglied in der Kette zurückgeführt werden (ROBERTS, 1982; SCOTT, 1996). Ebenso gingen in Dänemark 80%, in Ungarn

77%, in Rumänien 46%, in Finnland 24% und in Polen 52% der Lebensmittelinfektionen vom Fehlverhalten im Privathaushalt aus (TODD, 1996).

Eine weitere Möglichkeit *Campylobacter* aufzunehmen, bildet der Verzehr von unzureichend erhitztem Geflügelfleisch, vorausgesetzt die Erreger sind im Muskelgewebe vorhanden und überleben den Garprozess (DEMING et al., 1987; SALEHA et al., 1998). In der Literatur finden sich allerdings nur wenige Untersuchungen zum Vorkommen von *Campylobacter* im Fleisch selbst. ALTMAYER et al. (1985) vermochten in 50 untersuchten Muskelproben keine *Campylobacter* nachzuweisen und BERNDTSON et al. (1992) gelang in nur 9 von 340 Muskelproben die Isolation dieses Keimes.

Die Infektionsdosis von *Campylobacter* liegt sehr niedrig (BUTZLER und OOSTEROM, 1991). ROBINSON (1981) führte einen Selbstversuch durch und erkrankte nach der Aufnahme von 500 Zellen. In einer weiteren Studie erkrankten Freiwillige nach der Aufnahme von 800 bis 10^6 Zellen (BLACK et al., 1988). Diese Resultate sprechen für eine sehr geringe Infektionsdosis. Da schon geringe Keimmengen eine Erkrankung auslösen können, geht von kontaminiertem Geflügelfleisch bei unhygienischer Handhabung bzw. unzureichender Erhitzung ein ernstes Risiko für den Verbraucher aus.

Tab. 3: Vorkommen thermophiler *Campylobacter* (*C. spp.*) in Hähnchenfleisch und –produkten

Referenz	Probenart	C. spp. (%)	Land
DE BOER und HAHNE, 1990	25 g Hähnchenfleisch	61%	NL
JONES et al., 1991a	ganze Karkassen, Spülprobe	32%	USA
BERNDTSON et al., 1992	Haut, Tupferprobe	89%	S
	Subkutis, Geschabel	75%	
	10 g Muskel	3%	
STERN et al., 1992	ganze Karkassen, Spülprobe	98%	USA
ZANETTI, 1996	Hähnchenbrust, Tupferprobe	38%	I
GEILHAUSEN et al., 1996	Hähnchenbrust, Tupferprobe		D
	aus Deutschland	19%	
	aus Frankreich	58%	
	aus den Niederlanden	23%	
WILLIS und MURRAY, 1997	ganze Karkassen, Spülprobe	69%	USA
ATANASSOVA et al., 1998	25 g Hähnchenfleisch	28%	D
MADDEN et al., 1998	10 g Hähnchenfleisch	38%	UK
KRAMER et al., 2000	100-200 g Hähnchenschenkel und Hähnchenbrust	83%	UK

Fortsetzung Tab. 3

Referenz	Probenart	C. spp. (%)	Land
ZHAO et al., 2001	ganze Karkassen, Spülprobe	71%	USA
HARRISON et al., 2001	Einzelhandel, Spülprobe: ganze Karkassen Hähnchenbrust Hähnchenteile Metzger, Spülprobe: ganze Karkassen Hähnchenbrust Hähnchenteile	82% 82% 71% 70% 58% 53%	UK
MOORE et al., 2002	25 g Haut von: rohen Hähnchen gefrorenen Hähnchen	94% 77%	UK

Tab. 4: Prävalenz und Anzahl von *Campylobacter* in Hähnchenfleisch und –produkten

Referenz	Probenart	C. spp. (%)	C. spp. KbE/Einheit	Zähl-methode	Land
KINDE et al., 1983	Hähnchenflügel Spülprobe	83%	KbE/Flügel 10 ² -10 ⁴	D.Z.	USA
GILL und HARRIS, 1984	ganze Karkassen Spülprobe	70%	KbE/halbe Karkasse Median: 6x 10 ⁴	D.Z.	NL
WESLEY und STADELMAN, 1985	halbe Karkassen Spülprobe	68%	MPN/halbe Karkasse 4,6x10 ³	MPN	USA
STERN et al., 1985a	halbe Karkassen Spülprobe	k.A.	KbE/halbe Karkasse Median: log 3,0 Median: log 2,6	D.Z. MPN	USA
HOOD et al., 1988	ganze Karkassen	48%	KbE/Karkasse 1,5x10 ³ -1,5x10 ⁶	D.Z.	UK
IZAT et al., 1988	ganze Karkassen Tupferprobe	k.A.	KbE/Karkasse Median: log 2,0	MPN	USA
TOKUMARU et al., 1991	Schenkel und Brust, incl. Haut	68%	MPN/100g : 12% 30-10 ² 30% 10 ² -10 ³ 14% 10 ³ -10 ⁴ 12% 10 ⁴ -10 ⁵ 1% >10 ⁵	MPN	J

Fortsetzung Tab. 4

Referenz	Probenart	C. spp. (%)	C. spp. KbE/Einheit	Zähl- methode	Land
BERNDTSON et al., 1992	Haut, Tupferproben	89%	log 1,2–log 2,4 KbE/4cm ²	D.Z.	S
	Hauteinwaage (10 g)	k.A.	log 2,7–log 3,4 KbE/g		
	Abschabung der Subkutis	75%	log 1,1–log 1,9 KbE/4cm ²		
	Muskel	3%	k.A.		
MEAD et al., 1995	Hautprobe	k.A.	KbE/g log 0,7–log 2,3	D.Z.	UK
BERRANG und DICKENS, 2001b	ganze Karkassen Spülprobe	k.A.	KbE/ml Median: log 1,5	D.Z.	USA
LINE et al., 2001	ganze Karkassen Spülprobe	94%	KbE/ml Median: log 2,2 Median: log 2,1	D.Z. MPN	USA
DUFRENNE et al., 2001	ganze Karkassen Spülprobe	k.A.	KbE/Karkasse 38% <10 ²	MPN	NL
	Spülprobe incl. 10cm ² Haut: frisch gefroren		35% > 10 ³ 71% < 10 ² 9% > 10 ³	D.Z.	
JORGENSEN et al., 2002	Halshaut Spülprobe Spülprobe incl. Haut	83%	KbE/Karkasse 18% log 3,0–log 5,0 20% log 5,0–log 7,0 Median: log 4,9	D.Z.	UK

Fortsetzung Tab. 4

Referenz	Probenart	C. spp. (%)	C. spp. KbE/Einheit	Zähl- methode	Land
JOSEFSEN et al., 2003	ganze Karkassen Spülprobe	100%	KbE/ml 2x 1-9 12x 10-99 5x 100-999 1x >1000	D.Z.	DK
MUSGROVE et al., 2003	ganze Karkassen Spülprobe Tropfflüssigkeit	58% 48%	KbE/ml Median: log 1,0 Median: log 1,0	D.Z.	USA
NORTHCUTT et al., 2003	ganze Karkassen Spülprobe	83%	KbE/Karkasse Median: log 1,6	D.Z.	USA
STERN und ROBACH, 2003	ganze Karkassen Spülprobe	94% k.A.	KbE/Karkasse Median: log 4,0 (1995) Median: log 3,0 (2001)	D.Z.	USA
MELDRUM et al., 2004	ganze Karkassen, roh und gefroren Spülprobe	71%	KbE/ml Median: 160	D.Z.	UK
OYARZABAL et al., 2005	ganze Karkassen Spülprobe	20-50%	KbE/ml log 0,2-log 0,7	D.Z.	USA
NANNAPANENI et al., 2005	ganze Karkassen Spülprobe	2001: 85% 2002: 96% 2003: 57%	KbE/Karkasse log 0,9-log 4,5 log 0,9-log 4,6 log 0,9-log 4,5	D.Z.	USA

D.Z. = Direktes Zählverfahren

MPN = Most Probable Number Technik

k.A. = keine Angabe